

616.013(02)

A 14

Д-ръ Р. Абель

*Бактеріологія*

Бібліотека ДЕМУ

616.013(02) 4701501

А.14 Абель, Р

Бактериология

(1912)

1

160118 Тенго



Autorisierte Auflage.

Рудольфъ Абель.

**БАКТЕРІОЛОГІЯ.**

616.013(02)

Д-ръ Рудольфъ Абель.

А 14

Bacteriologisches

# TASCHENBUCH

Die wichtigsten technischen Vorschriften

zur

bacteriologischen Laboratoriumsarbeit

von

**Dr. Rudolf Abel,**

Geheimem ober-Medizinalrat in Berlin.

Fünfzehnte Auflage.

Würzburg.

Curt Kabitzsch.

1911.

8.11.11

546

ПРОВЕРЕНО 1981

# БАКТЕРІОЛОГІЯ

Краткое руководство для

практич. занятій бактеріологією въ лабораторіи.

Авторизиров. перев. д-ра Н. Д. Степанова,  
подъ редакціей и съ предисловіемъ Л. А. Тарасевича,  
препод. Моск. Высш. женск. курсовъ.

3-ье изд., испр. и дополн. по 15 нѣм. изд.



Книгоиздательство „СОТРУДНИКЪ“  
ПЕТЕРБУРГЪ-КІЕВЪ.  
1912.

ПРОВЕРЕНО

Бібліотека

59071  
69

1-ое вѣмецкое изданіе	1889
2-ое " "	1891
3-ье " "	1894
4-ое " "	1898
5-ое " "	1900
6-ое " "	1901
7-ое " "	1903
8-ое " "	1904
9-ое " "	1905
10-ое " "	1906
11-ое " "	1907
12-ое " "	1908
13-ое " "	1909
14-ое " "	1910
15-ое " "	1911

### Предисловіе къ 3-му русскому изданію.

Книжка Abel'я нашла себѣ сочувственный пріемъ и у насъ: 2-ое и 3-ье изданія вышли соотвѣтственно послѣднимъ вѣмецкимъ, 14-му и 15-му. Соображенія, высказанныя въ предисловіи къ первому изданію, оправдались фактами. Создавшаяся такимъ образомъ возможность поддерживать переводное изданіе на одномъ уровнѣ—въ смыслѣ современности—съ оригинальными должна, конечно, способствовать и дальнѣйшему успѣху прекраснаго практическаго руководства Abel'я.

*Л. Тарасевичъ.*

### Предисловіе къ 1-му русскому изданію.

Знакомство съ основами бактериологіи въ настоящее время необходимо для каждаго врача, какова бы ни была его спеціальность, такъ какъ безъ такого знакомства невозможно осмысленное отношеніе ни къ вопросамъ діагностики и терапіи большинства болѣзней, ни къ вопросамъ профилактики и гигиены. Между тѣмъ официальныя программы и постановка преподаванія въ университетахъ, всегда значительно отстающія отъ хода науки, и въ этомъ отношеніи оказываются неудовлетворительными: обязательное преподаваніе бактериологіи существуетъ далеко не во всѣхъ университетахъ, а тамъ, гдѣ оно есть, оно не обставлено такъ, какъ этого требуетъ важность пред-

мета. Нѣтъ у насъ и правильныхъ специальныхъ курсовъ для врачей, которые позволяли бы пополнить пробѣлы университетскаго образованія. Въ Западной Европѣ курсы эти широко распространены, и однимъ ихъ успѣхъ служить достаточнымъ доказательствомъ того, что они отвѣчаютъ дѣйствительной жизненной потребности. У насъ же такіе курсы, если не считать Петербурга, устраиваются крайне рѣдко, и только въ моментъ ожиданія холерной эпидеміи получили болѣе широкое распространеніе; миновала гроза, и о нихъ опять забыли.

Такимъ образомъ, врачи, желающіе ознакомиться съ бактериологіей, предоставлены своимъ собственнымъ силамъ. Поскольку дѣло касается теоретическихъ свѣдѣній, задача сравнительно проста, но этимъ ограничиться нельзя; необходимо еще и знаніе хотя бы элементарныхъ основъ техники и методики изслѣдованія какъ для правильной оцѣнки теоретическихъ данныхъ, такъ и для того, чтобы въ каждомъ конкретномъ случаѣ быть въ состояніи, по крайней мѣрѣ, поставить бактериологу-специалисту соответствующую задачу, послать для изслѣдованія соответствующій матеріалъ, если самостоятельное рѣшеніе вопроса является почему-либо непосильнымъ. Для приобрѣтенія такихъ практическихъ знаній необходима работа въ лабораторіи и, хотя бы при первыхъ шагахъ, содѣйствіе болѣе или менѣе опытнаго руководителя. Поэтому вполне помочь дѣлу можетъ только измѣненіе университетскихъ программъ и устройство вышеупомянутыхъ специальныхъ курсовъ для врачей; надо надѣяться, что и то и другое теперь уже не заставятъ себя долго ждать. Но пока этого нѣтъ; мало того, и въ нашей медицинской литературѣ мы наталкиваемся въ этомъ отношеніи на существенный пробѣлъ—отсутствіе хорошаго чисто-практическаго руководства. Переводъ небольшой, но содержательной книжки R. Abel'я является поэтому вполне своевременнымъ и желатель-

нымъ. То обстоятельство, что въ Германіи, гдѣ медицинская литература чрезвычайно (пожалуй даже слишкомъ) богата, руководство Abel'я выдержало 10 изданій\*), служить ему достаточной рекомендаціей. Въ самомъ дѣлѣ, R. Abel, пользуясь результатами своего обширнаго опыта въ области бактериологическихъ изслѣдованій и въ веденіи практическихъ работъ, даетъ въ краткой, но ясной формѣ описаніе наиболее употребительныхъ техническихъ приѣмовъ и притомъ описаніе чисто практическаго характера, гдѣ обращено вниманіе на всѣ детали, необходимыя для успѣшнаго выполненія того или иного приѣма, указаны важнѣйшіе источники ошибокъ, затрудненій и т. д. Изложеніе отличается строгой послѣдовательностью и систематичностью. Языкъ статей, часто переходящій въ языкъ рецептныхъ формулъ, не можетъ, конечно, отличаться литературными достоинствами и при чтеніи производить скорѣе непріятное впечатлѣніе своей отрывистостью и отсутствіемъ связи между отдѣльными предложеніями; но, если читать описаніе того или иного техническаго приѣма, продѣлывая его на практикѣ, то такой языкъ оказывается особенно удобнымъ и цѣлесообразнымъ, подчеркивая и выдѣляя каждую деталь, имѣющую значеніе для успѣха данной операціи.

Теоретическаго обоснованія и объясненія описываемыхъ методовъ и приѣмовъ изслѣдованія авторъ не даетъ: ихъ изложеніе увеличило бы объемъ книги и нарушило вмѣстѣ съ тѣмъ единство изложенія. Само собою разумѣется, однако, что для осмысленнаго отношенія къ дѣлу необходимо или равнѣ быть осведомленнымъ относительно теоретическихъ данныхъ, или же ознакомиться съ ними ad hoc по к-л руково-дству, прежде чѣмъ приступать къ выполненію той или иной практической задачи.

\*) У насъ въ Россіи бытъ свѣдѣтъ 5 дѣтъ тому назадъ переводъ 6-го изд. Abel'я. Но бактериологія и бактериологическая техника такъ быстро идутъ впередъ, что и оригиналь и переводъ для нынѣшняго времени слишкомъ устарѣли: многіе отдѣлы значительно переработаны, введены новые методы и т. д.

Исчерпывающей предметъ книга Abel'я не можетъ считаться—въ ней изъ огромнаго количества чуть ли не ежедневно предлагаемыхъ способовъ изслѣдованія приведены только тѣ, удобопримѣнимость и надежность которыхъ доказана практикой. Желаящему изучить к.-л. вопросъ спеціально придется, конечно, обращаться къ источникамъ (которые частью указаны въ соответственныхъ мѣстахъ), но для рѣшенія обычныхъ вопросовъ читатель найдетъ здѣсь все необходимое и притомъ въ строго систематизированномъ видѣ; въ сложныхъ случаяхъ (напр. распознаваніе первыхъ случаевъ холеры, тифа etc.), порядкомъ изслѣдованія изложены согласно правиламъ, выработаннымъ спеціальными германскими комиссіями и носящимъ такъ сказать официальный характеръ.

Въ общемъ руководство Abel'я смѣло можетъ быть рекомендовано въ качествѣ пособия при практическихъ работахъ какъ студентамъ и врачамъ, проходящимъ практическіе курсы въ лабораторіяхъ, такъ и тѣмъ, которые, располагая к.-л. лабораторной обстановкой, пожелаютъ самостоятельно изучить элементарную бактериологическую технику и примѣнять ее для рѣшенія простѣйшихъ практическихъ задачъ. Не безполезна она и для спеціалиста, какъ справочная книжка.

Прив. доц. *Л. Тарасевичъ.*

## Предисловіе къ 15-му нѣмецкому изданію.

15-е изданіе, снова отдѣленное промежуткомъ меньше одного года отъ предыдущаго значительно увеличеннаго, не содержитъ никакихъ существенныхъ измѣненій, тѣмъ не менѣе въ немъ сдѣланъ рядъ улучшеній и дополненій, состоящихъ въ изложеніи новыхъ способовъ. Въ этомъ изданіи по прежнему оставленъ въ силѣ основной принципъ излагать лишь тѣ методы изслѣдованія, которые оказались вполне пригодными на практикѣ. Какъ и раньше, опущено по возможности описаніе тѣхъ способовъ, которымъ нельзя научить и научиться въ учебномъ курсѣ и которые могутъ примѣняться лишь въ богато обставленныхъ лабораторіяхъ. На недостаточно еще испытанные, но заслуживающіе вниманія новые и сложные способы все-таки обращено вниманіе хотя бы путемъ указанія соответственной литературы. При описаніи нововведенныхъ способовъ приложены также литературныя указанія въ тѣхъ случаяхъ, гдѣ по положенію вещей можетъ представиться для читателя необходимость обращенія къ источникамъ.

И на сей разъ было рѣшено не помѣщать спеціальныхъ отдѣловъ о реакціяхъ иммунитета и о сывороточныхъ реакціяхъ, такъ какъ безъ приведенія примѣровъ нельзя уяснить ихъ сложную технику. Въ виду этого мнѣ казалось лучшимъ изложить отдѣльные способы изслѣдованія въ тѣхъ мѣстахъ, гдѣ они особенно важны практически, напр., реакцію Pfeiffer'a и агглютинацію въ отдѣлахъ о тифозныхъ бактеріяхъ

и о холерныхъ вибрионахъ; читателю послѣ этого легко будетъ примѣнить данные способы и въ другихъ случаяхъ. Изложеніе техники изслѣдованія опсонинъ также не было сдѣлано, такъ какъ весь вопросъ об опсонинахъ еще слишкомъ мало выясненъ, чтобы имѣть право войти въ предвѣщенное для практической работы краткое руководство.

Начинающему рекомендуется раньше, чѣмъ приступить къ выполненію опредѣленнаго приема изслѣдованія, каждый разъ предварительно прочитывать весь соответственный отдѣлъ, чтобы не получить ошибочныхъ результатовъ влѣдствіе удущенія общихъ предписаній и правилъ.

Указанія относительно того, какъ работать въ лабораторіи при помощи лишь простѣйшихъ средствъ даны въ небольшой книжкѣ R. Abel'я и M. Ficker'a „Über einfache Hilfsmittel zur Ausführung bacteriologischen Untersuchungen“, Würzburg, Curt Kabitzsch (A. Stuber'a 2 Auflage. \*).

Я сердечно благодаренъ проф. Krause въ Боннѣ, проф. Ficker'у, Lentz'у и д-ру Steffenhagen'у въ Берлинѣ за цѣнныя указанія относительно переработки новаго изданія.

Надѣюсь, что и новое изданіе встрѣтитъ столь же любезный приемъ, какъ и предыдущія.

*Dr. Rudolf Abel.*

Berlin, Іюнь 1911.

## Оглавленіе.

Предисловіе . . . . .	V
I. Микроскопъ . . . . .	1
II. Стерилизація и дезинфекція . . . . .	9
III. Питательныя среды. Общія свѣдѣнія . . . . .	14
IV. Техника разводокъ. Общія свѣдѣнія . . . . .	29
V. Методы окрашивания. Общія свѣдѣнія . . . . .	53
VI. Особыя питательныя среды и методы разводокъ и окраски:	
Палочекъ сибирской язвы . . . . .	82
Вациллъ туберкулеза . . . . .	84
Палочекъ смегмы . . . . .	92
Палочекъ проказы . . . . .	93
Палочекъ сапа . . . . .	94
Стрептобациллъ мягкаго шанкра . . . . .	95
Палочекъ дифтеріи . . . . .	96
Палочекъ инфлюэнцы . . . . .	101
Палочекъ тифа . . . . .	103
Палочекъ дизентеріи . . . . .	108
Кишечной палочки . . . . .	126
Холерныхъ вибрионовъ . . . . .	127
Палочекъ бубонной чумы . . . . .	135
Палочекъ столбняка . . . . .	136
<i>Bacillus botulinus</i> . . . . .	137
Синегнойной палочки . . . . .	137
Гноеродныхъ стафило-и стрептококковъ . . . . .	137
Пневмококковъ . . . . .	138
Менингококковъ . . . . .	139

\*) Книжка эта переведена на рус. яз. д-ромъ И. Степановымъ и издана „Сотрудникомъ“—ц. 30 коп.



Гонококковъ . . . . .	141
Лучистаго грибка . . . . .	145
Дрожжевыхъ грибовъ и грибка молоч- ницы . . . . .	147
Плѣсневыхъ и другихъ грибовъ . . . . .	148
Амебъ . . . . .	150
Плазмодій болотной лихорадки . . . . .	151
Трипанозомъ . . . . .	154
Сифилитическихъ спирохетъ . . . . .	155
Спирохетъ возвратнаго тифа . . . . .	164
Тѣлецъ собачьяго бѣшенства . . . . .	164
VII. Добыв. изъ тѣла матерьяла для изслѣд. . . . .	166
VIII. Прививка животнымъ и вскрытіе . . . . .	171
IX. Бактер. изслѣдов. воды, воздуха и почвы . . . . .	180
X. Методы сохраненія препаратовъ, культуръ и органовъ животныхъ . . . . .	187

## I.

## Микроскопъ.

При бактериологическихъ работахъ, чтобы ориентироваться въ микроскопическихъ препаратахъ и ознакомиться съ характеромъ колоній той или иной бактерии, пользуются сухой системой; для изслѣдованія же самихъ бактерий—иммерсионной,

При употребленіи иммерсии на чистую верхнюю поверхность покровнаго стеклышка (наибольше употребительны стекла квадратной формы въ 18 мм. и не болѣе 0,16 мм. толщины) стеклянной палочкой наносится капля иммерсионной жидкости (сгущенное кедровое масло, а не жидкое, употребляемое для просвѣтленія сръзовъ). Затѣмъ, вѣблюдая сбоку, опускаютъ трубу микроскопа до тѣхъ поръ, пока объективъ не погрузится въ иммерсионную жидкость. Тогда изслѣдующій, глядя въ микроскопъ, опускаетъ его трубу рукой или же макрометрическимъ винтомъ, гдѣ таковой имѣется, пока не увидитъ расплывчатое изображеніе предмета; точная установка достигается употребленіемъ микрометрическаго винта.

Бактеріи изслѣдуются на а) неокрашенныхъ и б) окрашенныхъ препаратахъ.

а) Неокрашенные препараты служатъ для изученія живыхъ микроорганизмовъ и приготавливаются въ формѣ  
Бактеріологія.

мъ висячей капли (освѣщеніе темнаго поля и способъ съ тушью см. стр. 6).

На средину чистаго покровнаго стеклышка, положеннаго на край предметнаго столика микроскопа или захваченнаго пинцетомъ Coignet, прокаленной платиновой петлей наносится капелька стерильнаго физиологическаго (0,7—0,8%) раствора поваренной соли (бульона, пептонной воды или конденсационной агаровой см. стр. 17 и 21), и уже въ нее платиновой иглой переносятъ частицу (не слишкомъ много!) содержащаго бактеріи матерьяла; если изслѣдованію подлежитъ жидкость не слишкомъ богатая бактеріями, въ такомъ случаѣ на покровное стеклышко наносятъ непосредственно капельку этой жидкости. Затѣмъ покровное стеклышко накладываютъ на предметное съ углубленіемъ посрединѣ такъ, чтобы капля свисала свободно въ углубленіе предметнаго стекла. Окружность углубленія должна быть смазана вазелиномъ. Покровное стеклышко необходимо кругомъ плотно прижать къ вазелину для того, чтобы капля находилась въ совершенно закрытомъ пространствѣ. Въ противномъ случаѣ въ каплѣ образуются отъ испаренія точки жидкости, которые вызываютъ перемѣщеніе бактерій, что легко можетъ симулировать подвижность этихъ послѣднихъ; кромѣ того, при болѣе долгомъ сохраненіи такая капля высыхаетъ. (Изслѣдованіе въ висячей каплѣ имѣетъ то преимущество передъ обыкновеннымъ способомъ изслѣдованія съ помѣщеніемъ матерьяла между покровнымъ и простымъ предметнымъ стеклами, что капля, находясь въ замкнутой камерѣ, защищена отъ испаренія; кромѣ того она не можетъ запачкать или инфицировать руки и инструменты).

Для изслѣдованія капли устанавливаются сначала при узкой діафрагмѣ и слабомъ объективѣ стекло такимъ образомъ, чтобы край капли пришелся какъ разъ въ центрѣ поля зрѣнія. При замѣнѣ сухаго объектива иммерсионнымъ (само собою разу-

мѣется, линзы объектива должны быть точно центрированы, какъ это обыкновенно и бываетъ) край капли долженъ снова оказаться въ центрѣ поля зрѣнія, что облегчаетъ нахожденіе его. На покровное стеклышко (не сдвигая препарата) наносятъ каплю кедроваго масла и ставятъ болѣе широкую діафрагму. (Подробности см. на стр. 4. Освѣщеніе). Трубу микроскопа опускаютъ до погруженія объектива въ масло, послѣ чего, смотря въ микроскопъ, продолжаютъ опускать ее медленно и съ большой осторожностью, под конецъ только съ помощью микрометрическаго винта, пока не увидятъ край капли. Вполнѣ цѣлесообразно при этомъ чуть-чуть передвигать рукой по различнымъ направленіямъ предметное стекло; это позволяетъ сейчасъ же замѣтить, если слишкомъ низко опущенный объективъ давитъ на покровное стекло и грозитъ раздавить его; кромѣ того, край капли (появляющейся въ видѣ тѣни при установкѣ объектива), какъ и всякій другой предметъ, легче увидѣть, если онъ движется. Снаружи отъ края капли замѣтна тонкая съточка — капельки осѣвшихъ вокругъ капли на нижней поверхности покровнаго стеклышка водяныхъ паровъ. При умѣнши обращать съ иммерсией каплю находить быстро. Начинающіе могутъ прибавить къ ней для своего облегченія минимальное количество сильно разведеннаго раствора фуксина; красящіе растворы въ очень незначительномъ количествѣ не вредятъ бактеріямъ. Ищутъ край капли потому, что его очертанія воспринимаются глазомъ легче, чѣмъ содержимое капли. Подвижныя бактеріи охотно и быстро собираются у края, благодаря происходящему здѣсь обмѣну газомъ между воздухомъ и жидкостью. При приготовленіи капли нельзя пользоваться дистиллированной водой, такъ какъ эта послѣдняя вредно вліяетъ на подвижность микроорганизмовъ. Равнымъ образомъ культуры, взятая изъ термостата съ  $t^{\circ}$  въ  $37^{\circ}$ , необходимо изслѣдовать

въ нѣсколько подогрѣтой жидкости, чтобы бактеріи въслѣдствіе охлажденія не потеряли подвижности. Слѣдуетъ остерегаться смѣшенія Броуновскаго молекулярнаго движенія (дрожательное движеніе вперед и назадъ) съ активной подвижностью (перемѣна мѣста, ускользаніе изъ поля зрѣнія и т. д.)! Чтобы быть повсюду доступной изслѣдованію съ иммерсіей, капля должна быть по возможности плоской. (Въ слишкомъ большихъ капляхъ глубже лежащія части остаются внѣ фокуса иммерсеи).

Стерилизуя покрывное стеклышко на огнѣ и приготавливая каплю изъ жидкой или разжиженной прозрачной питательной среды, получаемъ своего рода аппаратъ для культуры, гдѣ глазомъ можно слѣдить за развитіемъ бактерій, прибѣгая, въ случаѣ необходимости, къ предметному столику или къ микроскопу съ нагрѣваніемъ.

По окончаніи изслѣдованія покрывныя стекла снимаются съ предметныхъ, причемъ капля не должна коснуться предметнаго стекла: для этого сдвигаютъ одинъ уголь ихъ надъ краемъ предметнаго стекла, захватываютъ этотъ уголь пинцетомъ, употребляемымъ при окрашиваніи, снимаютъ покрывное стекло съ предметнаго, приподымая его, а не путемъ стягиванія и погружаютъ въ неочищенную сѣрную кислоту для уничтоженія бактерій. Предметное стекло можетъ быть тотчасъ же употреблено для приготовленія новаго препарата, по окончаніи же работы вазелинъ удаляютъ пропускной бумагой, а стекло вытираютъ смоченнымъ въ бензинѣ платкомъ.

б) Относительно приготовленія окрашенныхъ мазковъ и срѣзовъ см. стр. 53 и слѣд.

### Освѣщеніе микроскопическаго изображенія.

При изслѣдованіи капли для полученія контурнаго (зависящаго отъ разницы въ показателяхъ

преломленія) изображенія употребляютъ вогнутое зеркало и узкую діафрагму (или мало раздвинутую діафрагму-ирисъ). Чѣмъ сильнѣе объективъ, тѣмъ шире должна быть раскрыта діафрагма, при иммерсеи почти на половину. Употребленіемъ діафрагмы уничтожается дѣйствіе Аббеевскаго освѣтительнаго аппарата, такъ что нѣтъ надобности его удалять.

При изслѣдованіи окрашенныхъ препаратовъ для полученія абсорбціоннаго или окрашеннаго изображенія употребляютъ плоское зеркало безъ діафрагмы. При этомъ пускается въ ходъ Аббеевскій освѣтительный аппаратъ. Онъ устанавливается такимъ образомъ, чтобы отраженное имъ изображеніе источника свѣта падало какъ разъ въ то мѣсто, гдѣ находится подлежащій изслѣдованію препаратъ. Подниманіемъ и опусканіемъ трубы микроскопъ устанавливается такъ, чтобы изслѣдуемый препаратъ приходился въ фокусѣ при слабомъ увеличеніи и любомъ положеніи зеркала. Это послѣднее направляютъ на отдаленный предметъ (напр. домъ или дерево), а освѣтительный аппаратъ при покойномъ положеніи трубы передвигаютъ до тѣхъ поръ, пока одновременно съ изображеніемъ препарата не получится ясное изображеніе отраженнаго отъ зеркала предмета.

Въ этомъ положеніи и оставляется освѣтительный аппаратъ, зеркало же вмѣсто дома или дерева направляется на источникъ свѣта, находящійся на безконечно далекомъ разстояніи и не дающій собственнаго застилающаго изображенія, напр. на бѣлое облако. (Точная установка Аббеевскаго аппарата по описанному способу требуется не каждый разъ; обыкновенно для полученія хорошихъ результатовъ достаточно при отдаленномъ источникѣ свѣта установить аппаратъ возможно выше, при близкомъ нѣсколько опустить; — только при плохомъ освѣщеніи требуется вышеописанная точная установка). Дѣйствіе яркаго разсѣяннаго

свѣта смягчается вкладываніемъ въ діафрагму синеватаго стекла, завѣшиваніемъ оконъ и т. п.

Наилучшій источникъ искусственнаго свѣта электрической свѣтъ (матовая лампочка) или пламя свѣтильнаго газа. Можно пользоваться и керосиновой лампой, вкладывая въ діафрагму синее стекло или пропуская свѣтъ черезъ стеклянный шаръ или колбу, содержащія смѣсь мѣднаго купороса съ амміакомъ (къ темносинему раствору мѣднаго купороса прибавляютъ амміака до тѣхъ поръ, пока проходящій черезъ смѣсь свѣтъ отъ лампы при смотрѣніи въ микроскопъ не окажется совершенно бѣлымъ. Отвергіе шара закрываютъ пробкой). Если при близкомъ источникѣ свѣта изображеніе его мѣшаетъ изслѣдованію препарата, то и для окрашенныхъ препаратовъ пользуются вогнутымъ зеркаломъ, или же послѣ точной установки изображенія источника свѣта приподымаютъ слегка Аббеевскій аппаратъ.

Способъ т. н. освѣщенія темнаго поля (Dunkelfeldbeleuchtung), при которомъ на темномъ фонѣ ярко освѣщаются мельчайшіе предметы, даетъ блестящіе результаты при отыскиваніи живыхъ сифилитическихъ спирохетъ и пригоденъ также для наблюденія жгутиковъ у живыхъ бактерій. вмѣсто спеціальнаго микроскопа (ультра-микроскопъ) пользуются для этой цѣли зеркальнымъ конденсоромъ (Reicher, Leitz) или параболическимъ конденсоромъ (Zeis'sa), въ качествѣ источника свѣта, который долженъ быть особенно сильнымъ, можно съ успѣхомъ пользоваться лампой Nernst'a или ручной дуговой лампой.

Точно также представляются блестящими на черномъ фонѣ бактеріи и т. п. въ капелькахъ разведенной туши, приготовленныхъ по описанному на стр. 36 способу Виггі.

**Чистка микроскопа.** При удаленіи изъ подъ микроскопа разсматриваемаго съ иммерсіей препарата необходимо прежде всего поднять трубу микроскопа, чтобы,

вынимая препаратъ, не поцарапать линзы объектива.

По окончаніи работы иммерсіонная жидкость удаляется съ линзы тонкой пропускной бумагой, сама же линза вытирается замшей. Если бы линза оказалась запачканной засохшимъ масломъ, канадскимъ балзамомъ или чѣмъ-либо подобнымъ, ее, какъ и всякую другую, вытираютъ замшей или тонкой пропускной бумагой, смоченными въ ксилолъ, бензинъ и т. п. Необходимо осторожность, такъ какъ эти вещества при продолжительномъ воздѣйствіи могутъ испортить оправу линзы. Микроскопъ долженъ быть защищенъ отъ дѣйствія свѣта и пыли (его накрываютъ темнымъ стекляннымъ колоколомъ или картоннымъ колпакомъ или же ставятъ его въ ящикъ). Если объективъ не отвинчивается, между нимъ и Аббеевскимъ аппаратомъ во избѣжаніе непосредственнаго соприкосновенія кладется тонкая чистая пропускная бумага.

**Сохраненіе препаратовъ** см. стр. 56, 61 и отд. VIII.

**Чистка покровныхъ стеклышекъ:** 1. Новыя очищаются смѣсью спирта съ эфиромъ  $\frac{1}{10}$ , ксилоломъ или бензиномъ, а затѣмъ тонкимъ полотнянымъ платкомъ и пропускной бумагой. Нанесенная на стекло капля воды должна расплываться по нему равномерно; въ случаѣ неудачи чистятъ сызнова или же поступаютъ какъ съ бывшими въ употребленіи. Нагрѣваніе надъ пламенемъ разложенныхъ на желѣзномъ листѣ стеклышекъ часто облегчаетъ ихъ чистку, а въ нѣкоторыхъ случаяхъ можетъ ее совершенно замѣнить.

2. Бывшія въ употребленіи. а) По окончаніи изслѣдованія бросаютъ стеклышки въ стаканъ съ неочищенной сѣрной кислотой; вмѣстѣ съ кислотой переносятъ въ широкую фарфоровую чашку, кислоту сливаютъ; промываютъ въ нѣсколькихъ водахъ, кипятятъ въ крѣпкомъ растворѣ ѣдкаго кали или поташа, снова прополаскиваютъ водой, въ дальнѣйшемъ поступаютъ какъ съ новыми:

в) По способу Zettnow'a:

1. Стеклышки кипятятъ, помѣшивая, 10 минутъ въ слѣдующемъ растворѣ: 200,0 двухромокислаго калия, раствореннаго въ 2 литрахъ горячей воды + 200 куб. сантиметровъ неочищенной сѣрной кислоты.

2. Сливаютъ жидкость и промываютъ стекла въ теченіе 5 минутъ въ слабомъ растворѣ ѣдкаго натра. Повторить объ процедуры (1-ую только 5 минутъ). Прополоскать водой, перенести въ спиртъ, очистить.

## II.

### Стерилизація и дезинфекція.

Посуда, инструменты, питательныя среды, употребляемая для приготовленія культуръ микроорганизмовъ, должны быть свободны отъ всякихъ зародышей, такъ какъ эти послѣдніе, развиваясь одновременно съ посѣянными, могли бы загрязнять культуры и вводить въ заблужденіе.

Должно придерживаться слѣдующихъ правилъ.

1. Болѣе мелкіе предметы, какъ платиновыя иглы, скальпели, ножницы, пинцеты, стеклянныя палочки—стерилизуются на огнѣ; платина доводится до краснаго каленія; всѣ остальные предметы не прокаливаются, части же ихъ, приходящія въ соприкосновеніе съ содержащимъ бактеріи матеріаломъ, оставляются въ пламени по меньшей мѣрѣ секунды двѣ.

Металлическіе инструменты отъ прокаливанія тупѣютъ и тускнѣютъ, ихъ лучше стерилизовать по способу 2 или 3. Только инструменты изъ сплава платины съ иридеемъ (дороги!) несмотря на частое прокаливаніе остаются острыми (хороши для перевивки твердыхъ и вязкихъ разводокъ—actinomyces, грибки—, также для полученія крови). Въ случаѣ надобности можно стерилизовать огнемъ стеклянныя лопатки, пробирки (до начала побурѣвія находящихся въ нихъ ват-

ных пробок), стеклянные чашечки, пипетки, части шприца (если в них нет ничего портящегося от огня).

2. Все более крупные предметы, переносящие с ухой жаръ, а сюда относятся стеклянные вещи, вещи из металла (только не спаянные!), вата, пропускная бумага—стерилизуются в сушильном шкафу в течение  $\frac{1}{2}$  часа при  $150^{\circ}$ — $200^{\circ}$ . Вату нельзя нагревать выше  $180^{\circ}$ , так как она бурфет и распадается; то же и с пропускной бумагой, которая также бурфет.

3. Предметы, не переносящие сухого жара, но не изменяющиеся при кипячении, стерилизуются нагретым паромъ. Сюда относятся резиновые вещи, жидкости и питательные среды, кроме содержащих свертывающийся бѣлокъ. В большинствѣ случаевъ достаточно пребывания в текучемъ парѣ при  $100^{\circ}$  отъ  $\frac{1}{4}$  до  $\frac{1}{2}$  часа. Большая количества жидкости нужно оставлять дольше (до 1 часа), чѣмъ меньшая, так как нагревание ихъ до  $100^{\circ}$  требуетъ большого количества времени (наполненная жидкостью литровая колба надо, следовательно, кипятить дольше пробирокъ!). Если питательный материалъ содержитъ способность къ сопротивленію споры, то или подвергаютъ его дѣйствию текучаго пара три дня подрядъ ежедневно отъ  $\frac{1}{4}$ —1 часа, в промежуткахъ же оставляютъ при  $t^{\circ}$  отъ  $20$ — $37^{\circ}$  (ждутъ, чтобы споры проросли и чтобы происшедшія изъ нихъ вегетативныя формы были убиты слѣдующимъ кипяченіемъ); или же стерилизуютъ в автоклавѣ при  $t^{\circ}$  до  $130^{\circ}$  и при соответствующемъ давленіи (последній способъ имѣетъ то преимущество, что не приходится ждать окончания стерилизации нѣсколько дней; зато при стерилизации желатинъ можно къ нему прибѣгать лишь съ большой осторожностью, так как изменяется ея способность затвердѣвать; для молока и другихъ содержащихъ сахаръ питательныхъ средъ имъ можно пользоваться лишь съ осторожностью (см. питательныя среды в отдѣльности) в

виду возможности появленія бурога окрашиванія. Температура в  $130^{\circ}$  убиваетъ всеѣхъ зародышей в 1 минуту,  $t^{\circ}$  в  $120^{\circ}$  должна дѣйствовать 10—15 минутъ.

Хирургическіе инструменты кипятятся в теченіи 15 минутъ в 1—5% растворѣ соды (вполнѣ цѣлесообразнымъ является аппаратъ Шимельбуша).

4. Вещества, не переносящая ни сухого жара, ни кипяченія (сыворотка, яичный бѣлокъ и пр.) могутъ:

а) быть приготовлены стерильными (ср. приг. кровяной сыворотки стр. 22) или

б) быть подвергнуты дробной стерилизаціи при  $56$ — $60^{\circ}$  ежедневно отъ 1—4 часовъ вѣскольکو (до 8) дней подрядъ, в промежуткахъ же оставляются при  $t^{\circ}$  в  $20$ — $37^{\circ}$  (основанія къ тому изложены на предыдущей страницѣ в пунктѣ 3-мъ). Способъ этотъ, однако, не вполнѣ надеженъ, так как для нѣкоторыхъ микроорганизмовъ  $t^{\circ}$  в  $60^{\circ}$  является именно оптимумомъ развитія и такъ какъ не все споры успеваютъ прорости между двумя нагреваніями, а в нѣкоторыхъ случаяхъ могутъ образоваться новыя.

в) Подобныя вещества могутъ быть обезпложены фильтраціей черезъ фильтры Chamberland'a, Berkefeld'a, Pukall'a, Isnu при одновременномъ употребленіи водно-воздушнаго насоса. Бѣлокъ содержащая жидкости трудно фильтруются (легче при подогреваніи). Способъ этотъ находитъ себѣ успешное примѣненіе при отдѣленіи продуктовъ жизнедѣятельности бактерій отъ бактерійныхъ тѣлъ.

Стерилизація сыворотки и пр. см. ниже стр. 21 и сл.

5. Для нѣкоторыхъ предметовъ (резина) примѣнимъ слѣдующій, хотя и не всегда надежный методъ: обмываніе 5‰-ымъ растворомъ сулемы, затѣмъ смѣсью спирта съ эфиромъ  $\overline{aa}$ . Въ подходящихъ случаяхъ остатокъ смѣси удаляютъ обжиганіемъ.

6. Если нужно только убить бактеріи, напр. при дезинфекціи бывшихъ в употребленіи пробирокъ, лучше всего пользоваться 1‰ растворомъ сулемы съ

прибавкой 1% HCl или NaCl. Пробирки съ культурами, по минованіи въ нихъ надобности, обезвреживаются 1—2 часовымъ кипяченіемъ въ водѣ или текучимъ паромъ. Загрязненныя бактеріями руки основательно моютъ растворомъ еулемы 1:1000 или крезоловаго мыла 1:100, затѣмъ щеткой съ водой и мыломъ, снова свѣжимъ дезинфицирующимъ растворомъ и еще разъ въ водѣ.

NB: Въ первой водѣ, равно и на щеткахъ могутъ иногда попасться еще живыя бактеріи, почему въ случаѣ надобности ихъ (воду и щетки) обеззараживаютъ! — Обезвреживаніе труповъ животныхъ см. X гл.

### III.

## Питательныя среды. — Общія свѣдѣнія.

Основной употребительнѣйшихъ питательныхъ средъ для микроорганизмовъ является

### мясная вода.

1. 500 g. мелко изрубленнаго (по возможности безъ жира) бычачьяго или конскаго мяса вымачиваютъ  $\frac{1}{2}$  часа въ литрѣ обыкновенной воды при  $t^{\circ}$  около 50°, затѣмъ варятъ отъ  $\frac{1}{2}$ — $\frac{3}{4}$  часа (ср. стр. 17 пунктъ 1).

2. Жидкую часть отфильтровываютъ или сливаютъ (послѣ отстаиванія), доливаютъ воды до литра и переливаютъ въ заткнутую ватой колбу.

Изъ полученной такимъ образомъ мясной воды приготавливаютъ питательный бульонъ, питательную желатину и питательный агаръ.

При необходимости сохранять воду, ее кипятятъ въ текучемъ парѣ три дня подрядъ по  $\frac{1}{2}$  часа или одинъ разъ 15 минутъ въ автоклавѣ при 120°.

### Питательный бульонъ.

1. Къ мясной водѣ прибавляютъ пептонъ (лучше всего Witte—Rostock или Chapoteaut-Paris или соб-

ественпоручно изготовленный по Martin'y) (Ann. Post. т. 12 стр. 26) отъ 1 до 5% и  $\frac{1}{2}$ % поваренной соли. Для роста нѣкоторыхъ бактерій полезно добавить отъ 0,1—1% винограднаго сахара. (Сахаръ прибавляется къ концу приготовления бульона, такъ какъ при слишкомъ долгомъ кипяченіи образуется карамель, слѣдствіемъ чего является побурѣніе питательной среды, см. также стр. 10, № 3. Поэтому и лучше прибавлять къ готовому уже бульону необходимое количество стерилизованнаго 10%-аго раствора сахара).

2. Кипятятъ въ текущемъ парѣ до растворенія.

3. Нейтрализуютъ насыщеннымъ воднымъ (также 10% или нормальнымъ) растворомъ углекислаго (или двуфосфорнаго) натра или же 25% ѣдкаго натра. Нейтрализація закончена, когда чувствительная синяя лакмусовая бумажка перестаетъ краснѣть при обмакиваніи. (Для сравненія окраски бумажка смачивается водопроводной водой); красная при этомъ синѣетъ. При избыткѣ щелочи прибавляютъ по каплямъ фосфорную кислоту (также молочную или соляную). Незначительное перещелачиваніе (углекислымъ натромъ, а не ѣдкимъ) почти никогда не оказываетъ вреднаго вліянія (сравни. Питат. жел. стр. 15). Нейтрализація съ фенолфталеиномъ въ качествѣ индикатора изложена на стр. 18 въ § 4.

4. Кипятятъ на текущемъ парѣ  $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$  часа.

5. Фильтруютъ.— предѣляютъ реакцію фильтра, въ случаѣ надобности исправляютъ ее, снова кипятятъ и фильтруютъ. Если по охлажденіи фильтратъ не прозраченъ, фильтруютъ еще разъ или просвѣтляютъ, какъ при питательной желатинѣ,— см. ниже.

6. Стерилизуютъ въ колбѣ или разлитый по пробиркамъ два или три дня подрядъ по  $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$  часа ежедневно на водяной банѣ или же въ автоклавѣ по способу, изложенному на стр. 10, § 3.

## Питательная желатина.

1. Къ мясной водѣ прибавляютъ то же, что и при приготовленіи бульона, и сверхъ того еще 10%, а лѣтомъ 15% лучшей бѣлой желатины (свободной отъ  $SO_2$ !).

2—6. То же, что и при варкѣ бульона (см. выше). Если несмотря на правильную реакцію и плотный фильтр, фильтратъ не вполне прозраченъ, къ охлажденной до 50° желатинѣ прибавляютъ яичный бѣлокъ или 10—20 куб. сантим. выжатого на холоду изъ сырого мяса мясного соку, все это хорошенько взбалтываютъ, тщательно кипятятъ и фильтруютъ еще разъ.

При  $t^\circ$  въ 20—27° желатина остается твердой (см. ниже подробности), медленно разжижается при нѣсколько вышей  $t^\circ$ , при 35° разжиженіе идетъ быстро; разжиженная среда снова быстро застываетъ при  $t^\circ$  ниже 20. Желатину нельзя нагревать слишкомъ часто и долго; особенная осторожность требуется при помѣщеніи ея въ автоклавъ съ  $t^\circ$  выше 100° (она переноситъ однократное нагреваніе до 110° въ теченіе 15 минутъ), такъ какъ въ противномъ случаѣ страдаетъ ея застываемость.  $T^\circ$  разжиженія тѣмъ выше, чѣмъ рѣже и короче желатина нагревается. Для только что застывшей она всегда нѣсколько ниже, чѣмъ для той, что сохраняется твердой 24 часа и долѣе.

Питательная желатина съ особенно высокой  $t^\circ$  разжиженія по Forstery: въ литрѣ нагрѣтаго до 60° стерильнаго питательнаго бульона растворяютъ (въ маленькомъ котелкѣ) 100—150 гр. желатины. Въ продажѣ имѣется особая „твердая“ желатина. Прибавляется КОН до слабо-щелочной реакціи; дальнѣйшее подщелачиваніе достигается прибавкой  $Na_2CO_3$ . Затѣмъ прибавляется яичный бѣлокъ, и котелокъ ставится въ большую кастрюлю съ кипящей водой, желатина тщательно помѣшивается; спустя минуты три она нагрѣта до 98—99°. Котелокъ накрывается крышкой, кастрюля



вмѣстѣ съ нимъ оставляется на огнѣ минутъ 15. Фильтруется на нагрѣтой до  $60^{\circ}$  водяной воронкѣ, которая заранѣе стерилизуется вмѣстѣ съ фильтромъ, колбами и т. п. Вся желатина сливается въ одну колбу. Разливается по стерильнымъ пробиркамъ и нагрѣвается въ теченіе 20 минутъ (въ текучемъ парѣ). Быстро охлаждается перенесеніемъ въ холодную воду. Желатина годна къ употребленію и стерильна; спустя нѣсколько дней  $t^{\circ}$  ея разжиженія  $29-30^{\circ}$ , въ началѣ нѣсколько ниже. (Существенное въ методѣ—это кратковременность нагрѣванія желатины, см. выше). Для многихъ бактерій нужна слегка подщелоченная желатина. Прибавка 10—15 куб. сант. нормального раствора соды на литръ нейтральной желатины едва ли когда оказывается вредной. Нѣкоторыя бактеріи требуютъ еще большей щелочности (см. ниже);—10 куб. сант. нормального раствора соды соответствуютъ 5,3 куб. сант. 10% раствора обезвоженной соды или 14,3 куб. сант. 10% раствора кристаллической соды. 10% растворъ кристаллической соды содержитъ 3,7%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , нормальный растворъ соды—5,3%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ .

### Питательный агарь.

1. Къ мясной водѣ прибавляется то же, что и при приготовленіи бульона; кромѣ того  $1\frac{1}{2}-2\%$  мелко изрѣзаннаго или порошкообразнаго агарь агара. Въ виду трудной растворимости агара его слѣдуетъ класть часа за два до прибавленія остальныхъ веществъ, такъ какъ тогда онъ размягчается и скорѣе растворяется.

2. 3. 4. То же, что и при приготовленіи бульона (стр. 13).

Опредѣляютъ реакцію, въ случаѣ надобности исправляютъ ее.

5. Мутную, содержащую хлопья питательную среду необходимо профильтровать. Операция эта не

легко удается, фильтруютъ ли въ воронкѣ съ нагрѣваніемъ или на текучемъ парѣ. Лучше поэтому фильтровать сквозь вату: четверо сложенный кусокъ перевязочной ваты кладутъ въ воронку такъ, чтобы онъ выступалъ изъ-за ея края; воронку нагрѣвають въ теченіе часа въ текуче-паровомъ аппаратѣ и тотчасъ же выливають въ нее еще горячій агарь. Или, совершенно отказавшись отъ фильтраціи, тушатъ горѣлку парового стерилизатора и оставляютъ въ немъ на нѣкоторое время разжиженный агарь; при этомъ почти вся муть осѣдаетъ, верхніе же, прояснившіеся слои жидкости сливаютъ или перекачиваютъ сифономъ и, если возможно, просвѣтляютъ повторнымъ отстаиваніемъ. (Для этого очень удобны узкіе высокіе стеклянные цилиндры или бокалы; въ нихъ можно дать агару застыть, послѣ чего вытряхиваютъ и вырѣзываютъ непрозрачныя части).

6. То же, что при приготовленіи бульона (стр. 13).

Повторное кипяченіе не оказываетъ вреднаго вліянія на застываемость агара. Разжижается агарь при  $90-100^{\circ}$  и остается жидкимъ градусовъ до 40, при  $t^{\circ}$  еще болѣе низкой застываетъ очень быстро, почти внезапно. Застывшій агарь выделяетъ немного жидкости (такъ называемая конденсаціонная вода).

### Особые способы приготовленія бульона, желатины и агара.

1. Для приготовленія среды можно, безъ ущерба для ихъ питательности, употреблять мясную воду вчетверо слабѣе. Она можетъ быть приготовлена изъ мяса другихъ животныхъ (не только бычачьяго или конскаго); для этой цѣли могутъ служить плацента, бычачьи сѣменные железы (очень дешево!) и т. п. Можно также пользоваться жидкостью изъ паровыхъ стерилизаторовъ, устроенныхъ на бойняхъ для условно годнаго къ употребленію мяса.

Бактеріологія.



2. Мясную воду можно замѣнить 1—2% растворомъ Либиговскаго мясного экстракта (при этомъ прибавка соли излишня). Но приготовленные на немъ среды уступаютъ по качеству свареннымъ на мясной водѣ. Для изслѣдованія воды официально рекомендуетъ слѣдующимъ образомъ приготовленная желатина: растворяютъ 1 гр. экстракта Либига, 1 гр. пептона Витте, 0,5 гр. NaCl въ 100 гр. воды. Смѣсь эту кипятятъ  $\frac{1}{2}$  часа на водяной банѣ, остуживаютъ, отстаиваютъ и фильтруютъ. На 900 частей этого раствора прибавляютъ 100 частей желатины, по размягченіи и набуханіи желатины кипятятъ въ текучефаровомъ аппаратѣ не болѣе  $\frac{1}{2}$  часа. Къ горячему раствору прибавляютъ 4% водкѣй натрѣ: сначала большое количество, затѣмъ по каплямъ, пока синяя лакмусовая бумажка перестанетъ краснѣть. Четверть часа нагреваютъ на водяной банѣ, послѣ чего опредѣляютъ и исправляютъ въ случаѣ надобности реакцію. Прибавляютъ на литръ  $\frac{1}{2}$  части кристаллизованной невыѣтрившейся соды, кипятятъ на водяной банѣ  $\frac{1}{2}$ — $\frac{3}{4}$  часа, фильтруютъ. Разливаютъ въ стерильныя пробирки по 10 куб. сант. въ каждую (см. стр. 19), стерилизуютъ однократнымъ нагреваніемъ въ текучемъ парѣ въ теченіе 15—20 минутъ.

3. E. Merck-Darmstadt пустилъ въ продажу подъ именемъ Ragit-бульонъ и Ragit-агаръ порошки, изготовленные изъ бульона Maggi (зернистаго); прибавляя къ нимъ растворъ соды въ опредѣленномъ количествѣ и подвергая ихъ кипяченію, можно получить пригодныя питательныя среды, которыя могутъ быть использованы и для приготовленія различныхъ специальныхъ питательныхъ средъ (напр. для холерныхъ вибрионовъ и тифозныхъ бациллъ).

4. Примѣненіе лакмуса, какъ индикатора при нейтрализаціи, затруднительно, такъ какъ не легко опредѣлить, когда именно синяя бумажка перестаетъ краснѣть. Точнѣе, хотя и сложнѣе, употребленіе

въ качествѣ индикатора фенолфталеина: 5 куб. сант. питательной среды разводятъ въ колбочкѣ 45 куб. сант. свѣже приготовленной дистиллированной воды, нагреваютъ 3 минуты на пламени, къ смѣси прибавляютъ 1 куб. сант. раствора фенолфталеина (0,5 фенолфталеина растворяютъ въ 100 куб. сант. 50% спирта) и титруютъ  $\frac{1}{20}$ —нормальнымъ растворомъ NaOH или HCl до появленія отчетливаго свѣтлокраснаго окрашиванія жидкости. Теперь ко всему количеству питательной среды прибавляютъ въ соответствіи съ ея титромъ столько нормальнаго раствора NaOH или—HCl, чтобы реакція сдѣлалась нейтральной. Снова титруютъ по описанному выше способу пробную порцію (5 куб. сант.) среды и, въ случаѣ надобности, исправляютъ реакцію всего количества. Среду кипятятъ и снова испытываютъ ея реакцію. Если среда въ отношеніи фенолфталеина оказывается нейтральной или слегка щелочной, то въ отношеніи лакмуса щелочность ея выражена рѣзко, такъ какъ входящіеся въ питательномъ растворѣ пептоны и бифосфаты, нейтральные или щелочные для лакмуса, по фенолфталеину оказываются нейтральными или кислыми. Такъ какъ на основаніи опыта извѣстно, что наиболѣе пригодными для роста бактерій являются среды нейтральныя или слегка щелочныя по лакмусу, то къ нейтрализованнымъ по фенолфталеину необходимо добавитъ кислоты. Прибавляютъ 1,5% (до 2,5 %, отмѣтитъ сколько!) нормальной HCl, доводятъ до кипѣнія, фильтруютъ, стерилизуютъ и т. д.

5. Очищенный глицеринъ (2—8%)—прибавленный къ средѣ (особенно къ агару—глицериновый агаръ) передъ стерилизаціей, въ вѣкоторыхъ случаяхъ дѣлаетъ ее болѣе пригодной (см. гл. V\* туб. бац.).

### Разливка и стерилизація средъ.

Передъ употребленіемъ новыя пробирки (длина 160 мм., діаметръ 16 мм.) вывариваются въ подки-

слепной (1—2% HCl) водѣ, такъ какъ иначе, выдѣляя при нагреваніи щелочъ, онѣ могутъ сдѣлать мутными и негодными къ употребленію содержащаяся въ нихъ среды. Лучше всего покупать пробирки изъ Йенскаго стекла (фирма Schott-Jena), которыя выдѣляютъ мало щелочи. Пробирки, бывшія въ употребленіи, кипятятся въ водѣ или на текущемъ парѣ: Ихъ тщательно вычищаютъ щеткой, высушиваютъ, закрываютъ каждую туго скрученной, выстоящей нѣсколько надъ отверстиемъ ватной пробкой сант. въ 3 длины и стерилизуютъ въ сушильномъ шкафу, какъ указано на стр. 10 пунктъ 2 (можно не подвергать предварительной стерилизаціи тѣ пробирки, которыя должны снова стерилизоваться вмѣстѣ съ разлитой по нимъ питательной средой).

Для разливки на нижній конецъ воронки надѣвается каучуковая трубка, въ нее вставляется короткая стеклянная; верхняя часть воронки закрывается стеклянной чашечкой—все это стерилизуется текучимъ паромъ. При помощи этого аппарата, резиновая трубка котораго снабжена зажимомъ, въ каждую пробирку наливаютъ около 5 куб. сант. Такимъ способомъ разливки предотвращается наступающее при обыкновенномъ наливаніи загрязненіе верхняго края пробирокъ, которое ведетъ къ прилипанію ватныхъ пробокъ, чего надо избѣгать.

Для разливки по пробиркамъ строго определенныхъ количествъ употребляется особая воронка (Трескова) или нижній конецъ градуированной бюретки короткой каучуковой трубочкой соединяется съ  $\wedge$  или  $\perp$  образной стеклянной; черезъ одно колѣно этой трубки, соединенное каучуковой трубкой съ вышестоящей колбой, жидкость вводится въ бюретку до черты 0 и дальнѣйшій притокъ ея прекращается закрытіемъ зажима; черезъ другое колѣно, къ которому приложена каучуковая трубочка съ зажимомъ и стекляннымъ наконечникомъ, выпускаются

опредѣленные количества среды. (Передъ стерилизаціей пробирокъ слѣдуетъ отмѣтить на нѣкоторыхъ уровень стоянія содержимаго, чтобы имѣть возможность провѣрить, не измѣняется ли его количество при стерилизаціи).

Наполненныя пробирки стерилизуются текучимъ паромъ (по правилу три дня подрядъ, по  $\frac{1}{4}$  часа ежедневно; если же пробирки и аппаратъ для разливки уже раньше стерилизовались, то достаточно однократнаго кипяченія въ теченіе  $\frac{1}{4}$  часа), агаръ и желатина оставляются для застыванія въ прямомъ положеніи или въ наклонномъ, причѣмъ конецъ пробирки съ ватной пробкой кладется на карандашъ, пробирку или что-нибудь подобное; растворъ не долженъ касаться ватной пробки, такъ какъ иначе послѣдняя впослѣдствіи пристаеетъ къ пробиркѣ!

### Пептонная вода.

Вмѣсто бульона часто употребляется 1—2% растворъ пептона (Witte-Rostock) съ прибавкой  $\frac{1}{2}$ —1% NaCl (на дистилл. или простой водѣ). Въ определенныхъ случаяхъ (индоловая реакція, стр. 48) добавляется 0.01%  $KNO_3$  и 0.02% кристаллической соды.

Стерилизація та же, что и для средъ съ мясной водой. (Среда эта вполне пригодна для разводки холерныхъ и родственныхъ имъ вибрионовъ, можетъ быть употреблена для тифозной и кишечной палочекъ; непригодна для дифтеритныхъ бациллъ).—Для изслѣдованія воды на опредѣленные бактеріи (см. *Vibrio chol.*) заранѣе заготавливаютъ въ колбахъ концентрированный стерильный растворъ пептона: пептона 10,0, NaCl 5,0, винограднаго сахара 10,0, Aquae 100,0 для разводки кишечной палочки (см. гл. IX), далѣе пептона и NaCl aa 10,0  $KNO_3$  0,1, кристаллической соды 0,2, Aquae 100,0 для разводки холерныхъ вибрионовъ (см. холерн. вибр.).

## Питательная среда из кровяной сыворотки.

Вытекающую при убой животнаго (волъ, баранъ, лошадь) изъ колотой на шеѣ раны кровь собираютъ въ большіе стеклянные цилиндры, предварительно промытые сулемой, спиртомъ и эфиромъ, и оставляютъ на 24 часа въ холодномъ мѣстѣ.

Выдѣлившаяся свѣтлая или слегка кровависто окрашенная сыворотка собирается стерильной пипеткой или сифономъ и разливается по стерилизованнымъ пробиркамъ (кровяной сгустокъ отдѣляется отъ стѣнокъ сосуда стерильной стеклянной палочкой спустя нѣсколько часовъ послѣ того, какъ кровь была собрана въ сосуды, чѣмъ облегчается выдѣленіе сыворотки).

Больше или меньше продолжительнымъ нагреваніемъ градусомъ до 70 сыворотка превращается въ прозрачную застывшую массу; пробирки укладываются въ косомъ положеніи въ специальныхъ аппаратахъ для свертыванія сыворотки.

Въ добытой такимъ образомъ сывороткѣ почти всегда содержатся очень стойкіе зародыши. Для получения пробирокъ съ сывороткой, свободной отъ зародышей, можно прибѣгнуть къ дробной стерилизаціи (см. стр. 11 § 4 б),—все же и этотъ способъ не вполне надеженъ.

Пробирки съ застывшей сывороткой помѣщаются въ термостатъ на 24 часа, послѣ чего проросшія выбрасываются (такихъ бываетъ 50% и больше). Или наполняютъ сывороткой аптечныя стеклянки, прибавляютъ хлороформа въ избыткѣ и закрываютъ резиновыми пробками; тутъ уже сыворотка оказывается безусловно обезпложенной, но только спустя нѣсколько мѣсяцевъ, а потому известное количество ея нужно держать въ запасѣ (хлороформъ испарить нагреваніемъ!). Обезпложеніе сыворотки фильтрованіемъ требуетъ хлопотъ и времени (см. стр. 11 § 4 с.).

Взять кровь такъ, чтобы въ нее не попали микроорганизмы—это самый надежный способъ; съ этой цѣлью оперируемому въ лабораторіи съ соблюденіемъ асептики барану или теленку вводится въ *carotis* стерилизованная канюля; при посредствѣ соединенной съ канюлей стерилизованной резиновой трубки кровь собирается въ стерильную колбу и обрабатывается въ дальнѣйшемъ по вышеописанному способу. При употребленіи въ качествѣ питательной среды жидкой кровяной сыворотки лучше всего добывать ее этимъ именно способомъ!—Небольшія количества крови отъ крупныхъ животныхъ можно добыть также съ помощью стерильной канюли, введенной чрезъ тщательно очищенную кожу въ яремную вену.

Въ большинствѣ случаевъ можно подвергнуть стерилизаціи свернувшуюся сыворотку, не обращая вниманія на недостатокъ прозрачности, которая и обычно бываетъ слабо выражена; стерилизуютъ сыворотку въ аппаратѣ для свертыванія въ теченіе трехъ дней ежедневнымъ получасовымъ нагреваніемъ до 95—98° (или же текучимъ паромъ при 100°, но тутъ нерѣдко верхняя поверхность среды становится неровной вслѣдствіе образованія пузырей). Осторожности ради пробирки передъ употребленіемъ оставляютъ на 24 часа при 37°, загрязненные (мутная конденсаціонная вода) не употребляются.

Вмѣсто пробирокъ для свертыванія сыворотки можно употреблять двойныя чашечки (чашечки Петри), причѣмъ стерилизація производится по вышеописанному способу. Неудобства такой разливки—быстрое высыханіе верхней поверхности сыворотки и частое загрязненіе микроорганизмами.

Добытая асептической пункцией жидкость изъ водяни живота, яичка или изъ яичниковой кисты, подобно сывороткѣ, можетъ быть подвергнута свертыванію или использована какъ жидкая питательная среда. (Реак-

ція ея иногда бываетъ сильно щелочной и должна быть всегда опредѣлена!.

(Добываніе кровяной сыворотки для реакцій см. отд. VIII).

### Кровяная сыворотка съ прибавкой бульона.

(Löffler'овская кровяная сыворотка).

Можно повысить питательность кровяной сыворотки, прибавляя (до разлики по пробиркамъ) къ тремъ-четыремъ частямъ ея одну часть слегка щелочного бульона (содержитъ 1% пептона, 1/2% поваренной соли и 1% винограднаго сахара). Свертываемость отъ этого не страдаетъ, только для достиженія хорошаго свертыванія требуется болѣе высокая  $t^{\circ}$  (90—95°).

### Кровяная сыворотка человѣка.

См. говококки п. 1 и 2 далѣе гл. VII.

### Кровяная сыворотка съ прибавленіемъ агарь-агара.

Нагрѣтая до 40—50° жидкая стерильная кровяная сыворотка смѣшивается съ жидкимъ остуженнымъ до 40—50° питательнымъ агаромъ (2—3% агарь-агара) въ равныхъ объемахъ или въ отношеніи 1:2. Смѣсь застываетъ при охлажденіи. Засѣвается она до застыванія и потомъ разливается по чашечкамъ (стр. 29—31) или же оставляется до застыванія въ наклонно положенныхъ пробиркахъ или въ чашечкахъ и потомъ засѣвается по поверхности (стр. 35). Точно такъ же готовится смѣсь водяночной жидкости изъ брюшной полости или *hydrocele* съ агаромъ (см. говококки пунктъ 3).

### Я и ц а.

Яичная скорлупа тщательно очищается намыленной щеткой, моется теплымъ 5% растворомъ суле-

мы и стерильной водой, обсушивается стерильной водой. Засѣваемый матерьяль впрыскивается черезъ продѣланное въ остромъ концѣ стерильной иголкой небольшое отверстіе; отверстіе это заливается сургучемъ или заклеивается стерильной бумагой и коллодиемъ. Среда эта плоха, такъ какъ часто бываетъ загрязнена.

Для заготовленія чашечекъ или пробирокъ со свернутымъ яичнымъ бѣлкомъ (съ желткомъ или безъ него) поступаютъ такъ: скорлупу стерилизуютъ, на обоихъ концахъ, яйца прокладываютъ по отверстію, содержимое выдуваютъ въ стерильныя чашечки или пробирки, помѣщаютъ ихъ въ аппаратъ для свертыванія сыворотки, гдѣ бѣлокъ свертывается и стерилизуется. Если хотятъ отдѣлнить бѣлокъ отъ желтка, стерилизованныя снаружи яйца разбиваютъ такъ, какъ это дѣлаютъ хозяйки.

### Картофель.

1. Разрѣзанныя пополамъ картофелины со шкуркой (Koch). Отборный салатный картофель тщательно моется щеткой подъ краномъ. Вырѣзываютъ ножомъ такъ называемые глазки и испорченныя части и оставляютъ картофель на 1/2 часа въ 1% омъ растворѣ сулемы. Послѣ этого его промываютъ водой, варятъ 3/4 часа на водяной банѣ и, вынувъ чистыми руками, разрѣзаютъ стерильнымъ ножомъ въ области наибольшаго діаметра. Обѣ половинки сохраняются во влажной камерѣ (большая двойная чашка со смоченной водой фильтровальной бумагой на двѣ) такъ, чтобы между ними не было соприкосновенія. Засѣвается центръ поверхности разрѣза.

На шкуркѣ встрѣчаются въ большомъ количествѣ переносящія кипяченіе споры; развываясь, онѣ быстро разрастаются по всему картофелю, почему и заслуживаютъ большаго предпочтенія два нижеописанныхъ способа, гдѣ берутъ очищенный картофель.

2. Разрѣзанный ломтиками картофелъ безъ шкурки.

Вымытый, какъ выше указано, картофель очищается отъ шкурки и варѣзывается ломтиками въ 1—2 см. вышины. Ломтики эти кладутъ въ стерильныя двойныя чашечки и стерилизуютъ паромъ (лучше всего въ теченіе часа при 110—120°, но при этомъ картофель бурѣетъ и сморщивается, или повторно по  $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$  часа при 100°).

3. Клинообразно вырѣзанный картофель безъ шкурки.

Картофель моютъ, оба полюса длинной оси его очищаются отъ шкурки; широкимъ сверломъ, представленнымъ къ очищенному отъ шкурки полюсу, въ направленіи длинной оси картофеля, вырѣзываютъ изъ него цилиндръ; цилиндръ этотъ косымъ разрѣзомъ дѣлится на 2 клина. Каждый клинъ, обращенный основаніемъ внизъ, помѣщаютъ въ стерильную пробирку, въ нижней части которой лежитъ кусокъ ваты или стеклянной трубочки (чтобы картофель не оставался въ выдѣляющейся изъ него послѣ варенія водѣ). Стерилизація какъ въ § 2.

4. Картофельная кашица. Растертый съ молокомъ или водой вареный картофель помѣщается въ Эрленмейеровскія колбы слоемъ до 1 см. и стерилизуется паромъ.

Картофель обладаетъ кислой реакціей. Его можно сдѣлать болѣе пригоднымъ для нѣкоторыхъ чувствительныхъ къ кислотѣ бактерій, если варить его въ 3%-омъ растворѣ NaCl или 1%-омъ Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (когда картофель сваренъ, растворъ осторожно сливается). Глицериновый картофель см. гл. V, туберк. бац.

## Х л ѣ б ъ .

Мелко растертый высушенный сѣрый хлѣбъ насыщается въ Эрленмейеровскія колбы, пока не закроетъ

ся дно, затѣмъ поливается водой до образованія густой кашицы. Стерилизуется текучимъ паромъ или, еще лучше въ автоклавѣ. Обладаетъ кислой реакціей и представляетъ хорошую среду для плѣсневыхъ грибовъ.

## М о л о к о .

Свѣжее, амфотерно реагирующее на лакмусъ, снятое (лучше всего центрофугированіемъ) молоко разливается въ пробирки и кипятится три дня подрядъ ежедневно отъ  $\frac{1}{2}$ —1 часа въ текучепаровомъ аппаратѣ (t° въ 100° и выше придаетъ средѣ буроватую окраску). Прежде чѣмъ употреблять молоко для разводокъ, слѣдуетъ, съ цѣлью испытанія стерильности, оставить его по крайней мѣрѣ 3 дня при 37°.

## Не содержащій бѣлка питательный растворъ Ушинскаго-Френкеля.

NaCl—5,0, двуфосфорнокислаго калия или натра 2,0, аспарагина или аспарагинокислаго натра 4,0, молочнокислаго аммонія 6,0—все это растворяется въ 1000,0 обыкновенной воды. Нейтрализуется и слегка подщелачивается NaOH, стерилизуется какъ бульонъ.

## Другія питательныя среды.

См. шестой отдѣлъ и указатель.

## Сохраненіе питательныхъ средъ.

*Общее правило:* на каждомъ ящикѣ съ заготовленными средами должна быть отмѣтка о днѣ приготовленія, составѣ и реакціи.

При сохраненіи среды нерѣдко портятся, особенно отъ высыхания и проникновенія въ нихъ плѣсень.

выхъ грибовъ, хотя содержащая ихъ посуда и заткнута ватой. Того и другого можно избѣгнуть, обжигая края содержащихъ среды колбъ и пробирокъ и выступающую надъ ними часть ватной пробки и надѣвая сверху плотно прилегающіе прокипяченные на водяной банѣ резиновые колпачки (употребляются также стерилизованные колпачки изъ олова или сплава см. X гл. § 4); или же сохраняя среды въ бутылочкахъ, плотно закупоренныхъ при помощи резинокъ (напр. фирмы С. Kaupert-Magdeburg); или же помѣщая сосуды со средами въ плотно закрывающуюся жестяную коробку, куда кромѣ того кладутъ кусокъ фильтровальной бумаги или ваты, пропитанной гвоздичнымъ масломъ.

Къ высохшимъ средамъ приливается вода въ количествѣ, равномъ испарившейся, и все заново стерилизуется (слѣдуетъ хорошо смѣшать!). Начинаящія покрываться плѣсенью питательныя среды также могутъ быть спасены новой стерилизаціей.

## IV.

## Техника разводокъ.—Общія свѣдѣнія.

## Разводка на пластинкахъ.

Методъ этотъ служитъ для выдѣленія различныхъ видовъ бактерій изъ бактериальной смѣси. Микроорганизмы, взвѣшенные въ разжиженной питательной средѣ, при застываніи ея располагаются въ различныхъ мѣстахъ и, если среда благоприятна, они размножаются и образуютъ отдѣльныя колоніи.

1. **Пластинчатая разводка на желатинѣ.** Три пробирки желатины разжижаются на водяной банѣ при 30—35°. Одну изъ пробирокъ (№ 1) берутъ лѣвой рукой и держатъ отверстиемъ вправо въ косомъ положеніи между большимъ пальцемъ и обращенной вверхъ ладонью. Вынутую ватную пробку держатъ кончиками пальцевъ лѣвой же руки, направляя вводимую въ пробирку часть внизъ, но такъ, чтобы она не касалась пальцевъ. (Въ такомъ же положеніи держатъ пробирки при перевивкахъ чистыхъ культуръ и т. д.). Прокаленной и успѣвшей охладиться платиновой петлей берется минимальное количество содержащаго бактеріи матерьяла и растирается по стѣнкѣ пробирки въ верхнихъ слояхъ желатины. Петля прокачивается и кладется на мѣсто, пробирка же затыкается ватной пробкой. Рав-

помѣрнаго распредѣленія въ желатинѣ посѣяннаго матерьяла достигаютъ, наклоняя и поднимая пробирку или катая ее между ладонями рукъ (взбалтывать не слѣдуетъ, такъ какъ образующіеся пузырьки легко могутъ быть въ послѣдствіи смѣшаны съ колоніями. Желатина не должна касаться ватной пробки!).

Пробирку берутъ снова по вышеописанному способу, открываютъ ее и рядомъ съ ней помѣщаютъ вторую. Стерильной платиновой петлей переносятъ 3 петли содержимаго первой пробирки во 2-ю, прокалываютъ петлю и закрываютъ обѣ пробирки. Первая ставится обратно въ водяную баню, со второй продѣлываютъ тѣ же операціи, что и съ первой, для распредѣленія матерьяла въ желатинѣ; послѣ этого три петли ея содержимаго переносятся въ третью пробирку и распредѣляются, какъ выше указано.

(При слишкомъ богатомъ бактеріями матерьялѣ для посѣва берутъ его меньше, изъ одной пробирки въ другую переносятъ только 1—2 петли или же за сѣваютъ еще четвертую и пятую пробирки; въ этомъ случаѣ содержимое первой пробирки, въ которой вмѣсто желатины можетъ быть даже стерилизованная вода, не выливаютъ на пластинку. Края пробирки прокалываютъ и даютъ имъ остыть. Стерилизованныя, предварительно высушенные въ ящикѣ изъ листового желѣза, стеклянныя пластинки укладываются на горизонтально установленный аппаратъ для разлики; желатина выливается на пластинку и край пробирки распредѣляется по ней такъ, чтобы вездѣ остался свободный отъ желатины край до 1 см. Когда желатина застынетъ, пластинки разставляются на стеклянныхъ скамеечкахъ въ большихъ двойныхъ чашкахъ, на дно которыхъ можно положить кусокъ влажной пропускной бумаги. Величина пластинокъ должна быть такова, чтобы можно было разсматривать подъ микроскопомъ любое мѣсто.

Стерилизованныя двойныя чашечки (такъ называемыя чашечки Petri, плоскія, 9—10 см. въ діамет-

рѣ) лучше пластинокъ по слѣдующимъ причинамъ: 1) при употребленіи чашечекъ Petri не нужно никакого аппарата для разлики (для этого достаточно чуть-чуть приподнять крышку съ одной стороны); 2) въ нихъ не такъ легко падаютъ зародыши изъ воздуха и, наконецъ, 3) при ростѣ разжижающихъ бактерій желатина не выливается изъ нихъ, какъ это бываетъ при разжиженіи желатины на пластинкахъ.

Если въ распоряженіи не имѣется ни пластинокъ, ни чашечекъ, прибѣгаютъ къ слѣдующему способу (Rollröhrchen): на ватную пробку пробирки надѣвается резиновый колпачекъ; удерживая пробирку почти въ горизонтальномъ положеніи, быстрымъ вращеніемъ подъ краномъ доводятъ желатину до застыванія, причемъ она распредѣляется равномернымъ слоемъ по стѣнкамъ пробирки. Желатина не должна касаться ватной пробки. Рекомендуются брать пробирки съ возможно меньшимъ количествомъ желатины (самое большее 5 куб. с.) и еще до вращенія охладить ее почти до точки застыванія. Лѣтомъ вращаютъ въ чашкѣ съ ледяной водой. Слѣдуетъ остерегаться прикосновенія теплой руки по окончаніи! Способъ этотъ мало пригоденъ при наличности сильно разжижающихъ бактерій.

Всѣ разводки должны имѣть ясныя и отчетливыя надписи (каравдашемъ или стекольными чернилами, также обыкновенными чернилами) или (лучше) на этикеткахъ съ обозначеніемъ числа!

2. Пластинчатая разводки на агарѣ приготовляются изъ пробирокъ съ разжиженнымъ, а затѣмъ охлажденнымъ градусомъ до 40 питательнымъ агаромъ по тому же способу, что и на желатинѣ (только ихъ необходимо готовить въ чашечкахъ, а не на пластинкахъ, такъ какъ агаръ большей частью плохо пристаётъ въ слѣдствіе выдѣленія изъ него конденсаціонной воды). Работать приходится быстро, потому что агаръ



легко застывает! (См. стр. 16). Передъ выливаніемъ агара чашечки слегка подогрѣваются. Способъ вращенія пробирокъ плохо удается. Чашечки съ агаромъ ставятся вверхъ дномъ, такъ какъ въ противномъ случаѣ выдѣляющаяся изъ него конденсаціонная вода способствуетъ сліянію всѣхъ поверхностно лежащихъ колоній; для впитыванія конденсаціонной воды можно положить при этомъ въ крышку чашечки съ помощью стерильнаго пинцета подходящій по величинѣ круглый, сухимъ способомъ стерилизованный кусокъ промокательной бумаги.

О приготовленіи пластинчатыхъ разводокъ на сывороткѣ-агарѣ см. стр. 24.

**Преимущества желатины:** колоніи въ большинствѣ случаевъ развиваются въ характерной для нихъ формѣ.

**Недостатки желатины:** остается твердой самое большее при 30° (приготовленная обыкновеннымъ способомъ только при 22—24°, особенно въ пластинчатыхъ разводкахъ) и никакъ ужъ при t° тѣла. Быстрое разжиженіе (пептонизація) при развитіи нѣкоторыхъ бактерий препятствуетъ изолированію отдѣльныхъ видовъ на пластинчатыхъ разводкахъ.

**Преимущества агар-агара:** можетъ быть употребляемъ для разводокъ въ твердомъ видѣ при t° тѣла. Отъ развитія бактерий не разжижается, такъ что пластинчатая разводка на агарѣ держится дольше, чѣмъ на желатинѣ!

**Недостатки агара:** часто мало характерный ростъ колоній.

**Разведенія (содержащаго бактерии матерьяла) съ употребленіемъ малаго количества желатины или агара:** на стерильную пластинку или на внутреннюю поверхность крышки у чашечки Petri наносится нѣсколько капель (каждая отдѣльно) бульона или желатины; засѣваютъ подлежащимъ изслѣдованію матерьяломъ первую каплю, съ нея пересеваютъ на вторую, со второй на третью и т. д.; съ любой капли дѣлаютъ пересевъ на

одну или нѣсколько пробирокъ съ желатиной или агаромъ и уже изъ нихъ дѣлаютъ пластинчатую разводку.

## Изслѣдованіе пластинчатыхъ разводокъ.

Развившіяся на пластинкахъ колоніи изслѣдуются со слабымъ объективомъ при узкой діафрагмѣ и вогнутомъ зеркалѣ. Съ чашечекъ Petri крышка снимается или онѣ ставятся подъ микроскопъ закрытыми вверхъ дномъ, если не имѣютъ въ виду сдѣлать пересѣвы.

Для полученія матерьяла съ отдѣльныхъ колоній (съ любой колоніи) служитъ такъ называемое **выуживаніе:** развившаяся на пластинкѣ колонія, подлежащая изслѣдованію, устанавливается при слабомъ увеличеніи; тоненькая, короткая, съ соотвѣтственно загнутымъ остриемъ платиновая игла подводится подъ объективъ такъ, чтобы не коснувшись ею ни частей микроскопа, ни чашечки (пластинки), ни, наконецъ, самой среды; при подведеніи иглы мизинецъ держащей ее руки плотно упирается въ предметный столикъ микроскопа; подъ контролемъ смотрящаго въ микроскопъ глаза появившимся въ полѣ зрѣнія остриемъ иголки затрагиваются до колоніи, послѣ чего игла выводится изъ-подъ объектива съ прежними предосторожностями. Полученнымъ съ колоніи матерьяломъ пользуются для приготовления препаратовъ или чистыхъ культуръ.—Если колоніи расположены на пластинкѣ негусто, то, не пользуясь микроскопомъ, прикасаются платиновой иглой къ намѣченной колоніи.

Чтобы лучше ориентироваться при изслѣдованіи, препараты—отпечатки: охлажденное послѣ предварительной стерилизаціи въ пламени горѣлки покровное стекло накладываютъ на изслѣдуемое мѣсто пластинки, плотно придавливаютъ и затѣмъ снимаютъ пинцетомъ, который держатъ вертикально и

которым захватывают, покрывное стеклышко за два противоположных края. Снятое стеклышко окрашивают по правилам, изложенным в отдѣлѣ „методы окрашивания“ стр. 53. Способъ пригоденъ для составления общаго представленія о развившихся видахъ колоній или же для изслѣдованія мелкихъ, поверхностныхъ колоній, не поддающихся выживанію иглой (см. выше!). Нельзя больше брать для развонокъ матерьялъ съ того мѣста, гдѣ былъ сдѣланъ препаратъ отпечатокъ, такъ какъ при сниманіи стеклышка отдѣльныя колоніи легко могутъ взаимно загрязниться.

*Подсчетъ микроорганизмовъ* см. гл. V<sup>III</sup> (дозировка прививочнаго матеріала) и IX (изслѣдованіе воды).

### Приготовленіе и пересѣвъ чистыхъ культуръ.

Приготовленіе съ пластинчатыхъ развонокъ; съ изолированной колоніи выживаютъ платиновой иглой (см. выше) немного матерьяла и застѣваютъ имъ пробирки со стерильными средами. Въ жидкихъ матерьялахъ распредѣляется движеніями иглы; при непрозрачныхъ твердыхъ по поверхности проводятъ продольный мазокъ или нѣсколько штриховъ чрезъ всю поверхность; такъ же застѣваютъ и прозрачныя среды, застывшія при косомъ положеніи пробирокъ (*Посѣвъ штриховъ*); надо стараться не поцарапать поверхность! Вкалывая иглу въ прозрачную среду, застывшую въ прямой пробиркѣ, получаютъ *посѣвъ уколомъ*. При желаніи имѣть возможность наблюдать ростъ по уколу подъ микроскопомъ (слабое увеличеніе), уколъ дѣлаютъ ближе къ стѣнкѣ пробирки, а не по серединѣ, какъ это обыкновенно дѣлается.

Пересѣваніе культуръ. Небольшое количество матерьяла переносятъ въ новую пробирку съ питательной средой, остуженной послѣ предваритель-

наго прокалыванія платиновой иглой или петлей. Пробирки держать въ томъ же положеніи, что и при разводкахъ или же отвертѣемъ внизъ (только для желатинны!).

Для сохраненія выращенныхъ бактерій бываетъ обыкновенно достаточно пересѣвать ихъ каждыя 4—6 недѣль на новыя среды; нѣкоторыя, именно патогенныя, требуютъ болѣе частыхъ пересѣвовъ, (бациллы инфлюэнцы, пневмо- и гонококки). Старыя высохшія культуры поливаютъ стерильнымъ бульономъ, ставятъ на 24 часа въ термостатъ, а потомъ дѣлаютъ изъ нихъ пересѣвы. Бактеріи мѣсяцами сохраняютъ свою жизнеспособность, если обмокнуть коротенькія шелковинки (Turnerseide 4) въ чистую разводку или лучше въ кровь или другую бѣлокъ содержащую жидкость (если въ нихъ есть бактеріи), высушить шелковинки въ стерильныхъ чашечкахъ въ эксикаторѣ надъ  $\text{CaCl}_2$  и сохранять ихъ въ маленькихъ пробиркахъ; маленькія ставятъ въ большія, на дно этихъ большихъ кладутъ подъ слоемъ ваты  $\text{CaCl}_2$  и закрываютъ ихъ резиновыми колпачками.

### Замѣна пластинчатыхъ развонокъ дробными посѣвами.

Вмѣсто того, чтобы распредѣлять содержащій бактерій матерьялъ въ к.-л. питательной средѣ и выливать среду на пластинки съ тѣмъ, чтобы бактеріи по застываніи ея фиксировались раздѣльно, можно достигнуть изолированія бактерій распредѣленіемъ матерьяла по поверхности среды, застывшей на двойныхъ чашечкахъ или въ косыхъ пробиркахъ. Дѣлается это такъ: застѣваемый матерьялъ набираютъ прокаленной платиновой петлей или кисточкой (послѣдней легко поцарапать поверхность среды) или же стерильной ватной пробкой и распредѣляютъ его по всей поверхности питательной среды. Если дѣло идетъ о пла-

стинках (чашечках), то, въ виду большой их поверхности, обыкновенно достаточно бывает одной чашечки для получения отдѣльных колоній, если только матерьялъ не слишкомъ богатъ бактеріями и его не взято слишкомъ много. При засѣваніи петлей ею касаются одного какого-нибудь мѣста поверхности питательнаго субстрата и, держа платиновую проволоку параллельно поверхности, распределяютъ по ней нанесенный матерьялъ; для распределенія также очень пригодна согнутая подъ прямымъ угломъ стеклянная палочка. Косая пробирка обыкновенно засѣваютъ по нѣсколько, одну за другой. Изъ чашечекъ съ агаромъ и кровяной сывороткой сначала отливаютъ конденсаціонную воду или же даютъ имъ слегка просохнуть въ термостатъ. Если субстратъ выдѣляетъ конденсаціонную воду, она можетъ служить жидкостью для разведенія содержащаго бактеріи матерьяла. Возьмемъ для примѣра пробирку съ сывороткой: петлю съ заразнымъ матерьяломъ погружаютъ въ конденсаціонную воду, ополаскиваютъ ее и смазываютъ ею всю поверхность сыворотки; вслѣдъ за тѣмъ, той же петлей, не касаясь первоначально взятаго матерьяла, засѣваютъ такимъ же способомъ вторую и третью пробирки. Во второй и третьей пробиркахъ развиваются въ большинствѣ случаевъ отдѣльныя колоніи, изъ которыхъ можно получить чистыя культуры.—Этотъ методъ является единственнымъ пригоднымъ для изолированія бактерій при употребленіи средъ, которыя нельзя переводить по желанію изъ твердаго состоянія въ жидкое и обратно (свернутая кровяная сыворотка, картофель).

### Культуры изъ отдѣльныхъ клѣтокъ.

При пластинчатыхъ разводкахъ и дробныхъ посѣвахъ нельзя быть увѣреннымъ, что каждая отдѣльная колонія образована лишь одной бактеріей, а не

нѣсколькими одного и того же вида. Надежную разводку изъ одной бактеріальной клѣтки представляеть способъ Вигги съ растворомъ туши („способъ разводки съ тушью“, Iena, G. Fischer, 1909): пеликановой туши 541 (Grübber и С<sup>2</sup>, Лейпцигъ) 1 + 9 Aq. dest.; разлить по 10 см. въ пробирки, простерилизовать въ автоклавѣ, оставить въ покоѣ на двѣ недѣли и для опытовъ брать поверхностные слои. Посредствомъ большой платиновой петли, предварительно прокаленной и ополосканной въ стерилизованной водѣ, наносятъ 4 отдѣльныя капли раствора туши на обезжиренное стерильное предметное стекло. Затѣмъ быстро прибавляютъ къ первой каплѣ немного изслѣдуемыхъ бактерій и частицу отъ капли 1 переносятъ посредствомъ небольшой платиновой петли въ каплю 2, а отсюда въ каплю 3 и т. д. Посредствомъ проведеннаго чрезъ пламя (но не раскаленнаго) и охлажденнаго затѣмъ пера для туши дѣлаютъ нѣсколько рядовъ точекъ съ капли 4 на хорошо застывшую желатиновую пластинку, чрезъ полъ-минуты прикрываютъ точки стерильнымъ покровнымъ стеклышкомъ и изслѣдуютъ сильной сухой системой. Бактеріи представляются ярко сверкающими между черными частицами туши. Отмѣчаютъ на довышкѣ чашечки тѣ тушевыя точки, гдѣ находится лишь одна бактерія, даютъ бактеріямъ образовать колоніи, снимаютъ затѣмъ осторожно покровное стеклышко и дѣлаютъ пересѣвъ съ колоніи, которая развилась изъ одной клѣтки.—Если хотятъ дѣлать культуру не на желатинѣ, то сперва дѣлаютъ по описанному способу тушевыя точки на желатиновой пластинкѣ, покрываютъ каждую точку стерильнымъ осколкомъ покровнаго стекла, снимаютъ тѣ осколки, подъ которыми микроскопъ обнаруживаетъ лишь одну бактерію, и переносятъ ихъ въ любую питательную среду. При сниманіи стеклышекъ съ желатиновой пластинки тушь и бактеріи плотно пристають къ стеклу.—Капли туши съ бакте-

рiями очень пригодны также для изслѣдованiя мелкихъ бактерiй, которыя ярко блестятъ среди частицъ туши, и т. п.

Культуры дрожжей изъ одной клѣтки см. соотв. м.

## Тѣло животнаго, какъ аппаратъ для выдѣленiя чистой культуры.

Нѣкоторые патогенные микробы могутъ быть выдѣлены изъ смѣси бактерiй, пользуясь к.-л. животнымъ организмомъ. Для этого необходимо, чтобы въ смѣси не было нѣсколькихъ различныхъ бактерiй, патогенныхъ для даннаго животнаго и способныхъ къ проникновенiю во внутреннiе органы. Послѣ впрыскиванiя (техника гл. VIII) размножается только данный патогенный микробъ, заполняетъ собой весь организмъ и можетъ быть выращенъ, по смерти животнаго, въ чистомъ видѣ изъ его внутреннiхъ органовъ. (Методъ этотъ, напр., пригоденъ для выдѣленiя бациллъ сибирской язвы, септицемii мышей, туберкулеза, сапа и пневмококковъ). При посѣвахъ изъ труповъ лучше всего готовить сначала пластинчатая разводки, а потомъ уже чистыя. Если все-же хотять попытаться получить сразу чистую культуру, слѣдуетъ сѣять не уколомъ, а штрихомъ, такъ какъ случайно развивающiяся постороннiя колонiи всегда могутъ быть легче замѣчены на посѣвахъ штрихомъ; никогда не слѣдуетъ сѣять на жидкихъ средахъ, такъ какъ въ нихъ часто трудно бываетъ замѣтить всякаго рода случайныя загрязненiя.

## Разводки въ висячей каплѣ.

Разводки въ каплѣ бульона, желативы etc. приготовляются для непосредственнаго наблюденiя роста бактерiй. Способъ приготовления см. стр. 2.

## Разводка анаэробовъ.

Къ предназначеннымъ для разводки анаэробовъ средамъ прибавляютъ на практикѣ 1—2% винограднаго сахара или 0,3—0,5% муравьинокислаго натра или же 0,1% индигосѣрникокислаго натра (послѣднiй окрашиваетъ среду въ синiй цвѣтъ; подъ влиянiемъ роста бактерiй онъ обычно редуцируется и обезцвѣчивается — ср. стр. 47 § 4).

Многие анаэробы образуютъ споры. Матерьялъ, служащiй для выдѣленiя анаэробовъ, долженъ быть изслѣдованъ подъ микроскопомъ. Если при изслѣдованiи открываютъ присутствiе анаэробовъ со спорами (ихъ легко узнать по внѣшнему виду — утолщенiе, образующее споры, по срединѣ или у конца), то остальные, въ изобилии встрѣчающiеся факультативные анаэробы, проростанiе которыхъ нежелательно, могутъ быть убиты получасовымъ нагрѣванiемъ при 55—70°. Обязатные анаэробы отъ такого нагрѣванiя не только не страдаютъ, даже, напротивъ того, могутъ быть сразу получены въ чистой разводкѣ. Необходимо готовить всегда разводки и изъ ненагрѣтаго матерьяла!

Изъ методовъ разводокъ рекомендуются слѣдующiе:

### 1. Разводка безъ прегражденiя доступа воздуху.

Нѣкоторыхъ анаэробовъ разводить можно въ пробиркахъ съ бульономъ безъ прекращенiя притока воздуха, засѣвая обильно глубокiе слои свѣже вскипяченнаго бульона безъ встряхиванiя его и надбавляя восстанавливающихъ веществъ. Въ качествѣ таковыхъ могутъ служить кусочки животной печени, селезенки, почекъ, мозга, варенаго яйца, картофеля или растертые органы, а также платиновая губка. Примѣсь не должна быть слишкомъ незначительною (приблизительно около 1 гр. на 10 см. бульона), стерилизуютъ

совмѣстно съ бульономъ; посѣвъ долженъ быть произведенъ сейчасъ же по охлажденіи. Сохранять по возможности въ покой.

## 2. Методы механическаго превращенія до- ступа кислорода.

а) Разводки въ высококомъ слое питательной среды. Наполненные до  $\frac{1}{4}$  желатиной или агаромъ пробирки сильно нагрѣваютъ, быстро охлаждають, не забалтувая, погруженіемъ въ холодную воду и застѣваютъ. Посѣвами этими можно воспользоваться для изолированія микроорганизмовъ, тщательно распредѣляя въ средѣ застѣанный матеріалъ въ моментъ ея застыванія, причемъ необходимо обращать вниманіе, чтобы при размѣшиваніи не проникъ въ среду воздухъ; разведенія, какъ и при пластинчатыхъ разводкахъ, получаютъ послѣдовательными перевивками 2—3 пробирокъ. По застываніи одной изъ пробирокъ въ нее осторожно выливаютъ разжиженный, нагрѣтый градусомъ до 40 субстратъ изъ двухъ другихъ (края пробирокъ прокалываютъ). На желатину лучше всего наливать не желатину, а агаръ. Для изслѣдованія и изолированія развившихся колоній разбиваютъ пробирку, вынутую изъ нея среду разрѣзають стерилизованнымъ ножомъ въ любомъ мѣстѣ; матеріалъ можно получить и не разбивая пробирки, а добывая его изъ отдѣльно расположенныхъ колоній длинной иглой или тонко оттянутой на пламени пипеткой.

Для полученія чистыхъ культуръ дѣлають затѣмъ посѣвъ уколомъ, достигающимъ глубокихъ слоевъ, въ свѣже прокипяченныхъ пробиркахъ, до  $\frac{3}{4}$  наполненныхъ средой.

Чтобы предохранить среду отъ проникновенія въ нее воздуха, вытѣсненнаго кипяченіемъ, верхняя поверхность заливается стерильнымъ масломъ. Многие анаэробы проростають и въ жидкихъ, свѣже прокипя-

ченныхъ субстратахъ, если галить сверху слой масла, жидкаго парафина или вазелина въ 3 сант. вышины. (Не воплиъ удобный методъ; при пересѣвахъ жиръ служить помѣхой!).

О дальнѣйшихъ видоизмѣненіяхъ см. Ghon und Sachs Ctrbl. f. Bakt. Abt. I. Oг. 32. S. 403.

Анаэробы могутъ дать ростъ въ закрытомъ колѣнѣ бродильной трубки (см. стр. 45), а также и въ другихъ приборахъ для броженія (см. стр. 44).

б) Воздушнымъ насосомъ удаляютъ воздухъ (Gruber). Застѣнную пробирку ставятъ въ водяную баню при  $t^{\circ}$  въ 30—35° (для агара 42°). Сквозь покрытую парафиномъ резиновую пробку пробирки проходить стеклянная трубка оканчивающаяся непосредственно подъ пробкой, трубка эта соединяется съ вассосомъ. Субстратъ закипаетъ въ разрѣженномъ пространствѣ: четверть часа спустя весь воздухъ вытѣсненъ и высасывающая трубка (проходящая сквозь пробку) запаивается на заранѣе намѣченномъ мѣстѣ. Въ заключеніе желатину можно распредѣлить по стѣнкамъ пробирки. (Способъ вращенія пробирокъ, стр. 31). О соединеніи этого метода со 2 ср. Emmerring. Hyg. Rdsch. 1904. S. 452.

## 3. Методъ поглощенія кислорода.

Застѣяныя пробирки или чашечки (послѣднія ставятся открытыми одна надъ другой, отдѣляясь стеклянными подставками) помѣщаютъ въ герметически закрывающійся стеклянный приборъ (въ широкій бокалъ съ покрытой парафиномъ резиновой пробкой или въ эксикаторъ). На дно прибора или въ поставленную въ него открытую чашечку наливаютъ растворъ пирогалловой кислоты и приравляютъ къ нему пипеткой растворъ ѣдкаго кали непосредственно передъ закрываніемъ прибора. Щелочной пирогалловый растворъ поглощаетъ кислородъ. На 100 куб. сант. воздуха берутъ (Vüchler) 1 г. пирогалловой кисло-

ты (растворяютъ въ 2—3 куб. сант. воды) и 10 куб. сант. 15% раствора ѣдкаго кали (Liqu. kal. kaust. 1,0, aq. dest. 10,0). Для совершеннаго поглощенія кислорода въ термостатѣ требуется около 24 час., процессъ можно ускорить прибавленіемъ нагрѣтаго раствора щелочи. Для отдѣльныхъ чашечекъ рекомендуется способъ Lentz'a (С. В. 1. Ог. 53. S. 358): на стеклянную пластинку кладутъ кольцо изъ толстой промокательной бумаги, пропитанное пирогаллоломъ, и окружаютъ его внизу у наружнаго края валомъ изъ пластилина въ 3—4 мм. Надъ кольцомъ переворачиваютъ засѣянную чашечку, при чемъ непосредственно до этого кольца пропитываютъ 15 см. 1% воднаго раствора КОН, затѣмъ плотно прижимаютъ кругомъ пластинку. Микроскопическое изслѣдованіе возможно сдѣлать, не открывая. Аналогичнымъ же образомъ можно готовить посредствомъ „пирогалловыхъ карандашей“ разводки въ пробиркахъ.

#### 4. Методы вытѣсненія кислорода водородомъ.

Черезъ одно отверстіе въ резиновой пробкѣ, закрывающей колбу или пробирку съ засѣянной средой, проходитъ согнутая надъ пробкой подъ прямымъ угломъ стеклянная трубка, глубоко погруженная въ жидкую среду, черезъ другое отверстіе также согнутая трубка, но доходящая только до нижней поверхности пробки. (Конструкция пульверизатора). Чистый, промытый въ растворѣ JK и смѣси раствора пирогалловой кислоты съ ѣдкимъ кали, водородъ проводится при помощи Кипп-овскаго аппарата черезъ первую трубку до тѣхъ поръ, пока выходящій черезъ тонко оттянутый кончикъ второй трубки газъ при зажиганіи не загорится ровнымъ маленькимъ пламенемъ. Тогда, продолжая пропускать водородъ, запаиваютъ сначала отводящую, а затѣмъ приводящую трубку.

Въ цѣляхъ болѣе совершеннаго прегражденія доступа воздуха пробку можно покрыть расплавлен-

ннымъ парафиномъ или пластилиномъ. Если въ сосудѣ желатина, она по окончаніи пропусканія H можетъ быть распределена по стѣнкамъ (Способъ вращенія пробирокъ, стр. 31). Въ виду возможнаго взрыва не зажигать слишкомъ рано выходящій газъ. Во избѣжаніе опасности собираютъ газъ въ расположенную у выходнаго отверстія небольшую пробирку и зажигаютъ его надъ пламенемъ горѣлки, когда есть основаніе предположить, что весь воздухъ вытѣсненъ. Если газъ горитъ ровнымъ пламенемъ безъ вспышекъ, значитъ въ пробиркѣ чистый водородъ; въ такомъ случаѣ можно зажечь газъ и у выходнаго отверстія отводящей трубки. Или же проводятъ трубку въ мыльную воду и выжидаютъ, пока мыльные пузыри, будучи зажжены, не разрываются больше.

Видоизмѣненіе способа въ примѣненіи его къ разводкамъ въ чашечкахъ (Blücher). Въ средней величины стеклянную чашку наливаютъ растворъ пирогалловой кислоты до 1 см. вышиной и помещаютъ въ нее на проволочной подставкѣ открытую засѣянную чашечку съ желатиной или агаромъ. Надъ чашечкой устанавливаютъ перевернутую воронку такъ, чтобы верхній край ея погрузился въ пирогалловую кислоту, причемъ воронка придавливается грузомъ. Черезъ трубку воронки проводятъ водородъ, вытѣсняющій воздухъ изъ-подъ воронки. Послѣ болѣе или менѣе продолжительнаго пропусканія водорода на приводящую его резиновую трубку, соединенную съ трубкой воронки, накладываютъ винтовый зажимъ, перерѣзываютъ ее нѣсколько выше зажима и остающійся надъ зажимомъ отрѣзокъ заполняютъ жидкимъ парафиномъ.

Въ заключеніе къ раствору пирогалловой кислоты прибавляютъ пипеткой КОН (стр. 41 § 3), а между краемъ воронки и стѣнкой чашки наливаютъ немного жидкаго парафина. Устройство подобныхъ аппаратовъ для большого числа разводовъ см. по Бот-

кицу (Zschr. f. Hyg. Bd. 9) и по Novy (Ctrbl. f. Bakt. Bd. 16).

## Методы изучения различныхъ жизненныхъ свойствъ бактерій.

### 1. Определение потребности въ кислородъ.

Приготавливаютъ разводки по одному изъ способовъ, употребляемыхъ для анаэробовъ. Obligатные аэробы роста не даютъ. (Одновременно такая же среда засѣвается при доступѣ воздуха!) Простейшія пробы: результаты посѣва бактерій въ закрытомъ колѣвѣ прибора для броженія (см. стр. 44) или въ глубокихъ слояхъ пробирокъ съ высокимъ уровнемъ желативы или агара (см. стр. 40, § 2 а).

### 2. Изслѣдованіе бактерій на броженіе.

Субстратомъ служатъ среды съ 0,25—0,5%-нымъ содержаниемъ винограднаго (въ случаѣ надобности другого) сахара (см. стр. 14 питательный бульонъ 11). Въ субстратѣ не должно быть другихъ сортовъ сахара, кромѣ нарочито прибавленнаго, почему для приготовления бульона берутъ нѣсколько загнившее мясо. (NB. Имѣющіеся въ продажѣ мясные экстракты въ большинствѣ случаевъ имѣютъ примѣсь сахара!) Бульонъ изслѣдуютъ на сахаръ пробнымъ посѣвомъ *bact. coli* въ бродильной трубкѣ (см. ниже); если обнаружено присутствіе способнаго къ броженію сахара, то бульонъ засѣваютъ *bact. coli*, оставляютъ при 37° 6—12 час., затѣмъ кипятятъ, фильтруютъ (въ случаѣ надобности по способу, изложенному на стр. 11 § 4 с) и снова испытываютъ посѣвомъ *coli* въ бродильной трубкѣ; если и на этотъ разъ развиваются газы, всю процедуру повторяютъ. Въ заключеніе среду, освобожденную такимъ образомъ при помощи *bact. coli* отъ сахара, а затѣмъ отъ *bact. coli* стерилизаціей, нейтрали-

зуютъ и прибавляютъ къ ней испытываемый сахаръ. Для нейтрализаціи слѣдуетъ брать ѣдкій натръ или дудифосфорнокислый, но не углекислый, такъ какъ въ противномъ случаѣ могущая образоваться при ростѣ бактерій болѣе сильная кислота вытѣснила бы  $\text{CO}_2$  и эта послѣдняя, поднимаясь пузырьками надъ жидкостью, симулировала бы броженіе сахара.

При ростѣ вызывающихъ броженіе микроорганизмовъ на твердыхъ содержащихъ сахаръ средахъ (посѣвъ дѣлается уколомъ или матеріалъ распределяется въ разжиженной средѣ) образуются разрывающіе среду пузырьки газа.

Въ качествѣ специальныхъ аппаратовъ для разводокъ пользуются V-образно изогнутыми стеклянными трубками (или такъ называемыми бродильными колбочками); болѣе длинное колѣво закрыто и должно быть доверху заполнено способной къ броженію питательной жидкостью—въ этомъ колѣвѣ собирается развившійся при броженіи газъ. Въ открытомъ, снабженномъ ватной пробкой колѣвѣ должно быть совсемъ немного жидкости, или же въ немъ должно имѣться надъ уровнемъ жидкости шарообразное расширеніе, служащее преемникомъ жидкости, вытѣсняемой образующимся газомъ. Можно также налить въ пробирку бульона до самага верха и закрыть ее резиновой пробкой такъ, чтобы нижняя поверхность пробки соприкасалась съ бульономъ; сквозь отверстіе въ пробкѣ проходитъ глубоко въ пробирку опущенная стеклянная, заткнутая ватной пробкой трубка; трубка эта имѣетъ см. 30—40 въ длину; она можетъ быть короче, но въ такомъ случаѣ должна быть шарообразно расширена кверху.

Развивающійся при броженіи газъ собирается подъ пробкой и проталкиваетъ вверхъ находящійся въ трубкѣ бульонъ. (Способъ этотъ можно примѣнить и при разводкахъ анаэробовъ, если между пробкой и бульономъ не остается воздуха).

### 3. Изслѣдованіе на образованіе щелочи и кислоты.

Качественный анализ: проще всего опредѣлить реакцію проросшихъ, а для сравненія еще и незасѣянныхъ пробъ одной и той же среды лакмусовой бумажкой. Количественный анализ: опредѣленное количество изслѣдуемой среды титруется  $\frac{1}{10}$  или  $\frac{1}{100}$  нормальнымъ растворомъ кислоты или щелочи; въ качествѣ индикатора употребляется лакмусъ или фенолфталеинъ.

Подъ вліяніемъ роста бактерій реакція среды можетъ измѣниться. Для обнаруженія наступившаго измѣненія къ субстрату прибавляютъ незначительное количество лакмусовой тинктуры или раствора азолитмина (1:100 воды) съ такимъ расчетомъ, чтобы отъ капли  $\frac{1}{100}$  нормального раствора кислоты или щелочи получалось отчетливое красное или синее окрашиваніе; приготовленную такимъ образомъ среду стерилизуютъ (въ случаѣ измѣненія реакціи ее исправляютъ и, конечно, снова стерилизуютъ) и заставляютъ.

При развитіи бактерій красящее вещество редуцируется (см. ниже § 4), влѣдствіе чего содержащая лакмусъ среда, особенно гдѣ лежатъ ея слои, часто обезцвѣчивается. Необходимо выяснитъ, окрашивается ли вновь среда при взбалтываніи (поглощеніе кислорода!). Кроме того, измѣненіе реакціи можетъ быть обнаружено лакмусовой молочной сывороткой (Petruschky); къ нагрѣтой до 40—50° смѣси равныхъ объемовъ молока и воды прибавляется разведенная соляная кислота до полного выпаденія казеина; его отфильтровываютъ; фильтратъ нейтрализуютъ (точно!) растворомъ соды, кипятятъ часъ-два въ текучемъ парѣ, фильтруютъ до проясненія (въ случаѣ надобности исправляютъ реакцію)—окраска жидкости при этомъ колеблется отъ безцвѣтной (какъ вода) до зеленовато-желтой,—

прибавляютъ до фіолетоваго окрашиванія стерильной лакмусовой тинктуры, разливаютъ по пробиркамъ и еще разъ стерилизуютъ.

О приготовленіи другихъ окрашенныхъ средъ для обнаруженія измѣненія реакціи см. *Vac. typh.* и *dysent.* и менингококки.

При употребленіи агара и желатинъ совѣтуютъ также къ незасѣянной еще средѣ прибавлять тщательно промытый стерилизованный мѣлъ. Просвѣтленіе среды вокругъ развивающихся колоній указываетъ на обусловленное ихъ развитіемъ образованіе кислоты.

### 4. Изслѣдованіе редуцирующей способности.

Матерьяломъ для посѣва служатъ среды съ прибавкой красящихъ, легко обезцвѣчивающихся при возстановленіи веществъ, какъ то: индиго-сѣрно-кислый натръ (стр. 39), лакмусъ (стр. 46), метиленовая синька (не болѣе 1—2 капель 1% наго раствора на 100 частей, среды, такъ какъ въ противномъ случаѣ можно опасаться остатки роста бактерій). Обезцвѣчиваніе наступаетъ только въ недоступныхъ вліянію воздуха слояхъ субстрата, поэтому для наблюденія редукиці болѣе всего подходятъ культуры анаэробовъ и твердая среда. Обезцвѣченные редукиціей жидкіе субстраты вновь приобрѣтаютъ свою окраску при взбалтываніи ихъ на воздухѣ

### 5. Изслѣдованіе на образованіе сероводорода.

Къ субстрату прибавляютъ около 3% виннокислого желѣза (свѣже выпавшій осадокъ  $Fe_2(OH)_2$ , полученный при дѣйствіи КОН на растворъ  $Fe_2Cl_6$ , промывается, выжимается въ тряпочкѣ, растворяется въ виннокислой кислотѣ, прибавляется къ уже готовой желатинѣ и стерилизуется паромъ); или къ ватной пробкѣ прикрѣпляютъ кусочекъ влажной свинцовой бумаги такъ, чтобы онъ свѣшивался въ пробирку; или прокипяченнымъ растворомъ свинцоваго са-



хара смачиваютъ нижній конецъ ватной пробки. Почернѣніе среды, свинцовой бумаги или же ватной пробки, указываетъ на образованіе сѣроводорода.

### 6. Изслѣдованіе на образованіе индола.

1. По Kitasato-Salkowski. Къ чистой разводкѣ въ бульонѣ или пептоновой водѣ прибавляютъ 1 см. 0,01% раствора  $KNO_3$  и 1 см. очищенной  $H_2SO_4$  (1+3 Aq. dest.). Красное окрашиваніе, появляющееся въ теченіе 5 минутъ, свидѣтельствуетъ объ образованіи индола. Реакція особенно чувствительна, если на культуру съ примѣсью  $H_2SO_4$  налить слой раствора  $KNO_3$  (красное кольцо!).—Нѣкоторыя бактеріи образуютъ индолъ и сверхъ того восстанавливаютъ содержащееся въ пептонѣ (или нарочно прибавленные) слѣды азотныхъ соединений въ азотистыя (холерный вибрионъ и ему подоб.). Поэтому разводки ихъ даютъ красное окрашиваніе при прибавленіи одной лишь сѣрвой кислоты (безъ примѣси  $KNO_3$ )—такъ назыв. нитрозо-индолреакція (питательныя среды, стр. 21).

2. По Ehrlich'y (Vöhme, C. B. I. or. 40 S. 129). Къ 10 см. жидкой культуры прибавляютъ 5 см. жидкости а), потомъ 5 см. жидкости б) и взбалтываютъ. При образованіи индола должно быть красное окрашиваніе, появляющееся въ теченіе пяти минутъ. Способъ болѣе чувствительный, чѣмъ способъ 1. Жидкость а): парадиметиламидобензалдегидъ 4+96% спиртъ 380+крѣпкой  $HCl$  80. Жидкость б): насыщенный водный растворъ  $K_2S_2O_8$ .

3. По Morrelli (C. B. I. Or. 50 S. 413). Пропитать полоску промокательной бумаги насыщеннымъ теплымъ воднымъ растворомъ щавелевой кислоты, послѣ охлажденія укрѣпить при помощи куска ваты въ свѣже засѣянной пробиркѣ такъ, чтобы полоска свободно свисала въ пробирку. При образованіи въ разводкѣ индола полоска окрашивается въ красный цвѣтъ. Примѣнимо при всѣхъ питательныхъ средахъ,

въ одной только желатинѣ образованіе индола незначительно и происходитъ медленно.

### 7. Изслѣдованіе на образованіе хромопротеина.

Къ разводкамъ на 5%-омъ пептонѣ-бульонѣ или 3% ой пептоновой водѣ, слегка подкисленнымъ уксусной кислотой, приливаютъ по каплямъ свѣже приготовленную насыщенную хлорную воду. Краснофіолетовое окрашиваніе (или же во второмъ случаѣ краснофіолетовое кольцо на границѣ обѣихъ жидкостей) указываетъ на образованіе хромопротеина. (Erdmann und Winternitz M. M. W. 1903. S. 982).

### 8. Изслѣдованіе на образованіе свѣта (фосфоресценція).

Разводка часто хорошо удается на желатинѣ или агарѣ изъ разведеннаго рыбнаго бульона или мясного бульона съ 1% пептономъ, 0,5% глицериномъ и 3%  $NaCl$  или  $KCl$  или  $KNO_3$ ; послѣ нейтрализаціи засѣваютъ въ поверхностномъ слоеѣ (необходимъ доступъ воздуха).

Наблюдаютъ разводки въ темнотѣ по крайней мѣрѣ въ теченіе нѣсколькихъ минутъ, такъ какъ зачастую свѣченіе бываетъ замѣтно не сразу. Нѣкоторые виды бактерій свѣтятъ только въ совсемъ молодыхъ разводкахъ и короткое время.

### 9. Изслѣдованіе на сопротивляемость при нагрѣваніи и высушиваніи.

Сопротивляемость при нагрѣваніи въ жидкости. Хорошо развившимся въ жидкой средѣ чистыми культурами наполняютъ стерильныя капиллярныя трубочки, запаиваютъ ихъ съ одного или обѣихъ концовъ и подвергаютъ дѣйствию изслѣдуемой  $t^\circ$  на водяной банѣ или въ текучепаровомъ аппаратѣ въ теченіе опредѣленнаго времени. Эти трубочки пре-

дварительно обмыты сулемой, спиртомъ и эфиромъ, переносятъ стерильнымъ пинцетомъ въ пробирки съ соответствующимъ питательнымъ растворомъ и тамъ ихъ разбиваютъ стерильной стеклянной палочкой. За ростомъ слѣдятъ всегда нѣсколько дней.

Споры всегда переносятъ получасовое нагреваніе до 60° и большую часть 10-минутное до 80°. По описанному выше способу можно нагревать бульонныя разводки цѣликомъ; ихъ ставятъ въ водяную баню такъ, чтобы уровень воды былъ выше уровня разводки; въ одну изъ пробирокъ вставляется термометръ для контроля за ходомъ  $t^{\circ}$ . Послѣ нагреванія необходимо быстро охладить! Прежде чѣмъ дѣлать пересѣвы, пробивки оставляются въ термостатѣ при соответствующей  $t^{\circ}$  на нѣсколько дней, благодаря чему перенесшіе нагреваніе отдѣльныя зародыши размножаются и при пересѣвѣ на свѣжій бульонъ легко даютъ культуры.

Сопротивляемость при высушиваніи. Содержащій бактеріи матерьялъ (бульонная разводка или тонкій равномерный слой разводки на твердой средѣ) наносятъ на стерилизованные кусочки поровныхъ стеколъ или роговыя палочки и оставляютъ для высыханія въ стерильной закрытой чашечкѣ; время отъ времени кусочки эти бросаютъ въ питательный растворъ. Пригодны также для опредѣленія дѣйствія сухого жара. Они (кусочки стекла) могутъ служить и для опредѣленія вліянія сухого жара. Содержащимъ бактеріи матерьяломъ можно также смочить стерильную шелковинку и воспользоваться ею, когда она высохнетъ, для опредѣленія сопротивляемости бактерій при высушиваніи, при дѣйствіи сухого жара и при дѣйствіи пара (шелковинка заворачивается въ пропускную бумагу и подвѣшивается на опредѣленное время въ стерилизаторѣ при  $t^{\circ}$  пара въ 100° (шелковинки со спорами сибирской язвы см. соотв. стр.).

### 10. Изслѣдованіе сопротивляемости въ отношеніи химическихъ дезинфицирующихъ средствъ.

Вліяніе дезинфицирующихъ средствъ на ростъ микробовъ устанавливаютъ приготовленіемъ разводокъ на средахъ съ опредѣленнымъ содержаніемъ дезинфицирующаго средства.

Убивающее ихъ дѣйствіе проще всего испытываютъ, помѣщая подходящіе предметы съ высушенными на нихъ подлежащими изслѣдованію бактеріями въ различной крѣпости растворы на различное время. До перенесенія въ питательные растворы ихъ (кусочки или шелковинки) прополаскиваютъ въ стерильной водѣ или въ какомъ-нибудь растворѣ, который, не обладая самъ дезинфицирующими свойствами, связываетъ дезинфицирующее средство; или же переносятъ ихъ въ большое количество питательнаго раствора и сильно взбалтываютъ, по возможности перемѣняя чрезъ 24 ч. питательную среду.

### 11. Изслѣдованіе патогенности (см. гл. VIII).

### 12. Изслѣдованіе на образованіе токсиновъ.

Токсины могутъ быть растворены въ питательной средѣ или же содержаться въ бактерійныхъ тѣлахъ.

Растворенные въ субстратѣ токсины: разводки на жидкихъ средахъ отфильтровываютъ отъ бактерій (см. стр. 11 § 4 с), или осаждаютъ бактеріи центрифугой, смѣшиваютъ жидкость съ толуоломъ или подмѣшиваютъ 0,5% фенола и испытываютъ на животныхъ послѣ многочасового стоянія (ср. отд. VIII).

Содержащіеся въ бактерійныхъ тѣлахъ токсины: разводки на твердой средѣ убиваютъ парами толуола или хлороформа. На нижнюю поверхность ватной пробки накапываютъ нѣсколько капель хлороформа или толуола, закрываютъ пробирку ватной пробкой и двойнымъ

резиновымъ колпачкомъ и оставляютъ въ термостатѣ при 37° отъ одного до нѣсколькихъ часовъ (имѣть въ виду, что при этомъ могутъ пострадать другія культуры, находящіяся въ термостатѣ!), послѣ чего дѣлаютъ прививки животнымъ; необходимо опредѣлить контрольнымъ посѣвомъ, умерщвлены ли всѣ бактеріи! (Дозировку прививаемаго матерьяла см. гл. VIII).

## V.

## Методы окрашиванія.—Общія свѣдѣнія.

### Приготовление препаратовъ.

#### 1. Мазки.

*Мазокъ.* На чистое покрывное стеклышко (приготовление мазка на предметномъ стеклѣ см. стр. 56) платиновой петлей наносятъ капельку воды, въ которую платиновой же петлей или иглой переносятъ затѣмъ частицу подлежащаго изслѣдованію матерьяла. Капельку распредѣляютъ по стеклу равномернымъ тонкимъ слоемъ (стекло должно быть совершенно обезжирено—см. чистка стр. 7) и препаратъ высушиваютъ на воздухѣ; подсыхание препарата можно ускорить легкимъ подогреваніемъ его на пламени горѣлки (держатъ за края двумя пальцами намазанной стороной вверхъ). Жидкости съ не слишкомъ большимъ содержаніемъ бактерій, кровь, гной, наносятъ прямо на стеклышко, не разбавляя водой кровь (см. также отд. VII); при изслѣдованіи органовъ кусочки ихъ захватываютъ стерильнымъ пинцетомъ и проводятъ ими по стеклу или же прижимаютъ слегка стекло къ поверхности разрѣза органа. Если мазокъ трудно приготовить вязкая мокрота, кусочки опухоли, нѣкоторые

виды бактериальных развонок — исследуемый материал раздавливают между 2 покровными стеклышками, которые затем разделяются при помощи двух пинцетов. Необходима осторожность, чтобы не загрязнить пальцев! (Препараты-отпечатки см. стр. 33).

**Фиксация.** Высохшее на воздух покровное стеклышко захватывают двумя пальцами (если края не загрязнены исследуемым материалом, в противном случае пинцетом) за края и трижды проводят его в пламени спиртовой или газовой горелки, держа намазанной стороной вверх. Необходимая температура достигнута, если есть ощущение легкого жжения в пальцах. Фиксированный таким образом на покровном стеклышке препарат может быть окрашен в любое время.

Совершенство и предпочтительнее для препаратов крови, напр., фиксация в абсолютном спирте или же в смеси спирта с эфиром  $aa$  в течение 2—10 минут и больше продолжительного времени.

Для изготовления тонких препаратов применяют фиксацию в **осмиевой кислоте**: в маленькую чашечку, которая прикрыта проволочной сеткой и стоит в большом стеклянном ящике с плотно прикрывающейся крышкой, наливают 5 см. 1% осмиевой кислоты (с прибавлением 10 капель ледяной уксусной кислоты, если имеют дело с препаратами крови). На проволочную сетку кладут покровное стеклышко с еще влажным мазком, мазком книзу, на  $\frac{1}{2}$ —2 минуты; после этого прополаскивают в очень слабом растворе  $KMnO_4$ . Затем сушат на воздух и окрашивают. Проволочную сетку надо после каждого употребления прокалывать! Раствор осмиевой кислоты сохраняет свою пригодность в течение нескольких недель.

Если является сомнение, на которой из сторон мазок, надо подышать на стекло — свободная сторона становится при этом равномерно матовой (по-

крывается налетом), чего не бывает с намазанной — или попробовать поскоблить тонкой иглой.

**Окрашивание.** Для окраски покровное стеклышко захватывают обычно закрытым, при надавливании раскрывающимся (Согнет'овским) пинцетом, из пипетки (не касаться ею стекла!) наливается красящий раствор, пока им не покроется обильно все стеклышко; простое окрашивание (растворы см. стр. 62 и сл.) продолжается 5 минут на холоду и 10—60 секунд при нагревании на пламени. Можно также опустить стеклышко мазком вниз в налитый в часовое стекло красящий раствор; в случае надобности часовое стекло нагревается (на треножник с проволочной сеткой). Удобно при долгом длящемся окрашивании).

**Промывание (прополаскивание).** При простом окрашивании стеклышко после окраски промывают водой (здесь не требуется дистиллированная), кладут окрашенной стороной вниз на предметное стекло, причем верхняя поверхность стеклышка (один из углов его крепко придавливается пальцем к предметному) тщательно вытирается пропускной бумагой. После этого препарат исследуют под микроскопом (см. стр. 1 и сл. следущ.).

Если при исследовании частицы препарата передвигаются и вращаются, это служит признаком, что он недостаточно фиксирован или слишком усердно охлажден.

При испарении воды (во время исследования) из-под стеклышка, у края его помещают каплю воды, которая быстро распространяется между стеклами.

Если после окраски требуется обработать покровное стеклышко еще другими жидкостями, то их или наносят прямо на стекло или же наливают в рюмку (с плоским дном) или другую подходящую посуду и погружают туда стеклышко.

*Заключение въ бальзамъ.* Въмѣсто воды приготовленные на покровныхъ стеклахъ препараты можно изслѣдовать въ иммерсионномъ кедровомъ маслѣ или въ канадскомъ бальзамѣ. Окрашенное и промытое покровное стекло приклоняютъ къ какому-нибудь предмету, ставятъ отвѣсно на пропускной бумагѣ и ждутъ, пока оно высохнетъ, или острожно просушиваютъ между двумя кусками пропускной бумаги (стекло можно только надавливать, а не вытирать, такъ какъ иначе могутъ быть удалены частицы мазка! Приставшія волокна пропускной бумаги удаляютъ сухой кистью).

Капельку иммерсионнаго кедроваго масла или раствореннаго въ кеюлотѣ густаго канадекаго бальзама наносятъ на окрашенную сторону стеклышка, затѣмъ его накладываютъ на чистое сухое предметное каплей внизъ. Бальзамъ не долженъ вытекать изъ-подъ края стеклышка; если это имѣетъ мѣсто, избытокъ удаляется смоченной въ кеюлотѣ пропускной бумагой спустя нѣсколько дней, когда бальзамъ затвердѣлъ и стеклышко плотно пристало къ предметному; тѣмъ же самымъ способомъ удаляютъ съ покровнаго стеклышка оставшееся на немъ кедровое масло. Канадекій бальзамъ часто вытягиваетъ понемногу краски; поэтому иммерсионное масло лучше для такихъ препаратовъ, которые надо сохранять.

Если изслѣдованные въ водѣ препараты хотятъ сохранить въ бальзамѣ, то прежде всего пропускной бумагой удаляютъ съ верхней поверхности стеклышка оставшееся на немъ масло, обильно смачиваютъ водой предметное стекло у краевъ покровнаго, снимаютъ его съ предметнаго и высушиваютъ; заключеніе въ бальзамъ по вышеописанному способу.

*Приготовление препаратовъ на предметныхъ стеклахъ.* На предметныхъ стеклахъ сухіе препараты приготавливаются по тому же способу, что и на покровныхъ. Этотъ методъ рекомендуютъ, если за одинъ

разъ красятъ и изслѣдуютъ много матеріала; фиксируютъ и красятъ мазки такъ же, какъ и на покровныхъ. Для изслѣдованія препаратъ высушиваютъ пропускной бумагой или просто на воздухѣ и наносятъ на него каплю иммерсионнаго масла; изслѣдуютъ безъ покровнаго стеклышка. Въ случаѣ желательности сохранить препаратъ, самыя интересныя мѣста покрываются бальзамомъ и однимъ или нѣсколькими покровными стеклышками или же удаляютъ иммерсионное масло, прополоскавъ предметное стекло въ не большомъ стаканчикѣ съ эфиромъ, и сохраняютъ препаратъ, предохранивъ его отъ запыленія.

*Приблизительная величина бактерий* проше всего *опредѣляется* сравненіемъ съ красными кровяными тѣльцами (они имѣютъ отъ 7—9  $\mu$ . въ діаметрѣ); если ихъ нѣтъ (напр. въ разводкахъ), къ содержащему бактеріи матеріалу можно прибавить капельку крови изъ пальца. Точнѣе измѣреніе производится при помощи микрометрическихъ линеекъ въ окулярѣ и т. д.

## 2. Срѣзы.

*Уплотненіе тканей.* Маленькіе, величиной никакъ не больше 1 см. куски органовъ уплотняютъ въ много разъ перемѣняемомъ абсолютномъ спиртѣ по крайней мѣрѣ въ теченіе трехъ дней. На дно сосуда, употребляемаго для уплотненія тканей, кладутъ въ нѣсколько слоевъ пропускную бумагу, а на нее предназначенные для уплотненія куски, благодаря чему они всегда находятся въ болѣе высокихъ, съ меньшимъ содержаніемъ воды, слояхъ спирта. Такъ ихъ можно сохранять въ теченіе года, но способность нѣкоторыхъ бактерій къ окрашиванію при томъ нѣсколько страдаетъ. До уплотненія въ спиртѣ для достиженія хорошей фиксаціи куски кладутся на 12—24 часа въ формалинъ.—О методахъ быстро уплотненія см. стр. 66.

Необходимо дѣлать тонкіе срѣзы, что достигается при помощи микротомы. Для приготовления срѣзовъ куски уплотненной ткани наклеиваютъ или заключаютъ въ особыя среды, для чего совѣтуютъ пользоваться слѣдующими методами (1 и 2 только для болѣе плотныхъ и паренхиматозныхъ тканей).

1. *Наклеиваніе смѣсью глицерина съ желатиной:* 10 частей желатины растворяютъ въ нагрѣтой смѣси глицерина (40 ч.) и воды (20 ч.). На пробку наносятъ каплю приготовленнаго раствора, поверхъ ея кладутъ предназначенный для полученія срѣзовъ кусокъ и плотно его придавливаютъ; минуты двѣ спустя пробку съ кускомъ бросаютъ въ абсолютный алкоголь. Черезъ нѣсколько часовъ глицеринъ-желатина застываетъ и можно дѣлать срѣзы. Срѣзы кладутся въ чашечку съ 50%-ымъ алкоголемъ, имъ же смачиваютъ при рѣзаніи и ножъ микротомы.

2. *Заключеніе въ целлоидинъ.* Уплотненные въ алкогольъ куски тканей кладутъ на 1—8 дней въ жидкій, растворенный въ смѣси спирта съ эфиромъ аа целлоидинъ, отсюда на столько же времени въ густой, затѣмъ переносятъ лопаточкой вмѣстѣ съ приставшимъ целлоидиномъ на пробковый или деревянный кубикъ; не слѣдуетъ сильно придавливать! Когда целлоидинъ спустя нѣсколько времени слегка подсохнетъ на воздухѣ, куски кладутъ въ 50—60%-ый алкоголь (только не абсолютный!), чтобы целлоидинъ затвердѣлъ, послѣ чего по прошествіи около сутокъ ихъ можно рѣзать. Срѣзы собираютъ въ чашечку съ 50%-ымъ алкоголемъ, имъ же смачиваютъ ножъ микротомы при приготовленіи срѣзовъ.

3. *Заключеніе въ параффинъ:* Уплотненные въ алкогольъ куски тканей оставляютъ въ кеилолѣ отъ нѣсколькихъ часовъ до нѣсколькихъ дней (пока кусочки не сдѣлаются прозрачными), отсюда переносятъ на столько же времени въ растворъ параффина въ кеилолѣ затѣмъ въ разжиженный параффинъ съ т<sup>о</sup>

около 50° (параффинъ съ данной точкой плавленія получается смѣшеніемъ различныхъ сортовъ его); здѣсь ихъ оставляютъ на часъ—два (въ нагрѣтой граду-совъ до 50 параффиновой печи, которая регулируется подобно термостату). Совершенно пропитавшіеся параффиномъ куски тканей вынимаютъ лопаткой и кладутъ на чистую стеклянную пластинку; на пластинкѣ устанавливаютъ 4-угольную стм. въ 2 вышины рамку изъ стекла, металла или картона такъ, чтобы препаратъ лежалъ посрединѣ, наливаютъ въ нее горячаго параффина и заботятся о быстромъ застываніи параффина (поставить въ прохладномъ мѣстѣ, погрузить стеклянную пластинку въ холодную воду). Параффиновые столбики, если на нихъ не вырѣзываютъ гаджики, обозначаютъ этикетками (прикалываютъ иголкой). Прежде чѣмъ дѣлать срѣзы, на одной изъ сторонъ удаляютъ ножомъ параффинъ, пока не станетъ замѣтнымъ заключенный объектъ (чтобы лучше видѣть, въ какомъ направленіи вести срѣзы).

Рѣжутъ сухимъ ножомъ. Срѣзы кладутся въ чашку съ водой, нагрѣтой до 40—45°; здѣсь они расправляются и остаются на поверхности. Подъ нижнюю поверхность срѣза подводятъ чистое предметное стекло и вынимаютъ его изъ воды такъ, чтобы срѣзъ лежалъ на стеклѣ расправленнымъ; стекло ставятъ наклонно, чтобы стекла вода; для полного высушванія помѣщаютъ въ термостатъ при 37°, а затѣмъ переносятъ его въ параффиновую печь, пока параффинъ не расплавится и не начнетъ стекать. Параффинъ удаляютъ кеилоломъ, кеилолъ абсолютнымъ алкоголемъ. Срѣзъ плотно пристаеетъ къ предметному стеклу.

4. *Замораживаніе въ анисовомъ маслѣ.* Насколько возможно удаляютъ пропускной бумагой алкогольъ изъ кусковъ ткани и кладутъ ихъ, по меньшей мѣрѣ, на 24 часа въ анисовое масло. (Анисовое масло разжижаютъ въ термостатѣ при 37°, сливаютъ вмѣстѣ съ кусками тканей въ хорошо закрывающійся стеклянный

сосудъ и держать въ термостатѣ при 37°). Переносятъ куски съ нѣсколькими каплями масла на микротомъ съ замораживаніемъ, замораживаютъ масло эфирнымъ распылителемъ и дѣлаютъ срѣзы; собираютъ ихъ въ нагрѣтое до 37° анисовое масло, гдѣ они оттаиваютъ; передъ окрашиваніемъ масло изъ срѣзовъ удаляютъ пропускной бумагой и погруженіемъ въ мѣняемый нѣсколько разъ абсолютный алкоголь. Такъ же можно поступать и съ *Butyrum Casae*.

*Способы быстраго улощенія и заключенія:* а) по *Lubarsch'y* (D. M. W. 1903. № 48): 1. Куски тканей (по возможности свѣжихъ), толщиной 1—5 mm. кладутъ въ теплѣ (парафиновая печь, см. стр. 59, 3) 1) въ 10%—ый растворъ формалина на 10—15 минутъ. 2. Въ 95%—ый алкоголь на 5—10 минутъ. Алкоголь мѣняютъ одинъ разъ. 3. На 10 минутъ въ абсолютный алкоголь; его одинъ разъ мѣняютъ. 4. Въ совершенно чистое апилиновое масло, пока куски не станутъ совсемъ прозрачными (10—30 м.). 5. Кеилолъ мѣняютъ 2—3 раза, пока онъ перестанетъ желтѣть (15—20 мин.). 6. Заключаютъ въ парафинъ (10—60 мин.). Продолжительность всего приема 1½—3 часа. б) по *Henke-Zeller'y* (Cirbl. f. path. Anat. 05 Nr. I). Кусочки тканей толщиной въ 1—3 mm. помѣщаютъ при 35° на 30—40 минутъ въ безводный ацетонъ, на такой же срокъ въ парафинъ. Продолжительность этого способа 1—1½ часа. с) по *Scholz'y* (D. m. W. 05 Nr. II). Кусочки тканей толщиной въ 3—5 mm. помѣщаютъ въ термостатъ à 37° на 30—60 минутъ въ чистый ацетонъ. Затѣмъ промываютъ въ смѣси эфира и абсолютнаго алкоголя *aa*, помѣщаютъ въ жидкій целлоидинъ (также въ термостатѣ). Черезъ 4—5 часовъ въ густой целлоидинъ, чрезъ 2—3 часа переносятъ вмѣстѣ съ послѣднимъ въ плоскія чашечки, быстро просушиваютъ подъ стекляннымъ колоколомъ посредствомъ испаренія хлороформа. Годны для приготовленія срѣзовъ чрезъ 12—14 часовъ.

Для окраски срѣзы—отъ 1—3 заразъ—переносятъ при простомъ окрашиваніи изъ алкоголя прямо

въ чашечку со свѣже профильтрованнымъ красящимъ растворомъ (лучше наливать краску въ 4-угольныя чашечки—солонки, чѣмъ въ легко опрокидывающіяся часовыя стекла. Помѣщеніе въ термостатъ при 37° въ большинствѣ случаевъ ускоряетъ окрашиваніе). Затѣмъ срѣзы „дифференцируютъ“ для полученія отчетливаго окрашиванія первоначально диффузно окрасившихся тканевыхъ элементовъ; съ этой дѣлью употребляютъ разведенныя кислоты, разведенный или кислый алкоголь (особыя указанія см. въ отдѣлѣ „Методы спеціальнаго скрашиванія“). Интенсивно окрасившіеся срѣзы приобѣтаютъ при этомъ болѣе свѣтлую окраску. Далѣе слѣдуетъ обезвоживание въ абсолютномъ алкогольѣ (подготовка къ послѣдующему просвѣтленію срѣзовъ). Находящіеся въ алкоголь срѣзы быстро твердѣютъ и дѣлаются хрупкими, вслѣдствіе чего при погруженіи въ него ихъ необходимо предварительно расправлять; держать ихъ въ верхнихъ, болѣе бѣдныхъ водой слояхъ алкоголя. Обезвоженные срѣзы переносятъ для просвѣтленія въ кедровое (не то, что употребляется для иммерсии, а обыкновенное, не сгущенное), бергамотовое, оригановое или гвоздичное масло (послѣднее часто сильно обезцвѣчиваетъ, растворяетъ целлоидинъ!) или же въ кеилолъ (при этомъ даже слѣды воды вызываютъ помутнѣніе!). Изъ масла на предметное стекло, покрываютъ стеклышкомъ и изслѣдуютъ съ иммерсией. Для сохраненія препарата въ канадскомъ бальзамѣ удаляютъ изъ него масло, промываютъ кеилоломъ, наносятъ каплю раствореннаго въ кеилолѣ канадскаго бальзама и покрываютъ стеклышкомъ. Просвѣтленные въ кеилолѣ срѣзы изслѣдуютъ въ канадскомъ бальзамѣ, а не въ кеилолѣ, такъ какъ послѣдній быстро испаряется. Бальзамъ твердѣетъ въ короткое время. Объ удаленіи избытка бальзама см. стр. 56. Точно такъ же обрабатываютъ срѣзы, высушенные на предметномъ стеклѣ (см. стр. 59), причемъ или жидкости наносятъ на стекло или

же стекло погружаютъ въ жидкости. На предметномъ стеклѣ можно сушить и красить срѣзы и не заключенныхъ въ парафинъ органовъ. Подробности см. въ методахъ спеціальнаго окрашиванія.

Чтобы ориентироваться въ окраскѣ срѣза и грубыхъ патологическихъ измѣненіяхъ ткани, необходимо начинать изслѣдованіе при слабомъ увеличеніи.

При всѣхъ манипуляціяхъ со срѣзами лучше всего пользоваться стеклянными съ закругленными концами иглками, приготовленными изъ отпущенныхъ на огнѣ стеклянныхъ палочекъ (металлическія иглки здѣсь не годятся, такъ какъ нѣкоторыя употребляемая при окраскѣ вещества ихъ портятъ). Лопатки лучше всего употреблять только при переносѣ срѣза на предметное стекло; можно, впрочемъ, стирать срѣзъ непосредственно предметнымъ стекломъ свизу.

### Красяція вещества для окраски бактерій.

Для окраски бактерій служатъ главнымъ образомъ слѣдующія основныя анилиновыя краски: генціана- и метилвиолетъ, даля, метиленовая синька, фуксинъ, (очень близкій къ нему по составу рубинъ, бисмаркъ-браунъ (везувинъ). Кромѣ бактерій краски эти интенсивно и прочно окрашиваютъ клеточныя ядра, остальные же элементы тканей менѣе интенсивно. Растворы метиленовой синьки не переносятъ сильнаго нагреванія, которое выдерживаютъ другія красяція вещества.

Для окраски тканей въ отличный отъ бактерій цвѣтъ служатъ (кромѣ основныхъ) кислыя анилиновыя краски (напр. эозинъ), только ядра онѣ плохо красятъ;—изъ другихъ красокъ можно назвать карминъ. (Нѣкоторые микроорганизмы, напр. staphylocoques, красятся и этими красками). Слѣдуетъ упо-

треблять краски только извѣстныхъ фабрикъ, чтобы предохранить себя отъ неудачъ, и обращать вниманіе на точное названіе краски!

### Приготовленіе простѣйшихъ красящихъ растворовъ.

#### 1. Водноспиртовые растворы:

Заготавливаютъ основныя, т. е. при комнатной т° насыщенные растворы красящихъ веществъ въ абсолютномъ алкоголѣ. (Въ бутылку со стеклянной пробкой наливаютъ абсолютнаго спирта и прибавляютъ туда краски, пока часть ея не останется нерастворенной). Для окрашиванія такіе растворы не годятся. Чтобы приготовить изъ нихъ красящій растворъ, къ дистиллированной водѣ прибавляютъ основнаго раствора, пока смѣсь не начнетъ становиться не прозрачной. Лучше всего каждый разъ изготовлять свѣжій.

#### 2. Водные растворы:

Краску прибавляютъ въ избыткѣ къ дистиллированной водѣ, хорошенько взбалтываютъ и фильтруютъ спустя нѣсколько часовъ. Лучше всего каждый разъ изготовлять свѣжій растворъ!

Вообще слѣдуетъ замѣтить, что всегда получаютъ лучше окрашенные препараты при продолжительномъ окрашиваніи слабой краской, чѣмъ при непродолжительномъ сильной.

### Усиленные растворы анилиновыхъ красокъ.

*Они окрашиваютъ интенсивнѣе, чѣмъ простыя.*

а) Растворъ метиленовой синьки по Löfflerу.

30 куб. сант. насыщеннаго спиртоваго раствора метиленовой синьки.



100 кб. сант. 0,01%-й калийной щелочи (-1 кб. сант. 1%-ой кал. щелочи на 100 воды). Может сохраняться.

б) Красящие растворы на анилиновой водѣ:

Въ пробирку наливаютъ (совершенно свѣтлаго) анилинового масла до заполнения вышуклой ея части, приливаютъ воды до  $\frac{3}{4}$  пробирки и хорошенько взбалтываютъ. Послѣ взбалтыванія должно еще остаться не растворившееся анилиновое масло. Получающійся при фильтрованіи на смоченномъ фильтрѣ фильтратъ долженъ обладать прозрачностью воды и не содержать ни капли масла (не слѣдуетъ наливать масла на фильтр и не фильтровать всей налитой на фильтр жидкости. Въ случаѣ надобности профильтровать еще разъ). Къ фильтрату прибавляютъ насыщеннаго спиртоваго раствора генціанавіолета, метилвіолета или фуксина до тѣхъ поръ, пока красящая жидкость остается еще прозрачной или до появленія на поверхности жидкости переливчатой пленки. Или же растворяютъ краску въ анилиновой водѣ до насыщенія. Окрашивающая способность растворовъ можетъ быть повышена прибавленіемъ 1 кб. сант. 1%-аго раствора NaOH къ 100 кб. сант. краски. Растворы эти, какъ и сама анилиновая вода, весьма не прочны.

с) Карболовый фуксинъ по Ziehl-Nelsen'y: 100 кб. сант. 5%-ой карболовой кислоты, 10 кб. сант. насыщеннаго спиртоваго раствора фуксина.

Въ трехъ-четыре-кратномъ разведеніи красить медленно, зато чище, не такъ легко переокрашиваетъ, весьма употребителенъ также въ разведеніи 1:10 при различнѣйшихъ окраскахъ въ виду даваемыхъ имъ отчетливыхъ картинъ. Очень проченъ.

д) Карбологлицериновый фуксинъ по Czaplowski:

Растираютъ 1 г. фуксина съ 5 кб. сант. Ac. saccharol. liquefact., прибавляютъ 50 кб. сант. глицерина и 100 кб. сант. дистиллированной воды. Употребляется для окрашиванія въ 4—10-кратномъ разведеніи. Проченъ.

е) Карболовая метиленовая синька по Kühne:

1,5 метиленовой синьки,

10 кб. сант. абсолютнаго алкоголя,

100 кб. сант. 5%-ой карболовой кислоты.

Хорошо сохраняется.

ф) Карболовый тионинъ по Nicolle. Насыщенный растворъ тионина въ 5% алкоголь, 10,0 его + 1% карболовой воды 100,0. Очень проченъ.

г) Метиленовая синька съ бурой по Manson'y см. Параз. малярии.

### Простое окрашиваніе мазковъ

производится преимущественно растворами метиленовой синьки, фуксина и генціанавіолета (описание см. на стр. 53 и 60). Выборъ той или другой краски зависитъ отъ изслѣдователя. Но нѣкоторыя бактерии наилучше красятся одной опредѣленной краской (ср. Bac. dysphter. и Vibr. cholera).

Кровь, гной, сдѣланные кусочками тканей мазки, вообще лучше всего красятся метиленовой синькой или разведеннымъ 1:10 карболовымъ фуксинномъ (стр. 64); предназначенные для сохраненія и окрашенные такимъ способомъ препараты заключаютъ въ иммерсионное кедровое масло, а не въ канадскій бальзамъ (см. стр. 56).

### Простое окрашиваніе срѣзовъ.

а) По Loeffler'y:

1. Красятъ въ щелочномъ растворѣ метиленовой синьки (въ карболовомъ фуксинѣ или въ фуксинѣ на анилиновой водѣ)—см. стр. 63—5—30 минутъ.

2. Дифференцируютъ въ  $\frac{1}{2}$ %—1%-ой уксусной кислотѣ до появленія ясной структуры ткани (отъ нѣсколькихъ секундъ до полуминуты, въ зависимости отъ толщины срѣза и интенсивности окраски).

3. Обезвоживаютъ въ абсолютномъ спиртѣ (перемѣнить, если онъ окрасился).

4. Просвѣтляютъ въ кедровомъ маслѣ etc. Бациллы и ткани принимаютъ синюю окраску (или красную).

b) По R. Pfeiffer'у:

1. Красятъ въ разведенномъ карболовомъ фуксинѣ (Ziehl'евского раствора 1+Аq. dest. 3)—см. стр. 64с—15—30 минутъ.

2. Переносятъ въ абсолютный спиртъ + 1—2 капли уксусной кислоты на чашечку.

Какъ только срѣзы начинаютъ принимать красно-фиолетовую окраску,

3. переносятъ въ кедровое масло или кеплоль etc.

с) Генціанавіолетомъ:

1. Красятъ въ водномъ растворѣ 15—30 минутъ.

2. Промываютъ сперва въ 50%-омъ, затѣмъ въ абсолютномъ спиртѣ, пока срѣзы не примутъ свѣтло-фиолетовую окраску.

3. Просвѣтляютъ въ кедровомъ маслѣ etc.

d) По Pregl'ю.

1. Красятъ въ карболовой, метиленовой синькѣ  $\frac{1}{2}$ —1 минуту.

2. Быстро прополаскиваютъ водой.

3. Обезцвѣчиваютъ въ 50%-омъ спиртѣ, пока срѣзы не примутъ блѣдно-синяго (съ зеленоватымъ оттѣнкомъ) окрашивания.

4. Обезвоживаютъ въ абсолютномъ спиртѣ.

5. Просвѣтляютъ въ кедровомъ маслѣ etc.

e) По способу Nicolle'я (метиленовой синькой съ таниномъ):

1. Красятъ щелочной или карболовой метиленовой синькой, какъ въ а и d.

2. Прополаскиваютъ нѣсколько секундъ въ водѣ или  $\frac{1}{2}$ —1%-ой уксусной кислотѣ.

3. Переносятъ на нѣсколько секундъ въ 10%-ый растворъ танина. (Метиленовая синька становится при

этомъ нерастворимой, для этого достаточно уже и 1%-ого раствора танина).

4. Прополаскиваютъ въ водѣ, обезвоживаютъ спиртомъ, просвѣтляютъ въ маслѣ etc.

Этотъ способъ рекомендуется для окраски легко обезцвѣчивающихся бациллъ (тифъ, сапъ etc).

f) По способу Nicolle'я (тіониномъ):

1. Красятъ  $\frac{1}{2}$ —1 минуту растворомъ тіонина.

2. Прополаскиваютъ въ водѣ.

3. Обезвоживаютъ въ абсолютномъ спиртѣ, затѣмъ переносятъ въ масло etc.

Какъ и предыдущій, рекомендуется для окраски легко обезцвѣчивающихся бактерій.

Предпочтенія заслуживаютъ способы а, b и f въ виду ихъ простоты и получаемыхъ отъ нихъ хорошихъ результатовъ.

### Изолированная, гесп. контрастная окраска бактерій.

I. Способъ Pick-Jacobsohn. Мазки.

Окрашиваютъ самое большее 8—10 секундъ въ слѣдующей смѣси: карболового фуксина Ziehl'я (стр. 64с) 15 капель, насыщеннаго спиртоваго раствора метиленовой синьки 8 капель, Аq. dest. 20,0. Бактеріи окрашиваются въ темносиній цвѣтъ, ядра въ свѣтлосиній, остальная ткань принимаетъ красную окраску. (Для улучшения красящей способности старыхъ растворовъ прибавляютъ немного карболового фуксина!).

II. Двойная окраска метиленовой синькой и эозиномъ. Мазки.

1. Красятъ  $\frac{1}{2}$  минуты въ свѣжей смѣси Löfgler'овскаго раствора метиленовой синьки (стр. 63а) 30,0 съ насыщеннымъ спиртовымъ растворомъ эозина 10,0.

2. Промываютъ водой.

Бактеріи и ядра принимаютъ синюю окраску, протоплазма клѣтокъ и т. д. красную. Для срѣзовъ

рекомендуется способ Lenz'a для окрашивания тѣлецъ собачьяго бѣшенства (см. соотв. главу).

III. По May-Grünwald'y. (Zentralbl. f. inn. Med. 1902. Nr. 11).

Смѣшиваютъ 1‰-ый водный растворъ возина и метиленовой синьки (medic. Höchst) по 1000 куб. сант. каждого и фильтруютъ спустя нѣсколько дней. Остатокъ промываютъ водой, пока послѣдняя начинаетъ стекать почти безцвѣтной. Изъ высушеннаго остатка готовятъ насыщенный растворъ въ метиловомъ алкоголѣ и (не фиксируя мазка на покровномъ стеклышкѣ) красятъ имъ на холоду (отъ нѣсколькихъ минутъ до нѣсколькихъ часовъ). Далѣе промываютъ водой нѣсколько капель раствора. Краску можно получить отъ Dr. Schwalm, München, Sonnenstr. 10. Особенно пригодна для препаратовъ изъ крови и гноя.

Assmann, M. m. W. 1906 Nr. 28, обливаетъ мазокъ въ чашечкѣ Петри 40 каплями раствора и оставляетъ препаратъ на три минуты, послѣ чего прибавляетъ 20 куб. сант. Aq. dest. + 5 капель 1‰ K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, взбалтываетъ и оставляетъ для окрашивания на 5 минутъ. Не промывая, высушиваютъ и т. д.

#### IV. Окраска по Gram'y.

Употребляется какъ для отчетливаго окрашивания бактерий, такъ и въ качествѣ диагностическаго ередства, потому что по Gram'y красятся только опредѣленные виды бактерий.—см. 70 стр.

##### а) Мазокъ:

1. Красятъ, подогревая по крайней мѣрѣ въ теченіе двухъ минутъ, въ растворѣ генціанавіолета или метилвіолета на анилиновой водѣ (см. стр. 64). Наиболее подходящія краски метилвіолетъ Höchst 6B и BN.

1. а) Промываютъ въ анилиновой водѣ (можно опустить).

2. Держать отъ 30 секундъ до 2 минутъ въ растворѣ іода съ іодистымъ калиемъ. (Въ 5,0 Aq. dest. растворяютъ іода 1,0, іодист. кал. 2,0, по раствореніи добавляют Aq. dest. ad. 300,0).

При этомъ въ тѣлахъ опредѣленныхъ видовъ бактерий образуется нерастворимое въ спиртѣ соединеніе іода съ краской (стр. 70).

3. Обезцвѣчиваютъ препаратъ въ абсолютномъ алкоголѣ, пока онъ на глазахъ не станетъ безцвѣтнымъ. Красящіяся по Gram'y бактерии приобрѣтаютъ черно-синюю окраску, все остальные бактерии и тканевые элементы (включая сюда отдѣльно лежащія клѣточные ядра) обезцвѣчиваются. Препараты можно изслѣдовать или

4. подвергнуть дополнительному окрашиванію въ водно-спиртовомъ растворѣ везувина, сафранина или фуксина въ теченіе нѣсколькихъ секундъ, также пикрокарминомъ (см. стр. 73) 2—10 минутъ. Дополнительная окраска растворами везувина или фуксина имѣетъ то преимущество, что нѣкоторыя находящіяся въ препаратѣ бактерии, не удерживающія віолета, ясны окрашиваются вышеуказанными растворами, чѣмъ сафраниномъ или карминомъ.

5. Промываютъ въ водѣ.

Красящіяся по Gram'y бактерии черно-синяго цвѣта. Ткань краснаго.

б) Срѣзы (ср. примѣчаніе при а):

1. Красятъ въ растворѣ генціанавіолета или метилвіолета на анилиновой водѣ 5—30 минутъ.

1. а) Промываютъ въ анилиновой водѣ 30 секундъ. (Можно опустить).

2. Переносятъ препаратъ на 1—2 минуты въ растворѣ іода съ іодистымъ калиемъ. Срѣзы становятся бурочерными.

3. Промываютъ въ абсолютномъ алкоголѣ, пока срѣзъ не обезцвѣтится совершенно или въ значительной степени. Красящіяся по Gram'y бактерии принимаютъ черно-синій цвѣтъ. Препараты можно просвѣтлить въ кедровомъ маслѣ etc., примѣнить послѣдовательную окраску тканей и нѣкоторыхъ находящихся въ препаратѣ бактерий, не красящихся по Gram'y (4—7).

4. Последовательная окраска пикрокарминомъ (см. стр. 73), сафраниномъ или разведеннымъ фуксиномъ 5—10 минутъ (послѣ предварительнаго промыванія въ водѣ или разведенномъ спиртѣ).

5. Промываютъ въ 60%-омъ спиртѣ.

6. Обезвоживаютъ въ абсолютномъ спиртѣ.

7. Просвѣтляютъ въ кедровомъ маслѣ и т. д.

Можно также продѣлать раньше операціи 4—5 и уже потомъ 1—3 и 7.

Красящаяся по Gram'у бактерія черно-синяго цвѣта, ткань краснаго (клеточныя ядра часто отблѣдно-до темносиняго). Въ большинствѣ случаевъ не во всѣхъ частяхъ препарата бактерія бываютъ одинаково хорошо окрашены.

### Измѣненія метода Gram'a.

а) Въмѣсто анилиновой воды для приготовления красящаго раствора можно пользоваться и 1—2%-ой карболовой водой—такіе растворы прочіе. Послѣ окрашиванія можно промывать въ соответствующей карболовой водѣ, рекомендуется также прибавлять къ красящему раствору одну десятую часть насыщеннаго спиртоваго раствора метиленовой синьки.

б) Для ускоренія обезцвѣчиванія въмѣсто алкоголя по Günther'у можетъ служить абсолютный спирт+3% HCl (10 сек.), а затѣмъ абсолютный спирт; по Nicolle'ю абсолютный спирт+20—30% по объему ацетона. (Nicolle рекомендуетъ генцианавiolet на карболовой водѣ съ 1%-ой карболовой водой; растворъ іода съ іодистымъ калиемъ по формулѣ 1,0 J+2,0 KJ+200,0 aq.).

По способу Gram'a красятся, т. е. при обработкѣ алкоголемъ (3) остаются окрашенными въ черносиній цвѣтъ: бациллы сибирской язвы, столбняка, туберкулеза и проказы (окрашиваніе ихъ цѣлесообразно только

при увѣренности, что въ препаратѣ нѣтъ никакихъ другихъ бактерій), бациллы дифтеріи, свиной краснухи (рожи), септицеміи мышей, птогенные стрепто и стафилококки, пневмококки Fraenkel'я, micrococcus tetragenus, streptothrix, actinomyces, дрожжи, бациллы картофеля и многія другія (NB: слишкомъ долгая обработка алкоголемъ обезцвѣчиваетъ нѣкоторыя изъ перечисленныхъ бактерій, особенно если онѣ взяты изъ болѣе старыхъ разводокъ!).

Методъ Gram'a непримѣнимъ къ нижеперечисленнымъ бактеріямъ, которыя обезцвѣчиваются въ спиртѣ:—бактерія тифа, кишечная палочка и имѣ подобныя, бактерія дизентеріи, холерный и холероподобные вибрионы, бактерія куриной холеры и септицеміи морскихъ свинокъ, бациллы злокачественнаго отека и шумящей гангрены (послѣднія иногда обезцвѣчиваются, иногда остаются окрашенными см. стр. 72 Nr. VI), пневмобациллы Friedländer'a, возбудители бубонной чумы, сапа, инфлюэнцы, микробы Koch-Weeks'a, бактерія мягкаго шанкра, спириллы возвратнаго тифа, гонококки, менингококки.

Для опредѣленія отношенія данной разводки къ окраскѣ по Gram'у слѣдуетъ всегда брать молодую культуру, при чемъ для выясненія, правильно ли ведется работа, прибавляютъ къ мазку на покровномъ или предметномъ стеклѣ въ одномъ какомъ-нибудь мѣстѣ бациллы молодой культуры сибирской язвы (въ качествѣ показателя) при изслѣдованіи кокковъ; молодую культуру staph. ruog. aur.—при изслѣдованіи бациллъ; при точномъ исполненіи метода окраски бациллы сибирской язвы и стафилококки окрашиваются въ черносиній цвѣтъ. Не слѣдуетъ слишкомъ сокращать продолжительность обработки алкоголемъ, такъ какъ въ противномъ случаѣ всѣ бактеріи окрасятся по Gram'у! (Въ случаѣ необходимости контрольная окраска изслѣдуемой бактеріи съ прибавкой тифозныхъ бациллъ или холерныхъ вибрионовъ, которые не красятся по Gram'у!).

V. Окраска срѣзовъ по Weigert'y (такъ называемый способъ фибрина).

1. Красятъ литій-карминомъ (2,5—5,0 кармина растворяютъ въ 100,0 насыщеннаго воднаго раствора углекислаго литія) или водно-спиртовымъ растворомъ сафранина  $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$  часа (также слѣдующей смѣсью: карболоваго фуксина Ziehl'я 1+4 aq. dest.).

2. Промываютъ въ 50%-омъ растворѣ поваренной соли.

3. Красятъ генциановіолетомъ на анилиновой водѣ 5—30 минутъ. Или по Kühne въ слѣдующемъ растворѣ: 1 часть кристалліолета растворяютъ въ 10 частяхъ абсолютнаго алкоголя; 1 часть этого раствора берутъ на 10 aq. dest. + 2 капли соляной кислоты.

4. Промываютъ въ 0,6%-омъ растворѣ поваренной соли.

5. Переносятъ срѣзъ на предметное стекло и просушиваютъ его пропускной бумагой.

6. Наносятъ на препаратъ на 1—2 минуты растворъ іода съ іодистымъ калиемъ.

7. Просушиваютъ пропускной бумагой.

8. Обесцвѣчиваютъ анилиновымъ масломъ, пока оно не перестанетъ окрашиваться. Окраска срѣза контролируется при помощи микроскопа!

9. Удаляютъ анилиновое масло ксилоломъ, заливаютъ. Бактеріи фіолетовосиняго цвѣта, фибрилл темно-синяго, ткань краснаго. Пикрокарминъ не особенно пригоденъ для предварительной окраски ткани, такъ какъ анилиновое масло извлекаетъ изъ ткани пикриновую кислоту.

VI. По Claudiu'sy: методъ этотъ равноцѣненъ окраскѣ по Gram'у (пикриновая кислота дѣйствуетъ какъ растворъ іода съ іодистымъ калиемъ) даетъ меньше осадка, чѣмъ способъ Gram'a, окрашиваетъ въ черносиній цвѣтъ еще и бактерии злокачественнаго отека и шумящей гангрены.

а) Мазки.

1. Красятъ 1 минуту въ 1%-омъ водномъ растворѣ метиліолета, промываютъ водой, просушиваютъ пропускной бумагой.

2. Промываютъ смѣсью равныхъ объемовъ насыщеннаго воднаго раствора пикриновой кислоты и дистиллированной воды.

3. Промываютъ водой, просушиваютъ пропускной бумагой.

4. Промываютъ въ хлороформѣ или гвоздичномъ маслѣ, пока препаратъ не обезцвѣтится.

5. Просушиваютъ пропускной бумагой, заключаютъ въ балъзамъ.

б) Срѣзы (лучше всего препараты на предметномъ стеклѣ).

1. Красятъ какъ при а) 2 минуты и дольше.

2. Промываютъ водой, просушиваютъ пропускной бумагой.

3. Пикриновая кислота какъ при а) двѣ минуты.

4. Промываютъ водой, тщательно просушиваютъ пропускной бумагой.

5. Обработываютъ гвоздичнымъ масломъ до обезцвѣченія срѣза. Ксилолъ. Канадскій балъзамъ.

Бактеріи синяго цвѣта. Ткань безцвѣтна или желтовата, при предварительномъ окрашиваніи растворами кармина (какъ при окраскѣ по Gram'у стр. 68) она краснаго цвѣта.

*Растворъ пикрокармина для контрастной окраски ткани:*

а) По Friedländer'y: Растворяютъ 1,0 кармина въ 50,0 aq. dest. + 1,0 амміака. Прибавляютъ насыщеннаго воднаго раствора пикриновой кислоты до тѣхъ поръ, пока образующійся осадокъ уже больше не растворяется при взбалтываніи. Амміакъ, прибавленный въ незначительномъ количествѣ, снова растворяетъ осадокъ. Чтобы воспрепятствовать развитію микроорганизмовъ въ такомъ растворѣ, къ нему прибавляютъ нѣсколько капель карболовой кислоты. Передъ употребленіемъ фильтруютъ. Прочный растворъ.

б) По Weigert'y: 2 части кармина + 4 амміака оставляют на 24 часа. Затѣмъ прибавляютъ 200,0 концентрированного воднаго раствора пикриновой кислоты, спустя 24 часа уксусную кислоту по каплямъ до появленія осадка, послѣ чего по каплямъ же амміакъ до проясненія.

### Окрашиваніе капсуль.

Капсулы многихъ бактерій при болѣе или менѣе долгой окраскѣ препаратовъ на покровномъ стеклышкѣ растворомъ Loeffler'a или Ziehl'a (63а и 64с) при нагреваніи окрашиваются въ блѣдный синефіолетовый цвѣтъ или въ красный. Особые методы для окраски капсуль слѣдующіе:

а) По Weidenreich-Hamm'y. С. В. I. Or. 43 S. 287. Мазокъ дѣлается въ каплѣ сыворотки. Фиксація осміевою кислотой (стр. 54), не долше 30—40 сек. Затѣмъ окрашиваніе жидкостью Giemsa. (Ср. паразиты маляріи).

б) По John'e:

1. Красятъ 2% воднымъ растворомъ генціана-фіолета, нагревая 1—2 минуты.

2. Промываютъ въ водѣ.

3. Обесцвѣчиваютъ въ 1—2% уксусной кислотѣ въ теченіе 6—10 сек.

4. Промываютъ въ водѣ и изслѣдуютъ въ ней. Канадскій бальзамъ почти уничтожаетъ капсулы.

с) По Ribbert'y (только мазки):

1. Красятъ препаратъ на покровномъ стеклышкѣ нѣсколько секундъ въ слѣдующемъ растворѣ:

Aq. dest. 100,0, абсолютнаго алкоголя 50,0, acid. acetic. glac. 12,5 + далія, пока она растворяется при нагреваніи.

2. Промываютъ въ водѣ, изслѣдуютъ въ ней или просушиваютъ, заключаютъ въ бальзамъ (послѣдній дѣлаетъ капсулы менѣе отчетливыми!).

д) По Nicolle'ю (мазки и срѣзы):

1. Красятъ слѣдующей смѣсью: насыщеннаго раствора генціанафіолета въ 95%-омъ алкогольѣ 10,0, 1%-ой карболовой воды 100,0.

2. Промываютъ въ абсолютномъ алкогольѣ +  $\frac{1}{3}$  объема ацетона. Промываютъ покровныя стеклышки водой, срѣзы абсолютнымъ алкогольемъ, масломъ etc.

е) Методъ окраски жгутиковъ по Bunge (см. стр. 78).

ф) См. ниже методы окраски бациллъ сибирской язвы стр. 82; ихъ можно примѣнять и при нѣкоторыхъ другихъ бактеріяхъ.

### Окраска споръ.

а) 1. Препараты на покровномъ стеклышкѣ красятъ, при сильномъ нагреваніи фуксиномъ на авириновой водѣ или карболовымъ фуксиномъ (при плавающемъ на поверхности красящаго раствора намазанной стороной внизъ препаратѣ; окраска длится часъ или 10 минутъ, при наливаніи краски на препаратъ—испаряющаяся краска тотчасъ замѣняется новой).

Лучшее проникновеніе красящаго вещества въ споры достигается 30—40 кратнымъ проведеніемъ препарата сквозь пламя при фиксаціи (см. стр. 54).

2. Промываютъ алкогольемъ + 3% соляной кислоты (или 1% сѣрной кислоты или 3% азотной)  $\frac{1}{2}$ —1 минуту или 70% алкогольемъ, пока послѣдній перестаетъ окрашиваться.

3. Красятъ водно-спиртовымъ растворомъ метиленовой синьки.

4. Промываютъ въ водѣ, изслѣдуютъ въ ней или просушиваютъ, потомъ бальзамъ.

Споры краснаго цвѣта, бациллы сиваго. Заслуживаетъ предпочтенія, какъ болѣе надежный, методъ b) Møller'a.

1. Покровныя стеклышки (послѣ фиксаціи) обрабатываютъ отъ 5 секундъ до 10 минутъ 5%-ымъ вод-

ным раствором хромовой кислоты. Продолжительность должна быть определена для каждого вида микроорганизмов.

2. Промывают водой.

3. Красят кипящим фуксином на анилиновой водѣ или карболовымъ 1 минуту.

4. Обесцвѣчиваютъ въ 5%-ой сѣрной кислотѣ 5 секундъ.

5. Промывают водой.

6. Красят растворомъ метиленовой синьки. Промываютъ и т. д.

До обработки хромовой кислотой можно положить препараты на 2 минуты въ хлороформъ, чтобы удалить могущія быть принятыми за споры капельки жира etc. Затѣмъ промываютъ водой.

По Aujezsky (Strbl. f. Bakt. Abt. I, Bd. 23 S. 329) кладутъ высушенные на воздухѣ, не фиксированные мазки на 3—4 минуты въ горячую  $\frac{1}{2}$ %-ую HCl, промываютъ водой, просушиваютъ, фиксируютъ и красятъ, какъ выше 3—6.

По Orszag'y (C. B. I. Or. 41 S. 397), исследуемый материалъ, содержащій бактеріи, вносятъ въ каплю смѣси изъ 4 частей  $\frac{1}{2}$ % раствора салициловаго натра и 1 части 5% уксусной кислоты, просушиваютъ на воздухѣ, фиксируютъ въ пламени и постунаютъ потомъ какъ при b) 3—6 (при 4. 1%  $H_2SO_4$  или 3%  $HNO_3$ ).

### Окраска жгутиковъ.

(Наблюденіе жгутиковъ на живыхъ бактеріяхъ см. освѣщеніе темнаго фона стр. 6).

Убѣдившись исследованіемъ въ висячей каплѣ въ подвижности бактеріи, берутъ содержащій бактеріи матерьялъ съ разводокъ на твердыхъ средахъ (не на жидкихъ), при чемъ всего лучше молодыя агарныя разводки.

Подвергаемая дѣйствию протравы бактеріи должны лежать возможно изолированными и содержать

поменьше составныхъ частей питательной среды, что достигается слѣдующимъ образомъ: на шесть старательнѣйшимъ образомъ очищенныхъ покровныхъ стеклышекъ наносятъ на каждое по капелькѣ воды, переносятъ на первое частицу содержащаго бактеріи матерьяла, съ него незначительное количество на второе, со второго на третье и т. д.

Или: частицу содержащаго бактеріи матерьяла переносятъ въ капельку воды на предметномъ стеклѣ, взятое отсюда минимальное количество переносятъ въ большую каплю воды, къ которой прибавлены 1—2 петли 2%-аго раствора осмиевой кислоты; мазокъ на покровномъ стеклышкѣ приготавливаютъ изъ этой капли. Или: въ пробиркѣ съ 0.8%-ымъ растворомъ NaCl приготавливаютъ разведенную эмульсію изъ бактерій, наносятъ каплю ея на покровное стеклышко, дѣлаютъ мазокъ (не слѣдуетъ слишкомъ сильно растирать), даютъ ему высохнуть на воздухѣ и фиксируютъ проведеніемъ въ пламени.

Покровныя стеклышки должны быть совершенно чистыми! (Очистка см. стр. 7).

### А. Окрашивание жгутиковъ по Loeffler'y.

1. Жгутики протравливаютъ ниже приводимой протравой. Нагрѣваютъ ее на покровномъ стеклышкѣ до появленія паровъ  $\frac{1}{2}$ —1 минуту.

2. Промываютъ препаратъ сильной водяной струей. Тщательно удаляютъ протраву съ краевъ (въ случаѣ надобности пропускной бумагой) и съ поверхности.

3. Промываютъ алкогодемъ, пока не останутся протравленными (окрашенными) только мѣста, на которыхъ лежатъ микроорганизмы.

4. Красятъ при нагрѣваніи фуксиномъ на анилиновой водѣ (къ приготовленному (стр. 64 b) раствору цѣлесообразно прибавить 1% или больше 1%-аго NaOH до появленія осадка, т. е. до только начинающагося помутнѣнія раствора—который каждый разъ приготавливать ex tempore!).

5. Промываютъ водой.

Въ качествѣ протравы служитъ смѣсь 10 куб. сант. 20%-аго раствора таннина, 5 куб. сант. насыщеннаго на холоду раствора сѣрниокислаго желѣза Ferr. sulfur. oxydul. ammon., 1 куб. сант. воднаго или спиртоваго раствора фуксина (можно метилвиолета).

Эта протрава по Loeffler'y пригодна вполне для окраски жгутиковъ spirillum concentricum; для бациллъ тифа на 16 куб. сант. протравы необходимо прибавить 1 куб. сант. 1%-аго ѣдкаго натра, для bac. subtilis 28—30 капель, для бациллы злокачественнаго отека 36—37 капель щелочи.

Чтобы протравить жгутики спирали холеры, resp. spirillum rubrum, къ 16 куб. сант. протравы слѣдуетъ прибавить  $\frac{1}{2}$ —1 часть, resp. 9 капель сѣрной кислоты, установленной по 1%-му ѣдкому натру.

По Nicolle'ю и Morax'у можно отказаться отъ прибавленія щелочи и кислоты, если протравливать, нагревая до появленія паровъ (не до кипѣнія), 3—4 раза по 10 секундъ, а между каждыми двумя протравливаніями тщательно промывать водой.

Образованія осадковъ на препаратѣ избѣгаютъ очень тщательнымъ промываніемъ. Цѣлесообразно также при протравливаніи и окрашиваніи положить сперва на препаратъ кусочекъ пропускной бумаги и на нее лить растворъ.

Способъ В и n g e:

1. Протравливаютъ слѣдующимъ растворомъ: 3 части концентрированнаго воднаго раствора таннина, 1 часть Liq. ferr. sesquischl. 1:20 aq. Къ 10 куб. сант. смѣси прибавляютъ 1 куб. сант. насыщеннаго воднаго раствора фуксина. Протрава должна постоять по меньшей мѣрѣ нѣсколько дней. Передъ употребленіемъ къ ней прибавляютъ по каплямъ перекись водорода, пока она не приметъ красную окраску (около 14 капель 3%-го раствора перекиси водорода на 5 куб. сант. протравы). Затѣмъ наливаютъ растворъ, фильтруя его при этомъ, на протравливаемый мазокъ

на покровномъ стеклышкѣ и оставляютъ при подогреваніи 1—5 минутъ. (Протрава съ прибавленіемъ перекиси водорода годна къ употребленію только очень короткое время).

2. Промываютъ водой.

3. Просушиваютъ пропускной бумагой.

4. Красятъ, слегка подогревая, растворомъ карболоваго генцианвиолета (см. стр. 70а).

5. Переносятъ на  $\frac{1}{2}$ —1 минуту въ 1%-ую уксусную кислоту (можно пропустить).

6. Промываютъ водой, просушиваютъ, заключаютъ въ бальзамъ.

Модификація эта примѣнима для всѣхъ бактерій безъ прибавки чего-либо къ протравѣ. При этомъ окрашиваются и капсулы, особенно если до дѣйствія протравы обработать препаратъ отъ  $\frac{1}{2}$  до одной минуты 5% уксусной кислотой и промыть его водой.

Модификація Coe p e r g a - A. F i s c h e r g a:

1. Протравливаютъ 1 минуту слѣдующимъ подогретымъ, но не доведеннымъ до кипѣнія растворомъ: 2,0 таннина, 20,0 воды, 4 куб. сант. раствора сѣрниокислаго желѣза 1:2, 1 куб. сант. насыщеннаго спиртоваго раствора фуксина.

2. Промываютъ водой.

3. Красятъ анилиновымъ или карболовымъ фуксиномъ или же насыщеннымъ воднымъ растворомъ фуксина.

4. Промываютъ водой, просушиваютъ, заключаютъ въ бальзамъ.

Методъ этотъ пригоденъ для всѣхъ бактерій безъ прибавки чего-либо къ протравѣ.

## В. Окраска жгутиковъ по Pe p p l e r ' y.

(С. В. I. Bd. 29 S. 345).

1. Протравливаютъ 1—5 мин., не нагревая, слѣдующимъ растворомъ: 20 частей таннина въ 80 ч. аq.



dest. растворяют на водяной бане при легком нагревании, охлаждают до 20°; медленно, небольшими количествами прибавляют 15 с. см. раствора свободной от H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> хромовой кислоты (2,5 в 100 aq. dest), взбалтывая каждый раз; оставляют спокойно стоять в течение 4—6 дней при комнатной температуре не ниже 18°, фильтруют через двойной складчатый фильтр, избегая сильного охлаждения. Сохраняют при комнатной температуре. Осадки не имеют значения. Пред употреблением фильтруют.

2. Промывают в сильной водопроводной струе, дают хорошо отечь воду.

3. Красят 2 мин. карболовым раствором генциановиолета без нагревания. (Спиртовый раствор генциановиолета (5:100) 10,0, Acid. carbol. liq. fact. 2,5, Aq. destill. ad. 100, раствор оставляют в течение нескольких дней в покое, фильтруют, не взбалтывая).

4. Хорошо промывают водой, обсушивают.

### С. Окраска жгутиков по Egmengem'y:

1. Мазки обрабатывают 1/2 часа на холоду или 5 минут при 50—60° в смеси одной части 2%-ой осмиевой кислоты и 2 частей 10%—25%-ного раствора танина, на 1000 куб. сант. которого прибавляют 4—5 капель acid. acetic. Смесь, где это возможно, должна быть приготовлена несколькими днями ранее.

2. Промывают дистиллированной водой.

3. Промывают абсолютным алкоголем.

4. Погружают на несколько секунд в 0,25—0,5 (—1,0) %-ый раствор AgNO<sub>3</sub> в воде или в абсолютном алкоголе.

5. Без предварительного промывания переносят на несколько мгновений в следующую раствор: Acid. gallic. 5,0, tann. 3,0, natr. acet. fus. 10,0, aq. dest. 350,0.

6. Обратно в 4. и оставляют там, постоянно перемещая препарат, пока раствор не начнет чернеть.

7. Промывают большим количеством воды. Если окраска оказывается не достаточно интенсивной, повторяют 5—7. Если она слишком интенсивна, погружают на один момент в раствор хлорного золота 1:3000, тщательно промывают и оставляют препарат на несколько дней на свете.

8. Просушивают, заключают в балласт. Бактерии черноватобураго цвета, жгутики черного. Лучше всего выполнять этот метод при ясном дневном свете.

### D. Окраска жгутиков по Zettnov'y:

Klin. Jahrb. Bd. XI S. 479 (прежний метод Zschr. für Hyg. Bd. 30 S. 95).

1. Приготовление мазков с прибавкой осмиевой кислоты (см. стр. 74а).

2. Протрава. Препарат на покровном стеклышке фиксируют на пламени, кладут намазанной стороной вниз в металлическую чашечку, обильно обливают протравой и ставят на 5—7 минут на нагретый градусник до 100 желтый лист. Приготовление протравы: 10 частей танина растворяют в 200 воды и нагревают до 50—60°, прибавляют 36—37 куб. сант. раствора Tartar. stibiat. (2,0 Tart. stib. на 40,0 воды), нагревают до растворения осадка. Если помутнение охлажденной протравы велико (молочнобелого цвета, — пробная порция наливают в пробирку), прибавляют немного танина; если протрава прозрачна, прибавляют 1 куб. сант. раствора Tart. stib. Протрава должна не образовывать осадка и при нагревании совершенно просветляться.

Прибавление небольшого количества тимола обезпечивает стойкость ея. Употребляют протраву горячую и прозрачную.

3. Чашечки дают охладиться, пока протрава не начнет мутнѣть, затѣмъ тщательно промываютъ водой.

4. На покровное стекло наливаютъ 3—4 капли раствора этиламинового серебра и нагреваютъ препаратъ до появленія паровъ и почернѣнія краевъ мазка. Приготовление раствора этиламинового серебра: 2,0—3,0 сѣрнистого серебра (изготовленнаго изъ раствора азотнокислаго серебра посредствомъ прибавленія сѣрнистой магнезии или сѣрнистого натра) сильно забалтываютъ съ 200,0 воды для полученія насыщеннаго раствора. Равные объемы этого раствора и воды смѣшиваютъ въ пробиркѣ съ 33%-ымъ (покупнымъ) растворомъ этиламина до растворенія образующагося осадка.

Приготовленное такимъ образомъ серебро можно сохранять, постепенное побурѣніе не имѣетъ значенія.

5. Промываютъ въ водѣ. Жгутики окрашиваются въ черныи цвѣтъ. Фонъ совершенно свѣтлый.

## Особыя питательныя среды и методы разводокъ и окраски

*важнѣйшихъ патогенныхъ и нѣкоторыхъ другихъ видовъ микроорганизмовъ.*

1. Палочки сибирской язвы (*Bac. anthracis*). Растутъ на всѣхъ обычныхъ средахъ, разжижаютъ желатину, легко красятся обычными способами и по Gram'у. Неподвижны. Быстрѣ всего образуютъ споры въ термостатѣ; при  $t^{\circ}$  ниже  $17^{\circ}$  и въ тѣлѣ животнаго споры не образуютъ.

Присутствіе ихъ въ тѣлѣ можетъ быть обнаружено разводками и опытами на животныхъ.

(Испытуемый матерьялъ впрыскиваютъ подъ кожу мышамъ или морскимъ свинкамъ). При загнившемъ матерьялѣ прививки животнымъ ивогда не удаются, тогда какъ пластинчатая разводка даетъ еще положительный результатъ. Если взятая у животныхъ кровь не можетъ быть тотчасъ же изслѣдована, то для сохранения жизнеспособности бактерій сибирской язвы необходимо намазать кровь толстымъ слоемъ на стекло или гипсовую палочку и высушить мазокъ. Для обнаруженія присутствія бациллъ на волосахъ и т. д. промываютъ волоса щелочнымъ бульономъ и нагреваютъ его  $\frac{1}{2}$  часа при  $80^{\circ}$  (споры сибирской язвы при этомъ высиваются); бульонъ центрифугируютъ, получающійся осадокъ прививаютъ животнымъ и сѣютъ на пластинкахъ.

Окраска капсулъ по способамъ, изложеннымъ на стр. 74. Кроме того окрашиваютъ растворомъ сафранина (растворяютъ 3g въ 100g почти кипящей воды, по охлажденіи фильтруютъ), подогрѣвая, или же формалиновымъ генціанавіолетомъ (насыщенный на холоду растворъ краски въ формалинѣ, фильтруютъ; мазки безъ фиксаціи красятъ въ теченіе 30 сек. на холодѣ). Изслѣдуютъ въ водѣ! Образование капсулъ помогаетъ ивогда отличать на загнившихъ трупахъ животныхъ бациллы сибирской язвы отъ близкихъ имъ видовъ микроорганизмовъ; одного этого свойства, безъ одновременныхъ положительныхъ результатовъ разводокъ и прививокъ животнымъ, никогда не бываетъ достаточно для окончательнаго вывода.

Приготовление нитей со спорами: Соскабливаютъ агарную или картофельную разводку, гдѣ микроскопически доказано присутствіе вполне разившихся споръ, и растираютъ полученный матерьялъ со стерильной водой; этой эмульсіей пропитываютъ стерильныя шелковинки въ 1—2 сант. длины (ихъ можно прямо пропитать агарной разводкой) и оста-

вляють ихъ до высыхания въ темнотѣ въ стерильныхъ двойныхъ чашечкахъ, послѣ чего въ темнотѣ же переносятъ въ пробирки. (При всѣхъ манипуляціяхъ необходима осторожность въ виду опасности вдыханія спор!). Употребляютъ ихъ для испытанія дезинфицирующихъ средствъ, ср. стр. 49—51 № 9 и 10. Споры въ большинствѣ случаевъ переносятъ 2—5 минутное нагреваніе въ текуче-паровомъ аппаратѣ при 100°.

## 2. Бациллы туберкулёза (Bac. Tuberculosis).

Изъ обычныхъ средъ годны для бациллъ туберкулёза: кровяная сыворотка (лучше всего для выращивания бациллъ изъ тѣла животного), глицериновый агаръ (всего лучше съ 4% глицерина), глицериновый картофель (клинья картофеля лежатъ на довольно длинныхъ стекляныхъ трубочкахъ [стр. 25]); въ пробирки наливаютъ немного 4—5% глицериновой воды, которой обливаютъ картофель послѣ варки; глицериновый бульонъ (проростаютъ только плавающія на поверхности частицы). Очень медленный ростъ, optimum его при 37°. Для предохраненія пробирокъ отъ высыхания надѣваютъ на нихъ резиновые колпачки (см. стр. 28) или же примѣняютъ одинъ изъ способовъ 2, 4, 5, гл. X В. Почти не даютъ роста на желатинѣ, пептоновомъ агарѣ etc., а также при комнатной °. Неподвижны.

Въ качествѣ специальныхъ средъ (пышный ростъ уже спустя 8 дней) рекомендуютъ агаръ Heyden'a по Nesse [см. стр. 87] и среду изъ мозга по Fickes'у; нагреваютъ до кипѣнія, все время помѣшивая, смѣсь равныхъ объемовъ мелко растертаго мозга и дистиллированной воды, кипятятъ  $\frac{1}{4}$  часа, выпариваютъ до кашицеобразной консистенціи. Эту кашицу безъ предварительной нейтрализаціи смѣшиваютъ съ равнымъ объемомъ 2,5%-аго воднаго (aq. dest.) раствора агара, прибавляютъ 3% глицерина, стерилизуютъ etc. Пробирки хорошенько взбалтываютъ и быстро охла-

ждаютъ, чтобы не дать агару и мозгу образовать отдѣльные слои.

Разводки изъ тканей человѣческаго тѣла, мокроты и т. п. дѣлаютъ посредствомъ прививки животнымъ (стр. 90) или путемъ непосредственнаго посѣва (въ присутствіи другихъ бактерий по В. I стр. 87).

## Методы окраски туберкулезныхъ палочекъ.

Бациллы туберкулёза красятся трудно, но зато, будучи окрашены, очень прочно удерживаютъ краску. При нижеописанныхъ методахъ первой краской красятся только бациллы туберкулеза (и нѣкоторые родственные виды микроорганизмовъ, такъ называемыя кислотоупорныя бактеріи; о способахъ распознаванія ср. стр. 91), въ то время какъ всѣ остальные бактеріи и тканевые элементы принимаютъ дополнительную окраску.

а) Наиболѣе рекомендуемые способы:

1. Красятъ, повторно нагревая, фуксинномъ на анилиновой водѣ или карболовымъ 2 минуты.

2. Обезцвѣчиваютъ 2—3 секунды въ 5%-ой сѣрной кислотѣ или 25%-ой азотной.

3. Промываютъ въ 70%-омъ алкогольѣ, пока препаратъ не обезцвѣтится. (При недостаточно быстромъ наступленіи обезцвѣченія повторяютъ 2-ю и 3-ю манипуляціи).

4. Красятъ насыщеннымъ воднымъ растворомъ метиленовой синьки или смѣсью 1 части Loeffler'овской синьки (стр. 63) съ 3 частями воды 5—10 секундъ.

5. Промываютъ въ водѣ.

Для срѣзовъ. (Уплотненіе въ формалинѣ вредно вліяетъ на окрашиваемость туберк. палочекъ).

1. Красятъ фуксинномъ на анилиновой водѣ (карболовый фуксинъ менѣе пригоденъ, такъ какъ часто даетъ загрязненіе препаратовъ) отъ 15 минутъ до 24 часовъ.

2. Обесцвѣчиваютъ 10 секундъ въ 5%-ой сѣрной кислотѣ или 25%-ой азотной.

3. Промываютъ въ 70%-мъ алкогольѣ до обесцвѣченія препарата (чтобы скорѣй этого достигнуть, можно повторить 2-ю и 3-ю манипуляціи).

4. Красятъ метиленовой синькой, лучше всего смѣсью 1 части Loeffler'овской синьки (стр. 63) съ 3 частями воды, 2—5 минутъ.

5. Промываютъ въ  $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ %-ой уксусной кислотѣ.

6. Обесцвѣчиваютъ въ абсолютномъ алкогольѣ.

7. Просвѣтляютъ въ кедровомъ маслѣ.

Бациллы туберкулёза краснаго цвѣта, ткань и другія бактеріи синяго.

Для мазковъ и для срѣзовъ можно также употребить во 1) генціановіолетъ на анилиновой водѣ, во 2) 25% ую  $\text{HNO}_3$  и въ 3) слабые растворы фуксина, сафранина или бисмаркбрауна. Въ этомъ случаѣ туберкулёзныя бациллы синяго цвѣта, ткань краснаго или бураго.

б) Способъ Fränkel'я и Gabbet.

Для мазковъ.

1. Красятъ, нагревая, фуксиномъ на анилиновой водѣ или карболовымъ 2 минуты.

2. Обесцвѣчиваютъ и дополнительно красятъ одновременно слѣдующей смѣсью: 30.0 алкоголя, 50.0 воды, 20.0  $\text{HNO}_3$ +метиленовая синька въ порошокъ, сколько растворится (или 10.0  $\text{H}_2\text{SO}_4$ +30.0 дистиллированной воды+метиленовая синька въ порошокъ до насыщѣнія).

3. Промываютъ въ водѣ; или

1. красятъ, нагревая, растворами генціаны или метиліолета на анилиновой водѣ 2 минуты.

2. Обесцвѣчиваютъ и подкрашиваютъ  $1\frac{1}{2}$  минуты одновременно въ слѣдующей смѣси: 70.0 алкоголя, 30.0  $\text{HNO}_3$ , бисмаркбраунъ, сколько растворится.

3. Промываютъ въ водѣ.

Способъ б) уступаетъ а) въ томъ отношеніи, что при б) нельзя прослѣдить глазомъ всѣ стадіи

обесцвѣченія и послѣдующаго окрашиванія; кромѣ того, онъ иногда окрашиваетъ и другія кислотоуносливыя бактеріи, такъ что для рѣшающаго распознаванія онъ непримѣнимъ.

**Ислѣдованіе мокроты на бациллы туберкулёза** (такъ же ислѣдуютъ эксудаты, мочу, молоко и т. п.):

А. Прежде всего производятъ микроскопическое ислѣдованіе мазковъ. Для этого переносятъ комочекъ отхаркнутой мокроты (такъ называемую „ливзу“) изъ тарелки лакированной въ черный цвѣтъ или изъ чашки, поставленной на к.-л. черную подстилку, на покрывное или предметное стекло, распредѣляютъ его ровнымъ слоемъ на стеклѣ платиновой петлей или раздавливаютъ между двумя предметными или покрывными стеклами и красятъ по одному изъ вышеописанныхъ способовъ. Мочу, эксудаты, получаемую жидкость etc. центрифугируютъ и изъ осадка готовятъ препараты. Окраску препарата можно счесть удачною только въ томъ случаѣ, если ничто не окрашивается въ одинаковый съ бациллами туберкулёза цвѣтъ (исключеніе—плоскій эпителий и контуры клѣтокъ, принимающіе въ высшей степени слабо выраженный отбѣнокъ).

Если при ислѣдованіи нѣсколькихъ препаратовъ бациллъ туберкулёза не находятъ, тогда прибѣгаютъ къ способамъ увеличенія числа бактерій (В) или къ опытамъ на животныхъ (С).

В. Способъ увеличенія числа бактерій. Въ этомъ отношеніи заслуживаютъ вниманія:

1. Біологическіе способы:

а) Быстрое размноженіе бациллъ туберкулёза на соответствующей питательной средѣ.

Разведеніе на агаръ Heuden'a по Hesse. 5.0 среды Heuden'a растворяютъ, взбалтывая, въ 50.0 дистиллированной воды; полученный растворъ прибавляютъ къ слѣдующему: 5.0  $\text{NaCl}$ , 30.0 глицерина, 10.0—20.0 агара, 5.0 нормальнаго раствора соды—

все это растворяется в 950,0 дистиллированной воды; смесь кипятят, при постоянном помешивании, 15 минут и фильтруют на текучем паре. Среду стерилизуют и разливают по чашечкам Петри; дают агару застыть и распределяют по поверхности комочек мокроты, разделяя его на отдельно расположенные жидкие частички (полезно комочек повторно промыть стерильной водой). Быстро размножаясь на этой среде при 37°, туберкулезные бактерии встречаются в большом количестве уже по прошествии 6—7 часов, а спустя 2—7 дней (для предохранения от высыхания помещают чашечки во влажное пространство!) образуют видимые невооруженным глазом колонии; развитие других, встречающихся в мокроты, бактерий, наоборот, затруднено. Для исследования готовят препараты-отпечатки. Способ этот очень хорош для постановки скорого диагноза при наличии бѣдной бактериями мокроты. Чистые культуры получают путем пересѣвов. Можно также смешать мокроту с пятикратным объемом вышеприведенного раствора (только без агара) и оставить на 24 часа при 37°; бактерии туберкулеза за это время размножатся и для обнаружения их присутствия смесь обрабатывают по способу осаждения стр. 90 с. (Josephmann).—Посѣв на глицериново-водном агаре по Hesse см. С. В. I От. 35. S. 386.

б) С раствором всех бактерий, кроме туберкулезных.

Обрабатывают антиформин по Uhlenhuthy (Arb. K. G. A. 32. S. 158). 20 см. мокроты смешивают с 65 см. стерильной дистиллированной воды и 15 см. антиформина в двойной чашечке с диаметром в 15 см. которая ставится на черную пластинку. Через 1—2 часа мокрота становится гомогенной, что можно ускорить помешиванием. Стерильным шприцем набирают 10 см., центрифугируют, сливают жидкость, осадок разводят 10 см. стериль-

ного 0,8% раствора NaCl, снова центрифугируют; еще раз повторяют описанную процедуру, после чего сильно растирают по 4—5 петель осадка в 6—8 пробирках глицериновой сыворотки и ставят в термостат. Для мазков достаточно однократного промывания. Мазки просушивают вместе с тонким слоем яичного белка или необработанной мокроты на покровном или предметном стекле. Т.б. находятся живыми в осадке, другие бактерии погибли и растворились.—Антиформин, смесь Liq. Natr. hypochlor. и Liq. Natr. caust., можно получить от Oskar Kühn'a Berlin C 25, Dircksenstr. 20.

2. Способы осаждения. Мокроту разжижают, вследствие чего бактерии туберкулеза либо сами по себе оседают, либо же могут быть осаждены центрифугой. (Обнаружение их возможно только при помощи микроскопа, а не путем разводок).

а) По способу Biedert-Mühlhäuser-Czaplewski. Исследуемую мокроту сильно взбалтывают 1 минуту с 2—4-кратным количеством по объему 0,2%-ого NaOH в цилиндре с резиновой пробкой. В случае, если консистенция смеси не однородна, прибавляют еще NaOH и снова тщательно взбалтывают, пока жидкость не станет гомогенной; затем выливают ее в фарфоровую чашечку и нагревают, помешивая до кипения. Прибавляют 1—2 капли раствора фенолфталеина и по каплям 5%-ую уксусную кислоту, все время сильно помешивая, пока не начнет исчезать красное окрашивание (не больше!). Отстаивают в бокале или прибавляют двойной объем 96%-ого алкоголя и центрифугируют; из осадка готовят препараты и красят их.

б) По Sachs-Mücke (M. m. W. 07 S. 988). Размешивая, прибавляют  $H_2O_2$  in refracta dosi к мокроты, которая разжижается при энергичном образовании газов. Т.б. можно обнаружить в пѣне и в осадке, который образуется после обильного прибавления алкоголя.

с) По Loeffler'y (D. m. W. 1910, Nr. 43): любое количество мокроты кипятятъ съ равнымъ количествомъ 50% антиформина. Къ 10 см. этой смѣси прибавляютъ въ герметически закрывающейся бутылкѣ 1,5 см. смѣси изъ 10 см. хлороформа + 90 см. алкоголя. Разливаютъ въ пробирки центробѣжнаго аппарата и центрифугируютъ въ теченіе 15 минутъ. Снимаютъ образующійся при этомъ надъ хлороформомъ слой, кладутъ его на предметное стекло, обсушиваютъ и растираютъ съ 1 каплей яичнаго бѣлка (содержащаго 0,55% карболовой кислоты) между двумя предметными стеклами. Послѣ фиксирования окрашиваютъ карболъ-фуксиномъ, обезцвѣчиваютъ Alcohol. absolut. + 3% HCl, промываютъ водой, снова окрашиваютъ 0,1% воднымъ растворомъ химически чистой кристаллич. малахитовой зелени (фабрики Höchst'a).

д) По van Ketel'ю. Въ широкогорлой вмѣстимостью въ 100 куб. сант. бутылкѣ смѣшиваютъ 10 куб. сант. воды, 6 acid. carbol. liquef. и 10—15 мокроты; все это хорошенько взбалтываютъ, доливаютъ воды до 100, снова взбалтываютъ и даютъ отстояться въ бокалъ или же центрифугируютъ какъ при а). Передъ окраской промываютъ препараты въ смѣси спирта съ эфиромъ—аа.

е) По Ellermann'y и Erlandsen'y (Zeischt. f. Hyg. V. 65 S. 219): 10—15 см. мокроты оставляютъ при 37° въ теченіе сутокъ въ измѣрительной стклянкѣ, закрывающейся пробкой, съ половиннымъ объемомъ 0,6% раствора соды. Сливаютъ, центрифугируютъ осадокъ, опять сливаютъ жидкость. Осадокъ смѣшиваютъ съ четвернымъ количествомъ 0,25% NaOH, тщательно размѣшиваютъ, кипятятъ, центрифугируютъ и изъ осадка приготавливаютъ препараты.

С. Опыты на животныхъ. Этотъ методъ ведетъ къ цѣли медленнѣе, чѣмъ А. и В., зато онъ самый надежный. Прививаютъ изслѣдуемый матерьялъ подъ кожу (при богатомъ другими бактеріями

прививочномъ матерьялѣ цѣлесообразна предварительная обработка антиформиномъ по В 1 b) или въ брюшную полость; морскія свинокъ погибаютъ большей частью въ теченіе 4—8 недѣль, причемъ можно констатировать многочисленныя бугорки въ печени, легкихъ и селезенкѣ и творожисто перерожденныя лимфатическія железы. Въ бугоркахъ, а ихъ всегда необходимо изслѣдовать подъ микроскопомъ во избѣжаніе смѣшенія со сходными заболѣваніями, встрѣчаются въ изобиліи туберкулезныя бациллы. Для полученія разводовъ бугорковъ раздавливаютъ между 2 стерильными предметными стеклами, выбираютъ кусочки величиной съ булавочную головку и сѣютъ ихъ въ большомъ количествѣ на свернутой кровяной сывороткѣ. Способъ культуры см. на стр. 84. Ростъ начинается становиться замѣтнымъ только спустя 8—14 дней.

Если умертвить зараженныхъ туберкулезомъ морскихъ свинокъ спустя 2—3 недѣли послѣ заражения, то въ большинствѣ случаевъ лимфатическія железы вблизи мѣста прививки оказываются уже творожисто перерожденными, а во внутреннихъ органахъ находятъ хорошо развитыя бугорки съ Tb. Для ускоренія постановки діагноза можно, стало бытъ, не выжидая смерти животнаго, умертвить его по истеченіи этого срока. Цѣлесообразно при каждомъ изслѣдованіи прививать сразу 2—3 животнымъ, умерщвлять одно изъ нихъ, а у остальныхъ наблюдать за дальнѣйшимъ теченіемъ.

Опыты на животныхъ служатъ для постановки дифференціального діагноза между бациллами туберкулеза и другими кислотоупорными бактеріями: бациллы проказы и смегмы (послѣднія встрѣчаются въ мочѣ!—см. ниже) не патогенны для животныхъ. Красящіяся, какъ туберкулезныя, и патогенныя для морскихъ свинокъ бактеріи попадаютъ въ маслѣ, въ молоко, въ навозъ, на определенныхъ растеніяхъ, а иногда и въ человѣческомъ тѣлѣ (напр., при гангренѣ легкихъ); онѣ отли-

чаются отъ туберкулезныхъ характеромъ развонокъ (быстрый ростъ на всѣхъ питательныхъ средахъ даже при комнатной т°).

Туберкулезныя бациллы (*Typhus bovinus*), полученные отъ рогатаго скота (жемчужница) отличаются отъ туберкулезныхъ бациллъ челоуѣка (*Typhus humanus*) тѣмъ, что онѣ толще, растутъ на поверхности жидкихъ питательныхъ средъ въ видѣ пѣжной пленки, чуть складчатой и не достигающей стѣнки пробирки, и своей большей вирулентностью (будучи введены подкожно кролику или быку, они вызываютъ не только мѣстную реакцію, но и общій туберкулезъ). Точно также отличаются пѣкоторыми особенностями и Тб птицъ и холоднокровныхъ животныхъ.

### 3. Палочки смегмы (*Smegmabacilli*).

Встрѣчаются въ секретѣ крайней плоти и срамной щели, въ мочѣ (последнія порціи выпущенной катетеромъ послѣ предварительной очистки наружныхъ половыхъ частей мочи, въ большинствѣ случаевъ, не содержатъ бактерій), въ заднемъ проходѣ, въ ушной сѣрѣ, случайно также на другихъ частяхъ тѣла. Онѣ короче и пѣжнѣе (тоньше) туберкулезныхъ, скопляются въ большомъ количествѣ на клѣткахъ эпителия; туберкулезныя при туберкулезѣ почекъ также собираются въ кучки, но только онѣ располагаются отдѣльно отъ клѣтокъ.

Для разведенія ихъ слѣдуетъ испытать кровяную сыворотку.

Окраска: Кислотоупорны, подобно туберкулезнымъ и бацилламъ проказы. Для отличія ихъ отъ туберкулезныхъ прибѣгаютъ прежде всего къ прививкамъ животнымъ (см. стр. 91с) или же примѣняютъ слѣдующую окраску:

1. Красятъ, нагрѣвая, карболовымъ фукусиномъ 2 минуты.
2. Промываютъ въ водѣ, просушиваютъ.

3. Обезцвѣчиваютъ въ теченіе 10 минутъ абсолютнымъ алкоголемъ + 3% HCl.

4. Промываютъ въ водѣ.

5. Окрашиваютъ въ смѣси равныхъ объемовъ насыщеннаго спиртоваго раствора метиленовой синьки и воды. Туберкулезныя микробы остаются окрашенными въ красный цвѣтъ, бациллы смегмы окрашиваются въ синій.

### 4. Палочки проказы (*Vac. leprae*).

Культура до сихъ поръ не получена.

Красятъ ихъ, какъ и туберкулезныя, только обработка кислотой и спиртомъ менѣе продолжительна. Бациллы проказы встрѣчаются въ пораженныхъ тканяхъ при бугорковой формѣ въ гораздо большемъ количествѣ, чѣмъ туберкулезныя въ туберкулезныхъ очагахъ, при пятнисто-анестетической формѣ ихъ находятъ въ скудномъ количествѣ; легче красятся чѣмъ туберк. бациллы. Для отличія туберкулеза отъ проказы красятъ по *Vaumgartenu*:

1. Красятъ растворомъ фукина 6—7 минутъ (5—6 капель насыщеннаго раствора на часовое стеклышко воды).

2. Обезцвѣчиваютъ 1/4 минуты въ 10 частяхъ алкоголя + 1 ч. HNO<sub>3</sub>.

3. Промываютъ въ водѣ. Для срѣзовъ вмѣсто воды берутъ абсолютный алкоголь и кедровое масло.

При такой кратковременной окраскѣ окрашиваются только бациллы проказы, туберкулезныя же остаются неокрашенными. Кромѣ того, для отличія туберкулеза отъ проказы могутъ служить прививки животнымъ: проказа не патогенна для животныхъ.

Въ свѣжихъ случаяхъ при подозрѣніи на проказу рекомендуется наряду съ изслѣдованіемъ подозрительно пораженныхъ мѣстъ изслѣдовать и носовую слизь. Можно примѣнить обработку антиформинномъ, какъ при туберкул. бациллахъ (стр. 88b),—см. *Uhlenhuth, Lepra, Bd. IX, Heft 2*.

5. Палочки сапа (*Bact. mallei*).

Необходима величайшая осторожность вследствие опасности заражения!

Дают ростъ на кровяной сывороткѣ, агарѣ и картофелѣ (краснобурый падегъ) при  $t^{\circ}$  тѣла.

Чистыя культуры изъ гноя больныхъ сапомъ животныхъ или людей легче всего получить, прививая животнымъ сапный гной. Послеъ впрыскиванія гноя подъ кожу или въ полость брюшины полевая мышь погибаетъ черезъ 5—8 дней, морская свинка дней черезъ 14; имѣющіеся во внутреннихъ органахъ сапные бугорки содержатъ палочки въ чистой разводкѣ. NB. Появляющееся дня два спустя послеъ впрыскиванія въ брюшную полость морскихъ свинокъ подозрительнаго по сапу матерьяла нагноение и опуханіе яичекъ (Способъ Strauss'a) бываетъ вызвано не только сапными бациллами, но и другими, встречающимися при аналогичныхъ сапу болѣзненныхъ процессахъ. Поэтому для полной увѣренности необходимы всегда микроскопическое изслѣдованіе и разводки; въ случаѣ надобности и проба на агглютинацію (см. Klei-ne, Zchr. f. Hyg. 42. S. 183). Объ изслѣдованіи агглютинирующей способности кровяной сыворотки въ отношеніи убитыхъ бациллъ (см. Ficker, Hyg. Rdsch. 1905 S. 649).

Красится синькой Loeffler'a (стр. 63а) или по Nicolle'ю (стр. 66e,f). По Gram'у не красится.

Особые методы окраски:

а) По Loeffler'у:

α) Мазки:

1. Красятъ Loeffler'овской синькой (см. стр. 63а) или генціанавіолетомъ на анилиновой водѣ  $+0,01\%$ -й КОН аа 5 мин.

2) Быстро промываютъ  $1\%$ -й уксусной кислотой, слегка подкрашенной (до цвѣта рейнвейна) воднымъ растворомъ тропеолина 00.

3) Быстро промываютъ дистиллированной водой.

β) Срѣзы:

1. Помѣщаютъ на нѣсколько минутъ въ  $0,01\%$ -й КОН.

2. Красятъ какъ при α 30 минутъ и дольше.

3. Быстро промываютъ въ слѣдующей смѣси: 10,0 дистиллированной воды, 2 капли концентрированной сѣрной и 1 капля  $5\%$ -й щавелевой кислоты.

4. Обезвоживаютъ въ абсолютномъ спиртѣ; кедровое масло и т. д.

б) Двойная окраска по Уппа:

1. Просушиваютъ срѣзы на предметномъ стеклѣ и красятъ карболовой метиленовой синькой по Купфегеру 10 минутъ.

2. Промываютъ водой.

3. Красятъ 15 минутъ смѣсью равныхъ объемовъ насыщеннаго воднаго раствора таннина и  $1\%$ -го воднаго раствора кислаго фуксина (NB кислый фуксинъ—особая краска!).

4. Обезвоживаютъ въ спиртѣ. Просвѣтляютъ въ бергамотовомъ маслѣ. Бациллы и ядра синяго цвѣта, ткань красноватого.

6. Бактеріи мягнаго шанкра (*Streptobac. ulc. moll.*).

Разводки можно получать, хотя это и не всегда удается, на смѣси агара съ кровью (гл. VII,1); (лучше всего брать человѣческую кровь). Развившіяся колоніи можно брать in toto. При изслѣдованіи конденсационной воды находятъ въ ней длинныя цѣпочки. Культуры гибнутъ спустя нѣсколько дней.

Въ мазкахъ красятся весьма обычными способами; по Gram'у не красятся; при окраскѣ срѣзовъ необходима осторожность при обезцвѣченіи.

Получаютъ хорошіе результаты при окраскѣ танниномъ по Nicolle'ю (стр. 66e) или по способу Уппа:



1. Красяť полихромнымъ растворомъ метиленовой синьки (фирма—Grübler-Leipzig) 2 минуты.

2. Промываютъ водой.

3. Вынимаютъ срѣзы шпательемъ, просушиваютъ пропускной бумагой.

4. Дифференцируютъ глицериновымъ эфиромъ (Grübler-Leipzig), нѣсколько капель на чашечку воды, 1—2 минуты.

5. Промывать водой (тщательно!).

6. Вынимаютъ шпательемъ, просушиваютъ пропускной бумагой.

7. Переносить послѣдовательно въ абсолютный алкоголь, бергамотовое масло, канадскій бальзамъ.

#### 7. Палочки дифтерий (Bac. diphther.).

Растутъ при  $t^{\circ}$  выше  $20^{\circ}$ , быстрее всего при  $t^{\circ}$   $t^{\circ}$   $t^{\circ}$ ; лучше всего онѣ растутъ на Loeffler'овской кровяной сывороткѣ (ср. стр. 24), особенно если ее приготовить изъ бараньей крови; на простомъ и глицериновомъ агарѣ и на ниже приводимомъ сывороточномъ агарѣ даютъ вялый ростъ, образуя въ небольшомъ количествѣ и мало характерныя формы.

Красятся лучше всего щелочной Loeffler'овской синькой (стр. 63), красятся и по Gram'у. (Не слѣдуетъ сильно обезцвѣчивать!). Неподвижны.

#### Диагностика дифтерии.

О добываніи изъ зѣва матерьяла для изслѣдованія ср. гл. VII, 3. Мазки красяť Loeffler'овской метиленовой синькой (стр. 63) и по Gram'у. Db. представляются тонкими палочками, расположенными подъ угломъ другъ къ другу ( $\surd$  образно) или на крестъ. Можно также примѣнить способъ окрашиванія зернистости. По мазку обыкновенно нельзя поставить діагноза съ полной увѣренностью. Посѣвъ дѣлаютъ штрихомъ на Loeffler'овской кровяной сывороткѣ, разлитой по пробиркамъ или по ча-

шечкамъ Петри (NB: Для испытанія пригодности сыворотки, какъ подходящей среды для діагностики дифтерита, при приготовленіи каждой новой порціи засѣваютъ нѣсколько пробирокъ чистой культурой!). Засѣянную сыворотку оставляютъ въ термостатѣ при  $t^{\circ}$   $t^{\circ}$   $t^{\circ}$  (въ случаѣ необходимости кладутъ пробирки во внутренній карманъ сюртука!).

Db. растутъ на Loeffler'овской сывороткѣ быстро, пышно и въ характерной формѣ, отличаются отъ псевдодифтерійныхъ бацилл Hofmann-Loeffler'a своей формой, отъ бацилл ксероза (псевдодифт. бациллы глаза) какъ формой, такъ и величиной колоній (колоніи Db. значительно крупнѣе!). Въстѣд Loeffler'овской кровяной сыворотки пользуются также слѣдующими средами:

1. Глицериновый агаръ. Колоніи остаются мелкими, вслѣдствіе чего ихъ трудно отыскивать; кромѣ того, благодаря внѣшнему сходству, возможно смѣшеніе дифтерійныхъ палочекъ съ нѣкоторыми видами псевдодифтерійныхъ.

2. Сыворотка-агаръ по Tochtermann'у:

Профильтрованную смѣсь 2%-ого воднаго раствора агара, 1% пептона, 0,5% NaCl и 0,3—0,5% винограднаго сахара смѣшиваютъ съ бараньей кровяной сывороткой, которая можетъ не быть стерильной, въ равныхъ объемахъ или въ отношеніи 2:3; полученную жидкость кипятятъ  $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$  часа, фильтруютъ, разливаютъ въ пробирки и стерилизуютъ (не болѣе часа—полутора, такъ какъ при этомъ страдаетъ питательность среды!). Колоніи крупны, легко узнаваемы, только палочки по внѣшнему виду очень похожи на псевдодифтерійныя.

Культуры можно изслѣдовать уже по прошествіи 6 часовъ послѣ посѣва. При разводкахъ въ пробиркахъ для приготовленія мазка берутъ матерьялъ съ болѣе или менѣе обширной поверхности

или изъ конденсаціонной воды, съ чашечекъ дѣлаютъ препараты—отпечатки. Красятся синькой по Loeffler'у (стр. 63). Бациллы дифтеріи узнаются по характернымъ для нихъ формамъ (чередованіе окрашенныхъ и неокрашенныхъ частей бактеріи, булавообразныя, веретенообразныя формы etc.).

Если и при изслѣдованіи многихъ препаратовъ не находятъ дифтерійныхъ бациллъ, изслѣдуютъ посѣвы повторно (до истеченія 48 час. послѣ приготовленія разводокъ). Въ большинствѣ случаевъ уже спустя 12—16 часовъ колоніи становятся типичными и легко отличимыми отъ другихъ (влажныя бѣловатожелтыя полушарія); для приготовленія препаратовъ пользуются матерьяломъ изъ подозрительныхъ колоній.

Для облегченія діагноза окрашиваютъ полюсныя тѣльца 1) по Neisser'у (Hyg. Rdsch. 1903 Nr. 14):

1. Красятъ около секунды (можно и дольше) смѣсью 2 частей раствора а съ 1 частью раствора б. Растворъ а: 1.0 метиленовой синьки въ порошокъ, 20.0 абсолютнаго алкоголя, 1000.0 дистиллированной воды и 50.0 acid. acetic. glaci. Растворъ б: 1.0 кристаллвиолета Höchst, 10.0 абсолютнаго алкоголя и 300.0 дистиллированной воды.

2. Промываютъ водой и тотчасъ же

3. Красятъ хризоидиномъ (фильтрованный растворъ 1.0 хризоидина въ 300.0 Aq. ferv.) около 3 секундъ.

4. Промываютъ водой.

Окраска эта равнымъ образомъ применима какъ для мазковъ, сдѣланныхъ взятымъ изъ зѣва матерьяломъ, такъ и для 19—20 часовой культуры на сывороткѣ при 35—36° (всего пригодѣе Леффлерова сыворотка, изготовленная изъ сыворотки бычачьей крови). Въ окрашенныхъ при этомъ въ бурый цвѣтъ дифтерійныхъ бациллахъ на одномъ или обоихъ полюсахъ (а иногда и посрединѣ) появляются синія зернышки; въ микробахъ родственныхъ дифтерійнымъ

зернышки не окрашиваются въ столь короткое время. И все-таки методъ этотъ не является безусловно вѣрнымъ: иногда, хотя и рѣдко, окрашенные зернышки появляются въ псевдодифтерійныхъ бациллахъ (также въ бациллахъ ксероза) и, наоборотъ, въ дифтерійныхъ зернышкахъ окрашиваются послѣ болѣе продолжительнаго воздѣйствія краски, а въ исключительныхъ случаяхъ и вовсе не окрашиваются.

2) Loeffler (D. m. W. 07 № 5) рекомендуетъ слѣдующую окраску зернышекъ: 1. красить въ теченіе 10 сек. не подогревая, смѣсью 1% раствора метиленовой синьки (1%) въ 2.5% растворѣ буры 40.0+полихромная метиленовая синька Unna (отъ Grübler-Leipzig) 10.0+0.95% водный бромъ-возинъ спеціальныя A. G. (Höchst) растворъ 50.0. 2. Обезцвѣчивать тропеолиномъ 00 (насыщ. водн. раств.) 5.0+уксус. кислоты 0.5+Aq. destill 100.0. Тѣло бациллъ окрашивается въ блѣдносиній цвѣтъ, полюсныя тѣльца въ черноватосиній.

Описаніе другихъ подобныхъ способовъ окраски см. Strbl. f. Bakt. Abt. 1 Or. Bd. 38 S. 359.

При возникновеніи сомнѣнія, имѣемъ ли мы дѣло съ настоящимъ или ложнымъ дифтерійнымъ микробомъ, слѣдуетъ принимать такія терапевтическія мѣры, какъ если бы діагнозъ дифтеріи былъ точно установленъ (впрыскиваютъ лечебную дозу сыворотки при томъ, конечно, условіи, что предохранительная прививка не была сдѣлана); что касается бактериологической стороны вопроса, то для разрѣшенія его стараются выдѣлить подозрительную бактерію въ чистомъ видѣ. При невозможности воспользоваться для пересѣва отдѣльными колоніями вслѣдствіе ихъ отсутствія добываютъ немного матерьяла съ того мѣста разводки, гдѣ микроскопически констатировано большое количество бактерій; этотъ матерьялъ разводятъ въ стерильномъ бульонѣ и засеваютъ одвой и той же петлей [стр. 36] нѣсколько пробирокъ съ сывороткой—одну за

другой. Съ засѣянныхъ такимъ образомъ пробирокъ готовятъ чистыя разводки при первой возможности. Часто уже по второй серіи разводекъ удается поставить дифференціальный діагнозъ между настоящими и ложными дифтерійными бактеріями; облегчается это большимъ количествомъ колоній въ разводкѣ и бактеріалъ на препаратѣ. Если и на этотъ разъ нѣтъ увѣренности, тогда прибѣгаютъ къ:

а) Опытамъ на животныхъ. Берутъ морскую свинку вѣсомъ около 200,0 и впрыскиваютъ ей подъ кожу въ области груди большую петлю однодвудневной, выросшей при 37° чистой сывороточной или 0,2—1,0 бульонной разводкѣ (Техника см. гл. VII, 1). Вирусентная дифтерійная палочка черезъ день вызываетъ сильно выраженный инфильтратъ въ мѣстѣ прививки, а въ большинствѣ случаевъ черезъ два дня наступаетъ смерть животного. (Органы стерильны, надпочечники гиперемированы, обильный серозный экссудатъ въ полости плевры, прежде же всего и всегда большой, зачастую геморрагическій инфильтратъ въ мѣстѣ прививки). При впрыскиваніи той же самой дозы дифтерійной культуры, смѣшанной съ большимъ количествомъ антидифтерійной сыворотки (0,2 куб. сант. 200 кратной сыворотки и даже больше), животное выживаетъ, причемъ мѣстной реакціи совсѣмъ нѣтъ или, есть, то очень слабая.

Впрыснутыя въ такой же дозѣ псевдодифтерійныя палочки вызываютъ самое большее минимальный отекъ въ мѣстѣ прививки (да и то очень рѣдко!), животное никогда не погибаетъ; если онѣ вызываютъ мѣстную реакцію, то она наблюдается и при впрыскиваніи псевдодифтерійныхъ бактеріалъ въ смѣси съ антидифтерійной сывороткой.

б) Постановкѣ дифференціального діагноза можетъ способствовать опредѣленіе реакціи среды. Приготавливаютъ мясную воду (стр. 14) изъ свѣжаго мяса, стерилизуютъ, слегка подщелачиваютъ, разливаютъ въ

пробирки по 10 куб. сант. въ каждую и засѣваютъ. Дифтерійныя палочки образуютъ кислоту (въ 24—48 часовъ при 37° образуется количество ея, соответствующее приблизительно 0,35—1,0  $\frac{1}{10}$  нормальной  $H_2SO_4$  [индикаторомъ служитъ фенолфталеинъ]), псевдодифтерійныя—щелочь (въ количествѣ, приблизительно соответствующемъ 0,2—0,4  $\frac{1}{10}$  нормальнаго NaOH). Микробы изъ группы ксерозныхъ бактеріалъ образуютъ кислоту, причемъ въ некоторыхъ случаяхъ количество ея равно образуемому дифтерійными. Такимъ образомъ, реакція среды не можетъ служить основаніемъ для постановки діагноза между этими двумя группами. (То же и съ питательнымъ бульономъ: желтая окраска среды затрудняетъ при этомъ точное титрованіе).

Дифтерійный токсинъ. Сохраняется въ послужившей для разводкѣ жидкой средѣ. Бактеріи выращиваютъ при 37° въ колбахъ съ низкимъ уровнемъ бульона. Готовятъ его изъ несвѣжаго мяса; полезна прибавка пульверизованнаго мѣла. Спустя 1—4 недѣли бульона освобождаютъ отъ палочекъ фильтрованіемъ (см. стр. 11 4с—или умерщвляютъ бактеріи, наливая поверхъ слой толуола);—для сохраненія содержащаго токсинъ фильтрата къ нему прибавляютъ  $\frac{1}{2}\%$  карболовой кислоты.

Иммунизація см. гл. VIII.

Антидифтерійную сыворотку добываютъ отъ сильно иммунизированнаго противъ дифтеріи животнаго; для сохраненія прибавляютъ къ ней 0,5% карболовой кислоты. Методы испытанія лечебной силы сыворотки см. у Ehrlich'a Klin. Jahrbuch Bd. VI.

#### 8. Палочки инфлюэнцы (Bac. influenzae).

Для полученія удачныхъ культуръ необходима  $t^{\circ}$  выше 30°; сѣютъ на агарѣ, верхнюю поверхность котораго смазываютъ кровью (особенно пригодна голубиная кровь, которую легко получить стерильной изъ сосуда на внутренней поверхности крыла); еще

лучше смѣшать агарь съ кровью (крови прибавляютъ столько, чтобы среда приняла красноватую окраску). Въ качествѣ питательной среды употребляютъ также бульонъ съ прибавкой  $\frac{1}{2}$ —1% крови (среду подвергаютъ замораживанію и оттаиванію, чтобы растворить гемоглобинъ). Для испытанія стерильности желательно всѣ содержащія кровь питательныя среды оставлять передъ посѣвомъ въ термостатъ при  $t^{\circ}$  въ  $37^{\circ}$  на 24 часа.—Очень маленькія, неподвижныя палочки. Къ зараженію воспримчивы только обезьяны.

Для выдѣленія палочекъ инфлуэнцы растираютъ изслѣдуемый матеріалъ—бронхіальную мокроту (приставшая къ ней ротовая слизь можетъ быть удалена повторнымъ промываніемъ въ стерильной водѣ) или сокъ изъ пораженныхъ бронхо-пневмоніей участковъ легкаго при смертельно окончившейся гриппозной пневмоніи—съ 1—2 куб. сант. бульона до полученія равномерной мутноватой эмульсии. Подобное распредѣленіе матеріала влечетъ за собой два слѣдствія: во-первыхъ, количество попадающихъ при посѣвѣ палочекъ настолько уменьшено, что могутъ развиваться отдѣльныя колоніи, во-вторыхъ, содержащійся въ изслѣдуемомъ матеріалѣ гемоглобинъ доведенъ до такого разведенія, что на средахъ безъ предварительно прибавленной крови роста совсѣмъ не бываетъ. Набранную платиновой петлей эмульсію сѣютъ на простомъ или глицериновомъ агарѣ или же на агарѣ съ примѣсью крови. Послѣ 24-часового пребыванія въ термостатѣ на средахъ съ примѣсью крови можно замѣтить очень нѣжныя, напоминающія капельки росы, колоніи палочекъ инфлуэнцы; на обычныхъ средахъ колоніи не развиваются. Сосѣдство колоній золотистаго стафилококка способствуетъ усиленному росту колоній инфлуэнцы. По своимъ морфологическимъ и биологическимъ свойствамъ къ палочкамъ инфлуэнцы очень близко подходятъ бациллы, находимыя въ коклюшной мокротѣ и въ отдѣляемомъ нѣкоторыхъ конъюнктивитовъ (Бациллы Koch Week'a)!

Красятся синькой по Loeffler'у, а еще лучше разведеннымъ водою (въ 10 разъ) карболовымъ фуксиномъ (см. стр. 64; красятъ нѣсколько минутъ!) По Gram'у не красятся.

Срѣзы красятъ по Pfeiffer'у (см. стр. 66). NB: Не все то, что сходитъ въ настоящее время за инфлуэнцу, есть действительно инфлуэнца.

### 9. Палочки тифа (Bac. typhi)

(включая палочки паратифа).

Ростъ возможенъ на всѣхъ обычныхъ средахъ, а также и на слегка подкисленныхъ и при комнатной  $t^{\circ}$ . Чистыя культуры легче всего получаютъ изъ селезенки, желчнаго пузыря и мезентеріальныхъ железъ умершихъ отъ тифа.

Красятся всѣми употребительными анилиновыми красками: по Gram'у не красятся. Слѣдуетъ хорошо фиксировать препараты на покровномъ стеклышкѣ, такъ какъ въ противномъ случаѣ бациллы легко смываются. При изслѣдованіи срѣзовъ изъ селезенки человѣка (дифференцируютъ ихъ очень осторожно, потому что тифозныя палочки легко обезцвѣчиваются) находятъ сперва при слабомъ увеличеніи гвѣзда бациллъ; при окраскѣ щелочной метиленовой синькой получаютъ пятнышки небесно голубого цвѣта, отъ карболоваго или анилиноваго фуксина блестяще-краснаго, отъ тионина ярко фіолетоваго.

(Для полученія большихъ очаговъ кладутъ свѣже вынутую селезенку на 24 часа въ термостатъ при  $t^{\circ}$  въ  $37^{\circ}$ ; во избѣжаніе поверхностнаго гниенія ее заворачиваютъ въ смоченную сулемой тряпку; въ термостатѣ тифозныя палочки сильно размножаются. Затѣмъ селезенку уплотняютъ).—Споръ не образуютъ.

*Дифференціальная діагностика между тифозными и тифо-подобными палочками (кишечная палочка, палочка паратифа, дизентерійная и т. д.).*

1. Тифозныя обладаютъ сильно выраженной подвижностью (кишатъ какъ муравьи); снабжены много-

численными, длинными, легко обрывающимися жгутиками, хорошо окрашивающимися Loeffler'овской протравой с прибавкой 1 куб. сант. 1%-аго фдсага натра (подробности см. на стр. 78).

2. Тифозныя палочки въ пластинчатыхъ разводкахъ на желатинѣ образуютъ колоніи двоякаго рода: находящіяся въ глубинѣ имѣютъ круглую, овальную форму или же форму бруска (точильнаго камня); цвѣтъ ихъ отъ чисто сѣраго до желтоватаго; поверхностныя—очень вѣжныя, вуалеподобныя, испещренныя глубокими бороздками, сѣраго цвѣта. Только спустя нѣсколько дней колоніи принимаютъ буроватый оттѣнокъ. Не разжижаютъ желатинны.

3. На картофелѣ растутъ въ видѣ едва замѣтнаго дерна. Для сравненія культуръ (тифозныя и тифоподобныя) дѣлаютъ посѣвъ на кусочкахъ одного и того же картофеля или же въ различныхъ мѣстахъ одной картофелины.

4. Тифозныя палочки растутъ на молокѣ, не свертывая его (оставляютъ на нѣсколько дней въ термостатѣ при  $t^{\circ}$  въ  $37^{\circ}$ ).

5. Образуютъ въ лакмусовой молочной сывороткѣ (стр. 46) не болѣе  $3\frac{1}{10}\%$  нормальной кислоты (Сыворотка почти не измѣняетъ прозрачности).

6. Не вызываютъ броженія винограднаго сахара. (Испытаніе см. стр. 44) рекомендуютъ сѣять уколкомъ на агарѣ съ примѣсью сахара или на сахарномъ бульонѣ въ бродильной трубкѣ. Optimum  $t^{\circ}$   $37^{\circ}$ ).

7. Не образуютъ индола. (Испытаніе см. стр. 48).

8. Даютъ хромопротеиновую реакцію (см. стр. 49).

9. Не измѣняютъ окраски агара съ примѣсью нейтральрота [къ питательному агару, содержащему 0,3—0,5—0,75% агара и 0,3—0,5% винограднаго сахара прибавляютъ 1% насыщеннаго на холоду воднаго стерилизованнаго паромъ раствора нейтральрота. Сѣютъ уколкомъ въ пробиркѣ съ высокимъ уровнемъ среды или распредѣляя матеріалъ въ разжиженномъ ага-

рѣ. Въмѣсто агара употребляютъ 10% ую желатину; ее также слѣдуетъ оставлять при  $t^{\circ}$  въ  $37^{\circ}$ . Кишечная палочка и ей подобныя сначала даютъ зеленую флуоресцирующую окраску, а затѣмъ совершенно обезцвѣчиваютъ среду и отчасти вызываютъ образование газовъ.

10. Не измѣняютъ въ теченіе 24 часовъ при  $t^{\circ}$  въ  $37^{\circ}$  смѣси разведеннаго раствора лакмуса съ 1% нитрозы,  $\frac{1}{2}\%$  NaCl и 1% молочнаго сахара (приготавливаютъ mut. mut. какъ и лакмусовитрозовый агаръ стр. 115). (Въ этомъ состоитъ отличіе отъ кишечной палочки, которая вызываетъ броженіе, окрашивание раствора въ красный цвѣтъ и свертываніе его); если вышеупомянутый растворъ вмѣсто молочнаго содержитъ 1% винограднаго сахара, то въ такомъ случаѣ тифозныя палочки окрашиваютъ его въ красный цвѣтъ и свертываютъ при  $t^{\circ}$  въ  $37^{\circ}$  въ 24 часа (этимъ онѣ отличаются отъ дизентерійныхъ, которыя въ теченіе 24 часовъ только окрашиваютъ среду въ красный цвѣтъ; свертываніе же наступаетъ позже).

Растворы малахитовой зелени съ подобными же реакціями см. Loeffler, D. m. W. 1906, № 8, орилиновая питат. среда см. Buchholz, Zschr. f. Hyg. Bd. 56, 5, 220.

Есть микроорганизмы, отличающіеся отъ тифозныхъ только нѣкоторыми изъ перечисленныхъ 10 признаковъ. Такъ, напримѣръ, *Bac. faecalis alcaligenes* съ достовѣрностью можно отличить по 5-ому и схожему съ нимъ по существу (образование щелочи) 10-му признакамъ; дизентерійную по 1-му [отсутствіе подвижности], 10 му и по реакціи, изложенной въ § 6 на стр. 124 въ главѣ о дизентеріи. Бациллы паратифа, вызывающія сходную съ тифомъ-клиническую картину заболѣванія (ихъ тоже различаютъ 2 типа), во многихъ отношеніяхъ сходны съ тифозными. Рѣдко встрѣчающійся типъ А образуетъ круглыя поверхностныя колоніи безъ бороздъ; второй, болѣе частый типъ В

даетъ такія же, но толстыя, бѣловатыя, въ молодомъ возрастѣ иризирующія, позже окружающіяся какъ-бы слизистымъ валомъ колоній, окрашиваетъ картофель въ бурый цвѣтъ, просвѣтляетъ молоко, образуя въ немъ шельч; придаетъ лакмусовой молочной сывороткѣ щелочную реакцію по прошествіи вѣсколькихъ дней; оба вида вызываютъ броженіе и флуоресценцію (9 проба), свертываютъ растворъ нитрозы съ лакмусомъ и винограднымъ сахаромъ). Хотя до сихъ поръ нѣтъ микроорганизма, который бы по всемъ 10 признакамъ походилъ на тифозную палочку, все же самымъ вѣрнымъ диагностическимъ признакомъ является:

1) Серодиагностика въ формѣ явленія бактериолиза въ тѣлѣ животного (а) или въ формѣ агглютинаціи (б).

а) Бактериолизъ въ тѣлѣ животного (такъ наз. реакція Pfeiffer'a).

Принципъ: при впрыскиваніи въ брюшную полость морской свинки тифозныхъ палочекъ, смѣшанныхъ съ сывороткой иммунизированнаго къ палочкамъ тифа животного, палочки эти быстро „растворяются“ (приходятъ въ состояніе видимаго распада), чего не бываетъ при одновременномъ впрыскиваніи сыворотки нормальнаго животного. На тифоподобныя палочки не оказываютъ вліянія ни нормальная сыворотка, ни сыворотка невосприимчиваго къ тифу животного. (Методъ этотъ пригоденъ лишь при опредѣленномъ количественномъ соотношеніи между сывороткой и культурой и при опредѣленной вирулентности палочек!).

Выполненіе: Для этого необходимо:

а) точное знаніе силы сыворотки иммунаго животного (опредѣляется титрованіемъ). Силу сыворотки опредѣляютъ при посредствѣ вирулентной тифозной культуры, которая въ количествѣ около  $\frac{1}{10}$  петли = 0.2 mg. (Дозировка, гл. VIII) убиваетъ морскую свинку вѣсомъ въ 250 g.; указанное количество культуры раз-

водятъ въ 1 куб. сант. бульона и впрыскиваютъ въ брюшную полость; по прошествіи 24 часовъ наступаетъ смерть при низкой  $t^{\circ}$ , — палочки за это время сильно размножились. Разводить сыворотку питательнымъ бульономъ съ такимъ расчетомъ, чтобы въ 1 куб. сант. смѣси содержалось 0.01 resp. 0.005, 0.001 куб. сант. или еще меньше сыворотки; въ каждомъ кубическомъ сантиметрѣ смѣси сыворотки съ бульономъ разводить 1 петлю (слѣдовательно, 10 кратную смертельную дозу) 20 часовой агаровой культуры тифозной, обладающей вышеуказанной вирулентностью палочки, и впрыскиваютъ каждый кубикъ въ брюшную полость морской свинки; каждая получаетъ только одинъ кубикъ (техника см. стр. 172). Черезъ различныя промежутки времени (30, 60, 120 минутъ) берутъ для пробы содержимое брюшной полости (техника см. стр. 170) и изелѣдуютъ его въ висячей каплѣ. Если, самое позднее по прошествіи 2-хъ часовъ, палочки исчезли, resp. находятся въ состояніи распада, или же въ видѣ исключенія попадаются отдѣльныя, потерявшія подвижность—этимъ самымъ доказано, что впрыснутая животному доза сыворотки предохраняетъ его отъ дѣйствія тифозныхъ палочекъ. Животное выживаетъ безъ рѣзкаго паденія температуры. Наименьшая доза сыворотки, способная вызвать подобное дѣйствіе, и есть титръ сыворотки. Употребляемая для реакціи сыворотка должна по возможности обладать титромъ въ 0,001 или того меньше (напр. 0,0001). (О полученіи иммун. сыворотки см. гл. VIII).

б) Сыворотка нормальнаго животного того же вида, отъ котораго получена иммун. сыворотка. (Нормальная сыворотка, какъ это доказано опытомъ, обладаетъ такими же предохранительными свойствами, но въ большинствѣ случаевъ только въ количествѣ десятихъ долей куб. сантиметра).

γ) Приблизительно 20-часовая, выросшая при 37° агаровая культура испытуемаго вида бактерий.

б) Двѣ морекихъ свинки вѣсомъ около 250,0, 2 шприца, пипетки, стерилизованныя, пустыя и наполненыя бульономъ пробирки.

Одну петлю = 2 мг. агаровой культуры испытуемаго вида бактерий разводить въ одномъ куб. сант. смѣси бульона съ иммун.—сыороткой и впрыскиваютъ въ брюшную полость свинкѣ А; смѣсь эта содержитъ сыоротки въ 10 разъ больше титра. Можно и больше, но во всякомъ случаѣ количество сыоротки никогда не должно превышать 0,02, куб. сант! Подробности см. ниже „случай 3-й“. Свинка В получаетъ ту же самую дозу культуры, разведенную въ смѣси 0,95 куб. сант. бульона и 0,05 куб. сант. нормальной сыоротки.

Спустя 30, 60, 120 минутъ изслѣдуютъ содержимое брюшной полости животныхъ (добываютъ его при помощи капиллярныхъ трубокъ); животныя подлежатъ дальнейшему наблюденію. При этомъ можетъ случиться:

Случай 1-й; свинка А выживаетъ, причѣмъ бациллы быстро исчезаютъ. У свинки В палочки не только не исчезаютъ, но напротивъ того сильно размножаются; животное погибаетъ при рѣзкомъ паденіи температуры. **З а к л ю ч е н і е:** изслѣдуемая культура — настоящая тифозная, такъ какъ сыоротка иммунизированнаго къ тифу животного оказала на нее дѣйствіе, тогда какъ взятая въ гораздо большемъ количествѣ нормальная сыоротка не дала эффекта.

Случай 2-й; у обѣихъ свинокъ палочки исчезаютъ, животныя выживаютъ. **З а к л ю ч е н і е:** культура слишкомъ мало вирулентна для постановки съ ней опытовъ (NB. брать культуру въ количествѣ, превышающемъ 1 петлю, не слѣдуетъ!). Въ случаѣ необходимости пробуютъ повысить вирулентность культуры пассажами на свинкахъ: 1, 2 петли изслѣдуемой культуры впрыскиваютъ животному въ полость брюшины — животное погибаетъ. Изъ содержимаго брюшной

полости готовятъ агаровую культуру. 2. Одну петлю полученной такимъ образомъ культуры впрыскиваютъ въ брюшную же полость слѣдующему животному, которое также погибаетъ. Снова готовятъ агаровую культуру, впрыскиваютъ 3-ему животному  $\frac{1}{4}$  петли ея — животное погибаетъ. Одну петлю послѣдней культуры смѣшиваютъ съ сыороткой и впрыскиваютъ по вышеописанному способу. — Впрочемъ, описанный во второмъ случаѣ результатъ можетъ имѣть мѣсто при наличности настоящей тифозной культуры — только при томъ условіи, если эта культура болѣе или менѣе давняго происхожденія. Свѣже выдѣленные изъ тѣла животного тифозныя палочки всегда обладаютъ достаточной вирулентностью.

Случай 3-й. Палочки исчезаютъ у обѣихъ свинокъ, но обѣ онѣ погибаютъ. **З а к л ю ч е н і е:** данная культура не тифозная на томъ основаніи, что тифозныя не бываютъ настолько вирулентными, чтобы даже 10 кратное по сравненію съ титромъ количество сыоротки не могло спасти зараженную одной петлей свинку. Если бы существовали тифозныя культуры подобной вирулентности, то, легко понять, подобное заключеніе было бы неправильно. На такомъ же основаніи нельзя дѣлать окончательнаго вывода при употребленіи сыоротки болѣе слабой, чѣмъ указано. Предположимъ, что приготовлена сыоротка съ титромъ въ 0,01 куб. сант. и что ея берутъ 0,02 куб. сант. (больше брать нельзя, такъ какъ тогда можно было бы имѣть дѣло съ обычнымъ дѣйствіемъ нормальной сыоротки!), въ такомъ случаѣ взятая доза сыоротки нейтрализуетъ дѣйствіе 20 кратной смертельной дозы культуры. (Титръ устанавливается въ отношеніи 10 кратной смертельной дозы; слѣдовательно, количество вдвое большее титра = 20 кратной). Если минимальная смертельная доза изслѣдуемой культуры равняется  $\frac{1}{5}$  петли и если животному впрыскиваютъ вмѣстѣ съ сыороткой одну петлю этой культуры — ясно, что дан-

ное количество сыворотки не достаточно для нейтрализации введенного количества культуры, в 50 раз большего минимальной смертельной дозы. Распад палочек будет при этом неполным, хотя бы культура и была тифозной. Поэтому: или пользуются только сильной сывороткой, или же если в распоряжении имеется слабая, вирулентность исследуемой культуры определяют, вводя ее в брюшную полость цыгала ряда свинок в дозах от 0,1—0,01 петли. Затем впрыскивают в смѣси съ сывороткой такое количество культуры, чтобы действие его могло быть в 50 раз не нейтрализовано допустимой наибольшей (0,02 куб. сант.) дозой сыворотки. Если и тогда палочки исчезают у обѣих свинок и обѣ они погибают, остается сдѣлать только приведенное выше заключеніе.

б) Агглютинація (Gruber-Durham-R. Pfeiffer):

Принципъ. Иммуно.—сыворотка и въ очень сильномъ разведеніи обладаетъ способностью лишать подвижности тифозныя палочки и собирать ихъ въ кучки; также дѣйствуетъ и нормальная, но только при значительно большей концентрации. На тифоподобныя палочки иммуно.—сыворотка дѣйствуетъ почти такъ же, какъ и нормальная.

Выполненіе. Для этого необходимо:

а) Опредѣленія силы иммуно.—сыворотка. Для опредѣленія этой силы готовятъ, какъ было описано на стр. 106 а) а) смѣси изъ эмульсии вирулентныхъ тифозныхъ палочекъ въ 0,8% омъ совершенно прозрачномъ растворѣ поваренной соли (пропущенномъ 2 раза чрезъ уплотненные фильтры) съ различными количествами иммуно-сыворотки (въ маленькихъ пробиркахъ 0,5—0,8 сант. ширины и 6—8 сант. длины, конусообразной формы въ нижней части) и наблюдать, во первыхъ, при какомъ количествѣ сыворотки происходитъ скучиваніе и потеря подвижности тифозныхъ палочекъ по простествіи, самое большее, 2-хъ

часовъ; при этомъ для наблюденія готовятъ висячія капли, держатъ ихъ при 37° и разсматриваютъ при слабомъ увеличеніи; минимальное, дающее такой эффектъ количество сыворотки и есть ея титръ для опытовъ съ висячей каплей; во вторыхъ, при прибавленіи какого количества сыворотки наступаютъ, самое позднее, черезъ 2 часа ясно замѣтное простианіе глазомъ или въ лупу, при отраженномъ дневномъ свѣтѣ, явственное образованіе хлопьевъ въ содержимомъ пробирокъ: минимальное, необходимое для этого количество сыворотки и есть титръ сыворотки для опытовъ въ пробиркахъ. При опытѣ въ пробиркахъ сыворотка должна быть дѣйствительной, по крайней мѣрѣ, при разведеніи. Некоторые авторы считаютъ неудобной сыворотку большей силы, такъ какъ она оказывается до известной степени дѣятельной и по отношенію къ тифоподобнымъ палочкамъ. Въ этомъ случаѣ ошибки можно избѣгнуть, если принять во вниманіе, что такая сыворотка оказываетъ гораздо болѣе слабое агглютинирующее дѣйствіе на тифоподобныя палочки, чѣмъ на настоящія тифозныя.

б) Нормальная сыворотка животного того же вида, къ которому принадлежитъ животное, дающее иммуно.—сыворотку. Титръ нормальной сыворотки определяютъ по способамъ, указаннымъ въ а. Нормальная сыворотка должна обладать гораздо меньшей силой, чѣмъ специфическая (напр. титръ нормально выражается отношеніемъ 1 къ 20, титръ иммуноной 1 къ 1000).

γ) Приблизительно 20 часовая, выросшая при 37°, агаровая культура испытуемаго вида палочекъ.

Приготавливаютъ различныя разведенія иммуно.—сыворотки въ 0,8% омъ растворѣ NaCl, напр. 1:200, 1:300, 1:500, 1:1000. Наибольшее количество содержащейся въ смѣси иммуно.—сыворотки должно быть въ 10 разъ меньше титра нормальной (напр., титръ нормальной сыворотки 1:20, пайвысшая концентрація иммуноной 1:200). Приготовленныя разведенія, по 1 куб.



сант. каждого, наливаютъ въ узкія пробирки (см. а), точно ихъ обозначая; въ каждую пробирку вносятъ небольшую петлю (2 mg.) изслѣдуемой культуры (20-часовой на агарѣ), тщательно растирая содержащій бактеріи матерьялъ въ мѣстѣ соприкосновенія жидкости со стѣнкой пробирки, которую при этомъ держатъ въ наклонномъ положеніи. Затѣмъ изъ содержимаго каждой пробирки приготавливаютъ висячую каплю; какъ каплю, такъ и пробирку оставляютъ въ термостатѣ при  $t^{\circ}$  въ  $37^{\circ}$ .—Одновременно, для контроля, разводятъ такое же количество той же культуры въ 1 куб. сант. смѣси раствора поваренной соли съ такимъ количествомъ нормальной сыворотки, чтобы послѣдняя сохранилась въ количествѣ вдвое меньшемъ ея титра (при титрѣ 1 : 20 ее примѣшиваютъ въ отношеніи 1 : 40), а также смѣсь культуры съ растворомъ поваренной соли безъ сыворотки (вслѣдствіе возможной самопроизвольной агглютинаціи). Наблюденія производятся въ теченіе 2 часовъ невооруженнымъ глазомъ или лупой и микроскопически при слабомъ увеличеніи, какъ указано при а.

При этомъ можетъ оказаться:

Во первыхъ. Палочки скучиваются во всѣхъ пробахъ съ иммун.—сывороткой или же только въ пробахъ съ наибольшимъ ея содержаніемъ, въ то время какъ нормальная сыворотка подобнаго эффекта не даетъ. Это значитъ, что изслѣдуемая культура есть настоящая тифозная. (Подобное заключеніе однако не допустимо при слишкомъ большой разницѣ между титромъ сыворотки для палочекъ тифа и ея разведеніемъ, агглютинирующимъ изслѣдуемую палочку, напр. титръ 1 : 5000, агглютинація же изслѣдуемой палочки наступаетъ лишь при разведеніи 1 : 50 и не болѣе 1 : 100. Въ этомъ случаѣ слѣдуетъ продѣлать пробу Pfeiffer'a, см. стр. 106 а).

Во вторыхъ. Палочки скучиваются въ обѣихъ серияхъ пробирокъ (иногда также въ одномъ лишь

растворѣ поваренной соли). (Очень рѣдко, наблюдается при культурахъ, которыя не выращены только что изъ тѣла). Дѣло здѣсь можетъ идти о тифозной культурѣ ничтожной вирулентности. Это особенно вѣроятно въ томъ случаѣ, если даже минимальныя количества иммун.—сыворотки, т. е. гораздо меньшія, чѣмъ ея титръ, производятъ скучиваніе палочекъ; агглютинація въ одномъ лишь растворѣ поваренной соли доказываетъ, что проба эта, вообще, невыполнима. Опредѣляютъ вирулентность и въ случаѣ надобности повторяютъ реакцію, повысивъ предварительно вирулентность (см. стр. 108).

Въ третьихъ. Палочки нигдѣ не скучиваются. Изслѣдуемая культура, значитъ, не тифозная. Однако, бываетъ, что свѣже добытыя изъ организма тифозныя бациллы лишь послѣ многократнаго выращиванія на искусственныхъ средахъ агглютинируются сывороткой тифозныхъ; поэтому, въ случаѣ надобности дѣлать повторно опытъ!

О полученіи иммун.—сыворотки см. гл. VIII.—Сыворотка, полученная изъ крови выздоравливающихъ отъ тифа, непригодна для дифференціальной діагностики, такъ какъ въ большинствѣ случаевъ она оказывается слишкомъ слабой, а кромѣ того агглютинируетъ иногда и тифоподобныя палочки! (см. стр. 122с).

### *Бактеріологическая діагностика заболѣванія тифомъ у человѣка.*

Самымъ вѣрнымъ способомъ является находеніе тифозныхъ палочекъ въ тканяхъ или въ испраженіяхъ; агглютинирующія свойства у кровяной сыворотки появляются лишь постепенно въ теченіе болѣзни; иногда это происходитъ сравнительно поздно, иногда же совсѣмъ не происходитъ. Лучше всего пользоваться, если это возможно, вторымъ изъ приводимыхъ ниже способовъ, но въ случаѣ надобности

прибавляют и къ 1, 3-му или 4-ому, и къ 5-ому послѣднему; 2 и 4 можно выполнить на пробѣ съ кровью. (ср. 3 въ концѣ). Выращенныя изъ тѣла подозрительныя въ смыслѣ тифа палочки изслѣдуютъ всегда всеми вышеописанными способами (стр. 103 и слѣдующія; 1—10 и 11 б или также а), такъ какъ бываютъ похожи на тифъ заболѣванія, вызываемыя не тифозной, а тифоподобной палочкой.

1. **Изслѣдованіе розеолъ.** Очищаютъ участокъ кожи сначала влажной ваткой, затѣмъ спиртомъ и эфиромъ. Въ области розеолы дѣлаютъ скалпелемъ поверхностный разрѣзъ и тотчасъ же еще до выступленія крови, соскабливаютъ кончикомъ его немного тканевого сока, которымъ засѣваютъ бульонъ. На ранку наносятъ 1—2 капли бульона: уменьшивъ такимъ образомъ бактерицидную силу крови, сѣютъ ее на бульонѣ. Лишь только посѣвы дадутъ ростъ, ихъ изслѣдуютъ по способамъ, изложеннымъ на стр. 103 и сл. Изслѣдуютъ всегда нѣсколько розеолъ и только съ 5-ю и 6-ю. Способъ этотъ даетъ положительные результаты приблизительно въ  $\frac{3}{4}$  случаевъ.

2. **Изслѣдованіе крови на тифозныя палочки.** При помощи шприца добываютъ изъ вена mediani 10—20 куб. сант. крови (см. гл. VII) и сѣютъ ее, по 10 кап., на бульонъ (20 куб. сант.) или приготавливаютъ пластинчатую разводку, смѣшивая кровь съ агаромъ, имѣющимъ температуру около 49° (3 ч. агара; 1 ч. крови);—колоніи тифозныхъ и паратифозныхъ палочекъ представляются черно-зеленаго цвѣта. Положительный результатъ получается почти въ 90% случаевъ, уже на первой недѣлѣ болѣзни. Приготовленіе культуръ на агарѣ предпочтительнѣе, такъ какъ при этомъ способѣ можно точно опредѣлить количество колоній, а при загрязненіи посѣва имѣются все-таки отдѣльныя колоніи, которыми можно воспользоваться для полученія чистой культуры. Для предварительной разводки удобно взять смѣсь крови (до 2,5 см.) съ

5 см. стерилизованной бычьей желчи (съ прибавкой также по 10% пептона и глицерина), засѣять и продержать 12—24 часовъ при 37°. Потомъ посѣвъ на пластинкахъ (см. 3). Желчная смѣсь, въ которой крови остается не свернувшейся, рекомендуется также для пересылки матерьяловъ для изслѣдованія. (Готовыя къ употребленію пробирки съ желчью можно получить отъ E. Merck-Darmstadt и F. и M. Lautenschläger-Berlin).—Получающійся при кровоизлитіи для пробы Видаля (стр. 119) сгустокъ крови также можетъ быть использованъ для обнаруженія тифозныхъ бациллъ; сѣять надо не слишкомъ малыя количества на пластинкахъ (см. 3.), иногда послѣ предварительной разводки въ пробиркахъ съ желчью (см. выше).

### 3. Изслѣдованіе испражнений на тифозныя палочки.

Туб. встрѣчаются въ большомъ количествѣ лишь начиная со 2 недѣли болѣзни. Выѣсто посѣвовъ на обычной, нейтральной или не совсемъ нейтрализованной питательной желатинѣ, для которыхъ требуется навыкъ со стороны изслѣдователя, предпочтеніе отдается слѣдующимъ способамъ:

а) Лакмусовый агаръ съ нутрозой по v. Drigalski и Conradi (Zschr. f. Hyg. Bd. 39). Лакмусовый съ содержаніемъ нутрозы агара; приготавливаютъ, безъ подогреванія, вытяжку изъ 1,5 кг. изрубленнаго конскаго мяса въ 2 литрахъ воды (24 часа), полученную такимъ образомъ мясную воду отжимаютъ прессомъ, кипятятъ въ теченіе часа и фильтруютъ; къ фильтрату прибавляютъ 20,0 сухого пептона Witte, 20,0 нутрозы, 10,0 NaCl; смѣсь снова кипятятъ въ теченіе часа и фильтруютъ; прибавляютъ 60,0—70,0 высшаго качества агара, кипятятъ 3 часа въ текучепаровомъ аппаратѣ или 1 часъ въ автоклавѣ и слабо подщелачиваютъ по лакмусу; еще разъ фильтруютъ и кипятятъ  $\frac{1}{2}$  часа. Къ приготовленному такимъ образомъ, нѣсколько охлажденному агару при-

бавляют нагрѣтый до 40—50° лакмусовый растворъ молочнаго сахара (260 куб. сант. лакмусоваго раствора O. Kahlbaum'a Berlin S. O. кипятятъ 10 минутъ, прибавляютъ къ нему 30,0 химически чистаго молочнаго сахара и кипятятъ смѣсь не болѣе 15 минутъ); все это хорошенъко взбалтываютъ и къ смѣси прибавляютъ по каплямъ столько стерилизованнаго воднаго раствора 10%-ой обезвоженной соды, чтобы образующаяся при взбалтываніи красная пѣна въ теченіе нѣсколькихъ секундъ стала синеволетовой; потомъ прибавляютъ еще 20 куб. сант. свѣже приготовленнаго раствора кристаллвиолета В. Höchst (0,1 краски на 100 куб. сант. теплой стерильной дистиллированной воды). Среду заготовляютъ, разливая ее частью по чашкамъ около 15 сант. въ діаметръ (толщина слоя по меньшей мѣрѣ 2 mm!), частью по колбамъ въ 200 куб. сант. вмѣстимостью (не разливаютъ въ слишкомъ большія колбы, такъ какъ разжиженіе при слѣдующемъ распределеніи по сосудамъ потребовало бы очень долгаго нагрѣванія). Помощью согнутой подъ прямымъ угломъ стеклянной палочки дѣлаютъ дробные пересѣвы. При жидкомъ стулѣ для посѣва берутъ испраженія какъ они есть, а также разведенныя 10—20-кратнымъ количествомъ стерильнаго 0,85%-го раствора NaCl; изслѣдуемый матеріалъ распределяютъ послѣдовательно на нѣсколькихъ чашечкахъ, не заражая вновь палочки; оформленныя испраженія разводять вышеупомянутымъ растворомъ NaCl; техника посѣва прежняя. Забѣянные чашки оставляютъ открытыми, самое меньшее  $\frac{1}{2}$  часа; затѣмъ накрываютъ и ставятъ крышкой внизъ въ термостатъ при 1° въ 37°. Изслѣдуютъ по прошествіи 14—24 часовъ. Колоніи тифозныхъ палочекъ—величиной отъ 1—3 mm, синяго цвѣта, стекловидны; онѣ не имѣютъ двойнаго контура, напоминаютъ капли росы; такими же свойствами обладаютъ и паратифозныя колоніи. Колоніи кишечной палочки—величиной отъ 2—6 mm, ярко-краснаго цвѣта, непро-

зрачны. Въ дальнѣйшемъ колоніи пересѣваютъ и изслѣдуютъ по способамъ 1—11 (стр. 103, а именно, прежде всего на способность броженія—стр. 104 § 6); быстрѣе всего приводитъ къ цѣли проба на агглютинацію въ висячей каплѣ (11 b стр. 110).

b) Хорошіе результаты даетъ также среда съ фуксиномъ по Endo (Strbl. f. Bakt. Abt. I Op. 36 S. 109). Смѣшиваютъ 1 литръ 3%-аго питательнаго агара (см. стр. 16), сначала нейтрализованнаго, затѣмъ подщелоченнаго 10 куб. сант. 10%-аго раствора соды, съ 10,0 химически чистаго молочнаго сахара и 5 куб. сант. насыщеннаго спиртоваго, предварительно профильтрованнаго, раствора фуксина; сюда же прибавляютъ 25 куб. сант. свѣжеприготовленнаго 10%-раствора свѣрнастаго натра. Въ нагрѣтомъ состояніи среда розоваго цвѣта, по охлажденіи совершенно или почти обезцвѣчивается; сохраняютъ ее въ темномъ мѣстѣ и по возможности преградивъ доступъ воздуху (герметически закрытыя бутылки). Сѣютъ въ чашкахъ какъ и при b). Тифозныя и паратифозныя колоніи безцвѣтны; кишечная палочка интенсивно краснаго цвѣта (пересѣвы слѣдуетъ дѣлать не раньше, чѣмъ черезъ 20—22 часа!). Endo—таблетки, при прибавленіи которыхъ къ нейтральному агару получаютъ готовую питательную среду Endo, можно получить у E. Merck-Darmstadt.

c) Питательная среда съ содержаниемъ кофеина по Roth'y, Ficker'y и Hoffmann'y (Arch. f. Hyg. 49, S. 199, 229): къ смѣси 100 куб. сант. мясной воды (бычачье мясо), 6,0 пептона Witte' и 0,5 NaCl прибавляютъ нормальнаго NaOH, въ количествѣ=38,64% того количества, которое необходимо для нейтрализаціи по фенолфталину въ качествѣ показателя (не исчезающее красное окрашивание—опредѣленіе и вычисленіе ведется по способу, описанному на стр. 18, § 4), и стерилизуютъ паромъ 10 минутъ. Далѣе прибавляютъ (стерильность не дол-

жна быть нарушена) 105 куб. сант. 1,2%-ого раствора кофеина и 1,4 куб. сант. 0,1%-ого кристаллолита (оба раствора готовят на холоду в стерильной посуде на стерильной же дистиллированной воде). Приготовленную таким образом среду засевают жидкими испражнениями (0,8—0,9 куб. сант.), не подвергая их предварительному разведению. Кашицеобразные и оформленные испражнения смешивают в стерилизованной чашке с 1—2 объемами 1—2% раствора кофеина и фильтруют через стерилизованную вату; для посева берут 0,8—0,9 куб. сант. филтрат. Посевы оставляют на 13 часов в термостате при  $t^{\circ}$  в  $37^{\circ}$  и пересевают на лакмусовый с содержанием нутрозы агарь (см. стр. 115 а).

д) Loeffler'sковскій агарь, с примесью малахитовой зелени, сафранина и чистой синьки (D. m. W. 1909 Nr 30): 3% нейтрализованный агарь + 5 см. нормального NaOH на литр + (в конце стерилизации) 100 см. 10% раствора нутрозы на литр сохраняют в бутылках из темного стекла и просвѣтляют посредством осаждения. Для посева к 100 см. разжиженного и охлажденного до  $45^{\circ}$  агара прибавляют 3 см. стерилизованной посредством кипячения и профильтрованной бычьей желчи, 1 см. 0,2% водного раствора „Safranin rein“ д-ра Grübler'a, 3 см. 1% водного раствора „Reinblau doppelt concentrirt“ Höchst'a и 3 или 4 см. 0,2% раствора „Malachitgrün cryst. chem. rein“ Höchst'a. Хорошо перемешивают, выливают на пластинки и делают посевы, какъ при а.

Тифозныя колоніи прозрачно-сини, плоскопирамидалны, с неровной поверхностью и металлическимъ блескомъ, чрезъ сутки съ лишнимъ очень похожи на Paraty. B; Paraty. А круглы, прозрачны, какъ стекло, синеваты; Bac. Gärtner'a круглы, сочны, красны; колоніи кишечной палочки красны или красноваты.

е) Для культуръ Tyb. и Paratyb. по Lentz'у и Tietz'у (Klin. Jahrb. 1905 S. 445) растирают шпательемъ

3 большихъ петли жидкаго кала на агаровой пластинке съ малахитовой зеленью (особый способ приготовления см. Zschr. f. Hyg. Bd. 63, S. 110, или приготовление по старому способу безъ сафранина и синьки с 3 см. стерилизованной бычьей желчи и 1,9 см. 0,2% раствора малахитовой зелени на 100 питательнаго агара с примесью нутрозы) и темъ же шпательемъ делают посевы на 2 пластинкахъ За стр. 115. Если на нихъ послѣ суточного стоянія в термостатѣ не появляется тифозныхъ колоній, то зеленую пластинку обливаютъ 10 см. 0,8% раствора NaCl изъ котораго 1—3 петли снова засеваютъ на новыхъ пластинкахъ За.

Другія спеціальныя питательныя среды см. у Conrad, M. m. W. 1908, № 29, Werbitzki, Arch. f. Hyg. Bd. 49 S. 192, Kindborg, C. B. f. Or. 46 S. 554, Doerner тамъ же S. 552, Padlewski, тамъ же 47 стр. 540.

#### 4. Сывороточная реакція по Widal'ю.

Принципъ: установлено, что кровяная сыворотка, взятая у тифознаго больного, уже по прошествіи 8 дней болѣзни агглютинируетъ палочки тифа (см. выше 11 b стр. 110). Кровяная сыворотка не тифозныхъ обладаетъ агглютинирующей способностью только при высокой концентраціи сыворотки (см. стр. 121 а!) О полученіи крови см. гл. VII.

(NB. Отдѣльные виды Tyb. могутъ агглютинироваться съ различной силой, поэтому ихъ слѣдуетъ испытать предварительно посредствомъ подходящей иммун-сыворотки!).

Проба на агглютинацію (ср. также die Dienstanweis. f. d. zur Ty-bekämpfung eingerichtet. Untersuch.-ämter, Veröff. d. K. G. A. 1903 Nr. 36, Besond. Beilage).

Собранную пипеткой (вместимостью въ 1 куб. сант., с дѣлениями до 100) сыворотку разводятъ въ

50 разъ стерилизованнымъ 0,8% растворомъ NaCl. Если разведенной такимъ образомъ сыворотки меньше 2 куб. сант., пробу на агглютинацію производятъ на покровномъ стеклышкѣ, въ противномъ случаѣ въ пробиркахъ, причѣмъ сыворотки берутъ отъ 0,4—1 куб. сант. на пробирку (о формѣ и вѣсѣ пробирокъ см. стр. 110 б з).

Микроскопическая проба на агглютинацію. На покровныя стеклышки наносятъ по каплѣ разведенной въ 50 или же въ 100 разъ сыворотки (последнее разведеніе получаютъ изъ перваго); въ одну каплю переносятъ платиновой иглой содержащій тифозныя бактеріи матерьялъ изъ агаровой культуры, приблизительно 24 часовой, въ двѣ другія изъ культуръ паратифа (А и В) и распределяютъ его въ капляхъ, пока не появится муть, видимая невооруженнымъ глазомъ. По окончаніи вышеописанныхъ операцій готовятъ висющую каплю, которую и изслѣдуютъ.

Макроскопическая проба на агглютинацію: смѣшивая равные объемы разведенной въ 50 разъ сыворотки и 0,8%-аго раствора NaCl, получаютъ разведеніе 1:100. Опредѣляютъ въ пробиркахъ агглютинирующую способность обоихъ разведеній, какъ въ отношеніи тифозной палочки, такъ и паратифозной [А и В]. На каждый куб. сант. разведенія берутъ нормальную петлю [2 mg.—см. гл. VIII.] культуры, тщательно ее растирая въ жидкости по стѣнкѣ пробирки. Пробирки оставляютъ на 3 часа при 37° или съ вечера до слѣдующаго утра при комнатной т°.

Опредѣленіе реакціи: агглютинацію всегда необходимо проконтролировать микроскопомъ, даже и при производствѣ макроскопической пробы; особенно необходимымъ является такой контроль въ тѣхъ случаяхъ, гдѣ сыворотка содержитъ примѣсь кровяныхъ тѣлецъ. Проба на агглютинацію на покровномъ стеклышкѣ съ 50-кратнымъ разведеніемъ является пред-

варительной. Реакцію слѣдуетъ считать положительной, если въ любомъ мѣстѣ препарата, содержащаго обычно отдѣльно расположенныя палочки, въ избыткѣ встрѣчаются кучки тѣхъ же палочекъ; ихъ можетъ быть даже только 6—7 въ одной кучкѣ, рядомъ можно встрѣтить и отдѣльно лежащія бактеріи. Случай считаютъ подозрительнымъ, если агглютинація наступаетъ только при разведеніи 1:50. При такихъ обстоятельствахъ слѣдуетъ повторить изслѣдованіе черезъ нѣсколько дней со вновь полученной сывороткой. Если сыворотка агглютинируетъ только палочки паратифа, данный случай подозрителенъ на паратифъ; несомнѣннымъ доказательствомъ надо считать только полученіе культуры изъ тѣла больного. Признается цѣлесообразнымъ, приготовивъ заранее болѣе слабыя разведенія, опредѣлить точно предѣлы агглютинирующей способности сыворотки въ отношеніи палочекъ тифа и паратифа.

Widal'евская сывороточная реакція во многихъ случаяхъ можетъ привести къ ошибочнымъ выводамъ, какъ это явствуетъ изъ слѣдующаго:

а) Кровяная сыворотка лицъ, перенесшихъ тифъ за нѣсколько мѣсяцевъ и даже лѣтъ до времени изслѣдованія, а иногда и страдающихъ другими заболеваниями, можетъ агглютинировать тифозную палочку, напр. сыворотка больныхъ желтухой часто обнаруживаетъ повышенную агглютинирующую способность.

б) У тифозныхъ больныхъ (особенно у легко больныхъ) кровяная сыворотка не приобретаетъ агглютинирующей способности къ данному періоду болѣзни, иногда даже, повидимому, эта способность и совсѣмъ не развивается. При отрицательной реакціи на агглютинацію и при продолжающемся подозрѣніи на тифъ по клиническому теченію болѣзни слѣдуетъ повторить изслѣдованіе черезъ нѣсколько дней.

в) При заболѣваніи тифомъ можетъ повыситься агглютинирующая способность кровяной сыворотки въ

отношении паратифа и, обратно, при заболевании паратифомъ въ отношении тифа. Въ сомнительныхъ случаяхъ совѣтуютъ, приготовивъ болѣе сильныя чѣмъ 1:100 разведенія, напр., 1:200, 1:500 и т. д., испытать агглютинирующее дѣйствіе такихъ разведеній на палочки тифа и паратифа; агглютинація по отношенію къ обуславливающей заболевание бактеріи бываетъ обычно во много разъ рѣзче выражена, чѣмъ къ той, которая не причастна къ инфекціи; на эту послѣднюю сыворотка оказываетъ въ извѣстной мѣрѣ агглютинирующее дѣйствіе только вслѣдствіе такъ называемой „групповой реакціи“ [принадлежность сходныхъ бактерій къ одному виду]. (Выборъ подходящихъ культуръ Tub для опытовъ см. стр. 119, § 4).

При правильномъ выполненіи Widal'евская реакція является тѣмъ не менѣе цѣнной поддержкой для клиническаго діагноза. Въ отношеніи терапіи и санитарныхъ мѣропріятій тифозныя и паратифозныя инфекціи принимаются за равнозначущія.

Никогда не слѣдуетъ ограничиваться сообщеніемъ, что „Widal'евская реакція дала положительные результаты“, напротивъ, необходимо указать способъ изслѣдованія (въ пробиркахъ или на покровномъ стеклышкѣ), степень разведенія сыворотки, промежутокъ времени, въ теченіе котораго наступила агглютинація, и силу реакціи (совершенная агглютинація и т. д.).

Для производства Widal'евской реакціи можно получать препараты тифозныхъ и паратифозныхъ палочекъ, не содержащія живыхъ бактерій, отъ E. Mersk-Darmstadt (Диагностика тифа по Ficker'y, B. Kl. W. 1903 Nr. 45); они пригодны для изслѣдованія агглютинаціи въ пробиркахъ и удобны во врачебной практикѣ. Или: къ однодневной бульонной культурѣ тифозной палочки прибавляютъ 1% 40%-аго формалина, оставляютъ смѣсь 2 дня при 37°, отдѣляютъ культуру отъ осадка декантацией и сохраняютъ на ледникѣ. Хо-

рошо сохраняется, при чемъ способность къ агглютинаціи увеличивается.

5. Въ мочѣ тифозныя палочки встрѣчаются почти въ  $\frac{1}{4}$  всѣхъ случаевъ, но обыкновенно лишь начиная съ 3 недѣли болѣзни. Изслѣдованіе лучше всего вести по способамъ, указаннымъ на стр. 115—119 b, c, e.

Послѣ заболевания тифомъ выдѣленіе бацилл съ каломъ и мочою можетъ продолжаться еще въ теченіе мѣсяцевъ и лѣтъ (т. н. Bacillenträger'y). Поэтому въ сомнительныхъ случаяхъ знакомиться съ анамнезомъ!

#### *Выдѣленіе палочекъ тифа изъ воды.*

Трудно. Производится, темъ посѣва воды, какъ это вообще дѣлаютъ при изслѣдованіи воды. Только на средахъ, указанныхъ на стр. 113 и сл. (въ нѣкоторыхъ случаяхъ воду центрифугируютъ и дѣлаютъ посѣвъ штрихомъ изъ осадка). Обыкновенно засѣваютъ значительное количество чашечекъ. Возбуждающія подозрѣніе колоніи пересѣваютъ, изслѣдуютъ ихъ на броженіе и при отрицательныхъ результатахъ дѣлаютъ опыты дальше согласно стр. 114. Специальныхъ методовъ изслѣдованія, при которыхъ, болѣею частью, прибѣгаютъ къ осажденію съ помощью химическихъ средствъ, имѣется очень много (см. литературу у Müller'a, Zschr. f. Hyg. 51 S. 1), но они не вошли еще во всеобщее употребленіе.

#### 10. Палочки дизентеріи (Bact. dysent.).

Большинство авторовъ различаетъ два типа. А. Типъ Shiga-Kruse.

По росту чрезвычайно похожи на палочки тифа, но по формѣ болѣе неуклюжи, кромѣ того неподвижны. Для выдѣленія пользуются посѣвомъ изъ испражнений (комочки слизи, промытые въ стерильномъ 0,8%

растворъ NaCl) на лакмусовомъ агарѣ съ содержаніемъ нутрозы (см. стр. 115 а, безъ прибавки кристалл-виолета; нутроза также не необходима). Ростъ, какъ при Тув. Разводки издаютъ запахъ спермы. Кровяная сыворотка больныхъ дизентеріей сравнительно поздно обнаруживаетъ агглютинирующее дѣйствіе. Если агглютинація наступаетъ при разведеніи сыворотки 1 : 50, то изслѣдуемая палочка есть дизентерійная.

Главнѣйшіе признаки:

1. Отсутствіе активной подвижности (сильно выраженное молекулярное движеніе) и жгутиковъ. (Въ этомъ отличіе отъ палочекъ тифа).

2. Не вызываютъ броженія винограднаго сахара (изслѣдованіе на броженіе, см. стр. 104, b).

3. Не образуютъ индола (проба на индолъ см. стр. 48).

4. Не створаживаютъ молока.

5. Въ лакмусовомъ бульонѣ подобно тифознымъ образуютъ кислоту (см. стр. 104, 5).

6. Растутъ подобно тифознымъ на лакмусовомъ агарѣ съ содержаніемъ нутрозы (см. стр. 115 а); среду готовятъ съ кристалл-виолетомъ или безъ него!

7. Растутъ на лакмусовомъ агарѣ съ содержаніемъ нутрозы и маннита (о приготовленіи среды см. стр. 115 а; только вмѣсто молочнаго сахара кладутъ столько же маннита) или въ лакмусовомъ агарѣ съ маннитомъ (питательный агаръ съ примѣсью 10% лакмусоваго раствора и 2% маннита); при ростѣ по околу верхніе слои среды не претерпѣваютъ измѣненій, болѣе глубокіе обезцвѣчиваются; палочки тифа, паратифозная, кишечная и большинство другихъ подобныхъ дизентерійнымъ (также типа В стр. 125) окрашиваютъ среду въ красный цвѣтъ, а нѣкоторыя вызываютъ броженіе.

8. Агглютинація сывороткой иммунизированныхъ въ отношеніи дизентерійныхъ бациллъ того-же типа животныхъ (Техника иммунизации— стр. 1, проба на

агглютинацію та же, что и для палочекъ тифа— стр. 110. Иммунизация животныхъ вѣдѣствіе сильной ядовитости трудно удается; болѣе всего пригодны бараны, козы, и особенно ослы и лошади).

9. О другихъ отличительныхъ признакахъ по сравненію съ тифомъ см. стр. 105 №. 10 (ненадежны, такъ какъ разница лишь во времени!).

## В. Типъ Flexner'a.

Отношенія тѣ же, что и у типа А, съ той разницей, что окрашиваетъ въ красный цвѣтъ лакмусовый агаръ съ содержаніемъ маннита (см. выше 6) въ 24—48 часовъ и образуетъ индолъ, растетъ также на лакмусовомъ агарѣ съ нутрозой и съ примѣсью кристалл-виолета (см. выше § 6). Агглютинація наступаетъ только подъ вліяніемъ специфической сыворотки; сыворотка, агглютинирующая типъ А, не даетъ здѣсь рѣзкаго эффекта, хотя родство типовъ и сказывается тѣмъ, что наблюдается слабая перекрестная реакція (сыворотки типа А къ типу В и обратно.—Объ установленіи предѣла дѣйствительности сыворотки ср. „групповую реакцію“ стр. 122 с)! Агглютинацію не считаютъ доказательной даже при разведеніи сыворотки 1 : 100 и болѣе, такъ какъ нормальная сыворотка иногда агглютинируетъ при такомъ разведеніи. Иммунизация животныхъ, въ томъ числѣ и кроликовъ, легко удается.

Наряду съ обоими этими видами встрѣчаются виды съ нѣкоторыми отличіями, стоящіе близко къ типу Flexner'a и совмѣство съ нимъ носящіе названіе „псевдодизентерійныхъ бациллъ“, но отличающіеся отъ послѣднихъ характерной культурой на средѣ изъ лакмуса съ примѣсью сахара и агглютинаціей въ иммунь-сывороткахъ, которыя получаютъ при помощи ихъ. Въ испраженіяхъ дизентерійныхъ наряду съ дизентерійными бациллами часто встрѣчаются родственныя имъ также неподвижныя бациллы, изъ числа которыхъ нѣкоторыя створаживаютъ молоко.

11. Кишечная палочка (*Bact. coli*).

Типичные представители этой группы бактерий обладают некоторой активной подвижностью, снабжены 4—12 боковыми жгутиками; образуют крепкую кожистую пленку на поверхности желатины и круглые буроватые колонии в более глубоких слоях ее, желативы не разжижают, на картофели образуют плотный желтовато-серый дерив; вызывают сильное брожение виноградного сахара, образуют индол; хромопротеина не образуют; свертывают молоко; в лакмусовой молочной сыворотке образуют кислоту в большом количестве и довольно долгое время. Встречаются разновидности, не обладающие одним или несколькими из перечисленных свойств; но ни одна из них не разжижает желатины. Обь отличия от палочек тифа (см. стр. 103 и сл.), от дизентерии стр. 124. По Граму не красится. Патогенны для морских свинок при введении в брюшную полость (перитонит, септицемия), для мышей, а иногда для свинок при подкожном вприскивании (нагноение, септицемия). Агглютинация наступает при действии специфической иммун-сыворотки анал. стр. 110; эта сыворотка агглютинирует не все палочки, а только те, что служили для иммунизации животного и, при случайных совпадениях, некоторые другие.

Проба Бикманна стр. 185.

12. Холерные вибрионы (*Vibr. cholerae*).

Культуры получают на обычных питательных средах; более удобны среды со слабощелочной реакцией. Особенно характерен рост на желатин (на пластинчатых разводках колонии в виде „битого стекла“, при посеве уколом разжижают желатину с поверхности в виде прозрачного „пузырька воздуха“); однако, в свежих культурах встречаются и окрашенные в желто-зеленый цвет колонии с

волоконистым краем или один только, или же в перемежку со светлыми колониями. На агаре синеватые просвечивающие колонии. Обильный рост на пептонной воде (см. стр. 21), на картофели растут только при том условии, если сварить его в растворе соды (1%) или в соленой воде (см. стр. 25). Обладают одним концевым жгутиком. Движение у них вихревое, „на подобие роя комаров“. Споры не образуют. Культуры дают нитрозо-индоловую реакцию (см. стр. 48), не фосфоресцируют (см. стр. 49). Удачнее всего красятся растворами фуксина; при окрашке по Граму наступает обезцвечивание. Дифференциальная диагностика между холерными и холероподобными вибрионами часто возможна при помощи пластинчатых разводок на желатин, причем необходимо обращать внимание на нитрозо-индоловую реакцию и фосфоресценцию; с точностью же устанавливается, большей частью, только сывороточной реакцией в форме опыта Pfeiffer'a или агглютинации (см. стр. 110).

Бактериологическая диагностика заболевания холерой у человека (Vgl. Anweis. des Bundesrats zur Bekämpfung der cholera, Berlin, Rich. Schoetz. 1905, 0,60 M. Anl. 7 и Deckblätter 1907, так же Gaffky, Klin. Jahrb. Bd. 16, стр. 323).

Для исследования берут испражнения или же содержимое кишечной петли из средней или нижней части Пейера. Материал помещают в большую стеклянную двойную чашку и для исследования отскабливают „комочки слизи“. Для нахождения этих оседлых в оформленных испражнениях, их разбавляют стерильной водой.

## I. Методы исследования.

1. Микроскопическое исследование а) мажков (если возможно из слизистых комков). Окрашивают разведенными растворами карболового фуксина (1:9 Aq.),



б) въ висячей капль, приготовленной на растворе пептона (см. стр. 21), непосредственно и послѣ  $\frac{1}{2}$  часового пребыванія въ термостатѣ при  $37^\circ$ ; изслѣдовать надо въ живомъ состояніи и окрашенные препараты.

2. Пластинчатая разводка на желатинѣ. Для посѣва берутъ одну каплю матерьяла (по возможности изъ слизистыхъ комковъ); разжиженіе въ 2 серіяхъ пластинокъ (3 пластинки въ каждой серіи) по 3 петли.

Оставляютъ въ термостатѣ при  $t^\circ$  въ  $22^\circ$  на 18 часовъ и изслѣдуютъ при слабомъ увеличеніи; готовятъ препараты-отпечатки, мазки, въ случаѣ надобности и чистыя культуры.

Желатина готовится на мясной водѣ съ 1% пептона,  $\frac{1}{2}\%$  NaCl, 10% желатинны; послѣ нейтрализаціи по лакмусу (см. стр. 14 § 3) къ ней прибавляютъ 3% 10%-аго раствора кристаллизованной воды (агаръ съ кровью см. стр. 24, алкальбуминатъ — желатина см. стр. 135).

3. Пластинчатая разводка на агарѣ. Сьютъ послѣдовательно одну петлю матерьяла на поверхности 3-хъ агаровыхъ пластинокъ или же разводятъ одну петлю матерьяла 5 куб. сант. пептонной воды и одну петлю этого разведенія сьютъ на одну пластинку. Оставляютъ въ термостатѣ на 12—18 часовъ при  $t^\circ$  въ  $37^\circ$  и изслѣдуютъ, какъ это указано въ пунктѣ 2.

Агаръ готовятъ на мясной водѣ съ прибавкой 1% пептона,  $\frac{1}{2}\%$  NaCl и 3% агара. Подщелачиваютъ. До посѣва переворачиваютъ чашечки и оставляютъ ихъ открытыми на  $\frac{1}{2}$  часа въ термостатѣ при  $37^\circ$ .

4. Предварительныя культуры на пептонномъ растворѣ (см. стр. 22).

а) Въ 6 пробирокъ съ 10 куб. сант. среды подогрѣтыхъ въ термостатѣ при  $37^\circ$  сьютъ по одной петлѣ

матерьяла; оставляютъ въ термостатѣ на 6, 12 и 24 часа при  $t^\circ$  въ  $37^\circ$  и изслѣдуютъ подъ микроскопомъ матерьялы, взятый съ поверхности. Не взбалтывать пробирокъ! Съ пробирки, наиболѣе подозрительной на содержаніе холернаго вибриона, дѣлаютъ посѣвы на три пробирки съ пептонной водой по одной петлѣ въ каждую и съ каждой серіи готовятъ пластинчатую разводку на желатинѣ и агарѣ.

б) Въ колбочкѣ (нагрѣтой предварительно, какъ а) съ 50 куб. сант. пептоннаго раствора сьютъ около 1 куб. сант. кала, оставляютъ въ термостатѣ и изслѣдуютъ, какъ это указано въ а.

5. Приготовленіе чистыхъ культуръ. Для этого лучше всего воспользоваться пластинчатыми разводками на агарѣ; также посѣвами уколомъ на желатинѣ и агарѣ.

6. Изслѣдованіе чистыхъ культуръ:  
а) установленіемъ агглютинирующей способности.  
б) по способу Pfeiffer'a см. стр. 133.

## II. Ходъ изслѣдованія.

1. Въ первыхъ появившихся случаяхъ (т. е. когда еще не было констатировано въ данномъ мѣстѣ заболѣванія холерой) пользуются всеми имѣющимися способами, а именно въ слѣдующемъ порядкѣ: а) посѣвы въ шести пробиркахъ на пептонной водѣ, б) приготовленіе микроскопическихъ препаратовъ, в) приготовленіе пластинчатыхъ разводовъ на агарѣ и желатинѣ по 2 серіи, г) изслѣдованіе микроскопическихъ препаратовъ, е) полученіе чистыхъ культуръ, ф) изслѣдованіе ихъ по указаніямъ, изложеннымъ въ I б а и в.

2. Въ послѣдующихъ случаяхъ (т. е. когда холерныя заболѣванія въ данномъ мѣстѣ уже констатированы) поступаютъ, какъ это изложено во II-омъ 1, но готовятъ только 3 пробирки съ пептонной водой и только по одной серіи пластинчатыхъ

разводокъ на агарѣ и желатинѣ; вмѣсто пластинчатыхъ разводокъ на агарѣ дѣлають, въ случаѣ надобности, посѣвы на пробиркахъ съ косо застывшимъ агаромъ. Въ случаѣ необходимости можно совсѣмъ оставить желатиновые пластинки, такъ какъ агаръ ведетъ быстрѣе къ дѣли. При f) достаточно 1 ба въ висячей каплѣ.

3. При подозрѣннн на зараженіе (у эвакуированныхъ) и у выздоравливающихъ: Микроскопическаго изслѣдованія не дѣлають, если только испражненія не похожи на холерныя, посѣвы дѣлають не на пробиркахъ съ пептонной водой, а въ колбѣ (см. стр. 128, I 4b); изъ нихъ чрезъ 6—12 часовъ приготавливають по серіи пластинчатыхъ разводокъ на желатинѣ и агарѣ. Подозрительныя колоніи изслѣдуютъ по правиламъ, изложеннымъ въ I ба.

4. Изслѣдованіе воды. Около литра воды смѣшиваютъ съ 10% концентрированнаго раствора пептонной воды (см. стр. 21); смѣсь эту основательно взбалтываютъ и разливають по колбочкамъ сант. по 100 въ каждую. Оставляютъ въ термостатѣ на 8 и 18 часовъ; взятый съ поверхности матеріалъ изслѣдуютъ въ висячей каплѣ, а также и на окрашенныхъ препаратахъ. Съ колбы, въ которой микроскопическое изслѣдованіе обнаружило наибольшее количество вибрионовъ—дѣлають посѣвы въ пробиркахъ съ пептонной водой, пластинчатыя разводки на желатинѣ и агарѣ; изслѣдуютъ ихъ, какъ это изложено въ II 1. Чистыя культуры изслѣдуютъ по методамъ, указаннымъ въ I—6 а и в.

### III. Оцѣнка результатовъ изслѣдованія.

Къ II 1. Диагнозъ „холера“ можно поставить съ достовѣрностью только при томъ условіи, если всѣ методы даютъ положительный результатъ. Особенное значеніе имѣють I ба и в. Если микроскопическое изслѣдованіе обнаруживаетъ характерное расположеніе

вибрионовъ (на окрашенномъ препаратѣ располагаются стаями, какъ плывущія рыбы) почти въ чистой культурѣ и если колоніи на пластинчатыхъ разводкахъ на желатинѣ типичны, можно предварительно діагностировать холеру; прежде постановки окончательнаго диагноза слѣдуетъ ознакомиться съ результатами всего изслѣдованія. Если агглютинація подозрительныхъ колоній въ висячей каплѣ (ориентирующая, т. е. предварительная проба на агглютинацію) даетъ не абсолютно свободные отъ возраженія результаты, то необходимо поставить опыты съ агглютинаціей по полученію чистой культуры (см. стр. 132).

Къ II 2. Холеру можно діагностировать при положительныхъ результатахъ микроскопическаго изслѣдованія, характерномъ ростѣ пластинчатыхъ разводокъ на желатинѣ и агарѣ и агглютинаціи въ висячей каплѣ.

Къ II 3. Зараженіе холерой можно исключить у эвакуированнаго, если при повторномъ, произведенномъ черезъ день изслѣдованіи испражнений не удастся обнаружить присутствія вибрионовъ. То же и у подозрительныхъ по холерѣ больныхъ; однако, при серьезномъ подозрѣнн на холеру необходимо произвести третье изслѣдованіе. Выздоровливающихъ слѣдуетъ считать неспособными болѣе къ распространенію инфекции, если трижды черезъ день произведенное изслѣдованіе даетъ отрицательные результаты.

Къ II 4. Выдѣленныхъ изъ воды вибрионовъ считаютъ холерными, если они обладаютъ опредѣленной (см. ниже) способностью агглютинироваться и если удается реакція Pfeiffer'a.

### IV. Діагностика протекшихъ случаевъ холеры.

Протекшіе, подозрительные по холерѣ случаи можно діагностировать изслѣдованіемъ кровяной сыворотки. Кровь, по меньшей мѣрѣ 1 куб. сант., добываютъ при помощи кровососной банки (см. стр. 167).

Разводятъ 0,8% м-мъ растворомъ поваренной соли; для изслѣдованія агглютинаціи употребляютъ свѣжую холерную разводку, кромѣ того продѣлываютъ реакцію Pfeiffer'a (см. стр. 133). Последняя и послѣ прекращенія агглютинаціи часто бываетъ еще положительной.

**Проба на агглютинацію** (соответствующую сыворотку можно получить въ Берлинѣ въ институтѣ инфекціонныхъ болѣзней). Общую технику см. также при тифозныхъ бактеріяхъ, стр. 110.

а) Въ всякой каплѣ при слабомъ увеличеніи. Специфическая сыворотка, смѣшанная въ 2-хъ различныхъ концентраціяхъ [т. е. минимальное действительное по отношению Test-культуры и разведеніе въ 5 разъ болѣе крепкое] съ 0,8% м-мъ растворомъ NaCl, должна вызывать тотчасъ-же, а самое позднее послѣ 20-минутнаго дѣйствія при 37°, ясно выраженное скучиваніе вибрионовъ. Для контроля готовятъ всякую каплю съ нормальной сывороткой животнаго того же вида, къ которому принадлежитъ иммунизированное, но въ 10 разъ большей концентраціи; въ последнемъ препаратѣ не должно быть агглютинаціи. Агаровыя культуры молеже 15 часовъ могутъ дать ложную агглютинацію съ растворомъ NaCl вслѣдствіе того, что они трудно поддаются растиранію; отдѣльные виды проявляютъ такую склонность и дольше. Въ такихъ случаяхъ рѣшается вопросъ способъ Pfeiffer'a! Слѣдуетъ имѣть въ виду то обстоятельство, что нѣкоторые виды вибрионовъ трудно равномерно распределить въ каплѣ, почему они могутъ симулировать скучиваніе.

б) Количественное опредѣленіе способности агглютинаціи. Специфическую сыворотку разводятъ совершенно прозрачнымъ (дважды профильтрованнымъ на уплотненномъ фильтрѣ) 0,8% м-мъ растворомъ NaCl въ отношеніи 1:50, 1:100, 1:500, 1:1000, 1:2000. Въ одномъ куб. сант. приготовленныхъ разведеній разводятъ въ пробиркѣ (стр. 110 б а) 1

петлю агаровой культуры—равномерное смѣшеніе среды съ матерьяломъ достигается взбалтываніемъ. Оставляютъ на часъ при 37° и разсматриваютъ въ лупу при разсѣянномъ дневномъ свѣтѣ (см. стр. 111). Только не возбуждающее сомнѣнія скучиваніе слѣдуетъ считать за положительный результатъ; агглютинація должна наступать съ правильной послѣдовательностью приблизительно до предѣловъ титра. При каждомъ изслѣдованіи для контроля готовятъ: 1. нормальную сыворотку животнаго того же вида, къ которому относится иммунизированное, только въ 10 разъ большей концентраціи + культура; 2. 0,8% растворъ NaCl + культура; 3. настоящую холерную культуру одного возраста съ изслѣдуемой + того же разведенія специфическая сыворотка.

**Опытъ Pfeiffer'a.** Соответствующая сыворотка (кролика) имѣется въ Берлинѣ въ институтѣ для инфекціонныхъ болѣзней; она должна имѣть титръ, самое меньшее, въ 0,0002 mg, т. е. 0,0002 сыворотки при впрыскиваніи въ брюшину морской свинки въ смѣси съ 1 петлей (=2 mlgr.) холерной культуры постоянной вирулентности, разведенной въ 1 куб. с. питательнаго бульона, должны въ теченіе часа вызвать превращеніе впрыснутыхъ вибрионовъ въ granula и раствореніе ихъ.—Общую технику см. также при тифозныхъ бактеріяхъ, стр. 106.

Прививаютъ 4 свинокъ А—D въсомъ въ 200,0 каждая. Свинкамъ А—С впрыскиваютъ въ брюшную полость по 1 куб. сант. бульона съ 1-ой петлей изслѣдуемой 18 часовой агаровой культуры, выращенной при 37° (см. стр. 172). Свинка А одновременно получаетъ пятикратную, В—десятикратную дозу титра (0,002) специфической сыворотки, С (контрольная) пятидесятикратную дозу титра (0,01) нормальной сыворотки животнаго того же вида, къ которому принадлежитъ иммунизированное. D получаетъ въ брюшную полость только 1/4 петли изслѣдуемой культуры для испытанія ея вирулентности.

Изъ содержимаго брюшной полости зараженныхъ свинокъ приготавливаютъ препараты въ висячей капль черезъ 20 и 60 минутъ. (О полученіи содержимаго брюшной полости см. стр. 172). У свинокъ А и В, если имѣютъ дѣло съ настоящей холерной культурой, наблюдаютъ распадъ вибрионовъ, самое позднее, по прошествіи 60 минутъ; у С и D встрѣчаютъ въ избыткѣ очень подвижныхъ и хорошо сохранившихся вибрионовъ.

Для діагностики уже протекшихъ случаевъ холеры прибѣгаютъ къ слѣдующему методу; полученную отъ подозрительнаго субъекта сыворотку разводятъ 20, 100 и 500 частями бульона: 1 куб. сант. каждаго разведенія смѣшиваютъ съ одной петлей (2 mg) 18 часовой агаровой вирулентной холерной культуры и приготовленныя смѣси впрыскиваютъ морскимъ свинкамъ (вѣсъ = 200,0) въ брюшную полость—каждая свинка получаетъ по 1 куб. сант. смѣси. Наступленіе бактеріолиза черезъ 20—60 минутъ рѣшаетъ вопросъ положительно. Контрольная свинка такого же вѣса получаетъ въ брюшную полость 1 куб. сант. бульона съ  $\frac{1}{4}$  петли культуры, но безъ сыворотки.

**Кровяной агаръ:** примѣсъ щелочной крови къ агару благоприятствуетъ росту холерныхъ вибрионовъ, задерживаетъ ростъ обыкновенныхъ кишечныхъ бактерий. Дефибрированная бычья кровь, нормальный калийный щелокъ за стерилизуются въ теченіе  $\frac{1}{2}$  часа на парѣ; 30 частей этой смѣси прибавляютъ къ 70 частямъ нейтральнаго питательнаго агара, выливаютъ въ чашечки, слегка просушиваютъ помещеніемъ въ термостатъ и засѣваютъ мазками, но только чрезъ сутки въ виду препятствующаго росту развитія  $\text{NH}_3$ —(Dieudonné, C. B. I. Or. 50. S. 107). Засѣваютъ слѣдующую питательную среду съ тѣмъ же дѣйствіемъ, продолжавъ ее предварительно въ теченіе часа при комнатной температурѣ: растираютъ въ ступкѣ 5 г. гемоглобина Merck-Darmstadt, нагревая, растворяютъ ихъ въ колбѣ въ 15 см. нормальнаго  $\text{NaOH} + 15$  см. Аq.

dest.; стерилизуютъ въ теченіе часа паромъ и 15 см. смѣшиваютъ съ 85 см. нейтральнаго питательнаго агара (Esch, D. m. W. 1910 S. 559).

[Холерные вибрионы даютъ очень характерный ростъ на желатинѣ со щелочнымъ альбуминатомъ (Deuske). Щелочной альбуминатъ можно получить готовымъ отъ E. Merck—Darmstadt (100,0=11 марокъ) или же приготовить его слѣдующимъ образомъ: 1 Кг. мелко изрубленнаго не жирнаго телячьяго мяса оставляютъ на 48 часовъ въ 1200 куб. сант. 3%-аго КОН при 37°, послѣ чего на нѣсколько часовъ при 60—70°. Фильтруютъ, къ фильтрату прибавляютъ HCl, пока не прекратится образованіе осадка. Осадокъ отфильтровываютъ и растворяютъ на текучемъ пару въ такомъ количествѣ раствора соды, чтобы растворъ имѣлъ слабо щелочную реакцію. Растворъ выпариваютъ, остатокъ высушиваютъ при 100°. Къ 2—3 г. этого порошка или покупнаго щелочнаго альбумината прибавляютъ 1 г. пептона, 1 г. NaCl, 10—15 г. желатины и 100 г. прѣстой воды. Нейтрализуютъ HCl, подщелачиваютъ  $\frac{2}{3}$ % кристаллической содой].

### 13. Палочки бубонной чумы (Bact. pestis).

(Ср. Anweisung des Bundesrats zur Bekämpfung der Pest, Rich. Schötz, Berlin 1905, 0,60 M. Anl. 7). Храненіе живыхъ чумныхъ культуръ и производство работъ съ ними (научныя изслѣдованія и опыты на животныхъ) разрѣшаются въ Германіи въ опредѣленныхъ, специально для этого устроенныхъ лабораторіяхъ. Въ практикѣ допускается только изслѣдованіе культуръ для постановки діагноза при подозрительныхъ на чуму заболѣваніяхъ.

При подозрѣніи на чуму матерьяломъ для изслѣдованія служатъ главнымъ образомъ добытые шприцомъ или вытекающіе изъ надрѣза бубона сукровица или гной, кровь, мокрота, выдѣленія изъ зѣва. Палоч-

ка красится обычными растворами. Для окраски полюсов высушенный препарат фиксируют 25 минут в абсолютном спирте (а еще лучше в спирте на препарат и удалить через минуту остаток обжиганием) и красят (лучше всего разведенным водным раствором метиленовой синьки). Растет на агаре, кровяной сыворотке, желатине (слабощелочной реакции; для загрязненного материала больше всего пригодна желатина). В 1 генерации растет медленно (48 часов и больше до образования ясно видимых колоний). Неподвижная маленькая палочка; по Gram'у обезцвечивается, на агаре с 3% м/м содержанием NaCl образует шарообразные и дрожжеподобные формы, в бульоне цѣпочки; не вызывает брожения сахара и не разжижает желатину. Патогенна для крыс, морских свинок и других животных, каким бы путем заражение ни происходило; особенно характерна инфекция при втирании морским свинок содержащего бактерии материала в выбритый участок кожи. Агглютинируется сывороткой иммунизированных животных и выздоравливающих от чумы людей.

#### 14. Палочки столбняка. (*Bac. tetani*).

Подвижны благодаря жгутикам (*peritricha*).

Растут только при отсутствии кислорода. Для получения чистой культуры из гноя, взятого с места заражения у больных столбняком (бациллы находятся в организме исключительно в этом месте), его сѣют на пробирках с бульоном, пропускают через него водород (стр. 42) и оставляют в термостате. Споры образуются через 24, а вѣрнѣе через 48 часов—убѣдиться в этом можно микроскопическим исследованием. При нагревании культуры от  $\frac{3}{4}$ —1 часа на водяной бане до 80°, в живых остаются только споры столбняка (разумѣется, если в культуру нет стойких спор других бактерий).

Изолированные колонии и чистая культура получают на пластинчатых разводках без доступа кислорода. Для выделения палочки столбняка из земли etc. поступают так: исследуемым материалом заражают подкожно мышей или свинок—животные погибают через несколько дней при явлениях тетануса; из взятого с места прививки гноя готовят культуры по вышеописанному способу. Растет и при комнатной t°, желатину разжижает.

Красится обычными анилиновыми красками, также и по Gram'у. Споры (в форме головки) красятся по способам, указанным на стр. 75.

#### 15. *Bacillus botulinus*.

Подвижна, благодаря 4—8 жгутикам; концевые споры. Окрашивается по Gram'у. Обязатно анаэробна, лучше всего растет при 18—25°, разжижает желатину. Уже небольшие дозы бульонной культуры, будучи впрыснуты под кожу животным, вызывают у последних двигательные парезы, мидриаз и т. п. и смерть. Встрѣчаются в разложившихся мясных продуктах; внутри организма не размножаются.

#### 16. Синегнойная палочка. (*Bact. pyocyane*).

Может расти на всех обычных средах. Типичная палочка образует темнозеленый, растворимый в хлороформе, мало-по-малу бурящий пигмент (*Pyocyanein*), отличающийся этим от сходных с ней флуоресцирующих бактерий. Патогенна для кроликов, свинок и мышей. По Gram'у не красится.

#### 17. Гноеродные стафило и стрептококки. (*Staphil. et streptoc. pyogen.*)

Культуры развиваются на обычных средах. Наилучший рост при t° тела. *Staph. aur. et alb.* разжижают желатину, *Strept. et Tetrac.* не разжижают. Все 4 красятся по Gram'у. Стрептококковые цѣпочки вы-

ходить красивѣе всего на жидкихъ средахъ (также въ конденсационной водѣ съ агара).

**Исслѣдованіе крови при септицеміи и піеміи:** Получаютъ кровь при помощи шприца изъ *vena mediana* (см. стр. 167) и тотчасъ же сѣютъ ее въ 6 пробиркахъ разжиженного агара (съ  $t^{\circ}$  около  $42^{\circ}$ ), въ каждую 2-3 куб. сант. крови. Застыиванный агаръ выливаютъ въ чашечки, переворачиваютъ ихъ по застываніи и оставляютъ въ термостатѣ при  $t^{\circ}$  въ  $37^{\circ}$  отъ 1—4 дней. (Необходимо сдѣлать также анаэробныя разводки—въ глубокихъ слояхъ, см. стр. 40 § 2a—такъ какъ существуютъ и анаэробныя патогенныя стрептококки ([*Str. putridus*]).

*Streptoc. pyogenes s. erysipel.* развивается въ видѣ небольшихъ свѣтлыхъ колоній со свѣтлымъ кольцомъ вокругъ (Гемолизъ).

*Streptoc. mitis s. viridis* (рѣдкая находка)—въ видѣ очень маленькихъ зеленоватыхъ колоній; никакого или лишь слабое просвѣтленіе кругомъ. Вызываетъ помутненіе агара съ винограднымъ сахаромъ; обыкновенно не патогененъ для животныхъ.

*Streptoc. mucos.*—въ видѣ очень вѣжныхъ зеленыхъ, ясно выраженной слизистой консистенціи колоній (вообще рѣдкая находка, чаще всего были находимы при пневмоніи); сильно патогененъ для животныхъ.

*Staphyl. pyogen.*—въ видѣ пышныхъ колоній со свѣтлымъ кольцомъ вокругъ.

*Gonococ.*—въ видѣ маленькихъ черноватыхъ колоній.

*Pneumococ.*—то-же самое.

## 18. Пневмококки. (*Diploc. pneum.*)

Чистую культуру легче всего получить слѣдующимъ образомъ: мокроту пневмоника впрыскиваютъ подъ кожу или въ брюшную полость мышамъ или кроликамъ; животные погибаютъ приблизительно черезъ 48 часовъ отъ такъ называемой „мокротной

септицеміи“; взятую у нихъ кровь сѣютъ на агарѣ или сывороткѣ. Подобнымъ же образомъ можно получить культуру пневмококка и изъ содержимаго полости рта многихъ здоровыхъ людей. Наилучшій ростъ при  $t^{\circ}$  тѣла (въ видѣ мелкихъ капель росы), ниже  $20^{\circ}$  не растетъ. Культуры пересѣваютъ каждые 6—8 дней, такъ какъ зачастую онѣ очень скоро погибаютъ. Въ крови—(см. стр. 35) пневмококки сохраняютъ жизнеспособность въ теченіе мѣсяцевъ.

Пневмококки *A. Fränke* красятся и обычными красками, и по *Gram*'у; пневмо-бациллы *Friedländer*'а по *Gram*'у не красятся. Последнія, посѣянные уколомъ на желатинѣ, вырастаютъ при обыкновенной  $t^{\circ}$  въ видѣ гвоздя, на агарѣ въ видѣ слизистой стекляно-бѣлой пленки. Онѣ больше пневмококковъ, имѣютъ форму бациллъ; подобно пневмококкамъ вызываютъ у мышей септицемію при подкожномъ впрыскиваніи. На препаратахъ выдѣленныхъ изъ тѣла пневмококковъ и пневмобациллъ можно получить окрашенные капсулы (окраска капсулъ—стр. 74).

Отличіе пневмококковъ отъ нѣкоторыхъ патогенныхъ стрептококковъ состоитъ въ томъ, что первые имѣютъ форму пламени свѣчи, въ тѣлѣ животного встрѣчаются въ видѣ снабженныхъ капсулами диплококковъ и, наконецъ, въ жидкихъ средахъ образуютъ очень короткія цѣпочки, см. также стр. 138.

## 19. Менингококки.

Хорошо растутъ только при  $t^{\circ}$  выше  $25^{\circ}$ . Для выращиванія ихъ изъ тѣла (гноя изъ полости черепа, спинномозговая жидкость, слизь изъ передней и задней полости носа, см. стр. 169) болѣе всего пригоденъ кровяной агаръ по *Esch*'у (*C. B. I. Or. 52. S. 150: 60 ссм.* питательнаго агара съ 1% пептона *Witte* + 20 ссм. стерильной дефибрированной бараньей крови + 10 г. водяночной жидкости изъ брюшной полости + 1,0 г. мальтозы, растворенной въ 3 ссм. бульона); хороши

также асцитовый агаръ, Loeffler'овская сыворотка (стр. 24), или также агаръ изъ плаценты: мясная вода изъ плаценты 1+2 аq., 1% винограднаго сахара, 0,5% NaCl, по 2% нутрозы и лептона Charcotеаи+3% агару, 3 части этой смѣси смѣшиваютъ съ 1 частью бычачьей сыворотки. (Kutscheг, С. В. Or. 45 S. 286). По Сопгади центрифугируютъ добытую при помощи поясничнаго прокола жидкость, нагрѣваютъ прозрачную жидкую часть центрифугата до 45°, смѣшиваютъ съ 3 частями слабо щелочнаго питательнаго агара той-же температуры, выливаютъ въ чашечки и засѣваютъ осадкомъ центрифугата. Первая разводка нѣжна, послѣдующія пынѣе. Культуры сохраняются при условіяхъ достаточной влажности (резиновый колпачекъ) и t° въ 37°, такъ какъ въ противномъ случаѣ онѣ часто теряютъ свою жизнеспособность. Вначалѣ ежедневно пересѣваютъ, впоследствии каждые 5—7 дней. Въ бульонѣ образуется муть и пленки. Особенно хороша окраска по способу, изложенному на стр. 144 № 2. По Gгам'у не красятся; по виду похожи на гонококковъ, въ видѣ заключенныхъ въ клѣтки диплококковъ.

Слабо патогенны (токсическое дѣйствіе) для животныхъ (мыши и свинки) при впрыскиваніи культуры въ брюшную полость.—Обычно агглютинируются кровяной сывороткой больныхъ эпидемическимъ цереброспинальнымъ менингитомъ (диагностическое значеніе агглютинація имѣетъ при разведеніи сыворотки выше 1:50). При распознаваніи культуръ берутъ для пробы на агглютинацію сыворотку иммунизированныхъ животныхъ.

Встрѣчающийся въ носу и зѣвъ мисос. сагаггн. похожъ на менингококка, подобно ему не красится по Gгам'у, но растетъ на простомъ агарѣ и желатинѣ, не разжижая ея. Для отличія его и другихъ подобныхъ кокковъ отъ менингококка слѣдуетъ продѣлать пробу на агглютинацію.

Кромѣ того можно отличить по росту на средѣ изъ сахара съ примѣсью лакмуса (s. Lingelsheim, Klin. Jahrb. XV, s. 410. Rothe C. B. Or. 46s. 645); кипятятъ въ теченіе двухъ минутъ 10% растворъ сахара въ лакмусовомъ растворѣ O. Kahlbaum'a Berlin SO, къ каждымъ 10 ссм. послѣ охлажденія прибавляютъ 0,5 ссм. нормальнаго раствора соды, 1,5 ссм. этой жидкости прибавляютъ къ 13,5 ссм. смѣси изъ 3 частей 3% питательнаго агара и 1 части асцитовой жидкости. Дѣлаютъ посѣвъ въ чашечкѣ штрихомъ. Колоніи менингококковъ окрашиваются въ красный цвѣтъ лишь при декстрозѣ или мальтозѣ, гонококки лишь при декстрозѣ, другіе же кокки не краснѣютъ совсѣмъ или же краснѣютъ и при леулезѣ.

## 20. Гонококки (Gonos.).

Культуры не растутъ на обычныхъ питательныхъ средахъ, но крайней мѣрѣ, въ 1-ой генерации, а иногда и при пересѣвѣ позднѣйшихъ поколѣній, хотя при этомъ гонококкъ становится менѣе требовательнымъ въ отношеніи среды. Гонококкъ растетъ при 36° (не слѣдуетъ пользоваться болѣе высокой t°) въ видѣ нѣжныхъ, похожихъ на капельки росы колоній на слѣдующихъ средахъ:

1. Свернутая кровяная сыворотка человека по Витт'у. На пуповину, какъ это обычно дѣлается послѣ рожденія ребенка, накладываютъ 2 лигатуры и перерѣзываютъ ее между лигатурами; плацентарный отрѣзокъ дезинфицируютъ и перерѣзываютъ выше лигатуры. При каждой потугѣ и давленіи на матку изъ пуповины вытекаетъ кровь; ее собираютъ въ стерилизованный сосудъ и обрабатываютъ въ дальнѣйшемъ, какъ кровь животныхъ (см. стр. 22). Можно также получить кровь, выжимая ручнымъ способомъ плаценту по ея выходѣ изъ полости матки. Дѣлаютъ дробные посѣвы содержащаго гонококки гноя. Культуры не особенно обильны.

2. Смѣсь кровяной сыворотки чело-  
вѣка съ агаромъ по Wertheim'y. Нагрѣтую  
градусовъ до 40 пробирку, содержащую около 1 куб.  
сант. жидкой кровяной сыворотки чело-  
вѣка (добыва-  
ютъ также какъ и при 1.), засѣваютъ содержащимъ  
гонококки матерьяломъ. Засѣянную такимъ образомъ  
сыворотку разливаютъ въ 2 другихъ нагрѣтыхъ про-  
бирки съ той же средой. Затѣмъ смѣшиваютъ содержи-  
мое каждой пробирки съ 2 куб. сант. разжиженного и  
охлажденного градусовъ до 40 питательнаго агара,  
быстро выливаютъ смѣсь въ чашечку и дѣлаютъ по-  
сѣвъ. Или дѣлаютъ посѣвъ штрихомъ по поверхности  
застывшей среды. Колоніи больше, чѣмъ при 1.

3. Агаръ съ водяночной жидкостью  
изъ полости живота по Kiefer'y. Разжи-  
женный и охлажденный до 50° нейтральный, пригото-  
вленный на мясной водѣ агаръ (3,5% агара, 5% пеп-  
тона, 2% глицерина, 0,5% NaCl) смѣшиваютъ съ рав-  
нымъ количествомъ такой же т° асцитической жидко-  
сти, разливаютъ по чашечкамъ Petri или въ наклонно  
положенныя пробирки и даютъ застыть. На немъ дѣ-  
лаютъ дробные посѣвы. Если водяночная жидкость  
имѣетъ сильно выраженную щелочную реакцію, то ее  
смѣшиваютъ съ растворомъ агара, который подки-  
сленъ съ такимъ расчетомъ, чтобы смѣсь была слег-  
ка щелочной реакціи.

4. Смазанный кровью агаръ по Абе-  
лю. Участокъ кожи пациента или другого лица хоро-  
шенько дезинфицируютъ, обмываютъ стерильной ва-  
той, смоченной въ стерильной водѣ, для удаленія де-  
зинфицирующаго средства и добываютъ небольшое ко-  
личество крови. Этой кровью смазываютъ агаръ и сѣ-  
ютъ на немъ изслѣдуемый матерьялъ. Первый посѣвъ  
не всегда удается; въ виду его простоты этотъ спо-  
собъ можно рекомендовать для перевивокъ.

5. Питательная среда съ содержа-  
ніемъ нутрозы по Wassermann'y. Смѣши-

ваютъ въ колбѣ 15 куб. сант. кровяной сыворотки  
свиньи, 30—40 куб. сант. воды, 2—3 куб. сант. глице-  
рина и 0,8 гр. нутрозы; смѣсь кипятятъ 15 минутъ,  
все время взбалтывая. На слѣдующій день снова ки-  
пятятъ 15 минутъ (взбалтывая!). Заготовленную пред-  
варительно жидкость нагрѣваютъ для употребленія до  
50—60°, смѣшиваютъ съ равнымъ количествомъ той  
же т° 2%-аго пептонаго агара, разливаютъ по ча-  
шечкамъ и дробно засѣваютъ. Эта среда особенно при-  
годна для перевивокъ.

Для опредѣленія, дѣйствительно ли вы-  
росшія колоніи гонококковыя, прибѣгаютъ къ слѣдую-  
щему:

а) Красятъ препаратъ обычными красками и по  
Gram'y (гонококкъ въ противоположность большин-  
ству другихъ кокковъ обезцвѣчивается по Gram'y).

б) Пересѣваютъ на простой агаръ. Если имѣютъ  
дѣло съ гонококками, роста не бываетъ (по крайней  
мѣрѣ въ свѣже выдѣленныхъ культурахъ, см. первый  
отдѣлъ этой главы).

в) Прививаютъ животнымъ (мыши, кролику). Го-  
нококкъ только въ большихъ дозахъ оказываетъ ток-  
сическое дѣйствіе.

г) Разводки на лакмусовой питательной средѣ  
съ примѣсью сахара см. стр. 141.

Различіе отъ менингококковъ см. стр. 141.

Окрашиваніе гонококковъ на препаратахъ изъ  
гноя etc. (встрѣчается въ формѣ бисвитоподобныхъ  
диплококковъ, располагаясь очень часто внутри гной-  
ныхъ клѣтокъ!) производится обычными анилиновыми  
красками или, для достиженія контрастной окраски въ  
отношеніи тканевыхъ элементовъ, пользуются также  
слѣдующими способами:

1. Изложенными (на стр. 67 во II и III) раство-  
рами метиленовой синьки и эозина. Гонококки и клѣ-  
точные ядра окрашиваются въ синій цвѣтъ, осталь-  
ная ткань въ красный.



2. По Loeffler'y (D. m. W. 07 N 5):

1. Фиксируют мазки в абсолютном спирте + эфире аа.

2. Красят, подогревая, жидкостью 1, описанной на стр. 99 под цифрой 2.

3. Промывают водой.

4. Обесцвечивают смесью абсолютного спирта 177+1% водного раствора бромозина В. Höchst'a 20+уксусной кислоты 3.

5. Промывают в воде. Гонококки окрашиваются в темносиний цвет, ядра в бледно-голубой, клетки в бледно-розовый.

3. По Giemsa (см. стр. 153).

4. По A. Neisser'y:

1. Красят, подогревая несколько минут, в насыщенном спиртовом растворе эозина.

2. Удаляют эозин фильтровальной бумагой и тотчас же

3. Наносят на препарат насыщенный спиртовой раствор метиленовой синьки (1/4 минуты!).

4. Промывают в воде.

Гонококки и клеточные ядра синего цвета, тела клеток красного.

5. По Pappenheim'y: Красят минуту раствором, для приготовления которого к 5 куб. сант. дистиллированной воды прибавляют дважды на кончике перочинного ножа порошка метилгрюна и приблизительно вчетверо меньшее количество пиронина (Grübler-Leipzig). (Раствор должен быть сине-фиолетового цвета, слѣдует подыскать наилучшую комбинацию!). Промывают в воде. Гонококки красного цвета, ядра синего.

При бледном гонококками секрет (случай старой гонорреи) готовят мазок на предметном стекле (стр. 56) и красят по Gram'y (гонококк принимает дополнительную окраску — промывают водой препарат только после обесцвечивания его в спирте).

## 21. Лучистый грибок (Actinomyces).

Культуры развиваются на обычных питательных средах, особенно глицериновом агаре. Приготавливают много культур, в том числе и анаэробных, так как некоторые разновидности (виды?) вырастают только в отсутствие кислорода. Первая генерация растет в большинстве случаев медленно, последующие дают пышный рост. Имѣют вид сухих, плотно приставших к среде, „вѣдающихся“ в нее колоний, при дальнейшем развитии превращающихся в порошок известково-бѣлого или желтого цвета. Растет также на желатине при комнатной т°, разжижая ее; разжижает и сыворотку (всегда ли?). (Булавовидные утолщения в культурах не встречаются, но в молодых культурах встречаются кокковидные или палочковидные образования, в старших — длинные нити). Для облегчения посева взяты из гноя дружки предварительно растирают в стерильной агатовой ступке.

Может быть окрашен обычными простыми способами, причем на средах грибок красится не особенно хорошо: контрастные окраски дают лучшие результаты:

a) по Gram'y (см. стр. 68). Срѣзы красят 24 часа.

По Loeffler'y препараты предварительно кладут на несколько минут в 0,01%-ый КОН. Переносить затѣм на 15 минут в иодистый калий. Последовательная окраска эозином или везувином.

b) По Weigert'y (см. стр. 72).

c) по Weigert'y орселью.

1. Красят темнокрасным раствором орсели в 20,0 абсолютного спирта, 5,0 уксусной кислоты и 40,0 дистиллированной воды 1—24 часа.

2. Промывают в воде.

Бактеріологія.

3. Красятъ 1%-ымъ воднымъ растворомъ генціанвіолета.

4. Просвѣтляютъ въ кедровомъ маслѣ. Клѣточные ядра окрашиваются въ сине-фіолетовый цвѣтъ, ткань въ оранжевый, внутренняя часть друзъ лучистаго грибка въ синій, наружная въ рубиново-красный.

NB. Орсель передъ употребленіемъ оставляютъ на нѣсколько времени на воздухѣ для выдѣленія изъ нея амміака.

d) По Israel'ю.

1. Срѣзы красятъ въ теченіе нѣсколькихъ часовъ въ концентрированномъ водномъ растворѣ орсеина, подкисленномъ уксусной кислотой.

2. Промываютъ въ водѣ. Вынимаютъ шпатель, удаляютъ воду пропускной бумагой.

3. Переносятъ на нѣсколько секундъ въ абсолютный алкоголь.

4. Быстро затѣмъ переносятъ на предметное стекло, просушиваютъ пропускной бумагой и оставляютъ на воздухѣ до полного высыхания препарата.

5. Заключаютъ въ канадскій бальзамъ.

Если хотять, чтобы покрасились только грибки, препаратъ оставляютъ въ алкогольѣ дольше. Окрашенный препаратъ представляется въ томъ же видѣ, что и при с.

По Boström'y.

1. Красятъ генціанвіолетомъ на анилиновой водѣ.

2. Не промывая, переносятъ въ пикрокарминъ (по Weigert'y, смотр. стр. 74).

3. Промываютъ въ водѣ.

4. Обесцвѣчиваютъ въ абсолютномъ алкогольѣ, пока срѣзы не примутъ красно-желтой окраски.

5. Просвѣтляютъ въ кедровомъ маслѣ и заключаютъ въ канадскій бальзамъ. Центръ

друзь блѣдно-синяго цвѣта, булабовидныя утолщенія краснаго, ткань желто-краснаго.

## 22. Дрожжевые грибки и грибокъ молочницы.

Культуры развиваются на слабо-кислыхъ содержащихъ сахаръ средахъ; особенно пригодны для этой цѣли стерилизованное пивное сусло или виноградный мустъ+агаръ или же приготовленная на водопроводной водѣ желатина безъ всякихъ примѣсей. Для изолированія колоній примѣняютъ пластинчатый методъ разводокъ (стр. 29) или готовятъ культуру изъ отдѣльныхъ клѣтокъ. Изслѣдуемый матеріалъ сильно разводятъ въ желативѣ, готовятъ висячую каплю и изслѣдуютъ ее при слабомъ увеличеніи; мѣста, гдѣ лежатъ отдѣльныя клѣтки, обозначаютъ точкой на верхней сторонѣ покровнаго стеклышка и изъ выросшихъ на этихъ мѣстахъ колоній берутъ матеріалъ для перевивокъ.

Красятъ обычными анилиновыми красками.

Споры красятъ карболовымъ фуксиномъ, доводя его до кипѣнія, промываютъ затѣмъ 4%-ой сѣрной кислотой и дополнительно окрашиваютъ препаратъ метиленовой синькой.

Окраска ядеръ по Möllegu 1. Препараты кладутъ по крайней мѣрѣ на 2 часа въ 3—4%-ый растворъ сѣрно-кислой окиси желѣза-амміака. 2. Промываютъ водой. 3. Красятъ  $\frac{1}{2}$  часа въ насыщенномъ растворѣ гематоксилина въ колодезной водѣ. 4. Промываютъ водой. 5. Дифференцируютъ въ растворѣ 1 отъ  $\frac{1}{2}$ —2 минутъ, контролируя все время подъ микроскопомъ. 6. Промываютъ водой. Оставляютъ на воздухѣ до полного высыхания и заключаютъ въ канадскій бальзамъ.

Отыскиваніе дрожжевыхъ грибковъ въ тканяхъ тѣла по O. Busse: 1. Красятъ растворомъ гематеина 15 минутъ. 2. Промываютъ водой

5 минутъ. 3. Красятъ карболовымъ фуксинномъ Ziehl'y (стр. 64) 1:20 воды  $\frac{1}{2}$ —24 часа. 4. Дифференцируютъ 60% алкоголемъ, абсолютнымъ алкоголемъ, кедровымъ масломъ и т. д. Ядра ткани принимаютъ сивій цвѣтъ, дрожжевые грибки (только не всё!) блестящій свѣтло-красный.

### 23. Плѣсневые и другіе грибки.

Для культуры плѣсневыхъ грибовъ употребляютъ обычныя для развонокъ бактерій среды и безъ нейтрализаціи, кашка изъ хлѣба (стр. 26) и перечисленные выше (22), употребляемая для развонокъ дрожжевыхъ грибовъ среды. Изъ обычно встрѣчаемыхъ плѣсневыхъ грибовъ *Penicillia* растутъ болышей частью только при комнатной т°, нѣкоторые виды *Aspergillus* и *Mucor*—при т° тѣла; эти послѣдніе патогенны отчасти для кроликовъ при внутривенномъ вприскиваніи.

При микроскопическомъ изслѣдованіи разсматриваютъ сперва, гдѣ это возможно, при слабомъ увеличеніи среду съ разившейся на ней плѣсенью, а затѣмъ уже части грибка между предметнымъ и покровнымъ стеклами, не прибавляя воды. Если выросшую на воздухѣ плѣсень хотятъ изслѣдовать въ жидкости, то для этого берутъ не воду, такъ какъ она плохо смачиваетъ плѣсень, а увлажняютъ ее сначала слѣдующей смѣсью: алкоголя и *Liq. ammon. caust.* aa 25,0; глицерина 15,0; *Aq. dest.* 35,0 (въ случаѣ надобности желатинъ 1,0—послѣднюю предварительно растворить нагрѣваніемъ въ водѣ).

Для лучшаго сохраненія покровное стеклышко смазываютъ по краямъ лакомъ. Препараты можно залить также въ указанную на стр. 58 желатину съ примѣсью глицерина.

Для окраски плѣсневыхъ грибовъ употребляютъ основныя анилиновыя краски, такъ напр. срѣзы красятъ Лёффлеговской синькой (см. стр. 63).

**Опредѣленіе мышьяка при помощи плѣсневыхъ грибовъ:** смѣшиваютъ изслѣдуемое вещество въ колбѣ въ значительныхъ количествахъ съ крошками темнаго хлѣба, въ случаѣ надобности нейтрализуя предварительно. Стерилизуютъ паромъ, засѣваютъ *Penicillium brevicaulis*. Плотно закрываютъ колбу 2 резиновыми колпачками и кускомъ ваты. Если чрезъ 24—48 часовъ послѣ посѣва *Penicillium* при 37° обнаруживается значительный ростъ, напоминающій чеснокъ запахъ содержимаго колбы свидѣтельствуеетъ о наличности мышьяка. (См. Abel-Buttenberg, *Zschr. f. Hyg.* Bd. 32).

**Паразиты кожи** (грибки *Favus'a*, *Trichophyt.*— и т. д.) развиваются на желатинѣ и агарѣ, красятся такъ же, какъ и бактеріи. Для изоляціи грибовъ корки, волосы etc. растираютъ въ стерилизованной ступкѣ съ охлажденной послѣ предварительнаго прокалыванія инфузорной землей; изъ обработаннаго такимъ образомъ матерьяла готовятъ пластинчатыя разводки и для перевивокъ берутъ матерьялъ изъ колбѣн, выросшихъ, какъ это показываетъ микроскопическое изслѣдованіе, изъ одной споры. Въ случаѣ необходимости, прежде чѣмъ сѣять изслѣдуемый матерьялъ, его оставляютъ на 1—24 часа въ 50%-омъ или болѣе крѣпкомъ, вплоть до абсолютнаго, алкогольѣ. При этомъ погибаютъ всё или большая часть бактерій, въ то время какъ грибки въ большинствѣ случаевъ выживаютъ. Очень простыми, дающимъ положительные результаты, является способъ разводки *in situ* по *Plauty*: нѣсколько больныхъ волосъ или чешуекъ кожи [кладутъ на стерилизованное предметное стекло, поверхъ накладываютъ второе, также стерильное, и крѣпко сдавливаютъ находящейся между ними матерьялъ; стекла послѣ этого разнимаютъ и покрываютъ оставшійся на каждомъ матерьялъ стерилизованнымъ покровнымъ стеклышкомъ, прикрѣпляя его по угламъ воскомъ. Воды совершенно не прибавля-

ють! Препараты помещают во влажную камеру (степень влажности должна быть такова, чтобы через 24 часа можно было легко передвинуть приклеенную на предметное стекло этикетку). Грибки хорошо растут; имбующиеся же бактерии, наоборот, либо совсем не размножаются, либо очень слабо. Через несколько дней берут материал с края выросшей колонии и готовят из него пластинчатые разведения на желатин или агар и т. д.

## 24. Амебы.

Удается получить разведения некоторых видов амеб, живущих в воде, земле, а также кишечном тракте. Советуют пробовать следующие среды:

1. Приготовленная на сыве или соломе среда. В литре простой воды кипятят  $\frac{1}{2}$  часа 20—40 г. сыва или соломы. Профильтрованный отвар слегка подщелачивают углекислым натром, еще раз кипятят и снова фильтруют. Для получения плотной среды к фильтрату до нейтрализации прибавляется  $1\frac{1}{2}\%$  агара.

2. Среда с прибавкой *Fucus-crispus*: готовят ее на бульоне или водопроводной воде; прибавляют от 5—15% *fucus-crispus*, варят до растворения водоросли (долго!) и подщелачивают (на 10 куб. сант. среды—1 куб. сант.  $\frac{1}{10}$ -нормального КОН.).

3. Обычно употребляемая для разведения бактерий среда, а также следующая комбинация: 0,5 агара, 90,0 водопроводной воды и 10,0 обыкновенного щелочного питательного бульона.

Получение чистых культур невозможно, так как всегда должны присутствовать бактерии, которыми амебы питаются. Если обрабатывать такие смешанные культуры, в которых нет ни спор бактерий, ни плесневых и дрожжевых грибов и в которых амебы уже успели образовать цисты, в те-

чение около 72 часов 20%-м раствором безводной соды (ср. стр. 16), тогда бактерии погибают; цисты амеб не дают роста на обычных стерильных средах, зато они хорошо развиваются, будучи перенесены на культуры бактерий, могущих служить для них пищей. (Таким образом получение какого-нибудь вида амеб возможно при наличии определенного вида бактерий).

Исследовать лучше всего в свежем виде в естественной жидкости, в случае нужды с прибавлением 0,8%-ого раствора NaCl. Для окраски фиксируют в сулемовом спирте (насыщенный водный раствор сулемы [2 г. на 30 аэ. вскипятить, после охлаждения профильтровать] 2 части + одну часть абсолютного спирта). Погружают в жидкий еще препарат на несколько секунд! Затем промывают в течение 30 минут в 60%-ом спирте + йод до бурой окраски, сохраняют в 70% спирте. Пред окрасиванием промывают водой. Красят пикрокармином (стр. 74 б) в течение  $\frac{1}{2}$ —1 часа без подогревания, промывают в 70%-ом спирте + 0,1% HCl. В случае надобности производят последовательное окрашивание особым водным раствором Lichtgrün'a. Затем абсолютный спирт, кедровое масло.—Кусочки тканей (кишечник, пораженный тропической дизентерией) фиксируют в сулемовом спирте (см. выше) в течение  $\frac{1}{2}$  часа, промывают в йод-спирте (см. выше) в течение 24 час., абсол. алког., ксилитол, заливка в парафин. Срззы окрашивают, как и свежие препараты. Окрашивание по Giemsa см. ниже.

## 25. Плазмодии болотной лихорадки.

О приготовлении мазков из крови ср. стр. 163. При малом количестве паразитов поступают следующим образом: размазывают на покровном стеклышке большую каплю крови, дают ей вы-

сохнутъ на воздухѣ и переносятъ препаратъ на нѣсколько минутъ въ смѣсь равныхъ объемовъ 2%-ого формалина и  $\frac{1}{2}$ —1%-ой уксусной кислоты. При этомъ гемоглобинъ извлекается. Красятъ по одному изъ слѣдующихъ методовъ:

а) Простая окраска по Manson'y:

Въ 100.0 кипящей воды растворяютъ 2.0 methylenbl. med. pur. Höchst и 5.0 буры. Для окраски разводятъ въ пробиркѣ приготовленный растворъ водой, пока онъ не начнетъ становиться прозрачнымъ. Свѣже приготовленные сухіе препараты достаточно красить на холоду около 10—15 секундъ, старые препараты лучше красить до 20 секундъ, не подогревая, слѣдующимъ растворомъ: метиленовой синьки 1.0, кристаллической соды 0.2, воды 100.0. Промываютъ водой. Паразиты окрашиваются въ синій, красныя кровяныя тѣльца въ зеленоватый цвѣтъ.

б) Двойная окраска по способу Loeffler'a: см. стр. 99.

в) Окраска хроматина по Giemsa (видоизмѣненіе способа Romanowsky—Nocht) Ctrbl. f. Bakt. Abt. 1. Or. 37. S. 308.

1. Мазокъ фиксируютъ въ этиловомъ алкоголѣ 15—20 минутъ или 2—3 минуты въ метиловомъ. Удаляютъ алкоголь пропускной бумагой.

2. Красятъ „растворомъ Giemsa для окраски по Романовскому“, который можно получить отъ Dr. Grübler-Leipzig.—Красящій растворъ наливаютъ въ капельницу (ее предварительно промываютъ абсолютнымъ алкоголемъ!), изъ капельницы въ широкую пробирку по 1 каплѣ краски на 1 куб. сант. нагрѣтой до 30—40° совершенно не содержащей кислоты дистил. воды, взбалтывая смѣсь. Непосредственно передъ окраской разведенный растворъ наливаютъ въ чашечку и оставляютъ въ ней препаратъ на по-

кровномъ стеклышкѣ на 10—15 минутъ, растворъ перемѣнить непременно одинъ разъ. (Всѣ сосуды должны быть абсолютно чисты и совершенно не содержать кислоты!).

3. Промываютъ сильной струей воды.

4. Высушиваютъ препаратъ и заключаютъ его въ иммерсионное кедровое масло. Хроматинъ паразитовъ окрашивается въ яркій красный цвѣтъ, протоплазма въ синій. Ядра лейкоцитовъ становятся красными, либо фіолетовыми, протоплазма синей. Красныя кровяныя тѣльца розовыми, либо буро-красными.

д) Способъ быстрого окрашиванія по Giemsa (M. m. W. 1910 S. 2476).

1. Просушенный на воздухѣ мазокъ на предметномъ стеклѣ кладутъ мазкомъ кверху въ сухую чашечку Petri или стеклянную ванночку и наливаютъ поверхъ 10—15 капель жидкости е) 2, смѣшанной съ равнымъ объемомъ чистаго метиловаго алкоголя. Черезъ 30 секундъ

2. наливаютъ въ чашечку столько Aq. dest., чтобы предметное стекло совершенно было покрыто жидкостью (10—15 см.). Наклоненіемъ чашечки въ разныя стороны смѣшать равномерно краску съ водой. Оставить на 3 минуты (можно и дольше).

3. Сливаютъ жидкость. Промываютъ въ текучей водѣ. Просушиваютъ. Кедровое масло.

Окрашиваніе срѣзовъ по Giemsa. (D. m. W. 1910, № 141).

1. Фиксируютъ кусочки органовъ не больше, чѣмъ въ 5 мм. толщиной, въ сулемовомъ алкоголѣ (см. стр. 151) по меньшей мѣрѣ въ теченіе 48 часовъ, перемѣняя жидкость черезъ сутки; вкладывать и т. д. посредствомъ рогового пинцета! Долгое сохраненіе въ этой жидкости не мѣшаетъ окрашиванію.

2. Переносить въ алкоголь возрастающей крѣпости, потомъ въ ксилолъ, заливаютъ въ парафинъ, дѣлаютъ срѣзы и помѣщаютъ послѣдніе на предметныя стекла.

3. Изъ ксилола переносить во все болѣе слабый алкоголь, а потомъ въ воду.

4. Помѣщаютъ на 10 минутъ въ смѣсь изъ 2 г. іодистаго калия, 10 ссм. Aq. dest. и 3 ссм. Луголевскаго раствора іода въ іодъ-калии.

5. Обмывъ въ Aq. destill., помѣщаютъ на 10 минутъ въ 0,5% водный растворъ натріум-тіосульфатъ, на 5 минутъ въ водопроводную воду и на мгновеніе въ дестиллир. воду.

6. Окрашиваніе въ растворѣ Giemsa (при продолжительномъ окрашиваніи брать 1 каплю на 2 ссм. Aq. dest., а не на одинъ ссм.) въ теченіе 2—12 часовъ (черезъ полчаса перемѣнить красящую жидкость).

7. Прополоскать въ Aq. dest. и провести черезъ Aceton 95 + Xylol 5; Aceton 70 + Xylol 30, Aceton 70 + Xylol 30; ксилолъ, кедровое масло.

Окраска, какъ на стр. 153с 4.—Аналогично готовятъ влажные препараты на покровныхъ стеклышкахъ.

## 26. Трипанозомы.

Нѣкоторые виды можно выращивать въ конденс. водѣ смѣси питательнаго агара съ дефибрированной кроличьей кровью <sup>aa</sup>. Обильно засѣвать, держать при 37°.

Ихъ изслѣдуютъ въ крови живыми въ висячей каплѣ + немного 0,8% раствора NaCl или же между покровнымъ и предметнымъ стекломъ (обведеннымъ кругомъ вазелиномъ или воскомъ). Приготовленіе мазковъ изъ крови см. стр. 168. Окрашиваютъ по Giemsa (см. выше с или d—при d 25-минутное окрашиваніе) или по Loeffle'g'u; дѣлаютъ тонкій мазокъ и фиксируютъ въ смѣси равныхъ количествъ абсолютнаго

алкоголя и эфира. На покровное стеклышко пускаютъ 3 капли 0,5% раствора мышьяковистаго натра въ aq. dest. + 1 капля 0,5% воднаго раствора „Malachitgrün krist. chem. rein“ (Höchst'a), нагреваютъ въ теченіе 1 минуты до образованія паровъ. Промываютъ въ сильной струѣ воды. Въ пробирку къ 5 ссм. смѣси чистаго глицерина 0,5 сс аq. dest. 100,0 прибавляютъ 5—10 капель раствора Giemsa-Romanowsky (см. стр. 152 с); нагреваютъ на пламени до кипяченія и горячимъ выливаютъ на покровное стекло. По истеченіи 1—5 минутъ сливаютъ, хорошо промываютъ въ струѣ воды. (Смѣсь глицерина съ растворомъ Giemsa всегда остается годной къ употребленію). Плазма трипанозомъ окрашивается въ синій цвѣтъ, ядра, оболочка и жгутики—въ красный, эритроциты—въ розовый.

Влажные препараты и срѣзы окрашиваютъ по Giemsa, какъ на стр. 153.

## 27. Сифилитическія спирохеты.

Сифилитическія спирохеты отличаются отъ другихъ видовъ своей относительно трудной окрашиваемостью, необычайной тонкостью и своимъ вѣшнимъ видомъ: особенно многочисленныя (10—26) и глубокіе штопоровидныя изгибы, даже и въ состояніи покоя, съ обѣихъ сторонъ сильно заостренные концы. Живыхъ спирохетъ можно видѣть при помощи освѣщенія на темномъ полѣ (стр. 6); въ неокрашенномъ видѣ также, смѣшавъ на покровномъ стеклышкѣ капельку содержащей спирохеты жидкости съ тушью и сдѣлавъ тонкій мазокъ.—Разводки получаютъ въ застывшей лошадиной сывороткѣ анаэробнымъ путемъ, однако, чистыя разводки не всегда удаются (см. Mühlens Klin. Jahrb. 23, S. 339).

Для діагностическихъ цѣлей разводокъ нельзя получить.

Вмѣсто обычныхъ способовъ окраски мазковъ, при которыхъ красящее вещество должно дѣйствовать въ теченіе нѣсколькихъ часовъ (не окрашиваются по Gram'у), применяютъ слѣдующіе способы:

а) по Giemsa (D. m. W. 1905 № 26, 1907 № 17).

1. Фиксируютъ въ алкоголь или осторожно на пламени. При старыхъ препаратахъ фиксація не нужна.

2. Окрашиваютъ, какъ указано на стр. 152 с, около 30—60 мин. безъ нагрѣванія; при № 2 надо до прибавленія красящей жидкости подлить къ водѣ 1—10 капель 1% раствора  $K_2CO_3$ .

3. Наскоро промываютъ въ безкислотной водѣ. Спирохеты окрашиваются въ интенсивный темнокрасный цвѣтъ, фонъ блѣдно-красноватый или безцвѣтный, клѣтки сини, ядра—красны, эритроциты—розовы.

б) Скорая окраска по Giemsa по способу, описанному на стр. 153d (5 минутное окрашиваніе при 2).

с) по Loeffler'у; какъ трипанозомы, см. стр. 154.

Срѣзы окрашиваютъ по Levaditi (Hoffman, D. m. W. 1906 № 22).

1. Кусочки органовъ не толще, чѣмъ въ 2 мм., фиксируютъ въ теченіе 24 час. въ формалинѣ 1+а.к. 9.

2. Въ 96% спиртѣ около 15 часовъ.

3. Въ а.к. dest., пока кусочки не потонутъ. Воду надо нѣсколько разъ мѣнять.

4. Подвѣшиваютъ кусочки на ниткахъ въ свѣжую смѣсь 90 ссм. 1,5% раствора  $AgNO_3$  + 10 ссм. очищеннаго пиридина въ темной бутылочкѣ со стеклянной пробкой (въ этой жидкости оставляютъ и до 6 дней!).

5. Переносятъ (послѣ промыванія въ 10% растворѣ пиридина) въ свѣжую смѣсь: 90 ссм. свѣжеизготовленнаго 4% воднаго раствора пирогаллола + 10 ссм. ацетона; 85 ссм. этой смѣси + 15 ссм. очи-

щеннаго пиридина. Сохраняютъ въ темной бутылкѣ со стеклянной пробкой 15 часовъ (можно до 2 дней). До помѣщенія кусочка въ бутылку очень хорошо предварительно промыть его въ темнотѣ въ чашечкѣ съ указаннымъ растворомъ.

6. Промываютъ въ водѣ, въ алкоголь разведенномъ, потомъ абсолютномъ, въ кеюлѣ, заливаютъ въ парафинъ. Дѣлаютъ срѣзы и изслѣдуютъ безъ дальнейшей окраски. Вслѣдствіе посеребренія спирохеты черны.

### Серодіагностика сифилиса.

(Реакція Wasserman'a, разработанная А. Wasserman'омъ, А. Neisser'омъ и С. Bruck'омъ).

Принципъ: инактивированная нагрѣваніемъ сыворотка сифилитиковъ при соприкосновеніи съ вытяжками изъ сифилитическихъ тканей связываетъ компоненты нормальной сыворотки морской свинки, въ слѣдствіе чего при прибавленіи къ этой смѣси кровяныхъ тѣлецъ и соответствующей послѣднимъ инактивированной гемолитической сыворотки растворенія кровяного пигмента—гемолиза—не наступаетъ.

Поясненіе: нѣкоторыя вещества, обозначаемыя общимъ именемъ антигеновъ, какъ, напр., бактерія, токсины, кровяныя тѣльца, различные виды бѣлка, вызываютъ при впрыскиваніи животнымъ появленіе въ сывороткѣ этихъ послѣднихъ веществъ, которыя носятъ общее названіе антитѣлъ; послѣднія дѣйствуютъ только на вызвавшій ихъ образованіе антигенъ, а не на другіе антигены, и могутъ проявить свое дѣйствіе различнымъ образомъ (какъ антитоксины, гемолизины, агглютинины и т. д.). Такія же антитѣла образуются въ тѣлѣ человѣка или животныхъ подъ вліяніемъ естественныхъ инфекцій, какъ, напр., агглютининъ въ сывороткѣ больныхъ тифомъ людей (см. реакція Widal'я стр. 119).

При нагрѣваніи до 56° нѣкоторыя изъ этихъ антитѣлъ теряютъ свою способность дѣйствовать на антигенъ (инактивируются); но они приобретаютъ ее

вновь при прибавлении свѣжей сыворотки нормальныхъ животныхъ. Въ сывороткѣ кроликовъ, напр., которымъ были сдѣланы вырсыкивания кровяныхъ тѣлецъ барана (=антигенъ), въ качествѣ антигѣнъ образуются гемоллизины, такъ что сыворотка такихъ кроликовъ, даже сильно разбавленная, растворяетъ кровяныя тѣльца барана, освобождая кровяной пигментъ. Если подогрѣвать сыворотку кролика въ теченіе  $\frac{1}{2}$  часа до  $56^{\circ}$ , то она болѣе не растворяетъ кровяныхъ тѣлецъ барана, она становится бездѣятельной. Если же къ смѣси кровяныхъ тѣлецъ барана и нагрѣтой сыворотки кролика прибавить немного свѣжей сыворотки нормального животного, всего лучше морской свинки, то сейчасъ же наступаетъ раствореніе кровяныхъ тѣлецъ.

Инактивированная противутѣла въ сывороткѣ подвергшихся предварительной прививкѣ животныхъ (въ данномъ случаѣ инактивированная сыворотка кроликовъ, которымъ были вырсынуты кровяныя тѣльца барана) носятъ названіе амбоцепторовъ, нормальная сыворотка морской свинки, прибавленіе которой позволяетъ амбоцепторамъ проявить свое дѣйствіе, называется компонентомъ. Смѣсь бараньихъ кровяныхъ тѣлецъ + амбоцепторъ + компонентъ въ данномъ примѣрѣ называютъ гемолитической системой; прибавленіе амбоцептора къ кровянымъ тѣльцамъ барана называютъ сенсibilизованіемъ кровяныхъ тѣлецъ.

Если смѣшать антигенъ съ соответствующимъ инактивированнымъ противутѣломъ (амбоцепторомъ) и прибавить къ смѣси компонента, то всѣ три вещества вступаютъ въ тѣсное соединеніе: компонентъ не остается свободнымъ (способнымъ къ перемѣщенію), а связывается (фиксируется). Стало быть, если соединить, напр., тифозныя бациллы съ инактивированной сывороткой животного, которому предварительно были вырсынуты тифозныя бациллы, а затѣмъ

прибавить свѣжей сыворотки морской свинки въ качествѣ компонента, то черезъ нѣкоторое время компонентъ свяжется; поэтому, если потомъ прибавить къ смѣси еще кровяныхъ тѣлецъ барана + соответствующій амбоцепторъ (т. е. инактивированную сыворотку кролика, которому предварительно была вырсынута баранья кровь), другими словами прибавить сенсibilизированныхъ кровяныхъ тѣлецъ барана, то не наступитъ растворенія кровяныхъ тѣлецъ, такъ какъ необходимый для этого компонентъ уже былъ связанъ смѣсью тифозныхъ бациллоу и инактивированной тифозной сыворотки. Напротивъ, если смѣшать тифозныя бациллы + инактивированную холерную сыворотку (нагрѣтую сыворотку животного, подвергнутаго предварительно дѣйствию холерныхъ вибрионовъ) — компонентъ и чрезъ нѣкоторое время прибавить сюда еще сенсibilизированныхъ кровяныхъ тѣлецъ барана, то наступитъ раствореніе кровяныхъ тѣлецъ, потому что тифозныя бациллы и холерная сыворотка не соответствуютъ другъ другу, не вступаютъ въ связь между собой и поэтому оставляютъ свободнымъ компонентъ, необходимый для растворенія кровяныхъ тѣлецъ.

Отсюда вытекаетъ, что вышеуказанная постановка опыта, при условіи, конечно, точнаго соблюденія определенныхъ количественныхъ отношеній при смѣшиваніи, даетъ возможность опредѣлить, соответствуютъ ли извѣстному антигену неизвѣстная сыворотка въ качествѣ амбоцептора или нѣтъ, и наоборотъ. Если не наступитъ растворенія кровяныхъ тѣлецъ, то антигенъ и сыворотка соответствуютъ другъ другу, въ противномъ случаѣ — нѣтъ. Если смѣшать экстрактъ сифилитического органа (антигенъ) съ инактивированной нагрѣваніемъ сывороткой человѣка, прибавить компонентъ и чрезъ нѣкоторое время сенсibilизированныхъ кровяныхъ тѣлецъ барана, то растворенія кровяныхъ тѣлецъ не наступитъ, если человѣкъ зараженъ сифилисомъ, т. е. имѣетъ въ сыво-



роткъ противутѣла сифилиса; если онъ не зараженъ, то, наоборотъ, наступитъ раствореніе.

Выполненіе: необходимы:

1. Въ качествѣ антигена водная вытяжка изъ сифилитической печени. (Можно получить съ указаніемъ необходимаго количества изъ университетской клиники для кожныхъ болѣзней въ Бреславлѣ, также отъ Merck-Darmstadt). Для практическихъ цѣлей можно вмѣсто нея примѣнять спиртовую вытяжку изъ нормальныхъ органовъ (сердца морской свинки и нормальной печени человѣка), но при сомнительныхъ результатахъ реакціи всегда необходимо произвести повторный опытъ съ водной вытяжкой изъ лугетического органа. Рекомендуется предварительно изслѣдовать каждую сыворотку со многими экстрактами, причемъ она должна со всѣми давать реакцію для того, чтобы могъ быть поставленъ діагнозъ сифилиса.

2. Подлежащая изслѣдованію инактивированная сывороточная жидкость (сыворотка крови, добытая при посредствѣ поясничнаго укола или аспитическая жидкость и т. п.). Потребное количество = 2—3 см. Инактивированіе нагрѣваніемъ до 56° (въ термостатѣ или на водяной банѣ) въ теченіе 1/2 часа должно быть сдѣлано по возможности скоро послѣ полученія жидкости, особенно необходимо отдѣлить сыворотку крови отъ сгустка немедленно послѣ свертыванія и инактивировать ее. Сохраняемая стерильно инактивированная жидкость годится для реакціи въ теченіе долгаго времени.

3. Въ качествѣ компонента свѣжая, не нагрѣтая, свободная отъ кровяныхъ тѣлецъ (центрифугированная) сыворотка нормальной морской свинки (способъ полученія крови см. стр. 166). Сыворотка бываетъ дѣйствительной, большею частью, въ теченіе одного лишь дня, замерзая (въ искусственной охлажденной смѣси) она сохраняется болѣе продолжительное время.

4. Промытые кровяныя тѣльца барана. Центрифугируютъ свѣжую дефибринированную кровь барана, обозначивъ предварительно жирнымъ карандашомъ степень наполненія трубки центрофуги. Послѣ этого отсасываютъ сыворотку и замѣняютъ ее 0,85% растворомъ поваренной соли. Послѣ новаго центрифугирования отсасываютъ растворъ поваренной соли и замѣняютъ его свѣжимъ, и это повторяютъ еще разъ. Наконецъ, наливаютъ солевого раствора до сдѣланной отмѣтки. Для производства опыта 5 частей этой концентрированной смѣси смѣшиваютъ съ 95 частями 0,85% раствора поваренной соли.

5. Гемолитическій амбоцепторъ въ видѣ сыворотки кролика, которому предварительно были сдѣланы впрыскиванія кровяныхъ тѣлецъ барана. Кролику впрыскиваютъ внутривъбрюшинно 30 см. обозначенной подъ 4 смѣси отмытыхъ кровяныхъ тѣлецъ барана въ растворѣ поваренной соли (стр. 172, 3). Взявши кровь изъ ушной вены чрезъ 8—10 дней послѣ, получаютъ уже дѣятельную сыворотку, однако, лучше въ это время еще разъ впрыснуть такую же дозу и взять кровь лишь чрезъ 10 дней послѣ второго впрыскиванія. Сыворотка должна быть совершенно прозрачной (центрифугировать); ее нагрѣваютъ въ теченіе полчаса до 56°. Въ темнотѣ и прохладѣ она сохраняется продолжительное время, но сила ея должна быть испытана предъ каждой постановкой опыта на связываніе комплекментовъ. (Получить можно отъ Merck-Darmstadt).

6. Сыворотка сифилитического больного, дающая ясную Вассермановскую реакцію.

7. Сыворотку здороваго, не дающую реакціи.

Предварительнымъ опытомъ опредѣляютъ сначала титръ гемолитической системы. Различныя количества сыворотки 5) смѣшиваются съ 1 см. смѣси кровяныхъ тѣлецъ (4) и 1 см. сыворотки, разведенной въ отношеніи 1:10 0,85% растворомъ

поваренной соли 3), и помещают в термостат при 37°. В качестве пробной дозы берут двойное или тройное количество сравнительно с тёмным минимумом сыворотки 5), который способен еще вызвать растворение кровяных тельц в течение 2 часов при 37° (так, чтобы в пробирке оказалась лаковая красная жидкость без осадка).

Затем при помощи предварительного опыта с безусловно сифилитической сывороткой устанавливают, сколько слѣдует брать антигена (1).

При опытѣ нужны 6 пробирокъ:

В первую пробирку наливают 1 см. подлежащей изслѣдованію инактивированной жидкости (2) в разведеніи 1 на 5 частей 0,85% солевого раствора. Сюда прибавляют еще потребное согласно предварительному опыту количество антигена (1), также доведенное до объема в 1 см. соевымъ растворомъ.

Во 2-ую пробирку наливают 1 см. сифилитической сыворотки в разведеніи 1:5 0,85% солевого раствора и антигена, какъ в 1-ую пробирку. (Контроль дѣятельности антигена).

В 3-ю пробирку наливают 1 см. безусловно несифилитической сыворотки в разведеніи 1:5 0,85% солевого раствора и антигена, какъ в пробирке 1-й (контроль годности антигена).

В 4-ую пробирку наливают вдвое больше антигена, чѣмъ в 1-ую пробирку и разбавляют до 2 см. соевымъ растворомъ (контроль того, что антигенъ самъ не препятствуетъ растворенію кровяныхъ тельцъ).

В 5-ую пробирку наливают вдвое больше подлежащей изслѣдованію инактивированной жидкости, чѣмъ в 1-ую пробирку, разбавляют до 2 см. соевымъ растворомъ (контроль, что изслѣдуемая жидкость не препятствуетъ растворенію кровяныхъ тельцъ).

В 6-ую пробирку наливают 2 см. употребленнаго 0,85% раствора поваренной соли. (Контроль правильности установки гемолитической системы).

Во все 6 пробирокъ прибавляют затем по 1 см. компонента, разведеннаго 1:10 0,85% солевого раствора, такъ что в каждой пробирке оказывается по 3 см. жидкости. Затем помещают пробирки на 1 часъ в термостатъ при 37°.

По истеченіи этого времени во все 6 пробирокъ подливают двойное или тройное количество опредѣленнаго предварительнымъ опытомъ минимальнаго количества инактивированнаго гемолитическаго амбоцепгора (5) и 1 см. 5% смѣси кровяныхъ тельцъ бараньей крови (4), встряхивают хорошенько и снова помещают в термостатъ. Время отъ времени наблюдают за пробирками. Опытъ законченъ тогда, когда кровяныя тѣльца совершенно растворились в 6-ой пробирке, в которой находится лишь гемолитическая система (и растворъ соли).—Если изслѣдуемая сыворотка взята отъ сифилитика, то в 1 и 2-й пробиркахъ кровяныя тѣльца должны остаться нерастворенными (жидкость безцвѣтна, красный осадокъ на днѣ), во всехъ же остальныхъ они должны быть растворены (жидкость лаково-красная, никакого осадка).

Если больной, сыворотка котораго подвергается изслѣдованію, незадолго до того болѣлъ или боленъ еще и въ моментъ изслѣдованія скарлатиной, маляріей, бугорковой формой проказы, то опытъ недоказателенъ. Вообще, положительная реакція говоритъ за сифилисъ, отрицательная же не исключаетъ его. При слабой реакціи (частичный или поздно наступающій гемолизъ) рекомендуется повторить изслѣдованіе черезъ нѣсколько недѣль. Ослабленіе растворенія по истеченіи этого времени говоритъ за сифилисъ.—Реакція бываетъ положительной при явномъ сифилисѣ приблизительно в 95% случаевъ, въ латентномъ періодѣ в 50%, при параличѣ приблизительно в 100% случаевъ. Специфическое леченіе сифилиса, особенно при свѣжихъ зараженіяхъ, влечетъ за собой исчезновеніе реакціи (т. е. наступленіе растворенія крови в опытѣ).

## 28. Спирохеты возвратнаго тифа.

Исследование живых спирохетъ и окраска, какъ у спирохетъ сифилиса. Изгибы менѣе глубоки. Во время приступа въ крови очень много спирохетъ. Культура невозможна. Зато зубныя спирохеты прорастаютъ анаэробно при 37° въ сывороткѣ лошадей 1 + питательнаго агара 2 при разводкѣ по способу стр. 40 2а; дней черезъ 10 пузыреобразныя колоніи.

## 29. Тѣльца собачьяго бѣшенства.

Обнаруженіе тѣлецъ Negri по Lentz'y (С. В. Ог. 44; стр. 374):

1. Поперечныя срѣзы Аммоніева рога толщиной въ 2—3 мм. фиксируютъ, уплотняютъ и заливаютъ по способу, изложенному на стр. 60b. Срѣзы просушиваютъ на предметномъ стеклѣ (стр. 59), потомъ помещаютъ ихъ на 1 минуту въ абсолютный алкоголь.

2. Красятъ эозинномъ В. Höchst 0,5 60% алкоголя 100,0.

3. Промываютъ водой.

4. Красятъ въ теченіе одной минуты въ метиленовой синькѣ Loeffler'a.

5. Промываютъ въ водѣ и обсушиваютъ фильтровальной бумагой.

6. Дифференцируютъ въ абсолютномъ алкогольѣ 30,0 + 5 капель 1% раствора NaOH тоже въ абсолютномъ алкогольѣ до блѣдно-розовой окраски. (Alkohol absolutissimus).

7. Дифференцируютъ въ абсолютномъ алкогольѣ 30,0 + 1 капля 50% уксусной кислоты до тѣхъ поръ, пока тяжи гангліозныхъ клѣтокъ не примутъ лишь блѣдно-голубую окраску.

8. Наскоро промываютъ въ абсолютномъ алкогольѣ, кеилолѣ и т. д.

Тѣльца Negri тогда кармазиново-красны, тѣльца ввнутри ихъ сини, гангліозныя клѣтки вмѣстѣ съ яд-

рами блѣдно-голубыя, ядерныя тѣльца ихъ темносини эритроциты красны, какъ кинноварь.

Можно также изъ свѣжаго поперечнаго разрѣза Аммоніева рога выдѣлить скапелемъ гангліозныя клѣтки, раздавить ихъ между двумя предметными стеклами, влажные еще мазки фиксировать въ теченіе нѣсколькихъ минутъ въ метиловомъ алкогольѣ, промыть въ абсолютномъ алкогольѣ и окрасить, какъ раньше.

## VII.

## Добываніе изъ тѣла матерьяла для изслѣдованія.

Если добытыя изъ тѣла жидкости, секреты, экскреты и т. д., должны быть подвергнуты бактерио-скопическому изслѣдованію, полученіе и сохраненіе ихъ производится при соблюденіи двухъ необходимыхъ условій: во-первыхъ, онѣ не должны быть загрязнены микроорганизмами внѣшняго міра, во-вторыхъ не должны приходиться въ соприкосновеніе съ дезинфицирующими средствами.

1. **Кровь.** Малыя количества получаютъ изъ ушной мочки, сгибательной поверхности предплечья или же разгибательной пальца (не слѣдуетъ брать съ верхушки пальца потому, что ее трудно дезинфицировать, а еще потому, что неизбежное при взятіи крови пораненіе причиняетъ боль). Моютъ кожу водой и мыломъ (или мыльнымъ спиртомъ), затѣмъ послѣдовательно спиртомъ, эфиромъ и ватой. Необходимо сильно растирать, чтобы вызвать приливъ крови къ дезинфицируемому участку кожи. Даютъ ему просохнуть и дѣлаютъ уколъ стерильной иглой или ланцетомъ. Кровь собираютъ въ стерилизованную пробирку или чашечку, въ которыхъ для лучшаго выдѣленія сыворотки тотчасъ же послѣ свертыванія крови

отдѣляютъ сгустокъ отъ стѣнки при помощи платиновой иглы, или же въ капиллярныя трубочки (6—8 см. длины, 2 мм. въ просвѣтѣ; предварительно обламываютъ запаянные концы, набираютъ кровь и снова заливаютъ трубочку съ обоихъ концовъ сургучемъ или воскомъ). Этотъ послѣдній способъ особенно пригоденъ для полученія крови для Wida'евской реакціи при тифѣ и т. д. Выдѣленіе сыворотки наступаетъ самопроизвольно (на ледникѣ), въ случаѣ надобности кровь центрифугируютъ. Для полученія сыворотки переламываютъ трубочки по сдѣланной напильникомъ чертѣ на границѣ между сывороткой и кровавымъ сгусткомъ. Въ отверстіе содержащей сыворотку части трубочки вводятъ до соприкосновенія съ сывороткой градуированную (100 дѣлений), вмѣстимостью въ 1 куб. сант. пипетку, въ которую и поступаетъ сыворотка. Пипеткой собираютъ сыворотку изъ нѣсколькихъ трубочекъ, выдуваютъ ее затѣмъ въ пробирку и приготавливаютъ то или другое разведеніе. Подробности см. на стр. 120 въ главѣ о тифозной палочкѣ.—Кожную ранку закрываютъ стерильной ваткой и липкимъ пластыремъ!

Большія количества крови добываютъ либо со спины кровососными банками (на очищенный по вышеописанному способу участокъ кожи ставятъ простерилизованную сухую нагрѣтую надъ огнемъ банку; дѣлаютъ надрѣзъ стерильнымъ шпеперомъ и снова ставятъ банку, когда крови наберется достаточно, снимаютъ банку и закрываютъ ее стерилизованной ватной пробкой) или изъ *vena mediana* (кожу очищаютъ по вышеописанному способу, накладываютъ на предплечье Esmarch'овскій бинтъ, чтобы получить венозную застой, причемъ пульсъ на *radialis* долженъ все-же оставаться ясно ощутимымъ, и вводятъ стерилизованный сухимъ путемъ или вываренный шприцъ въ *vena mediana* (удобенъ для этого шприцъ Luer'a); при правильномъ положеніи шприца

кровь поступает в него сама собою). Кровь немедленно (еще жидкую) сьютъ на разжиженномъ, нагрѣтомъ до 42° агарѣ (см. стр. 134, 16). Если кровь не нужно изслѣдовать на бактерии, а пользуются ею для приготовления питательной среды, въ такомъ случаѣ къ агару ее прибавляютъ въ отношеніи 1 къ 3, къ бульону въ подобномъ количествѣ (см. также стр. 196, 102 и 142—4).

О полученіи крови изъ плаценты см. стр. 141 (Гонококки 1).

Въ трупѣ лучше всего брать кровь изъ сердца посредствомъ шприца съ широкой и короткой канюлей: верхнюю поверхность его обжигаютъ прокаленнымъ ножомъ и въ дезинфицированный такимъ образомъ участокъ вкалываютъ шприць.

Чтобы приготовить препараты изъ крови для изслѣдованія подъ микроскопомъ, въ выступившей изъ колотой ранки каплѣ крови смачиваютъ край остуженнаго послѣ предварительной стерилизаціи покровнаго стеклышка; смоченнымъ кровью краемъ проводятъ тотчасъ же однимъ движеніемъ по поверхности нѣсколькихъ чистыхъ покровныхъ или предметныхъ стеколъ. Долженъ получиться равномерный и тонкій слой крови. Высохшіе на воздухѣ препараты фиксируютъ въ абсолютномъ алкогольѣ или въ смѣси равныхъ объемовъ абсолютнаго алкоголя и эфира отъ 1/4—24 час. или также во влажномъ видѣ парами осміевой кислоты (см. стр. 54; по возможности быстро, такъ какъ страдаетъ окрашиваемость; промываютъ потомъ въ блѣдномъ растворѣ марганцево-кислаго калия). (Фиксація въ пламени измѣняетъ форму красныхъ кровяныхъ тѣлецъ).

2. Гной. Получаютъ асептическимъ разрѣзомъ или проколомъ, собираютъ въ стерилизованную посуду (пробирки или чашечки). Малые количества гноя высасываютъ стерильной, оттянутой внизъ въ капилляръ стеклянной трубочкой, снабженной въ верхней своей части ватной пробкой; для перенесенія помѣща-

ють трубочку съ гноемъ въ стерильную пробирку, такъ закрывая ее ватной пробкой, чтобы она удерживала на мѣстѣ верхній край трубочки.

3. Секретъ и налеты изъ зѣва (angina, diphtheria). Матерьялъ для изслѣдованія можно снять съ заболѣвшихъ частей платиновой петлей, зазубренной на концѣ стерильной стеклянной палочкой, стерильнымъ ватнымъ шарикомъ, укрѣпленнымъ на концѣ деревянной палочки или проволоки, кускомъ стерильной, захваченной пинцетомъ губки. Для этой цѣли заготавливаютъ стерилизованныя, заткнутыя ватной пробкой пробирки; внутрь пробирокъ кладутъ стеклянные палочки или куски проволоки съ укрѣпленными на нихъ ватными шариками такъ, чтобы пробка пробирки удерживала ихъ на мѣстѣ, причѣмъ предназначенный для захватыванія рукой конецъ палочки или проволоки остается внѣ пробирки. Если взятый изъ зѣва матерьялъ не можетъ быть тотчасъ же посѣянъ, палочку снова кладутъ въ пробирку и укрѣпляютъ ее ватной пробкой. Если для сятія матерьяла предпочитаютъ губку, въ такомъ случаѣ заготавливаютъ стерилизованные кусочки ея, величиной въ горошину, по 1 кусочку въ стерилизованномъ конвертѣ изъ восковой бумаги, въ случаѣ надобности захватываютъ такой кусочекъ пинцетомъ изъ карманнаго набора, набираютъ имъ изъ зѣва матерьялъ для изслѣдованія и до посѣва оставляютъ его въ конвертѣ. Отдѣляемое носовой полости, пользуясь зеркаломъ, снимаютъ платиновой петлей или захваченнымъ корнцангомъ стерильнымъ ватнымъ шарикомъ. Отдѣляемое носоглоточнаго пространства снимаютъ (черезъ ротъ) ватнымъ шарикомъ, укрѣпленнымъ на концѣ гибкой (мѣдной) проволоки. Проволоку стерилизуютъ и сохраняютъ въ пробиркѣ; передъ употребленіемъ ей придаютъ требуемую форму; набравъ матерьяла, проволоку разгибаютъ и кладутъ обратно въ пробирку.

4. Мокрота. Ее собираютъ по возможности безъ слюны, въ стерильную (по меньшей мѣрѣ совершенно

чистую) посуду, въ которую, въ случаѣ надобности, можетъ быть налита стерильная вода, но только безъ всякихъ дезинфицирующихъ средствъ.

5. **Испражнения.** Собираютъ ихъ въ чистую посуду безъ примѣси дезинфицирующихъ средствъ. Въ случаѣ надобности ихъ добываютъ прямо изъ задняго прохода приспособленнымъ для этой цѣли стерильнымъ инструментомъ. Если хотятъ изслѣдовать комочки слизи (см. стр. 124 и 128), то испражнянія кладутъ въ чашку и разводятъ ихъ стерильной водой.

6. **Моча.** Вытекающей въ началѣ мочеиспусканія мочей не пользуются; въ стерилизованную колбу собираютъ только послѣднія порціи. Можно пользоваться стерилизованнымъ катетеромъ. Въ случаѣ надобности мочу центрифугируютъ.

7. **Экс-и трансудаты.** Кожу дезинфицируютъ и добываютъ жидкость стерилизованнымъ шприцемъ или троакаромъ; для полученія спинномозговой жидкости дѣлаютъ поясничный проколъ. Для изслѣдованія, въ случаѣ надобности, прибѣгаютъ къ центрифугированію.—О приготовленіи изъ полученныхъ такимъ образомъ жидкостей питательныхъ средъ см. стр. 23, 24 и стр. 142, 3.

## VIII.

## Прививка животнымъ и вскрытіе.

## Прививка.

Съ выбраннаго для прививки мѣста предварительно срѣзаютъ волосы и перья. Волосы можно также удалить съ помощью сѣристаго кальція (добывается путемъ насыщенія известковаго молока  $H_2S$ ), который наносится на кожу и чрезъ нѣсколько минутъ стирается ваткой. Кожу можно послѣдовательно очистить мыломъ, спиртомъ, сулемой и въ заключеніе стерильной водой.

1. **Прививка въ кожу:** дѣлаютъ поверхностный кожный надрѣзъ и платиновой петлей наносятъ на рану прививаемый матерьялъ. Или матерьялъ сильно втираютъ въ выбритый заранѣе участокъ кожи.

2. **Прививка подъ кожу;**

а) **Въ кожный карманъ:** захватившую пинцетомъ кожную складку приподнимаютъ, срѣзаютъ стерильными ножницами небольшой кусочекъ ея и кончикомъ стерилизованнаго ланцета или браншей ножницъ выдалбливаютъ въ подкожной клѣтчаткѣ небольшой карманчикъ и переносятъ петлю прививаемаго матеріала.

У крысъ и мышей мѣстомъ прививки выбираютъ предпочтительно спину выше начала хвоста;

животное захватывают длинным корцангом за шею, держа за хвост рукой. Свинкам прививают в области живота или груди, у кроликов заражают внутреннюю поверхность уха, дѣлая надрѣз и слегка отдѣлая кожу; что касается птиц, то здѣсь излюбленным мѣстомъ является область груди.

б) Шприцемъ: для подкожныхъ впрыскиваний употребляютъ шприцы различныхъ системъ: Раваз'а (съ отвинчивающимся асбестовымъ поршнемъ!), Кош'а, Stroschein'a, Loeffler'a (съ резиновымъ поршнемъ, который каждый работающій легко можетъ самъ приготовить) самые лучшіе; до и послѣ употребленія шприцы должны быть простерилизованы въ текучемъ пару или въ смѣси спирта съ эфиромъ. Предварительная дезинфекція мѣста укола излишня. Впрыскиванія дѣлаютъ въ тѣ же мѣста, что и въ предыдущемъ случаѣ. (Кроликамъ подъ кожу живота).

3. Впрыскиваніе въ полость брюшины: надрѣзаютъ кожу живота, послѣ чего медленно проводятъ тупую канюлю сквозь мышцы и вводятъ ее въ брюшную полость.—Содержимое брюшной полости можно добыть, вкалывая капиллярную трубочку (послѣднюю можно приготовить самому вытягиваніемъ стеклянной трубки); въ капиллярную трубочку входитъ немного жидкости, которую оттуда можно удалить, нагрѣвая (рукою) трубочку, верхнее отверстіе которой прикрыто пальцемъ, или же выдувая жидкость съ помощью резинового баллона.

4. Впрыскиванія въ мышцы, въ полость плевры etc. производятся такъ же.

5. Для впрыскиванія въ переднюю камеру глаза прокалываютъ кокаинизированную роговицу вверху, вблизи бѣлковой оболочки (какъ при иридэктоміи) и вносятъ черезъ отверстіе прививаемый матеріалъ. Глазъ оставляютъ нѣкоторое время завязаннымъ. Можно сдѣлать инъекцію и шприцемъ.— Впрыскиваніе въ кокаинизированную

роговицу (напр. вакцины) дѣлаютъ путемъ плоскаго тангенціального прокола, причемъ глазъ фиксируютъ фиксаціоннымъ препаратомъ, захватывая складку соединительной оболочки. Этотъ способъ особенно употребителенъ для зараженія палочками туберкулеза. Заражать можно и при помощи шприца.

6. Впрыскиваніе въ кровеносную систему: обважаютъ любую, легко доступную вену (напр. jugularis externa), вводятъ въ нее тонкую острую канюлю и впрыскиваютъ медленно по направленію къ сердцу. Необходимо осторожность, чтобы не вогнать воздуха. (Смерть отъ воздушной эмболіи!)—При впрыскиваніи кроликамъ выбираютъ обыкновенно ушную вену. Разрѣзаютъ параллельно венѣ кожу наружной поверхности уха и раздвигаютъ края раны такъ, чтобы вена лежала въ разрѣзѣ. Сдавливаютъ ухо у корня, пока вена не нальется, и вкалываютъ въ нее канюлю. Если при впрыскиваніи набухаетъ окружающая ткань, это доказываетъ, что канюля не попала въ вену.

7. Для введенія матерьяла въ желудокъ вставляютъ животному между передними зубами пробурованный кусокъ дерева, черезъ отверстіе проводятъ до самаго желудка эластическій катетеръ, черезъ который и вводятъ тотъ или другой матеріалъ въ желудокъ. Съ болѣе крупными животными поступаютъ иначе: выдалбливаютъ кусокъ картофеля, начинаютъ его предназначеннымъ для зараженія животнаго матерьяломъ и закрываютъ сверху картофелемъ же—приготовленные такимъ образомъ куски всовываютъ животному въ пасть такъ глубоко, что оно ихъ проглатываетъ (вмѣсто картофеля можно брать хлѣбные шарики!).

8. Зараженіе кормленіемъ: если служащій для зараженія животнаго матеріалъ не можетъ быть употребленъ въ пищу самъ по себѣ, его смѣшиваютъ съ пищей животнаго (напр., культуры можно

намазать на хлебъ или намочить въ жидкой культурѣ etc.).

9. Зараженіе черезъ дыхательные пути: заставляютъ животное вдыхать распыленные микроорганизмы въ особыхъ, плотно закрывающихся ингаляционныхъ аппаратахъ. Матерьялъ можно также ввести непосредственно въ трахею, вкалывая въ нее шприцъ между двумя хрящами.

#### Дозировка прививаемого матерьяла.

Для введенія въ организмъ опредѣленныхъ количествъ матерьяла поступаютъ слѣдующимъ образомъ:

1. Требуемая количества жидкости (въ случаѣ надобности матерьялъ предварительно разводять въ опредѣленномъ отношеніи стерильнымъ бульономъ или 0,8%-ымъ растворомъ NaCl) впрыскиваютъ калиброваннымъ шприцемъ.

2. Нежидкій матерьялъ набираютъ платиновой петлей, сидящей на свободномъ концѣ короткой платиновой проволоки, укрѣпленной винтомъ въ рукояткѣ. Вынутую изъ рукоятки проволоку втыкаютъ въ пробку и точно взвѣшиваютъ; на петлю набираютъ матерьяла и снова взвѣшиваютъ. Получающаяся при второмъ взвѣшиваніи разница выражаетъ вѣсъ набраннаго матерьяла. Зараженную петлю переносятъ въ пробирку со стерильной жидкостью, вымываютъ въ ней содержимое петли, тщательно растираютъ для равномернаго распределенія и впрыскиваютъ животному. Жидкости въ пробиркѣ должно быть столько, чтобы опредѣленное, легко отмѣриваемое ея количество (напр., 0,5 куб. сант.) содержало опредѣленное (0,2 mg.) количество матерьяла. Если употребляютъ одинаковой величины петлю, одинъ и тотъ же матерьялъ, и если набирать всегда приблизительно одинаково полную петлю, получаютъ настолько одинаковыя количества матерьяла, что можно его не взвѣшивать. Приготавливаютъ петли такой емкости, что-

бы при совершенномъ наполненіи въ нихъ помещалось около 2 mg. 24-часовой агаровой культуры тифозной палочки или холернаго вибриона—такъ называемыя нормальныя петли; масштабы для приготовления петель одинаковой величины предложены Czaplewski'mъ.

Опредѣленіе числа бактерій въ прививаемомъ матерьялѣ. Набираютъ по вышеописанному способу матерьялъ и приготавливаютъ изъ него эмульсію; одну часть ея впрыскиваютъ животному, изъ другой, равной первой, приготавливаютъ пластинчатая разводки на агарѣ или желативѣ. (Въ случаѣ надобности эмульсію предварительно разводять еще разъ опредѣленнымъ количествомъ стерильнаго бульона и сѣютъ вновь приготовленное разведеніе). Выросшія колоніи считаютъ, какъ это дѣлаютъ при изслѣдованіи воды (см. стр. 181). Такимъ же образомъ опредѣляютъ количество бактерій во всякомъ матерьялѣ.

Обозначеніе и сохраненіе подопытныхъ животныхъ. Мышей и крысъ сажаютъ въ высокія банки (употребляемая для варенья, маринада и т. д.), сверху покрываютъ проволочной сѣткой, на которой лежитъ грузъ, на банки наклеиваютъ этикетки, свинокъ держатъ въ каменныхъ банкахъ съ проволочной крышкой, обозначая на этикеткѣ вѣсъ, полъ и масть (Для обозначенія масти имѣются особыя клише съ оттиснутыми на нихъ животными). Для обозначенія кроликовъ имъ красятъ уши различными анилиновыми красками или, какъ это дѣлаютъ иногда со свинками, вдѣваютъ имъ въ ухо перенумерованные металлическіе кружки. Зараженныхъ животныхъ сажаютъ въ отдѣльныя клетки, по возможности порознь!

Измѣренія температуры зараженныхъ животныхъ производятъ вводимымъ in anum максимальнымъ термометромъ съ маленькимъ ртутнымъ резервуаромъ. Нормальная т° собаки колеблется отъ 37,5 до 39,9° С.



кролика 38,3—39,9°, свинки 37,3—39,5° (въ большинствѣ случаевъ около 38°), голубя 41,0—42,5°, курицы 41,0—42,5°.

Иммунизация животныхъ достигается впрыскиваніемъ возрастающихъ дозъ токсиновъ убитыхъ или живыхъ бактерій въ зависимости отъ вида бактерій и отъ преслѣдуемой цѣли. Начинаютъ обычно съ подкожнаго, внутрибрюшнаго и т. д. впрыскиванія культуръ или токсиновъ въ дозѣ, меньшей минимальной смертельной дозы для даннаго животнаго. Животное оставляютъ подъ наблюдениемъ, точно отмѣчая всѣ происшедшія въ немъ измѣненія, и повторяютъ впрыскиваніе культуръ или токсиновъ въ нѣсколько большей дозѣ только тогда, когда животное, совершенно оправившееся, начнетъ прибавляться въ вѣсѣ или, по меньшей мѣрѣ, не убываетъ. Тѣми же соображеніями руководствуются и при производствѣ послѣдующихъ впрыскиваній.—Для полученія сыворотки для сывороточныхъ реакцій иммунизируютъ животныхъ впрыскиваніемъ убитыхъ часовымъ нагрѣваніемъ до 60—65° тифозныхъ, холерныхъ и т. д. культуръ. Для иммунизации кроликовъ въ большинствѣ случаевъ бываетъ достаточно уже 3—5 внутривенныхъ впрыскиваній: убитую агаровую культуру, повышая дозу съ 1 до 10 петель, впрыскиваютъ каждые 7 дней и не раньше чѣмъ черезъ 7 дней послѣ послѣдняго впрыскиванія берутъ кровь изъ какого-нибудь сосуда на ухѣ, изъ jugularis или carotis; обнажаютъ сосудъ съ соблюденіемъ асептики, сверху и внизу накладываютъ по слабой лигатурѣ и дѣлаютъ между лигатурами продольный разрѣзъ; когда вытечетъ достаточное количество крови (ее собираютъ въ стерильную посуду), лигатуры затягиваютъ. У болѣе крупныхъ животныхъ кожного разрѣза не дѣлаютъ—придавливаютъ къ позвоночнику jugularis и вкалываютъ въ нее троакаръ или шприцъ. О полученіи крови у голубей см. стр. 101. Кровь оставляютъ на ледникѣ 24—

48 час., черезъ нѣкоторое время отдѣляютъ сгустокъ отъ сѣяки при помощи платиновой иглы, послѣ чего стерильной пипеткой собираютъ сыворотку, въ случаѣ надобности центрифугируютъ, чтобы она была свободна отъ кровяныхъ тѣлецъ.

#### Вскрытіе.

Вскрытіе слѣдуетъ дѣлать возможно скоро послѣ смерти. Если его приходится отложить, трупъ держать въ холодномъ мѣстѣ въ предупреденіе разложенія.

Животнаго до вскрытія по возможности не трогаютъ руками, при вскрытіи ни въ коемъ случаѣ до него не дотрагиваются; всѣ операціи производятся инструментами (исключеніе составляютъ крупныя животныя). Необходимые для вскрытія инструменты должны быть приготовлены заранее. Животное укладываютъ животомъ вверхъ, конечности при этомъ оттягиваютъ въ стороны отъ туловища. Лапы, крылья etc. прикрѣпляютъ иголками, булавками, гвоздями къ доскѣ, на которой дѣлается вскрытіе, или же привязываютъ къ ввинченнымъ въ нее крючкамъ. Кожу груди и живота обильно смачиваютъ растворомъ сулемы, чтобы шерсть не разлеталась при разрѣзываніи кожи, или растворомъ крезоловаго мыла, запахъ котораго отгоняетъ мухъ, или чтобы уничтожить насѣкомыхъ, если они имѣются; можно также обрить намыленную кожу или опалить на ней волосъ еще до смачиванія. У птицъ выщипываютъ перья на груди и животѣ и смачиваютъ затѣмъ кожу. Стерилизованными (см. стр. 9 и 10, 1, 2, 3) инструментами разрѣзываютъ кожу по средней линіи отъ шеи до лобка, отпрепаровываютъ ее съ обѣихъ сторонъ до внутренней поверхности конечностей и оттягиваютъ. Чтобы освободить отъ попавшаго на нихъ волоса открытыя теперь мышцы, ихъ обжигаютъ. Свѣже простерилизованными инструментами приподнимаютъ мышцы подъ мечевиднымъ отросткомъ въ височную складку и разрѣзываютъ ихъ обращеннымъ остри-

емъ вверхъ ножомъ по средней линіи или, еще лучше, ведя разръзъ въ правую сторону; отдѣливъ предварительно отъ реберныхъ дугъ, мышцы также оттягиваютъ въ обѣ стороны и прикрѣпляютъ булавками надъ отвороченными кожными лоскутами. Лѣвый мышечный лоскутъ дѣлаютъ больше праваго съ той цѣлью, чтобы помѣстить на немъ, предохранивъ такимъ образомъ отъ загрязненій со стороны кожи, позднѣе извлекаемую селезенку, являющуюся столь важнымъ органомъ при большинствѣ инфекціонныхъ заболѣваній. вмѣсто того, чтобы разрѣзать мышцы живота у крысъ и мышей, ихъ прямо разрываютъ двумя пинцетами. Осмотрѣвъ органы брюшной полости и сдѣлавъ изъ нихъ нужные посѣвы, открываютъ грудную: перерѣзавъ съ обѣихъ сторонъ ребра у мѣста ихъ соединенія съ грудиной—начинаютъ съ нижнихъ реберъ—, оттягиваютъ вверхъ мечевидный отростокъ, а вмѣстѣ съ нимъ, по отдѣленіи діафрагмы, и всю грудину съ остатками реберъ, такъ что органы грудной полости обнажаются.

При возникновеніи подозрѣнія, что инструменты были въ соприкосновеніи съ чѣмъ-нибудь нежелательнымъ, ихъ тщательно обжигаютъ или же перемѣняютъ. Бывшіе въ употребленіи инструменты никогда не слѣдуетъ выпускать изъ рукъ, прежде чѣмъ они не будутъ обожжены!

Острымъ стерильнымъ инструментомъ надрѣзываютъ органы, изъ которыхъ хотятъ приготовить культуру (ср. также стр. 53, § 2); черезъ надрѣзъ вводятъ въ органъ платиновую петлю и тотчасъ же съютъ приставшія къ ней частички органа. Если есть основаніе думать, что поверхность органа загрязнена, ее предварительно обжигаютъ прокаленнымъ ножомъ и уже затѣмъ поступаютъ по вышеописанному способу. Если хотятъ посѣять большія количества, то кусочки отрѣзаютъ стерильными ножницами и берутъ матеріалъ еще горячей платиновой петлей, къ которой

кусочки слегка пристають. Твердые узелки (напр., въ пораженныхъ туберкулезомъ органахъ) вырѣзываютъ стерильными ножницами, раздавливаютъ между 2 стерильными (стр. 9) предметными стеклами и часть обрѣзавшихся кусочковъ переносятъ на покровныя стеклышки, часть съютъ на средахъ.

Если посѣвы дѣлаютъ не сейчасъ, вырѣзаютъ стерильными инструментами кусочки органовъ и кладутъ ихъ въ стерильныя двойныя чашечки (каждый органъ въ отдѣльную!).

Органы (кишечникъ), всегда содержащіе бактерии, могутъ быть открыты только наослѣдокъ, послѣ того какъ уже озаботились приготовленіемъ посѣвовъ изъ другихъ органовъ.

При вскрытіи слѣдуетъ всегда обращать вниманіе на состояніе мѣста прививки.

Для приготовленія микроскопическихъ препаратовъ отрываютъ пинцетомъ кусочки ткани, растираютъ ихъ на покровномъ стеклышкѣ и красятъ (см. стр. 53 и сл.).

О сохраненіи кусковъ ткани для изслѣдованія срѣзовъ см. стр. 57 и сл.

По окончаніи изслѣдованія сжигаютъ трупъ въ печкѣ (топка котла) или завертываютъ въ пергаментную бумагу и закапываютъ, или же опускаютъ въ сосудъ съ  $H_2SO_4$ , гдѣ онъ растворяется. Можно также проварить его въ пару, въ зависимости отъ вида содержащихся въ немъ бактерий, отъ 1 до 4 часовъ и передать затѣмъ для снятія кожи; доску, на которой дѣлали вскрытіе, промываютъ 1—2% сулемой + 3%  $HCl$ ; иглы etc. обжигаютъ.

## IX.

## Бактеріологическое изслѣдованіе воды, воздуха и почвы.

### Изслѣдованіе воды.

Полученіе пробъ воды. Изъ колодезь съ насосомъ собираютъ воду въ стерилизованную пробирку (края ихъ обжигаютъ) въ началѣ и послѣ болѣе или менѣе продолжительнаго накачиванія. Изъ открытыхъ колодезь, ключей, источниковъ etc. набираютъ воду въ стерилизованную пробирку, гдѣ это можно, прямо рукой, въ противномъ случаѣ опускаютъ пробирку на веревкѣ или пользуются для этого особыми аппаратами, специально предназначенными для набранія воды въ глубокихъ слояхъ (напр., колбы Esmarch'a—гдѣ плотно закрытое обтянутой резиной свинцовой пробкой горлышко колбы можетъ быть открыто на различной глубинѣ—, или же пробирки Sclavo: верхній конецъ обыкновенной пробирки оттягиваютъ въ тонкую трубочку, сгибаютъ его и запаиваютъ; видоизмѣненную такимъ образомъ пробирку опускаютъ на желаемую глубину и спускаемымъ по веревкѣ грузомъ отбиваютъ загнутый конецъ, послѣ чего пробирка наполняется водой).

Сохраненіе пробъ до изслѣдованія: если воду нельзя изслѣдовать тотчасъ же, то лучше всего взятая проба оставлять на льду.

Обработка пробъ для изслѣдованія: если хотятъ научиться распознаванію только видовъ встрѣчающихся въ водѣ бактерій, то берутъ любое количество (отъ одной капли до одного куб. сантиметра—въ зависимости отъ предполагаемаго въ ней содержанія микроорганизмовъ) подлежащей изслѣдованію, непосредственно передъ тѣмъ взболтанной воды, сѣютъ ее на разжиженной желатинѣ, хорошенько смѣшиваютъ и выливаютъ желатину въ чашечку.

Для опредѣленія числа содержащихся въ водѣ колоній поступаютъ слѣдующимъ образомъ: въ стерилизованную чашечку Petri стерилизованной же пителкой переносятъ отъ 0.05 куб. сант. до 1 куб. сант. воды. (Изъ каждой пробы воды дѣлаютъ всегда, по меньшей мѣрѣ, 2 посѣва двухъ различныхъ количествъ!). При очень богатой микроорганизами водѣ (изъ колодезь, рѣкъ, болотъ etc.) ее, прежде чѣмъ сѣять, разводятъ стерильной водой въ 10—100 разъ (прибавляютъ 9—99 куб. сант. стерильной воды) и уже разведенной сѣютъ отъ 0.1 до 1.0 куб. сант. (что составляетъ 0.1—0.01 изслѣдуемой воды). Въ чашечку съ водой выливаютъ изъ пробирки—края ея обжигаютъ—около 10 куб. сант. стерильной, разжиженной нагрѣваніемъ до 30—40° желатины, тщательно смѣшиваютъ желатину съ водой, слегка приподнимая съ одного края чашечку или вращая ее, оставляютъ на горизонтальной подставкѣ до застыванія и переносятъ на 48 часовъ въ термостатъ съ t° въ 20—22°. (Составъ оффициально рекомендуемой желатины для изслѣдованія воды см. стр. 18 Nr. 2). Затѣмъ слѣдуетъ подсчетъ колоній: чашечку ставятъ на черную стеклянную пластинку съ вытравленными дѣленіями въ 1 и  $\frac{1}{10}$  квадр. сант. (пластинка аппарата Wölffhügel's): при небольшомъ числѣ колоній сосчитываютъ, смотря

въ лупу, общее количество развившихся за 48 часовъ на желатинѣ и на основаніи этого количества опредѣляютъ цифру содержащихся въ 1 куб. сант. изслѣдуемой воды колоній. При густо заросшихъ чашечкахъ сосчитываютъ колоніи, по меньшей мѣрѣ, въ 10 квадратахъ (или, если и въ квадратахъ ихъ очень много, въ 20  $\frac{1}{4}$  квадрата). Изъ полученныхъ цифръ выводять среднее для 1 или  $\frac{1}{4}$  квадрата; по среднему, помножая его на число квадратовъ или девятихъ квадрата, содержащихся въ поверхности чашечки (поверхность чашечки =  $\pi r^2$ , гдѣ  $r$  выражено въ сантиметрахъ), вычисляютъ количество колоній въ посѣянной водѣ и, если для посѣва бралось меньше 1 куб. сант., по этой послѣдней цифрѣ опредѣляютъ общее количество колоній въ 1 куб. сант. воды. вмѣсто квадратовъ можно считать секторы. При этомъ пользуются черными стеклянными пластинками съ выгравированными на нихъ секторами или чашечку ставятъ на пропускную бумагу, очерчиваютъ ее карандашемъ и дѣлятъ начерченный кругъ на нѣсколько одинаковыхъ секторовъ; сосчитываютъ колоніи на нѣкоторыхъ изъ нихъ и на основаніи полученныхъ результатовъ вычисляютъ общее количество колоній въ чашечкѣ и въ 1 куб. сант. воды. Результаты при этомъ получаютъ нѣсколько болѣе точные, чѣмъ при подсчетѣ квадратовъ, такъ какъ дво чашечекъ всегда выпукло. При очень густомъ ростѣ счетъ производять подъ микроскопомъ. Находящимся въ объективѣ микрометромъ опредѣляютъ величину поля зрѣнія для данной системы линзъ при опредѣленной длинѣ трубы микроскопа. Затѣмъ подсчитываютъ колоніи, самое меньшее, въ 10 поляхъ зрѣнія, выводять среднее и множатъ его множителемъ, показывающимъ отношеніе площади чашечки къ площади поля зрѣнія. Такимъ образомъ опредѣляютъ количество развившихся въ чашечкѣ, т. е. находящихся въ посѣянной водѣ колоній, а отсюда и количество ихъ въ 1 куб. сант. воды.

Если различные посѣвы одной и той же пробѣ даютъ разныя цифры, за дѣйствительную принимаютъ самую высокую.

При недостаткѣ для посѣвовъ чашечекъ опредѣленныхъ количества изслѣдуемой воды сѣютъ въ пробиркахъ съ разжиженной желатиной, готовятъ культуры по способу вращенія пробирокъ (см. стр. 31), оставляютъ ихъ въ термостатѣ при той же  $t^\circ$ , что и чашечки, и подсчитываютъ черезъ 48 час. при помощи особаго аппарата для счисления развившихся колоній.

Если воду съ желатиной смѣшиваютъ въ пробиркѣ, выливая затѣмъ смѣсь въ чашечку, въ такомъ случаѣ ставятъ въ термостатъ кромѣ чашечки еще и пробирку съ остаткомъ смѣси и сосчитываютъ развившіяся въ ней колоніи.

Доставляя свидѣнія о количествѣ содержащихся въ данной водѣ микроорганизмовъ, слѣдуетъ всегда отмѣчать, черезъ сколько времени производится подсчетъ (нѣкоторые микроорганизмы развиваются на желатинѣ только черезъ 3, 4 и больше дней), при какой  $t^\circ$  полученъ ростъ, какова реакція (количество щелочи сверхъ точки нейтрализаціи по лакмусу), а въ случаѣ надобности также, какъ составъ желатины. Для сравнительныхъ изслѣдованій приготавливаютъ желатину, какъ это указано на стр. 18, 2, посѣвъ оставляютъ въ термостатѣ съ  $t^\circ$  въ 20—22° на 48 часовъ.

Для изслѣдованія воды рекомендуютъ слѣдующую, приготовленную Hesse и Niedner'омъ, Zschr. f. Hyg. Bd. 29, среду, состоящую изъ 100 ч. простой воды, 1,25—2 агара и 0,5—1 среды Feuden'a (см. стр. 87 а). Нейтрализаціи не требуется. Пластинчатая разводка на этой средѣ, которая въ противоположность обыкновенной желатинѣ всегда равномерной консистенціи, вслѣдствіе отсутствія разжиженія могутъ входить подъ наблюденіемъ болѣе долгое время, чѣмъ

разводки на желатинѣ. Фекальныя бактеріи плохо растутъ на этой средѣ!

Для дальнѣйшаго изслѣдованія выросшихъ микроорганизмовъ готовятъ чистыя культуры всѣхъ различныхъ по вышнему виду или же нѣкоторыхъ, особенно интересныхъ колоній.

Объ изслѣдованіи воды на палочки тифа и холерныя вибрионы см. стр. 123 и стр. 130 Нг. 4.

Изслѣдованіе воды на присутствіе *Bact. coli*, что служитъ признакомъ загрязненія воды каломъ, производится посредствомъ пробы Eijkman's (С. В. Or. J. 37 S. 742), которая основана на томъ, что *Bact. coli* въ отличіе отъ большинства другихъ водныхъ бактерий размножается еще при 46° С. 100, 50 или еще меньше ссм. воды смѣшиваютъ въ большой бродильной колбѣ (по образцу упомянутой на стр. 45) съ 6—8 разъ меньшимъ по объему количествомъ пептоннаго раствора съ примѣсью винограднаго сахара и оставляютъ при 46° С. Появленіе мѣти и образованіе газа указываетъ на присутствіе *Bact. coli*, что слѣдуетъ, впрочемъ, еще проверить дальнѣйшими опытами. При отрицательныхъ результатахъ оставляютъ 50 ссм. воды съ 50 ссм. бульона на 24 часа при 37°, а потомъ ставятъ бродильную колбу съ 1 ссм. этой жидкости + 10-кратный объемъ разведеннаго пептоннаго раствора съ примѣсью сахара въ термостатъ при 46°.

#### Изслѣдованіе воздуха.

1. Для приблизительнаго опредѣленія встрѣчающихся видовъ оставляютъ на воздухѣ на болѣе или менѣе долгое время чашечки съ желатиной или агаромъ или приготовленный по 1-му способу (см. стр. 25) картофель.—См. Ficker, Arch. f. Hyg. 69 S. 48.

2. Способъ Petri—Ficker'a (Zschr. f. Hyg. Bd. 22 стр. 33) даетъ возможность задержать всѣхъ микробовъ изъ большихъ количествъ воздуха; въ сте-

кланную трубку тѣхъ же размѣровъ, что въ предыдущемъ случаѣ, помѣщаютъ 2 небольшихъ фильтра изъ осколковъ стекла, величиной въ 0,25 до 0,5 mm, отдѣляя ихъ одинъ отъ другого металлической сѣточкой съ мелкими отверстиями; такой же сѣточкой закрываютъ одно изъ отверстій трубки—все предварительно стерилизуютъ. Снабженный счетчикомъ насосъ или резиновый баллонъ соединяютъ съ открытымъ концомъ трубки и пропускаютъ черезъ нее опредѣленное количество воздуха. По окончаніи этой операціи стекло и сѣточку сьютъ на чашечкахъ съ желатиной или агаромъ. Если фильтры хорошо спрессованы, всѣ микроорганизмы задерживаются уже на первомъ фильтрѣ. Въмѣсто стекла фильтры могутъ быть приготовлены изъ порошкообразнаго сахара, который растворяется при посѣвахъ на желатину (сахаръ трудно переноситъ стерилизацію!).

3. Употребительно также медленное пропусканіе воздуха черезъ 3 пробирки; пробирки заткнуты резиновыми пробками съ проходящими сквозь нихъ стеклянными трубочками (какъ Вульфовой стклянки) и соединены другъ съ другомъ. Налитая въ пробирки стерильная вода, 2 куб. сант. въ каждой, поглощаетъ микроорганизмовъ проходящаго воздуха. По окончаніи изслѣдованія опредѣленное количество такой воды сьютъ на чашечкахъ съ желатиной,—см. стр. 181.

Осѣвшую изъ воздуха пыль собираютъ стерильной смоченной бульономъ губкой, выжимаютъ ее въ разжиженныхъ желатинѣ или агарѣ и готовятъ пластинчатая разводки. При производствѣ изслѣдованія на палочки туберкулеза губку выжимаютъ въ бульонѣ, который затѣмъ впрыскиваютъ мореккой свинкѣ въ брюшную полость.

#### Изслѣдованіе почвы.

Набираютъ опредѣленной емкости платиновой ложечкой подлежащей изслѣдованію почвы и сьютъ

ее въ чашечкахъ, или пробиркахъ (въ послѣднихъ среда распределена по способу вращения). Въ почвѣ обыкновенно бываетъ много анаэробовъ, для роста которыхъ приходится прибѣгать къ специальнымъ способамъ разводокъ. Или определенное количество почвы сильно взбалтываютъ со стерильнымъ растворомъ поваренной соли, послѣ чего определенное количество этого раствора сѣютъ на желатинѣ etc. (Результаты не вполне точны въ количественномъ отношеніи, такъ какъ даже при сильномъ взбалтываніи не удается вымыть изъ почвы всѣхъ зародышей).

Для изслѣдованія глубже лежащихъ слоевъ почвы или выкапываютъ яму и сѣютъ взятую съ ея стѣнокъ землю, или пользуются буромъ Frankel'я, погружая его вращательными движеніями въ землю въ извѣстномъ направленіи; когда буръ достигъ требуемой глубины, его поворачиваютъ въ сколько разъ въ противоположную сторону; находящаяся въ концѣ бура камера при этомъ раскрывается и наполняется землей, послѣ чего буръ вынимаютъ, вращая его въ томъ же направленіи, что и при погруженіи въ землю. Добытую такимъ образомъ землю сѣютъ по вышеописанному способу.

Для изслѣдованія взятыхъ пробъ почвы на присутствіе въ ней патогенныхъ микроорганизмовъ (палочки столбняка; злокачественнаго отека, сибирской язвы) впрыскиваютъ подъ кожу лабораторнымъ животнымъ небольшое количество матерьяла per se или разведеннаго въ 0,8%-мъ растворѣ NaCl.

X.

## Методы сохраненія препаратовъ, культуръ и органовъ животныхъ.

### А Препараты.

Всякую каплю можно сохранять въ теченіе долгаго времени, но при этомъ можетъ послѣдовать разложеніе, а затѣмъ и распадъ микроорганизмовъ. Если хотять задержать развитіе на извѣстной стадіи, то снимаютъ стеклышко, прибавляютъ къ самой каплѣ или помѣщаютъ на одномъ изъ угловъ стеклышка капельку формалина или слѣды 2% осмиевой кислоты и кладутъ стеклышко на прежнее мѣсто.

О сохраненіи окрашенныхъ препаратовъ см. стр. 56 и 61.

Неокрашенные плѣсневые и дрожжевые грибки лучше всего сохранять въ смѣси глицерина съ желатиной (7 ч. глицерина, 6 воды, 1 желатины и 1,0 1%-ой карболовой кислоты—нагрѣтую смѣсь фильтруютъ). Заливаютъ лакомъ.

### В. Культуры.

О перевивкѣ культуръ и сохраненіи живыхъ бактерий см. стр. 35.

Если хотятъ сохранить для демонстраціи культуры въ опредѣленной, характерной для нихъ стадіи развитія (напр., посѣвы холерныхъ вибрионовъ уколкомъ на желатинѣ съ типическими „пузырьками воздуха“ на верхней поверхности желатинѣ), въ такомъ случаѣ ихъ убиваютъ на данной стадіи парами формальдегида.

Для сохраненія выросшихъ въ пробиркахъ культуръ наносятъ на нижній конецъ ватной пробки нѣсколько капель формалина, закрываютъ ею пробирку, надѣваютъ сверху резиновый колпачекъ и оставляютъ пробирку, по меньшей мѣрѣ, на 24 часа. (Если приготовленная на желатинѣ культура разжидила ее, пробирку оставляютъ до тѣхъ поръ, пока среда отъ дѣйствія формалина не сдѣлается снова твердой!). Затѣмъ можно поступить различнымъ образомъ, а именно:

1. Пробирку, какъ она есть, можно долго сохранять при условіи плотнаго прилеганія резинового колпачка. Въ противномъ случаѣ культура мало-помалу высыхаетъ.

2. Снимаютъ резиновый колпачекъ, вдвигаютъ ватную пробку нѣсколько глубже въ пробирку, наливаютъ сверху толстый слой разжиженного парафина и даютъ ему остыть. Парафинъ подливаютъ при образованіи въ немъ трещинъ.

3. Снимаютъ резиновый колпачекъ, накладываютъ на отверстіе пробирки плотно его закрывающее круглое покровное стеклышко; густо смазываютъ отверстіе пробирки и стеклышко смѣсью глицерина съ желатиной (см. стр. 157 А) (вмѣсто карболовой кислоты можно прибавить 1% сулемы!), даютъ высохнуть и сверху покрываютъ лакомъ.

4. На газовой горѣлкѣ нагреваютъ легко плавящійся металлическій сплавъ (металлъ Rose) и накапываютъ его на стеклянную пластинку слоемъ въ  $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$  мм. Образовавшуюся такимъ образомъ метал-

лическую пластинку накладываютъ на отверстіе пробирки, снявъ предварительно резиновый колпачекъ. Выстоящія края пластинки плотно придавливаютъ къ стѣнкамъ пробирки, медленно нагреваютъ верхнюю часть ея въ пламени горѣлки, вследствие чего загнутыя части пластинки герметически пристають къ пробиркѣ.

5. Удаляютъ резиновый колпачекъ и ватную пробку и запаиваютъ пробирку нѣсколько ниже отверстія. Необходима осторожность—при нагреваніи пробирки можетъ пострадать среда!

NB. Содержащія конденсаціонную воду пробирки сохраняютъ всегда въ вертикальномъ положеніи; можно также осторожно слить воду или отсосать стеклянной капиллярной трубкой передъ прибавленіемъ формалина.

Культуры въ чашечкахъ можно сохранять слѣдующимъ образомъ:

1. На крышку наносятъ капли двѣ формалина и оставляютъ на 24 часа. (Если это можно, чашечку переворачиваютъ, чтобы формалинъ не стекъ на среду; въ противномъ случаѣ на крышкѣ, съ внутренней стороны, укрѣпляютъ воскомъ кусочекъ пропускной бумаги, которую и смачиваютъ формалиномъ). Затѣмъ формалинъ удаляютъ (если онъ уже самъ не испарился), а края чашки покрываютъ широкимъ резиновымъ бинтомъ.

2. Приготавливаютъ культуру въ чашечкѣ съ притертой крышкой, обхватывающей снаружи, подвергаютъ культуру дѣйствию формалина, какъ въ предыдущемъ случаѣ, и въ заключеніе заливаютъ парафиномъ или пластилиномъ мѣсто соприкосновенія обѣихъ половинъ.

3. Приготавливаютъ культуру въ плоской колбѣ, имѣющей форму сплюсненной пробирки etc. (имѣются въ продажѣ) и поступаютъ какъ съ посѣянной въ пробиркѣ культурой (ср. выше).

Куски пластинчатыхъ развонокъ на агаръ или желатинъ можно сохранять слѣдующимъ образомъ:

1. Подвергаютъ пластинку дѣйствию формальдегида вышеуказаннымъ способомъ. Осторожно вырѣзаютъ и отдѣляютъ подлежащія сохраненію части, переносятъ ихъ на предметное стекло (въ случаѣ надобности высушиваютъ надъ сѣрной кислотой, пока останется только тонкій слой); приливаютъ глицерина, покрываютъ стеклышкомъ, края обмазываютъ асфальтовымъ лакомъ. Внешній видъ колоній страдаетъ. Способъ этотъ вполне пригоденъ только для развонокъ на агарѣ.

2. Приготавливаютъ пластинчатую разводку на покровномъ стеклышкѣ; когда она разовьется, высушиваютъ въ эксикаторѣ надъ сѣрной кислотой; красятъ какъ обыкновенный сухой препаратъ, высушиваютъ и сохраняютъ въ канадскомъ бальзамѣ. (Приготовленный такимъ образомъ препаратъ годится для изученія расположенія бактерій въ колоніяхъ, — а не для изученія самихъ колоній).

С. Органы животныхъ для демонстрацій.

1. Органы помѣщаютъ до совершеннаго обезцвѣченія въ слѣдующій растворъ: простой воды 4000, формалина 800, kal. acet. 85 и kal. nitr. 45.

2. Сливаютъ первый растворъ и наливаютъ 80%нымъ алкоголемъ до возстановленія естественной окраски.

3. Сохраняютъ долгое время въ слѣдующемъ растворе: дистил. воды 900, глицерина 300, kal. acet. 200.

## АЛФАВИТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ.

- А.**
- Аббеевскій освѣтительный аппаратъ 5.
- Агаръ-агаръ питательн. 16.
- преимущества его 32.
- недостатки его 32.
- глицериновый 19.
- съ прибавкой крови 134, 142.
- Loeffler'овскій зеленый при тифѣ 118.
- Агглютинація 110.
- при дизентеріи 125.
- менингококковъ 140.
- при саль 94.
- при тифѣ 110.
- при холерѣ 132.
- Aktinomyces 145.
- Амебы 150.
- Амбоценторъ 158.
- Анаэробы, разводка 39.
- питательныя среды для нихъ 39.
- Антигенъ 158.
- Антитѣла 158.
- Антиформинъ 93.
- Анилиновые краски кислоты 63.
- основныя 62.
- Assmann'a окраска 68.
- В.**
- Bacillus botulinus 137.
- Бактеріи, изслѣдованіе на броженіе 44.
- — неокрашенныхъ препарат. 1.
- — на окрашенныхъ 55.
- — на образование индола по Kitasato - Salkowsky 48.
- — по Ehrlich'у 48.
- — на образъ свѣта 49.
- — на образ. хромопротенна 49.
- — на образ. сѣроводор. 47.
- — на образ. токсиповъ 51.
- — на образ. щелочей и кислотъ 46.
- — на сопротивляемость при высушиваніи 49.
- — — при нагрѣваніи 49.
- — — въ отношеніи химич. дезинфицирующ. веществъ 51.
- — патогенности 51.
- — редуцирующей способности 47.
- контрастная окраска 67.
- — по Pick-Jacobson'у 67.
- красящія вещества для ихъ окраски 62.
- окраска двойная метиленовой синькой и возиномъ 67.
- — по Gram'у мазка 68.
- — — сѣровъ 69.



— по May-Grünwald'y 68.  
 Бактериолизъ въ тѣлѣ жи-  
 вотныхъ 106.  
 Бациллы туберкулезныя,  
 методы окрашиванія 85.  
 — нахождение ихъ въ  
 мокротѣ 87.  
 — — — микроскопиче-  
 скимъ изслѣд.  
 мазка 87.  
 — — — опытами на жи-  
 вотныхъ 90.  
 — — — по способу уве-  
 личенія числа  
 бактерій 87.  
 — — — способъ осажденія 89.  
 — Biédert-Mühlhäuser-  
 Czaplowsky 89.  
 — — по Loeffler'y 90.  
 — — по Ellerman'y 90.  
 — — по Sachs-Mücke 89.  
 — — по van-Ketel'ю 90.  
 Blüchner'a аппаратъ для  
 разводокъ 43.  
 Боткина аппаратъ для  
 разводокъ 43.  
 Бульонъ питательный,  
 приготовленіе его 14.  
 Bunge окраска жгути-  
 ковъ 78.  
 Burri способъ разводки  
 изъ одной клѣтки  
 съ растворомъ  
 туши 36.  
**B. W.**  
 Wassermann'a реакція 157.  
 Weigert'a окраска 72.  
 Widal'я сывороточная ре-  
 акція 119.  
 — — — добываніе сыво-  
 ротки для нея 167.  
 Вибріоны холерные 127.  
 — — — изслѣдованіе во-  
 ды на нихъ 130.  
 Вода, бактериолог. изслѣ-

дованіе ея 180.  
 — изслѣдов. ея на ти-  
 фозныя бациллы 123.  
 — — — ва холерныя 130.  
 Вращеніе пробирокъ 31.  
 Вскрытіе животныхъ 177.  
 Выживание матеріала съ  
 колоній 33.

### Г. Г. Н.

Гемолизъ 157.  
 Гемолитическ. система 158.  
 Henke-Zeller, способъ быст-  
 раго уплотненія и  
 заключенія 60.  
 Hesse питательн. среда 87.  
 Giemsa окраска 152.  
 Глицеринъ-желатина, для  
 консервированія пре-  
 паратовъ 157.  
 — — — для наклеиванія 58.  
 Глицеринъ, какъ прибав-  
 ка къ питательнымъ  
 средамъ 19.  
 Гной, добываніе его для  
 изслѣдованія 168.  
 Говококочки 141.  
 — — — окрашиваніе по Giem-  
 sa 153.  
 — — — по Loeffler'y 144.  
 — — — по Neisser'y 144.  
 — — — по Papenheim'y 144.  
 Gramm'a окраска 68.  
 Грибки дрожжевыя 147.  
 — — — плѣсневые 148.  
 — — — опредѣленіе мышья-  
 ка при ихъ помощи 149.  
 Грибокъ лучистый 145.  
 — — — окрашиваніе его по  
 Boström'y 146.  
 — — — по Gram'y 145.  
 — — — по Israel'ю 146.  
 — — — орселью 145.  
 — — — по Weigert'y 145, 72.  
 Grüber'a сывороточная ре-  
 акція 110.

Cühnter'a обезцвѣчиваніе  
 при окраскѣ по Gram'y 70.  
 Hydrocele, какъ питатель-  
 ная среда 24.

### Д.

Дезинфекціонныя веще-  
 ства 51.  
 — — — испытаніе дѣйствія  
 ихъ на бактерій 51.  
 Дезинфекція мѣста при-  
 вивки при опытахъ на  
 животныхъ 171.  
 — — — пробирокъ 13.  
 — — — рукъ 13.  
 — — — труповъ живот-  
 ныхъ 177.  
 Deyske желатина со щелоч.  
 альбуминатомъ 135.  
 Дизентерійн. бациллы 124.  
 Дифтерійныя бациллы 96.  
 Дифтерія, діагност. ея 96.  
 Dieudonné щелочной агаръ  
 съ кровью 134.  
 Дозировка прививаемаго  
 матеріала 174.

### Ж.

Желатина питательная 15.  
 — — — для изслѣдованія  
 воды 18.  
 — — — для холеры 128.  
 — — — недостатки ея 32.  
 — — — по Forster'y 15.  
 — — — преимущества  
 ея 32.  
 Желатиновые пластин-  
 ки 29.

### И.

Измѣренія температуры за-  
 раженныхъ живот-  
 ныхъ 175.  
 Изслѣдованіе бактериологи-  
 ческое воды 180.

— — — на Bact. coli 184.  
 — — — воздуха 184.  
 — — — испражнений 170.  
 — — — испражнений на  
 тифоз. пал. 115.  
 — — — мокроты на tbc по  
 Liesse 87.  
 — — — почвы 184.

Иммерсія 1.  
 Иммунизация животн. 176.  
 Иммуносыворотка, добыча-  
 ніе ея см. бацилл. диф-  
 теріи, тифа, холерныхъ  
 вибрионовъ.  
 Инактивированіе сыворот-  
 ки 158.  
 Индолъ, образованіе его 48.  
 Индолъ, изслѣдованіе обра-  
 зованія его по Morelli 48.  
 Инфекція искусств. живот-  
 ныхъ 170.  
 Инфлюэнцы бациллы 101.  
 Johne окрашив. капсуль 74.

### К.

Какаовое масло для зали-  
 ванія 60.  
 Капля висячая, изслѣдова-  
 ніе ея 2.  
 Карболов. раств. красокъ 64.  
 Картофель, какъ питатель-  
 ная среда 25.  
 Кислоты, изслѣдованіе на  
 образован. ихъ 46.  
 Claudius'a окраска 72.  
 Koch-Weeck'a бациллы 102.  
 Coegner-Fischer'a окраска  
 жгутиковъ 79.  
 Колонія, пересѣвъ 34.  
 Комплементъ 158.  
 Конденсаціонная вода 17.  
 Конденсоръ зеркальный 6.  
 — — — параболоидный 6.  
 Коффеиновая питательная  
 среда 117.  
 Красящіе растворы, приго-

- товление простых 63.  
 — приготовл. усилен. 63.  
 Кровь, добывание ея для  
 изготовления пита-  
 тельной среды 22.  
 — — для изслѣдов. 166.  
 Кровяная сыворотка съ  
 агарь-агаромъ 24.  
 — — съ прибавкой буль-  
 она 24.  
 Культуры анаэробовъ 39.  
 — изъ отдѣльныхъ клѣ-  
 токъ 36.  
 — пересѣваніе ихъ 34.  
 — сохраненіе ихъ 187.  
 — чистыя, пригот. ихъ 38.  
 Kühne карбол. метиленовая  
 синька 65.  
 — окраска карбол. мети-  
 леновой синькой 65.  
 Czaplewsky глицериновый  
 фуксинъ 64.

**Л. Л.**

- Лакмусовая питательная  
 среда 115, 125, 141.  
 — сыворотка 46.  
 Loeffler'a зеленая питатель-  
 ная среда 118.  
 — окраска жгутиковъ 77.  
 — окрашивание палочекъ  
 сапа 94.  
 — растворъ метиленовой  
 синьки 63.  
 Lübarsch'a способъ быст-  
 раго уплотнен. тканей 60.

**М.**

- Мазки 53.  
 — заключеніе въ балъ-  
 замъ 56.  
 — окрашивание 55.  
 — приготовленіе на пред-  
 метныхъ стеклахъ 56.  
 — простое окрашив. ихъ 65  
 — фиксація ихъ 54.

- Малярія, паразиты при  
 ней 151.  
 Маннитъ въ питательн.  
 средѣ 125.  
 Manson'a окраска 152.  
 Материаль для изслѣдова-  
 нія, добывание его 166.  
 May-Grünwald'a окраска 68.  
 Менингококки 139.  
 Метиленовая синька, раст-  
 воръ по Loeffler'y 63.  
 — — карболовая по Küh-  
 ne 65.  
 Методъ вытѣсненія кисло-  
 рода водородомъ 42.  
 — поглощенія кислоро-  
 да 41.  
 — — способъ Lentz'a 42.  
 Micrococcus catarrhalis 140.  
 Микроскопъ 1.  
 — чистка его 6.  
 Мокрота 169.  
 — собираеніе ея 169.  
 Молоко, какъ питательная  
 среда 27.  
 Моча, добываніе ея для  
 изслѣдованія 170.  
 Мясная вода, какъ пита-  
 тельная среда 14.  
**Н. N.**  
 Negri тѣльца 164.  
 Neisser'a окраска 144.  
 Нейтрализація, см. Агарь,  
 Бульонъ, Желатина etc.  
 Nicolle'a карболовый тио-  
 нинъ 65.  
 — окрашивание капсулъ 74  
 — окрашивание метиле-  
 новой синькой съ тан-  
 ниномъ 66.  
 — окрашивание танни-  
 номъ 66.  
 — окрашивание тио-  
 ниномъ 67.  
 Нитрозо-индолъ реакція 48.

- Nocht'a окраска 152.  
 Нормальная петля 175.  
 Нутроза, питательная сре-  
 да изъ нея 115, 142.

**О.**

- Окрашивание жгутиковъ 76.  
 — — по Ermengem'y 80.  
 — — по Loeffler'y 76.  
 — — по Pepler'y 79.  
 — — по Zettnow'y 81.  
 — изолирован. бактерій 67  
 — капсулъ 74.  
 — контрастное бактер. 67.  
 — по Weigert'y пикро-  
 карминомъ 74.  
 — — способъ фибрина 72.  
 — — срѣзовъ 72.  
 — по Claudius'y 72.  
 — по Friedländer'y пик-  
 рокарминомъ 73.  
 — по Giemsa 152.  
 — по Gram'y 68.  
 — — измѣненіе его 70.  
 — по Gram-Gühnter'y 70.  
 — по Gram-Nicoll'e'y 70.  
 — по Pregl'ю 66.  
 — по Loeffler'y 65.  
 — по Nicoll'e'y танни-  
 номъ 66.  
 — — тиониномъ 67.  
 — по Pfeiffer'y 66.  
 — препаратовъ на по-  
 кровномъ стеклѣ 56.  
 — споръ 75.  
 — срѣзовъ 65.  
 — туберкулезныхъ ба-  
 циллъ 85.  
 Органы животныхъ для де-  
 монстрацій, сохраненіе  
 ихъ 190.  
 Орсеинъ, окрашив. имъ 146.  
 Орсель 145.  
 Освѣщеніе темнаго поля 6.  
 Осміева к., фиксація ея 54.

**П. Р.**

- Палочка бубонной чумы 135.  
 — дизентеріи 124.  
 — дифтеріи 96.  
 — ивфлюэнцы 101.  
 — кишечная 126.  
 — проказы 93.  
 — сапа 94.  
 — сибирской язвы 82.  
 — сивегнойная 137.  
 — смегмы 92.  
 — столбняка 136.  
 — тифозная, выдѣленіе  
 ея изъ воды 123.  
 — — дифференціальная  
 діагностика между  
 ней и тифоподоб-  
 ными 103.  
 — — изслѣдованіе не-  
 пражненій на нее 115  
 — — — крови на нее 114.  
 — — розеоль на нее 114.  
 Pappenheim'a окраска 144.  
 Паразиты кожи 149.  
 Paratyphus bacillus 105.  
 Парафинъ, заключеніе 58.  
 Penicillium brevicaulis 149.  
 Pepler'a окраска жгути-  
 ковъ 79.  
 Петровая вода 21.  
 — какъ питательная сре-  
 да 21.  
 Петровъ 14.  
 Petri чашечки 30.  
 Pfeiffer'a опытъ 133  
 — окрашив. фуксинъ 64.  
 — сыворот. реакція 110.  
 Pick-lacobsohn'a окраска 67.  
 Пикрокарминъ пригото-  
 вленіе раствора 73.  
 Пирогалловая кислота 41.  
 Питательный растворъ безъ  
 бѣлка Ушинскаго-Френ-  
 келя 27.  
 Питательныя среды 13.  
 — сохраненіе ихъ 27.

Плѣмя, изслѣдованіе крови при ней 138.  
 Плазмодіи болотной лихорадки 151.  
 — — — окрашиваніе по Giemsa 152, 153.  
 Пластинч. разводки 29.  
 Пневмококки 138.  
 Подосыныя тѣльца 98.  
 Посѣвъ уколомъ 34.  
 Pregel'я окраска 66.  
 Препараты-отпечатки, приготовленіе ихъ 33.  
 — сохраненіе ихъ 187.  
 Прививки животнымъ 171.

### Р. Р.

Разводки анаэробовъ 39.  
 — безъ прегражденія доступа воздуху 39.  
 — въ висячей каплѣ 38.  
 — въ высокому слою питательной среды 40.  
 — пластинчатая, замѣна ихъ дробными 35.  
 — — изслѣдованіе ихъ 33  
 — — на агарѣ 31.  
 — — на желативѣ 29.  
 — техника ихъ 29.  
 Разливка средъ 20.  
 Растворы красящіе, водно-спиртовые 63.  
 — — водные 63.  
 Reichert'a зеркальный конденсоръ 6.  
 Ribbert'a окрашиваніе капсуль 74.  
 Розеолы, изслѣдованіе ихъ 114.  
 Romanowsky окраска 152.  
 Rothberger'a нейтральный красный агаръ 104.

### С. С.

Сахаръ, прибавка его къ питательнымъ средамъ 14.  
 Sclavo пробирки 180.

Секреты, добываніе ихъ для изслѣдованія 169.  
 Сенсibiliзироваііе кровяныхъ тѣлецъ 158.  
 Серодиагностика сифилиса 157.  
 — тифа 106.  
 Спирохеты возврат. тифа 164  
 — сифилитическія 155.  
 Споры, изслѣдов. на образованіе ихъ 50.  
 — окрашиваніе ихъ 75.  
 Среды питательныя изъ кровяной сыворотки 22.  
 — питательныя, разлива ка ихъ 19.  
 — стерилизація 21.  
 Срѣзы 57.  
 — дифференцированіе ихъ 61.  
 — заключеніе въ целлоидинъ 58.  
 — — въ парафинъ 58.  
 — замораживаніе въ ависовомъ маслѣ 59.  
 — наклеиван. смѣсью глицерина съ желатиной 58.  
 — окрашиваніе ихъ 60.  
 — по способу Nicolle'я 66.  
 — просвѣтленіе ихъ 61.  
 — простое окраш. ихъ 65.  
 — — по Loeffler'у 65.  
 — — по Pfeiffer'у 66.  
 — — генціана-виолетомъ 66.  
 — — по Pregel'у 66.  
 — — тѣниномъ 67.  
 Стафилококки гноерод. 137.  
 Staphylococcus pyogenes 137.  
 Стеклышки покровныя, чистка ихъ 7.  
 Стерилизаторъ Шимельбуша 11.  
 Стерилизація дробная 11.  
 — нагрѣтымъ паромъ 10.

— на огнѣ 9.  
 — средѣ 19.  
 — сухимъ жаромъ 10.  
 Стрептобациллы мягкаго шанкра 95.  
 Стрептококки гноерод. ные 138.  
 Streptococcus mucosus 138.  
 — pyogenes 138.  
 — viridis 138.  
 Strauss'a діагностицированіе сапа 94.  
 Сыворотка, инактивированіе 158.  
 Сывороточная реакція для дизентер. бациллъ 125.  
 — для менингококковъ 140  
 — для холерныхъ вибрионовъ 132.  
 — добываніе сыворотки животнаго для нея 167.  
 — добываніе сыворотки человека для нея 167.  
 — при сифилисѣ 157.  
 — при тифозн. бацилл. по Gruber'у 110.  
 — — по Widal'ю 119.

### Т. Т.

Тѣнинъ карболовый по Nicolle'ю 65.  
 Тифозная палочка 103.  
 Tochtermann'a агаръ съ сывороткой 97.  
 Трансудаты, добываніе ихъ для изслѣдованія 170.  
 Trichophyton'a грибки 173.  
 Трипанозомы 154.  
 Тѣльца собачьяго бѣшенства 164.  
 Typhusdiagnosticum (Ficker'a) 122.

### У. У.

Ulcus molle, бациллы его 94.  
 Ультрамикроскопъ 6.

Unna, двойная окраска палочекъ сапа 95.  
 — окрашиваніе стрептобациллъ мягкаго шанкра 94.  
 Ушинскаго питательный растворъ 27.

### Ф. Ф.

Favus'a грибокъ 149.  
 Фенолфталеинъ, какъ индикаторъ 19.  
 Фибринъ, окраска его по Weigert'у 72.  
 Ficker'a Typhusdiagnosticum 122.  
 Фиксація мазковъ 54.  
 Фильтрація 11.  
 — обезпечивающая 11.  
 — питательныхъ средъ 14  
 Friedländera Pneumobacil. 139.  
 Fucus crispus въ питательной средѣ 150.  
 Фуксиновая питательная среда 117.  
 Фуксинъ карболовый по Ziel-Neelsen'у 64.  
 — карболово-глицериновый по Czaplewsky 64.

### Х.

Хлѣбъ, какъ питательная среда 26.  
 Холера, діагнозъ 131.  
 Холерные вибрионы 127.  
 Хроматинъ, окрашиваніе его 152.  
 Хромопротенновая реакція 49.

### Я.

Яйца, какъ питательная среда 24.

Книгоиздательство „Сотрудникъ“  
ПЕТЕРБУРГЪ—КІЕВЪ.

Отдѣлъ изданій по медицинѣ и  
естествознанію.

- СЕРІИ:* 1. Руководства для врачей и студентовъ.  
2. Портативная медицинская библиотека „Сотрудника“.  
3. Учебники для средне-медицинскихъ школъ.  
4. Руководства по естествознанію.

(КЪ ЯНВ. 1912 Г.).

ПОДРОБНЫЕ ИЛЛЮСТРИРОВАННЫЕ КАТАЛОГИ ИЗДАНИЙ „СОТРУДНИКА“ И ПИРОГОВСКАГО Т-ВА ВЫСЫЛАЮТСЯ ПО ПЕРВОМУ ТРЕБОВАНИЮ.

Адресъ для писемъ:

*Кіевъ, Издательству „Сотрудникъ“.*

*Проф. А. Г. Гурвичъ.*

## Анатомія челоуѣка

въ связи съ ГИСТОЛОГІЕЙ и ЭМБРИОЛОГІЕЙ

2-е знач. дополн. и испр. изданіе.

Съ 417 рис. и цв. табл.—Цѣна 2 р. 75 к.

*Проф. В. Чижъ.*

## ПСИХІАТРІЯ

Цѣна 2 руб. 75 коп.

ЗАКАНЧИВАЕТСЯ ПЕЧАТАНІЕМЪ И ВЫИ-  
ДЕТЬ ВЪ МАРТЪ 1912 Г.

Сборное руководство по

## Медицинской Микробиологіи

въ двухъ томахъ.

Подъ редакціей пр.-доц. *Л. А. Тарасевича* съ  
предисловіемъ проф. *И. И. Мечникова*.

Съ атласомъ микрофотограммъ, составл. прив.-доц.  
*А. И. Абрикосовымъ* и прив.-доц. *Е. И. Марци-  
повскимъ*, съ рисунками въ текстъ и цвѣтными  
таблицами.

*Пр.-доц. К. ДАВЫДОВЪ*—Эмбриологія  
безпозвоночныхъ.

*Проф. ЦУНТЦЪ и ЛЕВИ.*—Физиологія челоуѣ-  
ка.—Перев. проф. *В. Завьялова*—въ 2-хъ томахъ.—  
ц. 2 р. 50 к. за каждый томъ.

*Пр.-доц. Л. ТАРАСЕВИЧЪ.*—Общая патологія.  
2-е знач. доп. изд.—ц. 3 р.

*Проф. Г. КЛЕМПЕРЕРЪ.*—Внутренняя меди-  
цина. Ч. 1-я—Болѣзни пищеварительныхъ орга-  
новъ—ц. 2 р. 50 к.

Ч. 2-я—Болѣзни мочевыхъ путей—  
ц. 1 р. 50 к.

Перев. съ нѣм. съ пред. *проф. Э. Яновскаго*.

*Проф. Э. ЛЕЙДЕНЪ и Г. КЛЕМПЕРЕРЪ.*—  
Руководство по діететическому леченію.—  
ц. за оба тома 3 руб.

*Проф. О. ШМИДЕБЕРГЪ.*—Основы фармако-  
логіи.—2-е дополн. изд.—Ц. 2 р.

Печатается и выйдетъ въ маѣ 1912 г.

*Проф. Е. АВДЕРHALDEN.*—Руководство по  
физиологической химіи въ двухъ томахъ.

*Проф. Э. Буллз.*

РУКОВОДСТВО КЪ ИЗУЧЕНЮ

## АКУШЕРСТВА.

Переводъ съ 6-го нѣмецк. изд. подъ редакц.  
проф. П. Садовскаго.

Съ 596-частью цвѣтными-рисунки.—Ц. 3 р.

*Клише исполнены въ Вѣннѣ.*

*Проф. Ф. Бидертз.*

## — Д И Т Я —

Руководство по уходу за здоровымъ и больнымъ  
ребенкомъ со дня его рожденія до школьнаго  
возраста.

Ц. 2 р. (въ роскошн. перепл. 2 р. 50 к.).

*Проф. Ф. Бидертз.*

## Болѣзни дѣтей школьнаго возраста и школьная гигиѣна.

Съ предисл. проф. Д. Соколова.—Цѣна 1 руб.

*Д-ръ мед. П. Ю. Кроль.*

## Жизнь женщины.

(СОВѢТЫ ВРАЧА).

Съ рисунками и табл.—Цѣна 1 руб.

## Портативная медицинская библиотечка „СОТРУДНИКА“.

ВСѢ ИЗДАНИЯ, ВХОДЯЩІЯ ВЪ ПОРТАТИВНУЮ БИ-  
БЛИОТЕКУ, СНАБЖЕНЫ МЯГКИМИ КОЛЕНКОРОВЫМИ  
ПЕРЕПЛЕТАМИ.

*Проф. Георгіѣ Майерз.*

## ПЕРВАЯ ПОМОЩЬ

3-е доп. изд. Цѣна 1 руб. 50 коп.

*Шмидтз и Фридегймз.*

## VADEMESUM

ПО ДІАГНОСТИКЪ И ТЕРАПИИ.

Переводъ съ предисл. проф. В. П. Образцова

3-е изд.—Цѣна 1 р. 50 к.

*Проф. Г. Клемперерз.*

## ОСНОВЫ КЛИНИЧЕСКОЙ ДІАГНОСТИКИ

Перев. съ 15 нѣмецк. изданія. Съ 64 рис. и  
цвѣтными таблицами.

2-е изд.—Цѣна 1 руб. 50 коп.

Выписывающіе изъ главнаго склада (адресъ:  
Кіевъ, издат. „Сотрудникъ“) за пересылку  
не платятъ.

ПОРТАТИВНАЯ МЕДИЦИНСКАЯ БИБЛИОТЕКА  
„СОТРУДНИКА“.

*Д-ръ М. Шниферъ.*

## Терапевтическій Справочникъ

Сборникъ рецептовъ съ терапевтическими указаніями.

Цѣна 1 р.

*Д-ръ С. Фридъ.*

## Vademecum ВРАЧА для бѣдныхъ

Сборникъ дешевыхъ рецептовъ.

Цѣна 1 р.

*Д-ръ Э. Канторовичъ.*

## СБОРНИКЪ РЕЦЕПТОВЪ

для клиники и ПРАКТИКИ.

(PRAESCRIPTIONES).

Съ предисл. Г. Сенатора.

2 е изд.—Ц. 1 р.

*Д-ръ М. Френкель.*

## ФАРМАКОЛОГІЯ

съ рецептурой и токсикологіей.

Цѣна 1 руб. 50 к. (безъ перепл. 1 р. 25 к.).

ПОРТАТИВНАЯ МЕДИЦИНСКАЯ БИБЛИОТЕКА  
„СОТРУДНИКА“.

*Гудольфъ Абель.*

## БАКТЕРІОЛОГІЯ

Краткое руководство.

Переводъ подъ редакц. прив.-доц. Л. Тарасевича.

3-е дополи. изд.— ц. 1 р.

*Э. Зальфельдъ.*

## Практическая Косметика

Съ рисунками въ текетѣ.—ц. 1 руб. (въ кол. пер.).

*Проф. Е. Кромайеръ.*

## Кожныя и венерическія болѣзни

Съ 38 рисунками въ текетѣ.

2-е изд.—Цѣна 1 р. 50 к.

*Проф. Фейтеръ и Кирхгофъ.*

## Частная хирургія

Съ предисл. проф. Н. Волковича.

Съ 157 рис. въ текетѣ.

Цѣна 1 руб. 50 коп.

*Д-ръ Р. Кайзеръ.*

## Болѣзни горта, носа и уха.

Переводъ съ 6-го нѣмецкаго изданія. Съ рисунками въ текстѣ.

Цѣна 1 р. 50 к. (безъ перепл. 1 р. 25 к.).

---

*Проф. А. Дедерлейнъ.*

## ОПЕРАТИВНОЕ АКУШЕРСТВО

Съ рисунками въ текстѣ.

Цѣна 1 руб. 50 коп.

---

*Е. Гофунгъ.*

## Практическое зубоврачеваніе

Съ рисунками.

Цѣна 1 руб. 50 коп.

---

*Проф. Б. Салыгъ.*

## Дѣтская практика

2-е дополненное изданіе.

Цѣна 1 руб.

---

ИЗДАНІЯ „СОТРУДНИКА“  
ДЛЯ СРЕДНЕ-МЕДИЦИНСКИХЪ ШКОЛЬ.

---

*Прив.-доц. Л. Тарасевичъ.*—Начальный курсъ общей патологіи. 2-е изд. Съ 127 рисунками—ц. 1 р. 50 к.

*Проф. П. Тиховъ.*—Хирургія для фельдшеровъ. Съ 156 рисунками—ц. 1 р. 50 к.

*Проф. П. Тиховъ.*—Общая и частная хирургія полости рта. Съ 66 рисунками въ текстѣ—ц. 1 р.

*Проф. В. Завьяловъ.*—Физиологія человѣка. 3-е дополненное изданіе. Съ 176 рисунками—ц. 1 р. 50 к.

*Прив.-доц. В. Карповъ.*—Начальный курсъ гистологіи.—3-е дополненное изданіе. Съ 136 рисунками—ц. 1 р. 50 к.

*Д. М. Мариолинъ.*—Курсъ фармаціи. Съ 72 рисунками въ текстѣ—ц. 1 р. 50 к.

*Д. М. Мариолинъ.*—Курсъ фармакогнозіи. Съ 169 рисунками въ текстѣ—ц. 1 р.

---

Выписывающіе изъ главнаго склада (Кіевъ, складъ Издательства „Сотрудникъ“) — за пересылку не платятъ.

---



НОВЫЯ ИЗДАНИЯ „СОТРУДНИКА“  
ДЛЯ СРЕДНЕ-МЕДИЦИНСКИХЪ ШКОЛЬ.

---

*Проф. Л. Михаэлис.*—Эмбриология чело­вѣка.  
Съ 73 рисунками—ц. 1 р.

*Проф. Т. Тюфѣе.*—Малая хирургія. Съ 402  
рисунками въ текстѣ—ц. 1 р. 80 к.

*Д-ръ мед. В. Канель.*—Уходъ за больными.  
Съ 298 рисунками—ц. 1 р. 50 к.

*Д-ръ мед. В. Канель.*—Подача первой помо­  
щи. Съ 113 рисунками—ц. 80 к.

*Проф. Н. Лысенковъ.*—Краткое руководство  
по анатоміи чело­вѣка. Съ многочисл.  
рисунками—ц. 1 р. 80 к.

*Д-ръ В. Данилайскій.*—Глазныя болѣзни.  
Съ 83 рисунками—ц. 1 р. 10 к.

*Д-ръ С. Исаяевъ.*—Фармакологія—ц. 1 р. 20 к.

*Д-ръ С. Исаяевъ.*—Патологическая анатомія.  
Съ атласомъ—ц. 1 р. 60 к.

*Д-ръ С. Абрамовъ.*—Глазныя болѣзни—  
ц. 1 р. 25 к.

---

ИЗДАНИЯ „СОТРУДНИКА“  
ДЛЯ СРЕДНЕ-МЕДИЦИНСКИХЪ ШКОЛЬ.

---

*Д-ръ В. Крамаренко и А. Анохинъ.*—Курсъ  
массажа и врачебной гимнастики. Съ  
122 рисунками и 8 таблицами въ текстѣ—  
ц. 1 р. 50 к.

*Проф. Г. Россее.*—Вадемекумъ по акушер­  
ству. Съ 43 рисунками въ текстѣ—ц. 40 к.

*Д-ръ Г. Л. Навяжскій.*—Краткое руководство  
по акушерству. Съ 55 рисунками въ тек­  
стѣ—ц. 1 р. 50 к.

*Д-ръ Г. Л. Навяжскій.*—Краткое руководство  
по гинекологіи. Съ 34 рисунками въ  
текстѣ—ц. 1 р.

*Д-ръ Г. Л. Навяжскій.*—Начальный курсъ жен­  
скихъ болѣзней. Съ рисунками въ тек­  
стѣ—ц. 70 к.

---

НОВОЕ ИЗДАНИЕ:

*О. Бронштейнъ.*—Кратк. курсъ медицинск. бак­  
теріологіи. Съ рис. и вв. табл.—ц. 1 р. 60 к.

---

*Д-ръ А. ГОВСЪЕВЪ.*—Эпидемиология. Общая и частная. Съ 17 рис.—Ц. 80 к.

*Д-ръ Д. ЭПШТЕЙНЪ.*—Частная патология и терапия. Съ рис.—Ц. 1 руб.

*Проф. Ю. ШЕФФЪ.*—Зубныя болѣзни. Введение въ клинику. Съ 33 рис.—Ц. 50 к.

*Проф. А. ГОФФА.*—Уходъ за больными. Съ 36 рисунками въ текстѣ—Ц. 50 к.

*Д-ръ М. КИРШТЕЙНЪ.*—Дезинфекція. (Въ вопросахъ и отвѣтахъ).—Ц. 30 к.

*Д-ръ Я. БОРОВСКІЙ.*—Простѣйшіе способы для опредѣленія доброкачеств. пищевыхъ продуктовъ—Ц. 20 к.

*Е. КОНЪ.*—Правила и программы акуш., фельдш., самаритск. школь—Ц. 50 к.

*Е. КОНЪ.*—Правила и программы зубо-врачебныхъ школь—Ц. 40 к.

---

*Проф. Е. Гедонъ.*—Учебникъ физиологін.—Съ 242 рисунк. въ текстѣ. 3-е дополненное изд.—ц. 3 р. 20 к.

*Проф. В. В. Завьяловъ.*—Физиологическіе опыты. Краткое руководство къ практическимъ занятіямъ по физиології животныхъ. Съ 68 рисунками въ текстѣ.—ц. 80 коп.

Курсъ опытной физики—*проф. Э. Варбурга*—2-е изд. ц. 2 р. 50 к.

Неорганическая химія—*проф. А. Голлемана*—2-е изд. ц. 2 р. 25 к.

Органическая химія—*проф. А. Голлемана*—ц. 2 р. 25 к.

Курсъ физической химіи—*проф. В. Плотникова*—ц. 1 р. 50 к.

Курсъ качественного анализа—*И. Кукулеско*—ц. 1 р. 50 к.

Курсъ минералогін—*проф. А. Нечаева*—2-е изд. ц. 2 р. 50 к.

Курсъ кристаллографіи—*проф. А. Нечаева*—2-е изд. ц. 1 р. 80 к.

Курсъ петрографіи—*проф. В. Луцицаю*—ц. 1 р. 80 к.

НОВЫЯ ИЗДАНИЯ „СОТРУДНИКА“.

---

*Д-ра М. Клопштокъ и А. Новарскій.*

ПРАКТИЧЕСКОЕ РУКОВОДСТВО ПО  
КЛИНИЧЕСКОЙ ХИМИИ, МИКРОСКОПИИ И  
БАКТЕРИОЛОГИИ.

Со мног. рис. въ текстѣ и на 6 цвѣтныхъ  
таблицахъ — Ц. 2 р.

---

*Д-ра Р. Абель и М. Фикеръ.*

ПРОСТЫЯ ПРИСПОСОБЛЕНИЯ  
ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА  
БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИХЪ ИССЛЕДОВАНИЙ.

Переводъ со 2-го нѣмецкаго изданія  
*д-ра Н. Степанова.* — Ц. 30 коп.

---

Выписывающіе изъ гл. склада за ~~пересылку~~ не  
платятъ.

17065  
КНИГО  
ИСТИНА

ц. 1 р.

Бібліотека ПДМУ