

Фагоцитоз стрептококів, які були піддані дії ультразвукових коливань

О. К. Трінус

Властивість звукових коливань спричиняти пошкодження клітин і розпад клітинних конгломератів зумовила широке використання ультразвуку в мікробіології.

Вивченню впливу ультразвукових хвиль на мікроби присвячено багато праць вітчизняних і іноземних дослідників. Застосовувавши ультразвукові коливання до збудника коклюшу, Ельпінер і Шейнкер (1946) одержали ендотоксин, який виявився не тільки більш токсичним у порівнянні із здобутим способом Безредка, а й відзначався антигенною дією.

Слейд і Веттер (1956) провели спостереження над мікроскопічним і біологічним характером розпаду клітин одного з штамів гноетворних стрептококів під впливом звукових коливань.

Шваб (1956) одержав внутріклітинний гемолізін стрептококів групи А, застосовувавши енергію звукових коливань. Ржевкін (1936) показав, що великі скупчення сарцин під впливом ультразвукових коливань розпадаються на частини.

Наведені Бергманом (1956) результати дослідів Фухтбауера і Тейсмана свідчать про те, що кількість колоній сарцин і стрептококів збільшується після дії на них звукових коливань. Автори це пояснили розпадом пакетів сарцин і ланцюжків стрептококів на окремі життєздатні клітини.

Відомо, що морфологічні особливості бета-гемолітичних стрептококів групи А утруднюють облік результатів фагоцитарної реакції організму.

Метою нашої праці і була спроба роздробити ланцюжковий гемолітичний стрептокок на окремі клітини з наступним використанням їх при вивченні реакції фагоцитозу. Для досягнення цієї мети ми застосували ультразвук. Джерелом ультразвукових коливань був апарат УЗ-1. Дослідження проведені в Інституті фізіології ім. О. О. Богомольця Академії наук УРСР під керівництвом старшого наукового співробітника М. І. Гуревича.

Суспензію відмитої 18-годинної бульйонної культури гемолітичного стрептокока групи AL-42, яка містила в 1 мл 2—3 млрд. мікробних тіл, піддавали дії ультразвукових коливань. Частота коливань завжди була постійна і дорівнювала 800 кГц. Інтенсивність коливань і тривалість дії були різними, бо ми прагнули підібрати такі умови досліду, які б давали можливість зруйнувати міжклітинні зв'язки без негативного впливу на самі клітини. Здійснено понад 40 варіантів дії ультразвукових коливань на зазначену емульсію.

Ступінь пошкодження стрептококів внаслідок дії ультразвукових коливань вивчали з допомогою звичайної і електронної мікроскопії.

Звичайна мікроскопія дала можливість виявити скорочення ланцюжків при дії ультразвукових коливань навіть на протязі короткого часу. Так, в результаті дії цих коливань на протязі однієї хвилини кількість одиничних клітин перевищувала кількість ланцюжків в три-чотири рази. До того ж ланцюжки стали коротшими, кожен з них

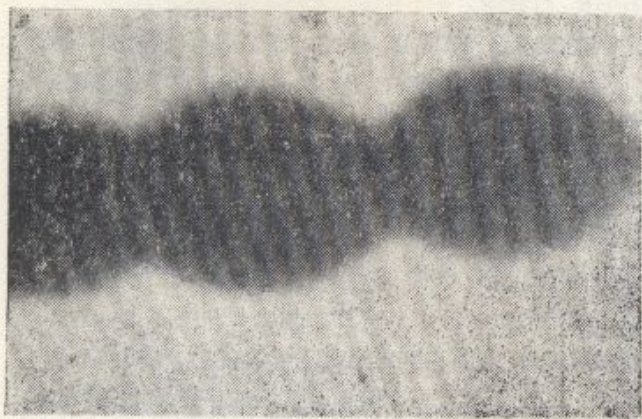


Рис. 1. Ланцюжок гемолітичного стрептокока ($\times 15\,000$).

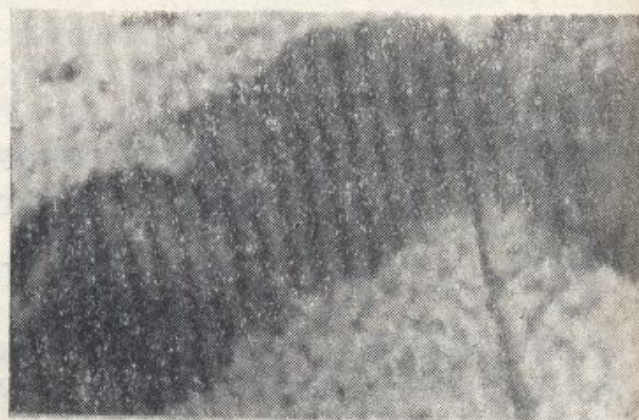


Рис. 2. Гемолітичний стрептокок після дії ультразвукових коливань протягом 1 хв. ($\times 25\,000$).

складався не більш як з 4—5 клітин, і тільки зрідка траплялися ланцюжки, які мали понад 5 клітин, що було правилом для суспензії, яку дії ультразвукових хвиль не піддавали. Чим довше тривало застосування

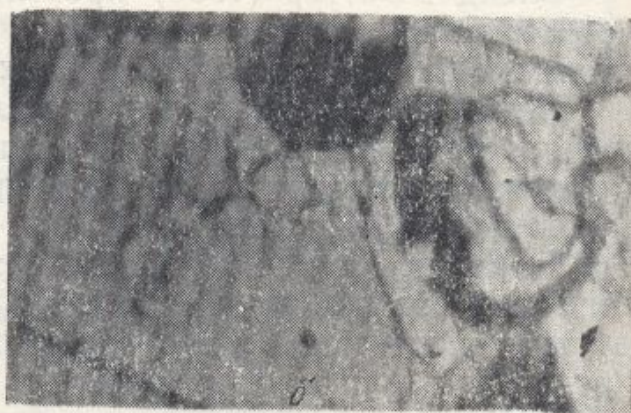
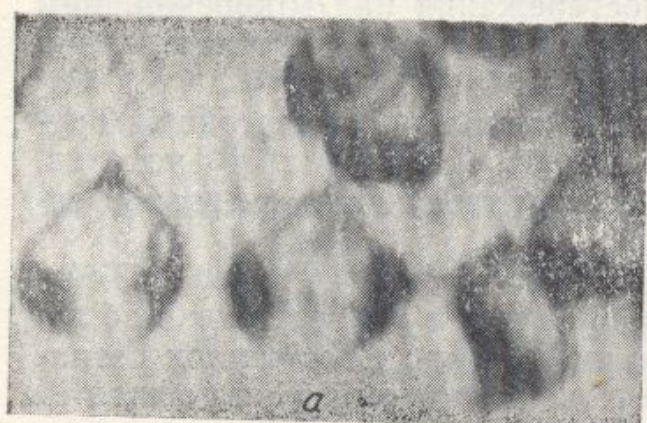


Рис. 3. Різний ступінь пошкодження гемолітичного стрептокока ($\times 15\,000$):
а — через 15 хв. після дії ультразвукових коливань; б — через 45 хв.

ультразвуку, тим кількість ланцюжків ставала меншою, з'являвся детрит, клітини погано сприймали фарбу, мали не зовсім виразні контури.

Проведена в Інституті інфекційних хвороб АМН СРСР електронна мікроскопія суспензії стрептококів, яку не піддавали дії ультразвуку, дала можливість виявити ланцюжки рівномірних, густих, чітко окреслених тіней коків (рис. 1).

В препаратах, які виготовляли із стрептокової суспензії, підданої дії ультразвукових коливань, при електронномікроскопічному дослідженні не вдалося виявити непошкоджених клітин.

Зв'язки між окремими клітинами, як це видно з рис. 2, зазнали невеликих пошкоджень, ланцюжкове розташування стрептококів збереглося.

При збільшенні інтенсивності коливань і тривалості дії ультразвуку змінюється і ступінь пошкодження суспензії стрептококів (рис. 3).

Застосування ультразвукових коливань максимальної інтенсивності дозволило зруйнувати зв'язки між окремими клітинами, але при цьому зазнавали значних змін і самі клітини. Як правило, форма клітин зберігалась. В тінях клітин поруч з ясними ділянками можна ба-

чити густі тіні гранул, розному місці. Іноді виявлялись прозорих тіней, які справді. Помітні і пошкодження об'єктів ультразвукових хвиль у прозорих тінях. Ріст такій бульйон, проявлявся лише



Рис. 4. Фагоцитоз стрептококів.

женням життєздатності стрептококів, ланцюжкове розташування стрептококів і легко зафарбовувалися.

Для вивчення фагоцитозу стрептококів.

Дослідження проводили з відмитою і невідмитою суспензією стрептококів, не підданою дії ультразвуку.

Фагоцитарне число стрептокока дорівнювало 10,5.

Фагоцитозу була значна. 10 мікробних тіл, частина з яких була з'ясована.

В дослідженнях дії ультразвуку суспензії стрептококів від 1,8 до 5,1. Інтенсивність коливань.

Незважаючи на те, що у фазі зростання кожен з них захоплював ланцюжок стрептокока, нам не дове-

чити густі тіні гранул, розміщених то в різних кінцях клітини, то в одному місці. Іноді виявлялись тільки контури клітин у вигляді ясних, прозорих тіней, які справляли враження клітин, позбавлених вмісту. Помітні і пошкодження оболонок клітин. Після двогодинного впливу ультразвукових хвиль у препараті можна було виявити тільки одну-дві одиничні клітини. Ріст таких стрептококів, перенесених у мартенівський бульйон, проявлявся лише через три-чотири дні. Одночасно із збере-

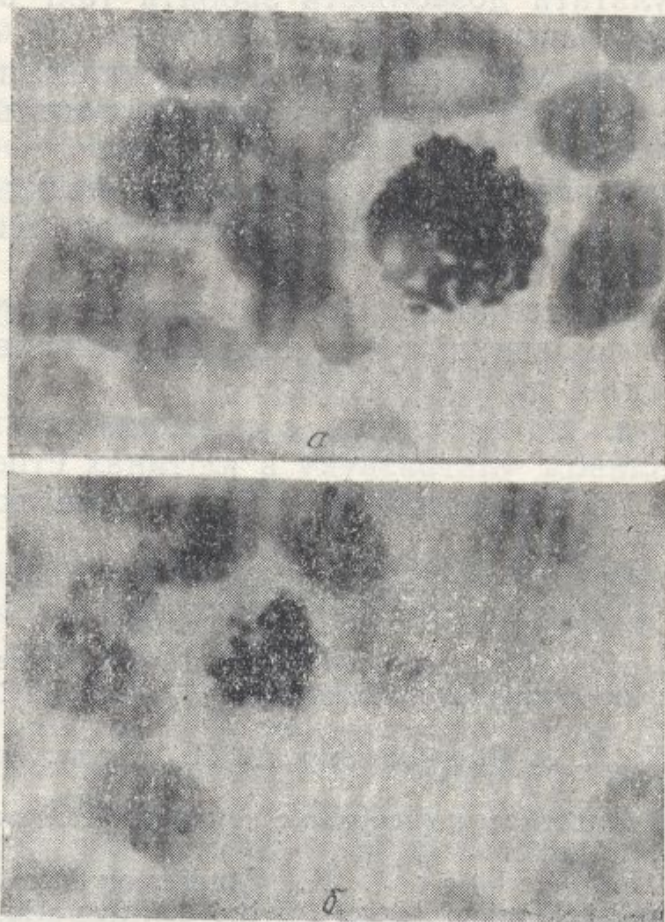


Рис. 4. Фагоцитоз гемолітичних стрептококів:

а — звичайних; б — «озвучених».

женням життєздатності стрептококи зберігали й інші свої властивості: ланцюжкове розташування, гемолітичну активність у рідких середовищах і легко зафарбовувались.

Для вивчення фагоцитозу ми користувались згаданою вище суспензією стрептокока.

Дослідження провадились паралельно з підданою дії ультразвуку відмитою і невідмитою суспензією стрептококів. Контролем служила суспензія із стрептококів, не піддана дії ультразвукових коливань.

Фагоцитарне число при користуванні контрольною суспензією стрептокока дорівнювало 10,5 з коливаннями від 5,4 до 21,5. Інтенсивність фагоцитозу була значна. Кожна клітина в середньому містила понад 10 мікробних тіл, частина нейтрофілів захоплювала по 20—40—50 і більше коків. В дослідженнях, в яких користувались невідмитою, підданою дії ультразвуку суспензією, ми одержали фагоцитарне число 2,9 з коливаннями від 1,8 до 5,1. Інтенсивність фагоцитозу виявилась незначною. Незважаючи на те, що у фагоцитозі брали участь майже всі нейтрофіли, кожен з них захоплював лише одиничні мікробні тіла (1, 3, 5), рідко 8—10 і, як виняток, більше 10. Фагоцитів, які б захопили 20 і більше клітин стрептокока, нам не довелося виявити в жодному випадку. Піддана дії

ультразвуку і тричі відмита фізіологічним розчином суспензія стрептокока в реакції фагоцитозу дала фагоцитарне число 1,8 з коливаннями від 1,3 до 3,9.

Рис. 4 дає можливість судити про різну інтенсивність фагоцитозу у хворого К.

Висновки

Одержані результати дозволяють зробити такі висновки:

1. Роздроблення ланцюжкового стрептокока на окремі клітини з допомогою ультразвуку можливе, але це здійснюється при такій інтенсивності коливань, при якій і самі клітини зазнають значних пошкоджень.

2. Одноразове пошкодження стрептокока ультразвуковими коливаннями не змінює його попередніх властивостей при наступних висівах на поживних середовищах.

3. Фагоцитарна активність лейкоцитів щодо «озвучених» стрептококів значно менша в порівнянні з активністю фагоцитів щодо стрептококів, які не були піддані дії ультразвуку.

Зважаючи на те, що фагоцитоз є складним явищем, можна припустити, що під впливом ультразвуку в клітинах стрептокока відбувається ряд змін, які і відбиваються на фагоцитарній активності лейкоцитів.

ЛІТЕРАТУРА

Р ж е в к и н С. Н., «Ультразвуки и их биологическое воздействие» — сб. трудов по рентгенологии Народного Комиссариата здрава РСФСР, т. II, 1936, с. 181.

Э л ь п и н е р И. Е. и Ш е й н к е р А. П., Бюлл. exper. биол. и мед., т. XXII, 7, 1, 1946, с. 51.

Б е р г м а н Л., Ультразвук (перевод с немецкого под ред. В. С. Григорьева и Л. Д. Розенберга), М., 1956.

S l a d e H. D. and V e t t e r J. K., Studies on Streptococcus observations on the microscopical and biological aspects of the disintegration and Solubilization of a type 6 strain by sonic oscillation, Journ. of Bacteriol., v. 71, № 2, 1956, p. 236.

S c h w a b J. H., An intracellular hemolysin of group «A» streptococci, Journ. of Bacteriol., v. 71, № 1, 1956, p. 94.

Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця
Академії наук УРСР, лабораторія фізіології
кровообігу і дихання
Інститут інфекційних хвороб АМН СРСР

Надійшла до редакції
15. IX 1957 р.

Фагоцитоз стрептококков, подвергнутых действию ультразвуковых колебаний

Е. К. Тринус

Резюме

При изучении фагоцитарной активности лейкоцитов по отношению к стрептококкам у детей при некоторых инфекционных заболеваниях мы испытывали затруднения при учете результатов реакции фагоцитоза. Причиной затруднений являлись морфологические особенности бета-гемолитического стрептококка, а именно — его цепочковое расположение.

Задачей нашей работы и была попытка разобшения цепочкового стрептококка группы А на отдельные клетки с последующим использованием их при изучении реакции фагоцитоза. С этой целью были при-

менены ультразвуковые к
мы пользовались аппарат

В результате воздей
разделение цепочкового б
ные клетки, но при этом
и самих клеток. Последне
пического исследования п
действию ультразвука взв

Фагоцитарная активн
стрептококкам выражена
подвергавшимся воздейст

Можно предполагать,
в клетках стрептококка
оказывают влияние на ак

Phagocytosis of of U

The chain arrangement
cult to estimate the reaction
cytes in respect to group A

Ultrasonic vibrations w
vidual cells. When this was
of the electronic microscope

The phagocytic activity
to «ultrasonized» streptococ
jected to ultrasonic vibrat

It may be assumed that
a number of changes occur i
ivity of phagocytes.

менены ультразвуковые колебания. В качестве источника ультразвука мы пользовались аппаратом УЗ-1.

В результате воздействия ультразвуковых колебаний достигнуто разделение цепочкового бета-гемолитического стрептококка на отдельные клетки, но при этом были обнаружены значительные повреждения и самих клеток. Последнее выявлено с помощью электронномикроскопического исследования препаратов, приготовленных из подвергнутой действию ультразвука взвеси стрептококка.

Фагоцитарная активность лейкоцитов по отношению к «озвученным» стрептококкам выражена значительно меньше, чем к стрептококкам, не подвергавшимся воздействию ультразвуковых волн.

Можно предполагать, что под действием ультразвуковых колебаний в клетках стрептококка происходит целый ряд изменений, которые и оказывают влияние на активность фагоцитов.

Phagocytosis of Streptococci Subjected to Action of Ultrasonic Vibrations

E. K. Trinus

Summary

The chain arrangement of beta-hemolytic streptococci makes it difficult to estimate the reaction on studying the phagocytic activity of leucocytes in respect to group A streptococci.

Ultrasonic vibrations were employed to break up the chain into individual cells. When this was effected, however, it was discovered by means of the electronic microscope that the cells themselves had been injured.

The phagocytic activity of leucocytes is far less pronounced in respect to «ultrasonized» streptococci than to streptococci that had not been subjected to ultrasonic vibrations.

It may be assumed that as a result of the action of ultrasonic vibrations, a number of changes occur in the cells of streptococci, which affect the activity of phagocytes.