

616.013.4/9

T41

Академия медицинских наук СССР

В. Д. ТИМАКОВ, Г. Я. КАГАН, L-формы бактерий
и семейство
Mycoplasmataceae
в патологии



ИЗДАТЕЛЬСТВО «МЕДИЦИНА» МОСКВА—1973

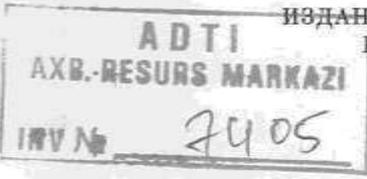
615.015.49

T 41

УДК 576.858.74.06



108960



ИЗДАНИЕ ОДОБРЕНО И РЕКОМЕНДОВАНО К ПЕЧАТИ
РЕДАКЦИОННО-ИЗДАТЕЛЬСКИМ СОВЕТОМ
ПРИ ПРЕЗИДИУМЕ АМН СССР

РЕФЕРАТ. В монографии обобщены результаты многолетних экспериментальных работ и наблюдений авторов и их сотрудников, а также данные литературы по наиболее важному разделу современной микоплазматологии — роли микоплазм и L-вариантов бактерий в патологии.

В части I «L-варианты микроорганизмов и их роль в патологии» дается детальное описание факторов и условий индукции L-вариантов *in vitro*, их биологической характеристики, процесса стабилизации L-форм, их реверсии в бактерии и биологической характеристики последних.

Наиболее полно в книге представлены сведения о патогенных потенциях L-вариантов бактерий; об индукции L-форм, их персистенции и реверсии *in vivo* и в культурах клеток, о факторах патогенности и патологических реакциях в ответ на экспериментальное инфицирование, а также об экспериментальных моделях патологических процессов, индуцированных L-формами разных видов бактерий. Интерес представляют материалы по выделению и идентификации L-форм и других вариантов микроорганизмов, лишенных клеточной стенки, из патологического материала при сепсисе, септических эндокардитах, ревмокардите, гнойных менингитах, воспалительных процессах мочеполовой сферы и других заболеваниях человека.

В части II «Семейство Mycoplasmataceae и его роль в патологии» последовательно рассматриваются: биологическая характеристика семейства Mycoplasmataceae, сравнительная биология L-форм бактерий и микоплазм, филогения и таксономия последних; широко представлены патогенные потенции микоплазм в культурах клеток и *in vivo*, патологические реакции и экспериментальные модели патологических процессов, вызванных разными видами микоплазм, патогенез, клиника, эпидемиология, эпизоотология микоплазма-инфекций (респираторные заболевания, заболевания мочеполовой сферы, суставов и др.) и лабораторная диагностика. Дается анализ возможного значения микоплазм при лейкозе и проблеме смешанных микоплазма-вирусных инфекций.

Книга отличается четко выраженной направленностью на выяснение роли L-форм и микоплазм в патологии человека и животных.

Монография предназначена для научных и практических работников — биологов, микробиологов, вирусологов, медиков, эпидемиологов и ветеринарных врачей.

Results of experiments and observations made by the authors and their collaborators during several year as well as data drawn from published works on the role of mycoplasmas and bacterial L-forms in pathological processes are summarized in the monograph.

Part I «L-forms of microorganisms and their role in pathological processes» presents in detail the description of factors and conditions of L-forms induction *in vitro* as well as their biological characteristics and stabilization process of L-forms. Reversion of L-forms to bacteria and biological characteristics of latter are also described. The book gives a full information on pathogenic potentialities of L-forms of microorganisms: on L-form induction, their persistence and reversion *in vivo* and in cell culture on pathogenic factors and pathological response to experimental infection, as well as on experimental models of pathological processes infected by various species of L-forms of microorganisms.

It is quite interesting materials analyzed by the authors on problem of isolation and identification of bacterial L-forms and other forms of microorganisms devoid of cell wall from pathological material of patients with septicemia, septic endocarditis, rheumocarditis, purulent meningitis, inflammatory process of urogenital system and other human diseases.

Part II «The Family of Mycoplasmataceae and its role in pathological processes» considers the biological characteristics of Mycoplasmataceae and problems of comparative biology of bacterial L-forms and mycoplasmas, their phylogensis and taxonomy. Pathogenic potentialities of mycoplasmas in cell culture and *in vivo*, pathological reactions and experimental models of pathological processes acused by various mycoplasma species, pathogenesis, clinic, epidemiology, epizootology of mycoplasma-infections (respiratory diseases, diseases of urogenital system etc.) and laboratory diagnosis are presented in detail in this part of the monograph. Possible significance of mycoplasma in leukemia and problem of mixed mycoplasma-viruses infection are also analyzed in the book.

It deals basically with problem of the role of bacterial L-forms and mycoplasmas in man and animal. The monograph is intended for biologists, microbiologists, virologists, medical workers, epidemiologists and veterinaries.

Введение

«Научные открытия возникают как ересь, а заканчиваются как непререкаемое поверье».

Т. Хаксли

Выдающиеся успехи последних десятилетий в области микробиологии ознаменовались появлением многочисленных новых фактов, свидетельствующих о том, что наши прежние представления о возбудителях заболеваний, формах их существования в природе и в организме хозяина, их этиологической, патогенетической и эпидемиологической роли были неполными, односторонними и не отражали всей сущности явлений, имеющих место в инфекционном и эпидемическом процессах.

Широкое использование антибиотических и других лечебных препаратов без учета специфики их воздействия на возбудителя существенным образом изменило клиническое течение некоторых болезней и в ряде случаев извратило результаты микробиологического диагноза. Это обусловило исследования, направленные на выявление роли измененных и необычных форм инфекционных агентов в патологии.

Этиология, патогенез, иммунология, микробиологическая диагностика, эпидемиология, терапия и профилактика заболеваний, связанных с необычными инфекционными агентами, являются предметом настойчивых и активных исследований значительного числа лабораторий во многих странах мира.

К необычным, ранее мало известным, агентам относят микроорганизмы, частично или полностью утратившие клеточную стенку (протопласты и сферопласты), варианты, утратившие ее, но сохранившие способность размножаться и передавать потомству присущие им признаки, в том числе дефектность или отсутствие клеточной стенки (нестабильные и стабильные L-формы бактерий), и эволюционно обособленная группа микроорганизмов — семейство *Mycoplasmataceae*.

Изучение этих форм микроорганизмов в последние годы обогатило микробиологию еще одним разделом — микоплазматологией, предметом которой являются таксономия, биология и патогенные потенции семейства микоплазм и близких им L-форм бактерий. Термин «микоплазматология» приобрел право гражданства, он выдвинут самой жизнью, бурным развитием исследований в этой области, обогативших науку безудержным потоком все новой и новой информации, стремительным ростом числа исследователей, творчески разрабатывающих эту новую страницу микробиологии.

Определенный интерес представляет эволюция отношения микробиологов к микоплазматологии. Робкие шаги первых поисков и их парадоксальные на первый взгляд результаты первоначально вызывали скепсис; совпадающие результаты последующих экспериментов стали постепенно пробуждать интерес к этим работам. Наконец, накопление многих новых фактов вызвало глубокую заинтересованность у исследователей в разных странах мира. Это может быть проиллюстрировано сводкой данных о специальных конференциях, симпозиумах и тематике международных микробиологических конгрессов за последние 12 лет. Так, уже в 1956 г. проблема

L-форм бактерий явилась предметом обсуждения на VI Международном конгрессе микробиологов в Риме. В том же году состоялись тематические симпозиумы в Палермо и Лозанне. В 1958 г. вопрос об L-формах бактерий обсуждался на VII конгрессе микробиологов в Стокгольме, а в 1959 г. проходил тематический симпозиум в ГДР (Иена). В 1960 г. проблема микоплазма-инфекций и L-форм бактерий была предметом тематической конференции, созванной Нью-Йоркской академией наук, в 1962 г. этот вопрос обсуждался на VIII Международном конгрессе микробиологов в Монреале.

В 1965 г. созвана первая Всесоюзная конференция по проблеме L-форм бактерий в Москве, а в 1966 г. работает секция микоплазма-инфекций на IX Международном конгрессе по микробиологии в Москве. В том же году состоялись две тематические конференции в США, одна по проблеме «Биология семейства *Mycoplasmataceae*» в Нью-Йоркской академии наук, другая по проблеме «Протопласты, сферопласты и L-формы бактерий» в Лос-Анжелесе. В 1967 и 1968 гг. проблема микоплазма-инфекций человека обсуждалась на тематических симпозиумах в Англии и Италии, а также на Международной конференции в ГДР (Эрфурт), в 1969 г. созвана тематическая конференция Нью-Йоркской академии наук, в 1970 г. проблема микоплазма-инфекций заняла значительное место в программе X Международного конгресса микробиологов в Мехико.

Современная микоплазматология имеет богатую предысторию и историю: первая связана с проблемой гетероморфизма бактерий и открытием фильтрующихся форм, вторая — с открытием первого представителя семейства *Mycoplasmataceae* — возбудителя плевропневмонии рогатого скота и L-форм бактерий.

В 1894 г. Н. Ф. Гамалея открыл явление гетероморфизма у бактерий. Формы гетероморфного роста были получены у многих видов бактерий при воздействии разнообразных физических и химических агентов (А. К. Федерольф, 1895; Matzschita, 1902; А. А. Имшенецкий, 1937, 1939, 1940; М. Н. Покровская, 1931; И. Л. Кричевский, П. А. Рубинштейн, 1939; И. Л. Кричевский, И. В. Пономарева, 1934).

Наиболее подробно формы гетероморфного роста описал М. А. Пешков (1954), который на основании оригинальных цитологических исследований водного сапрофита *Achromobacter epsteinii* и *Caerorphanon* не только выявил закономерности гетероморфного роста бактерий, но и впервые дал классификацию гетероморфных форм, подразделив их на формы естественного и искусственного полиморфизма.

Гетероморфизм является одной из форм биологических реакций бактерий, способствующей выживанию и сохранению вида в условиях кратковременного неблагоприятного действия некоторых физических, химических или биологических факторов. При длительном их воздействии или увеличении дозировки может наступить гибель гетероморфных форм или их распад на субмикроскопические фильтрующиеся формы. При устранении действия, вызвавшего образование гетероморфных форм, они могут легко реверсировать в исходный вид бактерий.

Подробная сводка литературы по этому вопросу приведена в монографиях А. А. Имшенецкого «Строение бактерий» (1940) и М. А. Пешкова «Цитология бактерий» (1954).

Феноменом, сходным с гетероморфным ростом бактерий, является образование так называемых сферопластов, возникающих при некоторых внешних воздействиях. В процессе образования сферопластов так же, как и гетероморфных форм, наблюдается изменение формы, увеличение размеров бактериальных клеток до крупных шаров. Эти изменения и в том и в дру-

гом случае носят временный, непродолжительный характер. Сферопласты, как и гетероморфные формы, могут в соответствующих условиях переходить в L-формы или при устранении фактора, вызвавшего их образование, реверсировать в культуры исходного вида. В отличие от гетероморфных форм они образуются лишь при действии факторов, блокирующих синтез клеточных стенок (пенициллин, глицин и др.), в условиях жидкой среды и повышенного осмотического давления.

Добавление к культурам грамположительных видов бактерий (*Micrococcus lysodeicticus* или *B. megatherium*) лизоцима при повышенном осмотическом давлении ведет к полной утрате плотной клеточной стенки и образованию сферических клеток или так называемых лизоцимных протопластов (McQuillen, 1955).

Образование сферо- и протопластов может предшествовать распаду клеток на фильтрующиеся формы; в определенных условиях возможно образование L-форм.

Вслед за открытием гетероморфизма бактерий были обнаружены фильтрующиеся формы (А. И. Тогунова, З. Л. Байдакова, 1927; М. Д. Утенков, 1932; В. В. Сукнев и др., 1932, 1937). Разносторонние исследования В. В. Сукнева с соавторами (1932, 1937), Г. П. Калины (1954), Hauduroy (1957) и наши работы (В. Д. Тимаков и др., 1951, 1952, 1958) доказали возможность образования фильтрующихся форм у многих видов бактерий.

Сравнительный анализ биологических свойств фильтрующихся и L-форм бактерий, приведенный нами в монографии «Биология L-форм бактерий» (В. Д. Тимаков, Г. Я. Каган, 1961), позволил сформулировать следующее положение: «Фильтрующиеся формы, образующиеся при распаде бактериальных клеток, во многом сходны с субмикроскопическими фильтрующимися структурными элементами L-форм. Одинаковые размеры, обуславливающие их прохождение через бактериальные фильтры и осаждение при центрифугировании на больших скоростях, сходство морфологии, замедленный процесс регенерации и неполная реверсия биологических признаков исходных культур — свойства, сближающие фильтрующиеся формы бактерий с фильтрующимися элементами L-форм».

Почти одновременно с гетероморфизмом бактерий и фильтрующимися формами (конец XIX и начало XX века) была открыта группа микроорганизмов, содержащих фильтрующиеся, способные к размножению формы, — семейство *Mycoplasmataceae*. Первый представитель этого семейства (современное название *M. mycoides*) был открыт в 1898 г. французскими исследователями (Nocard, Roux, Borell, Salimbeni и Dujardin-Beaumont); рост колоний этого возбудителя на твердой питательной среде получен в 1900 г. Dujardin-Beaumont, а морфология описана Bordet (1910) и Borell, Dujardin-Beaumont, Jeantet и Jouan (1910).

В 1906 г. Celli de Blasi обнаружил фильтрующийся агент-возбудитель агалактии коз, а в 1923 и 1925 гг. Bridre и Donatien сообщили о культивировании этого возбудителя на жидкой и плотной сывороточных средах. Первоначально все сходные с возбудителем плевропневмонии рогатого скота микроорганизмы были условно названы группой плевропневмониеподобных организмов — *Pleuropneumoniae-like organism* или PPLO (Klieneberger, 1935, 1938, 1940; Dienes, 1939; Borel, 1952; Tulasne, 1950).

После этих первых находок интерес к микроорганизмам группы плевропневмонии и к плевропневмониеподобным организмам несколько снизился, однако в 30-х годах фаза забвения сменилась фазой все возрастающего интереса. Импульсом для этого послужило открытие в 1935 г. английской исследовательницей Klieneberger L-форм бактерий.

Эти формы бактерии, отличающейся целым рядом характерных признаков, были обнаружены Klieneberger в культуре *Streptobacillus moniliformis*. Они были названы автором в честь Института имени Листера L-формой. К специфическим признакам L-форм следует отнести морфологию колоний, морфологические особенности микроструктур, составляющих колонию, характер роста на питательных средах, специфику биосинтетических процессов и обмена веществ, способность к стабилизации и реверсии, а также сходство с микроорганизмами семейства *Mycoplasmataceae*, ранее обозначенных термином PPLO.

Культура, в которой обнаружили L-формы — *Streptobacillus moniliformis* (*Streptothrix muris ratti*; *Asterococcus muris*, *Haverhillia multiformis* и др.), была выделена в 1925 г. Levaditi, Nicolau и Poincloux из суставной жидкости больного эпидемической суставной эритемой. Parker и Hudson (1926), Farrel с соавторами (1939), Levaditi с соавторами (1932) обнаружили ее у мышей при спонтанном генерализованном полиартрите. По данным Levaditi с соавторами (1925, 1932) и Strangeways (1933), *Streptobacillus moniliformis* не патогенен для крыс, сапрофитизирует на слизистой оболочке носоглотки и высокопатогенен для мышей; при экспериментальной и естественной инфекции последних он вызывает отеки конечностей и хвоста, подчелюстные абсцессы, конъюнктивиты, полиартриты и параличи. Это нежная грамтрицательная палочка с четко видными вздутиями на концах, хорошо растет на кровяном (10—20%) агаре и свернутой сыворотке, относится к группе гемоглинофильных микроорганизмов. Культивирование *Streptobacillus moniliformis* на хорион-аллантаической мембране куриного эмбриона сопровождается его гибелью, при этом наблюдается скопление возбудителя в синовиальной жидкости суставов.

При изучении экспериментальной инфекции крыс Klieneberger (1935, 1936, 1938) в 6 культурах *Streptobacillus moniliformis* из 18, выделенных ею из крови зараженных животных, обнаружила мельчайшие колонии (диаметром не более 0,1—0,2 мм) с растущим в агар центром, состоящим из фильтрующихся гранул, и нежной прозрачной периферией, состоящей из легко деформирующихся тел и ветвистых форм. Эти культуры получили название L₁-форм. Их происхождение и связь с бактериальными формами оживленно обсуждались в литературе 30—40-х годов. В течение многих лет Klieneberger (1935, 1936, 1938, 1942) упорно отстаивала выдвинутую ею теорию симбиотического существования в культуре *Streptobacillus moniliformis* бактериальных форм и L-форм, рассматривая их как представителей группы PPLO. Отсутствие реверсии L-формы на протяжении 13 лет (350 пересевов) и резкое отличие этого варианта по морфологическим и культуральным признакам от бактериальных форм *Streptobacillus moniliformis* являлись, по мнению Klieneberger, доказательством симбиотического существования двух разных микроорганизмов.

Открытие L-форм бактерий принадлежит Klieneberger, однако выяснение биологической сущности явления L-трансформации и его конечного выражения — образования L-форм несомненно заслуга американского исследователя Dienes (1939, 1942, 1945), сыгравшего огромную роль в формировании современной микоплазматологии и особенно важнейшего ее раздела — учения о L-формах бактерий.

Разнообразные эксперименты Dienes с соавторами, не разделявших концепцию Klieneberger, показали, что L₁-форма является измененным вариантом *Streptobacillus moniliformis*. В опытах на *Fusiformis necroforus*, *Streptobacillus moniliformis* и других видах бактерий была точно доказана возможность их превращения в L-формы, изучены условия L-трансформации и реверсии в исходный вид бактерий (Dienes et al., 1939, 1947, 1948c,

1950). Бактериальное происхождение L-форм было доказано также морфологическими исследованиями Ørscow (1927, 1942a), Heilman (1941) и серологическими данными Dowson и Hobby (1939). Результаты этих работ были впоследствии подтверждены Klieneberger-Nobel (1947, 1949, 1951) и она отказалась от своей гипотезы симбиоза. Это положило конец дискуссии о бактериальном происхождении L-форм. С этого момента начинается интенсивное исследование разных аспектов учения о L-формах бактерий.

Исследования необычных, измененных вариантов микроорганизмов, в частности фильтрующихся форм, были начаты нами еще в 1937 г. (В. В. Сукнев, В. Д. Тимаков, 1937; В. Д. Тимаков и др., 1951, 1952, 1958). Результаты этих исследований послужили основанием для последующей разработки проблемы L-форм бактерий в отделе общей медицинской микробиологии Института эпидемиологии и микробиологии имени Н. Ф. Гамалеи АМН СССР и на кафедре микробиологии II Московского медицинского института имени Н. И. Пирогова (с 1954 г.). В первое десятилетие (1954—1964) изучались условия L-трансформации непатогенных и патогенных видов бактерий, морфогенез L-форм *in vitro* и *in vivo*, их стабилизация и реверсия в бактериальные культуры, свойства ревертантов, связь L-форм с гетероморфными и фильтрующимися формами и вариантами с разной степенью дефектности клеточной стенки (сферопласты, протопласты, фазы незавершенного L- или M-цикла). Были разработаны экспериментальные подходы для изучения патогенности L-форм бактерий, их антигенных особенностей, изучены возможности выделения L-форм из патологического материала. Результаты исследований были оформлены в виде оригинальных статей, кандидатских диссертаций В. С. Левашева (1956), С. В. Прозоровского (1959), Л. М. Устименко (1964), В. С. Михайловой (1964), Г. А. Котляровой (1970), монографии «Биология L-форм бактерий» (В. Д. Тимаков, Г. Я. Каган, 1961), докторских диссертаций Г. Я. Каган (1963), В. С. Левашева (1966), С. В. Прозоровского (1970).

Уже в конце 50-х годов наряду с изучением биологии и патогенных потенциалов L-форм бактерий нами и сотрудниками были начаты разносторонние исследования семейства *Mycoplasmataceae*. Первоначально эти исследования развивались в плане сравнительного изучения микоплазм и L-форм бактерий, что представляет значительный теоретический интерес с точки зрения филогении семейства *Mycoplasmataceae*.

В соответствии с современной систематикой группа плевропневмониеподобных микроорганизмов отнесена к классу *Mollicutes*, порядку *Mycoplasmatales*, семейству *Mycoplasmataceae* и роду *Mycoplasma* (Freundt, 1955; Edward, Freundt, 1956, 1967, 1969, 1970).

Бактериальное происхождение этого семейства дискутируется. Изучение гомологии нуклеиновых кислот в опытах гибридизации пока не выявило родственных связей между микоплазмами и стабильными L-формами бактерий, тем не менее поразительное сходство биологических признаков тех и других, обусловленное отсутствием ригидной клеточной стенки и наличием пластичной цитоплазматической мембраны, дает, как нам кажется, весьма веские основания предполагать бактериальное происхождение микоплазм.

Таксономическая классификация микоплазм хотя и установлена, но все время совершенствуется. Первоначально группа плевропневмониеподобных организмов была названа *Asterococcus*. Позднее Turner (1935) дал этой группе название *Borreliomycetales*. В 1954 г. Edward предложил новый термин — *Mollicutales* от латинских слов *mollis* — мягкий, пластичный и *cutis* — покров. Наконец, в 1955 г. была принята классифика-

ционная схема Freundt (1955), согласно которой был установлен указанный выше порядок — *Mycoplasmatales*.

Развитие исследований по биологии микоплазм, открытие все новых и новых представителей этого семейства обусловили настоятельную необходимость в международном соглашении по номенклатуре микоплазм. В 1966 г. на Международной конференции по биологии микоплазм в Нью-Йорке инициативная группа во главе с Edward организовала Временный субкомитет по номенклатуре микоплазм. Субкомитет выработал некоторые положения и рекомендации, касающиеся таксономии микоплазм, которые были одобрены и утверждены Международным комитетом по номенклатуре бактерий 23 июля 1966 г. в Москве. Протоколы и решения Международного субкомитета по номенклатуре получили юридическое утверждение и были опубликованы в *International of Systematic Bacteriology and Science* в 1967 г.

Согласно решению субкомитета по номенклатуре микоплазм порядок *Mycoplasmatales* замещен более крупным таксоном — классом *Mollicutes*.

В этот класс отнесены микроорганизмы, лишенные ригидной клеточной стенки, ограниченные пластичной цитоплазматической мембраной, отличающиеся вследствие этого полиморфизмом и представляющие собой мельчайшие репродуцирующиеся элементы размером 200 мкм и менее. Эти признаки являются определяющими для данного класса и существенно отличают класс *Mollicutes* от бактерий. Вместе с тем они свидетельствуют о невозможности дифференцировать микоплазмы от некоторых стабильных, утративших способность к реверсии бактерий L-форм, и лишь очень подробное изучение биологических свойств, антигенных различий, гомологии нуклеиновых кислот позволяет провести видовую идентификацию отдельных видов семейства *Mycoplasmataceae* и отличить их от стабильных L-форм бактерий.

Вопрос о критериях дифференциации стабильных L-форм от микоплазм и элементарных фильтрующихся структур микоплазм от вирусов имеет первостепенное значение не только для выяснения теоретических вопросов филогенеза разных групп микроорганизмов, но и для чисто утилитарных целей микробиологической диагностики и идентификации инфекционных агентов, обнаруживаемых в патологическом материале, и, к сожалению, иногда неидентифицируемых. Этот вопрос дискутируется в современной литературе. В настоящее время усиленно разрабатываются экспериментальные подходы для установления подобных критериев: морфологических (на уровне изучения субструктур), химических и биофизических (изучение химического состава и физических свойств отдельных структурных компонентов, особенностей метаболизма, генетической дифференциации по данным гомологии нуклеиновых кислот и упаковки генома), серологических и иммунохимических показателей (изучение антигенных особенностей и антигенного состава для серологической дифференциации) и др.

Можно надеяться, что разработка критериев таксономической дифференциации микоплазм от L-форм бактерий и их элементарных структур от вирусов будет завершена в недалеком будущем. Тем не менее в настоящее время необходимо пользоваться существующей классификацией и тем набором признаков, которые характеризуют семейство *Mycoplasmataceae* и в какой-то степени помогают дифференцировать их от относительно стабильных L-форм бактерий.

Говоря о критериях дифференциации микоплазм и вирусов (при условии внутриклеточной локализации первых), мы исходим из накопившихся фактов идентификации многих вирусоподобных агентов как микоплазм. Известно, что многие вирусоподобные агенты (возбудитель плевропневмо-

нии рогатого скота, агалактии коз, респираторных заболеваний собак и свиней, грызунов и птиц, первичной атипичной пневмонии человека, вирусоподобные агенты, обнаруживаемые при лейкозе человека) в настоящее время относят к семейству *Mycoplasmataceae*. Идентификация этих агентов как микоплазм основывается на способности расти в виде характерных колоний на искусственных питательных средах. В этой связи следует отметить, что и сейчас единственным критерием дифференциации мельчайших фильтрующихся, иногда располагающихся внутриклеточно, элементов микоплазм от вирусов является их рост на бесклеточных средах. Является ли этот критерий абсолютным? Имеются ли «элементарные тельца» микоплазм, способные к репродукции лишь в условиях живой клетки, и утрачивают ли они способность размножаться в бесклеточных средах? Экспериментальные подходы к изучению этих вопросов уже разрабатываются. Изучение сходства и различий микоплазм и вирусов в разных клеточных системах, особенности поведения микоплазм в культурах клеток, характер и механизмы воздействия микоплазм на клетки, их взаимоотношения с вирусами при смешанной инфекции клеточных культур — все эти вопросы начиная с 1960 г. разрабатываются у нас в лаборатории и в других лабораториях. Результаты этих работ, оформленные в виде кандидатских диссертаций И. В. Раковской (1968), В. В. Неустроевой (1969) и ряде публикаций, подвергаются анализу в соответствующих главах настоящей книги.

Первые 3 монографии, посвященные проблеме микоплазм и L-форм бактерий, вышли в свет одна за другой (Freundt, 1958; В. Д. Тимаков, Г. Я. Каган, 1961; Klieneberger-Nobel, 1962). В монографии Freundt в основном рассматриваются таксономия, морфология и отчасти биология микоплазм. В книге Klieneberger-Nobel охарактеризованы некоторые патогенные виды микоплазм животных и L-форм бактерий.

В нашей первой монографии «Биология L-форм бактерий» (В. Д. Тимаков, Г. Я. Каган, 1961) содержатся сведения о морфогенезе L-форм разных видов бактерий, дается их морфологическая и биологическая характеристика, приводятся наблюдения, касающиеся реверсии и стабилизации L-форм, и проводится сравнительный анализ фильтрующихся форм бактерий и субмикроскопических фильтрующихся элементов L-вариантов бактерий.

В 1967 г. была издана вторая наша книга «Семейство *Mycoplasmataceae* и L-формы бактерий» (В. Д. Тимаков, Г. Я. Каган, 1967), в которой более подробно излагается сравнительный анализ морфологии L-форм непатогенных и особенно патогенных видов бактерий и микоплазм, их субмикроскопической структуры, химического состава, физиологических особенностей, метаболизма, антигенных свойств и патогенности. В этой монографии четко сформулированы наши взгляды на филогению микоплазм, приведены результаты первых наблюдений выделения L-форм из патологического материала, изложены перспективы последующих исследований роли L-форм и микоплазм в патологии.

Почти одновременно с нашей книгой вышла монография американских исследователей Rapos, Crawford, Smith и Lynn (1967). В ней приведены обобщенные результаты работ Военно-морского исследовательского отдела в Грэйт-Лейк по изучению роли *M. pneumoniae* при первичных атипичных пневмониях и других респираторных заболеваниях человека (Crawford), итоги исследований биохимии семейства микоплазм: химического состава структурных компонентов, биосинтеза и метаболизма (Smith), результаты сравнительного изучения L-форм, сферопластов и бактериальных форм стрептококка (Rapos), некоторые данные, характеризующие иммунологию микоплазм и бактериальных L-форм (Lynn).

В монографии Г. Я. Каган и И. В. Раковской «Микоплазма-инфекция в культурах ткани», изданной в 1968 г., сделаны первые обобщения результатов работ, характеризующих поведение микоплазм в культурах ткани.

В 1969 г. под редакцией Hayflick была опубликована монография, написанная большой группой американских и английских авторов под общим названием «Mycoplasmales and the L-phase of bacteria», в которой приведены обзоры по разным аспектам современной микоплазматологии.

В настоящей монографии мы даем анализ и обобщение наших 15-летних работ в области изучения биологии L-форм бактерий и микоплазм и их роли в патологии.

Книга состоит из 2 частей. В первой части «L-варианты микроорганизмов и их роль в патологии» последовательно анализируются материалы об индукции L-форм *in vitro*, дается биологическая характеристика L-форм бактерий, их стабилизация, реверсия и биологическая характеристика бактерий-ревертантов. Подробно рассматриваются патогенные потенции L-форм бактерий, их индукция и реверсия *in vivo*, патологические реакции и экспериментальные модели патологических процессов, вызванных L-формами бактерий и другими вариантами, утратившими ригидную клеточную стенку, а также содержатся сведения о выделении L-форм из патологического материала и идентификации их при некоторых заболеваниях человека.

Во второй части книги, «Микоплазмы и их роль в патологии», представлены данные, характеризующие биологию микоплазм, материалы об их филогении и таксономии, основные критерии дифференциации микоплазм и L-форм бактерий и видовой идентификации микоплазм; рассматриваются патогенные потенции микоплазм в клеточных системах *in vitro* и в зараженном организме, проблема смешанных микоплазма-вирусных инфекций. Завершением этой части книги служат материалы по микоплазма-инфекции человека и животных, их эпидемиологии и эпизоотологии.

В отдельных главах книги, документирующих результаты экспериментов, выполненных нами и нашими сотрудниками, мы детально описываем методики (идентификация, лабораторная диагностика, условия культивирования и др.). Это представляется нам целесообразным, так как с проблемой микоплазм и L-форм бактерий может столкнуться не только экспериментатор, но и практический работник.

Некоторая несоразмерность отдельных глав обусловлена целенаправленностью книги, необходимостью наиболее полно представить разделы, характеризующие роль L-форм бактерий и микоплазм в патологии.

Мы далеки от мысли, что наша книга полностью отражает все аспекты современной микоплазматологии, однако убеждены, что представленные в ней данные характеризуют определенный переломный этап в изучении L-форм бактерий и микоплазм. Перспективность последующих исследований роли этих удивительно своеобразных микроорганизмов в патологии человека, животных, насекомых и растений зависит от оригинальности подхода к изучению этой проблемы. Надеемся, что этот аспект микоплазматологии будет творчески разрабатываться молодым поколением микоплазматологов, подготовленных в нашей стране.

В заключение мы хотим поблагодарить всех наших многолетних сотрудников — друзей и единомышленников, разделявших с нами труд и сомнения, горечь разочарований и редкие крупицы удач.

Часть первая • L-варианты
микроорганизмов
и их роль в патологии

Изменения, которые происходят в процессе превращения микроорганизмов в L-формы, касаются многих признаков и могут быть отнесены к категории явлений, представляющих своеобразный феномен, известный в литературе под названием L-трансформации, или L-конверсии. Принципиальной особенностью этого процесса является полная или частичная утрата ригидной клеточной стенки и образование вполне жизнеспособных вариантов, отличающихся по ряду признаков от других менее жизнеспособных, дефектных по клеточной стенке форм (сферо- и протопласты).

Подробный анализ дифференциальных признаков L-вариантов бактерий, гетероморфных форм, форм незавершенного L-цикла или M-форм (терминология Tulasne, 1955), сферо- и протопластов проведен в наших предыдущих монографиях (В. Д. Тимаков, Г. Я. Каган, 1961, 1967). Сформулированные нами положения о критериях дифференциации и идентификации L-вариантов бактерий за прошедшее время не изменились и полностью подтвердились в ряде последующих работ Hījumans, Van Voven и Clasener (1969).

К основным критериям дифференциации различных вариантов микроорганизмов с дефектом клеточной стенки можно отнести:

- 1) причины и условия их индукции;
- 2) способность к росту на питательных средах и особенности роста;
- 3) морфология колоний, микроструктур и субструктур;
- 4) способность к размножению и его характер;
- 5) способность к стабилизации измененных вариантов (L-форм) и реверсии исходных бактериальных форм.

Эти критерии позволяют определить L-формы как варианты микроорганизмов, полностью или частично утратившие клеточную стенку, но сохранившие некоторые ее предшественники и обладающие потенциальной способностью к реверсии исходных бактериальных форм.

Биологическое значение L-форм заключается в том, что они являются формой выживания и размножения микроорганизмов без ригидной клеточной стенки.

Поскольку L-формы в определенных условиях жизни образуются почти у всех бактерий, ряд исследователей (Klieneberger-Nobel, 1960, 1962; Hījumans, van Voven, Clasener, 1969, и др.) предпочитают пользоваться термином «L-фаза бактерий», подчеркивая этим их значение как закономерной фазы жизненного цикла бактерий, лишенных ригидной клеточной стенки. Klieneberger-Nobel (1960) применяет термин L-фаза только для стабильных L-форм, полагая, что реверсирующие L-формы являются предшественниками стабильных и поэтому их можно назвать «транзитными», или промежуточными. Термин «транзитные» формы широко используется в современной литературе (Guze, 1968), однако разные авторы определяют

этим термином разные объекты (нестабильные L-формы, протопласты, сферопласты, сферопластоподобные тела и др.). Применение термина «транзитные» ко всем дефектным по клеточной стенке формам бактерий, являющихся потенциальными предшественниками L-форм, в известной степени оправданно, однако мы считаем совершенно неправомерным распространение его на нестабильные L-формы, способные размножаться и длительно, иногда годами, перевиваться в виде нестабильных L-форм при сохранении способности к реверсии.

Термин «L-вариант бактерий» кажется нам наиболее приемлемым для определения L-форм.

В первой части книги мы приводим сводку и анализ материалов, характеризующих условия L-трансформации, биологические свойства L-вариантов бактерий, особенности стабилизации L-форм и реверсии бактерий из них, а также роль нестабильных и стабильных L-форм в патологии.

Глава первая Факторы и условия индукции L-вариантов бактерий

Способность к L-трансформации — свойство, присущее многим, если не всем, видам бактерий, а также другим микроорганизмам.

Преобразование бактерий в L-формы зависит от следующих факторов: 1) факторов, обуславливающих индукцию L-форм, длительности и интенсивности их воздействия; 2) состава питательной среды и условий культивирования; 3) вида микроорганизма; 4) состояния популяции; 5) индивидуальной чувствительности отдельных штаммов и клеток популяций к L-трансформирующему воздействию.

ФАКТОРЫ ИНДУКЦИИ L-ВАРИАНТОВ БАКТЕРИЙ

L-формы образуются независимо от их видовой принадлежности при воздействиях, блокирующих синтез основных компонентов клеточной стенки (как это имеет место при образовании сферопластов), либо при ее разрушении соответствующими ферментами в условиях повышенной осмотической концентрации среды аналогично образованию протопластов. Образование сферопластов или протопластов может явиться начальной фазой L-трансформации. Однако этот процесс, как мы уже указывали, сложнее и, несмотря на идентичность воздействия и начальных изменений, последующие фазы L-трансформации существенно отличаются от неразвивающихся сферо- и протопластов образованием вполне жизнеспособных нестабильных и стабильных L-форм, имеющих ряд присущих лишь им признаков (В. Д. Тимаков, Г. Я. Каган, 1967).

Индукция L-форм зависит от трех условий: 1) действия факторов, вызывающих нарушение синтеза или разрушение муреиновой структуры клеточных стенок; 2) защиты от лизиса бактерий, лишенных ригидного слоя; 3) создания условий для их размножения в L-форме.

Клеточная стенка бактерий содержит биополимер муреин, обуславливающий ее ригидность. Помимо муреинового комплекса, в составе клеточных стенок имеются тейхоевые кислоты, которые локализируются между клеточной стенкой и мембраной и связаны с муреином ковалентными фосфодиэфирными связями.

Муреин состоит из повторяющихся мукопептидных единиц и единиц пептидогликана. В его составе обнаружен N-ацетил-глюкозамин, соединенный гликозидной связью с N-ацетилмурамовой кислотой. Муреин обнаруживается у всех видов бактерий, варьируя в строении и внутренних перекрестных связях. В составе муреинового комплекса имеются аминокислоты L- и D-аланин, D-глутаминовая кислота, 2,6 (α - ϵ)-диаминопимелиновая кислота (ДАП), L-лизин. Последний встречается преимущественно у грамположительных бактерий. У некоторых видов бактерий имеется глицин, серин и аспарагиновая кислота. Грамположительные бактерии отличаются более высоким содержанием муреина и более сложным строе-

нием перекрестных пептидных связей, чем грамотрицательные. Некоторые грамположительные кокки содержат 90% муреина по отношению к весу стенки, в то же время *E. coli* — не более 10% муреина. У многих грамположительных видов были выявлены рамноза, глюкозамин, галактозамин, манноза, арабиноза и 6-дезокситалоза.

У грамположительных бактерий ригидный муреиновый слой находится снаружи, у грамотрицательных он локализуется внутри, покрыт еще двумя слоями липопротеиновой и липополисахаридной природы, связанными с муреиновым опорным каркасом.

По Strominger (1968), синтез муреина клеточной стенки осуществляется в 3 фазы. Каждая из них может блокироваться соответствующими индуцирующими L-формы факторами.

Первая фаза биосинтеза — образование уридиннуклеотидных предшественников, локализующихся в цитоплазматической фракции клетки и обуславливающих синтез конечного продукта УДФ-ацетилмурамилпентапептида клеточной стенки. Формирование протопластов и L-форм под влиянием D-циклосерина автор связывает с нарушением именно фазы синтеза уридиннуклеотидных предшественников клеточной стенки.

Вторая фаза синтеза клеточной стенки осуществляется в клеточной мембране. В этой стадии 2 уридиновых нуклеотида (УДФ-ацетилглюкозамин и УДФ-ацетилмурамил-пентапептид) переносят свои углеводные фрагменты к связанному с мембраной фосфолипиду и формируют, пройдя ряд последовательных реакций, новую единицу клеточной стенки. Три антибиотика — ристоцитин, ванкомицин и бацитрацин — ингибируют этот фосфолипидный цикл, ведущий к синтезу линейного пептидоглюкана. Несмотря на то что ристоцитин и ванкомицин являются ингибиторами второй фазы синтеза клеточной стенки, они не всегда индуцируют формирование сферопластов и L-форм.

Третья, конечная, фаза синтеза — транспептидная реакция. Она происходит на наружной стороне мембраны. Пенициллин и цефалоспорины являются ее ингибиторами.

Эти данные представляют интерес, так как свидетельствуют о возможности не только непосредственного L-трансформирующего действия агентов на клеточную стенку, но и более сложного и опосредованного действия через фазы биосинтеза клеточной стенки, осуществляющиеся вне ее, в мембране. При конструировании рациональных принципов химио- и антибиотикотерапии инфекций необходимо учитывать и специфику действия громадного числа уже известных сейчас L-трансформирующих факторов, принимая во внимание возможность индукции и латенции в организме больного L-форм или других вариантов микроорганизмов, лишенных клеточной стенки. В этой связи представляется необходимым использовать комбинации препаратов, последовательно действующих на синтез клеточной стенки, цитоплазматической мембраны и внутриклеточного белка.

Известен универсальный L-трансформирующий эффект пенициллина. Механизм действия этого антибиотика связан с нарушением перекрестного соединения пептидных цепей муреина. Так как в муреиновом слое у грамположительных и грамотрицательных бактерий есть принципиально одинаковые структуры, L-варианты могут индуцироваться пенициллином у тех и других. После индукции L-форм пенициллином, как правило, не находят муреина, но иногда обнаруживают предшественники этого полимера.

Механизм действия метициллина и D-циклосерина на микробную клетку обусловлен, как мы указывали выше, их ингибиторным действием

на первую фазу синтеза пептидной цепи муреина. Вместе с тем ингибирование синтеза D-цикloserином обратимо и может быть устранено с помощью D-аланина (Panos, Cohen, Fagan, 1967; Strominger, 1968). D-цикloserин, являющийся структурным аналогом D-аланина, индуцирует образование и рост L-форм гемолитических стрептококков (Michel, Hijmans, 1960), *Salmonella*, *Proteus* и *Staphylococcus* (Ward, Martin, 1962).

В результате изучения способности некоторых антибиотиков индуцировать образование L-форм стафилококков, Kagan (1968) удалось подразделить их на несколько групп:

1. Пенициллин, цефалотин, лизостафин, оказывая первичное действие на клеточную стенку, индуцируют L-трансформацию, а возникшие L-формы приобретают резистентность к этим агентам из-за отсутствия клеточной стенки.

2. Бацитрацин, ванкомицин и ристоцитин не индуцируют образования L-форм стафилококков.

3. Полимиксин оказывает наиболее выраженное первичное действие на цитоплазматическую мембрану и вызывает L-трансформацию стафилококков. L-формы стафилококка, полученные под влиянием других воздействий, оказались более чувствительными к полимиксину, чем интактные бактериальные формы.

4. Эритромицин, олеандомицин, линкомицин и тетрациклин, действующие преимущественно на процессы, протекающие в цитоплазме, не дают L-трансформирующего эффекта. Как правило, L-формы чувствительны к эритромицину и тетрациклину — активным ингибиторам белкового синтеза. Следует отметить, что добавление линкомицина к культуре *Staphylococcus aureus* ингибирует L-трансформирующее действие метициллина (Dalton, Allison, Escobar, 1968).

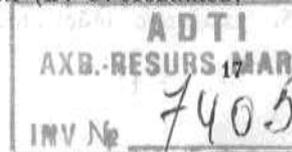
5. Неомицин, стрептомицин, гентамицин, а также хлорамфеникол и новобиоцин не являются факторами индукции L-форм стафилококков.

Сопоставление результатов изучения L-индуцирующего действия указанных антибиотиков на стафилококки с данными, полученными при изучении других видов бактерий, позволяет прийти к заключению о возможности условной дифференциации антибиотиков на 3 группы:

1) универсальные факторы индукции L-форм, вызывающие их образование независимо от видовой принадлежности микроорганизмов (пенициллин);

2) антибиотики, оказывающие избирательное L-трансформирующее действие в зависимости от видовой принадлежности микроорганизма. К этой группе следует отнести бацитрацин, вызывающий индукцию L-форм стрептококков (Goeder, Maxted, 1964; Rotta et al., 1965; Panos et al., 1967), бацитрацин, ванкомицин и ристоцитин, индуцирующие образование L-форм *N. meningitidis*. Избирательность L-индуцирующего действия отмечена также у стрептомицина. Известно, что он не вызывает образование L-форм у *Salmonella*, *Streptobacillus moniliformis*, *Proteus vulgaris*, *Shigella*, *E. coli*, *H. influenzae*, *B. anthracis*, *Streptococcus haemolyticus* (Dienes, Weinberger, 1954; Pulvertaft, 1953; Crawford et al., 1958). Вместе с тем для некоторых других видов стрептомицин является активным фактором индукции L-форм. Отмечено образование L-форм молодых культур холерного вибриона (Carrère, Roux, 1953c) и *M. tuberculosis* (З. Н. Кочемасова, 1969; Rubio-Huertas, 1957; Mattman et al., 1960);

3) антибиотики, у которых не отмечен L-трансформирующий эффект: тетрациклин, канамицин и др., а также хлорамфеникол (В. С. Левашев, 1956; С. В. Прозоровский, 1959; Kagan, 1968).



L-формы нередко образуются при комбинированных воздействиях. Так, сочетание лизоцима, пенициллина и глицина вызывает эффект индукции L-форм у некоторых грамположительных бактерий (Madoff et al., 1967). Были получены L-формы у *B. subtilis*, стрептококков группы А и D. Из 20 штаммов стрептококков группы D 17 образовывали L-формы под влиянием пенициллина, один штамм — под действием глицина и один — под влиянием всех трех L-индуцирующих препаратов.

L-формы получены из 12 культур стрептококков группы А под действием пенициллина и глицина. Комбинация этих агентов увеличивала продукцию L-форм, лизоцим не индуцировал превращения стрептококков группы А в L-формы.

Зависимость индукции L-форм от блокирования синтеза отдельных компонентов клеточной стенки была продемонстрирована на модели *E. coli* (Lederberg, St. Chair, 1958). Так, при длительном культивировании штамма Е на среде, содержащей диаминопимелиновую кислоту (ДАП), был получен ДАП-зависимый мутант, который при культивировании на среде без ДАП превращался в колонии стабильных L-форм. Пассирование этих стабильных L-колоний ДАП-зависимого мутанта на среде, содержащей ДАП, сопровождалось реверсией бактерий исходного вида.

Таким образом, одно исключение важнейшего компонента клеточной стенки — ДАП из метаболизма без внешних ингибирующих воздействий обуславливало превращение бактериальной популяции в L-форму.

Совпадающие результаты были получены при изучении и некоторых других видов. Например, выращивание негемолитических стрептококков, нуждающихся в сульфгидрильных компонентах, сопровождалось в среде, не содержащей этих компонентов, ростом L-колоний (Frenkel, Hirsh, 1960). Уменьшение стрептомицина в среде индуцировало рост L-форм стрептомицинзависимого штамма *S. paratyphi* (Landman et al., 1962).

Воздействие муралитических ферментов на муреиновый комплекс клеточных стенок может также завершиться индукцией L-форм (Gooder, Maxted, 1958; Gooder, 1968). Так, получение лизоцимных протопластов является известным фактом, однако лишь относительно недавно была показана возможность получения из лизоцимных протопластов L-вариантов бактерий (Г. И. Федорова, 1965). Факт размножения лизоцимных протопластов *B. megaterium* в жидкой среде был установлен в опытах Kusaka (1967). Рост L-колоний из протопластов, полученных под влиянием лизоцима, отмечен в *B. subtilis* (Madoff et al., 1967), *S. faecalis* (King, Gooder, 1965; Madoff, Burke, Dienes, 1967).

Другой фермент, растворяющий мурейн клеточной стенки, был получен из фагового лизата стрептококка группы С (Maxted, 1957; Krause, McCarty, 1964). Этот фермент сходен по механизму действия с лизоцимом, но в отличие от него действует на мурейн клеточной стенки стрептококков группы А, которые не чувствительны к лизоциму. Фагоассоциированный лизин вначале использовался для получения протопластов стрептококка группы А (Gooder, Maxted, 1958), но позже была показана возможность индукции L-вариантов стрептококка группы А (Freimer et al., 1959; Gooder, Maxted, 1961). Спонтанная индукция L-форм в среде культивирования может быть также вызвана действием аутолитических ферментов.

Рассматривая индукцию L-форм под влиянием биологически активных веществ — лизина и лизоцима, Hijmans с соавторами (1969) отмечают, что L-индуцирующий эффект антисыворотки и комплемента, как было показано у *S. typhi* (Dienes et al., 1950) и *V. cholerae* (Janetta, Wedgwood, 1967), сходен с действием лизоцима.

Весьма активными факторами L-трансформации являются некоторые аминокислоты: DL-метионин, фенилаланин, аргинин, глицин, некоторые аминокислотосодержащие соединения, например карбоксиметоксиламин. Установлено L-трансформирующее действие L-метионина, аргинина и глицина, а также пептона на *S. typhi*, *S. typhi murium*, *H. influenzae*, *Cl. tetani*, *Streptococcus* (Dienes et al., 1950; Dienes, Weinberger, 1951; Dienes, Zamecnick, 1952; Madoff, Dienes, 1958; Rubio Huertas и Gonzalis Waskez, 1960; Lapinski, Klakas, 1967).

Концентрация аминокислот в среде, способствующая образованию и последующему размножению L-колоний, варьирует в зависимости от вида бактерий. Так, при 4% глицине рост L-форм *Streptobacillus moniliformis* полностью отсутствует; 2% концентрация глицина частично задерживает рост, а при 1% концентрации L-формы растут в изобилии. Klieneberger-Nobel (1958) отмечает, что глицин в концентрации 0,05—0,07% ускоряет образование L-форм *B. Morax-Axenfeld*.

Комбинированное действие глицина, пенициллина¹ и циклосерина вызывает образование L-форм β-гемолитических стрептококков группы A (Hijmans et al., 1969).

Карбоксиметаксиламин способствует образованию L-форм *S. typhi murium*, *S. typhi* и *H. influenzae*. L-трансформирующее действие этого вещества проявляется в узких границах концентраций. При концентрации 0,1% рост бактерий полностью задерживается; 0,05% концентрация ведет к набуханию клеток, превращению их в большие тела, которые вскоре дезинтегрируются и гибнут; 0,025% и 0,012% карбоксиметаксиламина в среде также способствуют превращению бактерий в большие тела, из которых развиваются L-формы (Dienes et al., 1950, 1951). Комбинированное действие лейцина и хлористого лития на *E. coli* сопровождается образованием L-форм. Putsurra, Stybalski (1959); Strominger и Birge (1965) связывают L-трансформирующее действие глицина с тем, что он замещает L-аланин в пептидной цепи мурамовой кислоты клеточной стенки.

При изучении действия разнообразных химических препаратов установлено, что соли ртути, кадмия, хрома, лития и многие антисептические вещества (фенол, формальдегид, горчиный газ, кристаллический фиолетовый, акрихин) не вызывают индукции L-форм или способствуют их образованию крайне редко (Dienes, 1944, 1946; Dienes et al., 1950; Dienes, Weinberger, 1951; Dienes, Sharp, 1956).

Группа сульфаниламидов также не вызывает превращения бактерий в L-формы (С. В. Прозоровский, 1959; Dienes, Weinberger, Madoff, 1950).

Из физических факторов, способствующих L-трансформации, можно отметить действие X-лучей на отдельных представителей группы протей (*Tulasne*, 1950, 1951; Dienes, 1953) и ультрафиолетовых лучей, которые индуцируют образование L-форм у *A. tumefaciens* (Cabezas de Herrera, Rubio Huertas, 1967). Однако анализ этих материалов позволяет причислить полученные под влиянием X- и ультрафиолетовых лучей варианты к L-формам лишь с оговоркой, так как неизвестно, соответствовали ли эти измененные варианты всем признакам, присущим L-формам.

Несовпадающие результаты опытов разных исследователей, а также преобладание отрицательных результатов при изучении L-трансформирующего действия некоторых химических и физических агентов, вероятно, объясняются нестандартными условиями проведения экспериментов, использованием разных видов и штаммов с разной чувствительностью к тому или иному воздействию, применением в большинстве случаев высоких дозировок, действующих бактерицидно.

СОСТАВ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД, УСЛОВИЯ ИНДУКЦИИ И КУЛЬТИВИРОВАНИЯ L-ФОРМ БАКТЕРИЙ

Непременным условием для индукции L-вариантов микроорганизмов является подбор соответствующих сред культивирования и предохранения L-форм от осмотического лизиса.

Обычно L-трансформация происходит в условиях полутвердых сред (1,3% агара — Dienes, Weinberger, 1951; Landman, Ginoza, 1961) и, как показали наши исследователи (Г. Я. Каган, В. С. Левашев, 1957, 1959; Г. Я. Каган, Т. Т. Савинкова, 1960; В. Д. Тимаков, Г. Я. Каган, 1960, 1961; Г. Я. Каган, 1963; Л. М. Устименко, 1964; В. С. Левашев, 1966; С. В. Прозоровский, 1959, 1970; Г. А. Котлярова, 1970), в условиях полужидких сред (0,3% агара).

Полужидкий агар оказался в наших опытах высокоэффективным для индукции L-форм *Salmonella*, *Proteus*, *E. coli*, *C. diphtheriae*, *Streptococcus haemolyticus*, *Staphylococcus*, *N. gonorrhoeae*, *L. monocytogenes* и *Tr. pallida*. Помимо полужидких агаровых сред, широко используемых отечественными исследователями, применяются полутвердые среды в двух вариантах: метод «pour plate» (нанесение жидкого материала на плотный агар) и метод «spread plate» (нанесение двухслойного агара, более плотного нижнего и более мягкого поверхностного, из которого посевной материал диффундирует вглубь). Индуцирующий агент, как и посевной материал, вносят в среду или наносят на среду; иногда используют диффузию агента — так называемый метод градиентных чашек.

Значительно реже наблюдается индукция L-форм в жидкой среде; она была получена у *Proteus* (Liebermeister, Kellenberger, 1956), *E. coli* (Winterbaug et al., 1967) и у *Staphylococcus* (Hamburger, Carleton, 1966).

Универсальных сред для получения и пассирования L-форм разных видов бактерий не существует. Состав сред и условия культивирования (сроки, температура, условия аэро- и анаэробнозиса или культивирование в атмосфере углекислого газа) зависят от вида бактерий, подвергающихся L-трансформации. Основными средами чаще всего являются триптический перевар мяса, сердечной мышцы быка, стандартные среды PPLO, экстракт мозга и сердца и т. д. В качестве дополнительных факторов роста используют дрожжевой гидролизат, печеночный, яичный экстракты и др.

Непременным условием индукции L-вариантов микроорганизмов является включение в состав среды нормальной сыворотки млекопитающих. Обязательное присутствие в среде культивирования сыворотки связывают главным образом с инактивирующим действием последней на некоторые вещества питательных сред, оказывающих ингибиторное действие на рост L-форм (Medill, O'Kane, 1954; Smith, 1964). Сыворотку можно заменить витаминами группы B (Tulasne, 1955) или активированным углем (Lorkiewicz, 1957).

Сравнительное изучение сывороток разных видов животных (Dienes, Weinberger, 1951; Edward, 1954; Minck, 1955) выявило высокую эффективность нормальной сыворотки лошади; пригодна также сыворотка кролика. Сыворотки морских свинок и мышей не способствуют росту L-форм. Для индукции L-форм протей и сальмонелл лошадиная сыворотка эффективней сыворотки человека или асцитической жидкости; хуже сыворотка кролика и не пригодна сыворотка мыши. Для индукции L-форм *Bacteroides* лучший результат дает сыворотка кролика (Dienes, 1941), для *N. gonorrhoeae* используют только сыворотку лошади; сыворотка человека и кролика совершенно не эффективны. Таким образом, очевидна некоторая вариабельность потребностей в сыворотке определенных видов млекопитающих.

у L-форм разных видов бактерий, вероятно, обусловленная их разными потребностями в стеринах. Более подробный анализ сред и условий культивирования L-форм бактерий приводится в наших монографиях (В. Д. Тимаков, Г. Я. Каган, 1961, 1967) и в книге Rapos с соавторами (1967).

Для индукции L-форм разных видов бактерий большое значение имеют состав и концентрация солей, стабилизирующих осмотическую концентрацию среды, в которой происходят индукция и последующее культивирование L-форм. Известно, что грамположительные и грамотрицательные виды обладают различной способностью регуляции осмотической концентрации среды. В этой связи индукция L-форм у последних, как правило, может происходить при обычной концентрации NaCl в среде (0,5%), для индукции L-форм грамположительных видов требуется повышенное содержание веществ, стабилизирующих осмотическую концентрацию среды.

В течение 1956—1966 г. мы изучали различные вещества для индукции и последующей стабилизации L-форм разных видов микроорганизмов (*Proteus*, *Salmonella*, *E. coli*, *C. diphtheriae*, *L. monocytogenes*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Pneumococcus*, *N. gonorrhoeae*, *N. meningitidis*, *Tr. pallida*). У грамположительных бактерий оказалась более высокая чувствительность к осмотическому давлению в среде культивирования и солевому составу, чем у грамотрицательных видов. Совпадающие результаты были получены и другими исследователями (Sharp, 1954; Dienes, Sharp, 1956; Crawford et al., 1958; С. В. Прозоровский, 1970).

Следует отметить интересную особенность L-форм протей: при низкой концентрации NaCl в среде развиваются только колонии типа А, при 2% концентрации NaCl в среде растут только колонии типа В (Kandler, Kandler, 1956). Содержание в среде центрифугирования 0,3 М сукцината натрия поддерживало жизнеспособность L-форм типа А, но подавляло рост L-форм типа В (Altenbern, 1961a). В отличие от L-форм стрептококка группы А L-формы *Str. viridans* индуцируются при 0,1 М NaCl (Sharp, 1954; Dienes, Sharp, 1956); та же концентрация достаточна для индукции и роста L-форм *B. subtilis* (Madoff et al., 1967). Значение качественного и количественного подбора солевых стабилизаторов для индукции L-форм *C. diphtheriae* было четко продемонстрировано Г. Я. Каган и В. Т. Савенковой (1960). Совпадающие данные получены и другими исследователями при изучении индукции L-форм пневмококка, которая наблюдалась при добавлении сахарозы и не происходила при добавлении высоких концентраций NaCl (Madoff, Dienes, 1958; С. В. Прозоровский, 1970). Размножение лизоцимных протопластов *B. megaterium* возможно при наличии в среде NaCl и не происходит при наличии сукцината натрия или сахарозы (Kusaka, 1967).

В отдельных случаях сферопластные формы, впоследствии дающие колонии L-форм, могут образовываться на среде с осмотическими стабилизаторами даже в отсутствие фактора индукции L-форм (Г. Я. Каган, 1963; С. В. Прозоровский, 1970). Избирательное действие различных солей, вероятно, помимо осмотического воздействия, стабилизирующего цитоплазматическую мембрану L-форм, связано также с ее видовыми физико-химическими особенностями. Это положение в ряде случаев получило экспериментальное подтверждение. При использовании низких концентраций ионов Mg (0,02 М) образуются протопласты, более резистентные к осмотическим и механическим влияниям (Weibull, 1956; McQuillen, 1958); аналогичный эффект дает спермин (Tabog, 1962). Значение ионов Mg для индукции L-форм было отмечено рядом исследователей применительно

к *E. coli* (Lederberg, Stelair, 1958), пневмококку (Madoff, Dienes, 1958) *Proteus* (Altenbern, 1961a) и стафилококку (Hamburger, Carleton, 1966).. В присутствии сыворотки L-формы могут адаптироваться к более низким концентрациям солей в среде. Этот факт, а также обнаружение в некоторых тканях повышенной осмотической концентрации солей (Opie, 1949) и спермина (Tabor, 1962) представляют особый интерес для анализа данных об индукции L-форм *in vivo*.

ЗНАЧЕНИЕ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ ВИДА, ШТАММА И ПОПУЛЯЦИИ БАКТЕРИЙ ДЛЯ L-ТРАНСФОРМАЦИИ

- Способность к L-трансформации присуща не только бактериям, но и другим микроорганизмам (дрожжи, трепонемы). Она описана у всех видов бактерий, хотя у некоторых встречается чаще, чем у других. Отмечены также определенные колебания в способности к L-трансформации у разных штаммов и даже у популяций одного и того же вида. •

Изучение в нашей лаборатории индукции L-форм разных видов бактерий позволило выявить существование определенной видовой варибельности. • Как правило, индукция L-форм наблюдалась чаще у грамотрицательных видов, с наибольшей частотой в группе *Salmonella* (у 49 из 52 штаммов), реже у кокков *N. gonorrhoeae* и *N. meningitidis* (у 75 из 94 и у 10 из 28 соответственно). У грамположительных бактерий индукция L-форм отмечалась с меньшей частотой — у 12 из 32 штаммов *C. diphtheriae*, у 13 из 64 гемолитических стрептококков и у 2 из 56 штаммов *Dipl. pneumoniae* (Г. Я. Каган, З. А. Песина, 1959; Г. Я. Каган, В. Г. Савенкова, 1960; Г. Я. Каган, 1963; Е. И. Контелова, Г. К. Миронова, 1968; С. В. Прозоровский, 1970). •

Однако видовая способность к индукции L-форм может значительно варьировать в зависимости от особенностей вида бактерий и условий индукции.

Штаммовая варибельность способности к индукции L-форм выражена также довольно четко (табл. 1).

ТАБЛИЦА 1. L-ТРАНСФОРМАЦИЯ И ПОСЛЕДУЮЩАЯ СТАБИЛИЗАЦИЯ У 12 ШТАММОВ *S. TYPHI*

| Число засеянных проб ¹ | Число проб | | | |
|-----------------------------------|----------------------------|---|------------------------------------|---|
| | отсутствие роста L-колоний | рост L-колоний через 14 дней после индуцирующего действия | из них стабилизировались в L-форме | смешанные культуры L-колоний и бактерий, резервсия бактериальных форм |
| 40 | 3 | 37 | 12 | 25 |
| 40 | 4 | 36 | 11 | 25 |
| 40 | 13 | 27 | 7 | 20 |
| 40 | 15 | 25 | 5 | 20 |
| 40 | 3 | 37 | 12 | 25 |
| 40 | 6 | 34 | 4 | 30 |
| 40 | 18 | 22 | 2 | 20 |
| 40 | 16 | 24 | 8 | 16 |
| 40 | 21 | 19 | 1 | 18 |
| 40 | 13 | 27 | 2 | 25 |
| 40 | 4 | 36 | 1 | 35 |
| | 6 | 34 | 2 | 32 |

¹ Каждый штамм засеяли одновременно в 0,3% агар Хоттингера с 500 ЕД/мл пеницилина и 10% нормальной лошадиной сыворотки в идентичных условиях.

Вариабельность образования L-форм, по-видимому, вызвана неоднородностью популяций, которые состояли из клеток, отличающихся разной степенью чувствительности к L-трансформирующему действию пенициллина. Пенициллин являлся не только фактором, вызвавшим образование L-форм у чувствительных к его трансформирующему действию клеток, но и селекционирующим фактором, обусловившим выживание L-форм и гибель бактериальных форм. Одновременное присутствие в популяции клеток, дающих рост лишь бактериальных форм при полном отсутствии L-колоний, объясняется тем, что в засеянной пробе большая часть клеток не обладала чувствительностью к L-трансформирующему действию пенициллина. В связи с этим наблюдался интенсивный рост бактерий, не позволявший выявить, возможно, имевшиеся в данной пробирке единичные L-формы.

Результаты наших наблюдений совпали с данными других авторов (Terranova, de Gregorio, 1957; Landman et al., 1958).

Соотношение общего числа бактериальных клеток и числа клеток, дающих L-трансформацию (коэффициент В/Л), и процент клеток, превращающихся в L-формы, значительно варьируют у разных видов и штаммов. Так, в группе *Proteus* коэффициент В/Л колеблется в пределах 26/1 — 250/1 (Terranova, de Gregorio, 1957), а минимальный процент клеток этого вида, дающий L-формы (0,001), отмечен Kandler и Kandler (1956). Несколько больший показатель (1%) получили Medill и O'Kane (1954) и Taubeneck (1962a), до 10% — Liebermeister и Kelenberger (1956); от 15 до 74% индукции L-форм протей наблюдали Bonifas (1954) и, наконец, максимальный процент (100) — Landman, Altenbern и Ginoza (1958).

В группе *Salmonella* (Terranova, de Gregorio, 1957) коэффициент В/Л был значительно меньшим, чем у *Proteus*, и колебался в пределах от 833 000 и 1—20 млн/1. Совершенно иные данные получены Landman и Ginoza (1961). Эти авторы отметили индукцию L-форм у 5—50% клеток *S. paratyphi*. О большой частоте L-трансформации у *Salmonella* говорят приведенные выше наши данные (В. Д. Тимаков, Г. Я. Каган, 1960, 1961, 1967; Г. Я. Каган, 1963), данные Madoff et al. (1967).

Частота образования L-форм у *E. coli* колеблется от 0,1 до 10—50% клеток (Lederberg, St. Clair, 1958).

Гетерогенность штаммов и популяций в отношении их способности к L-трансформации подтвердилась при изучении этого явления у отдельных клеток популяции β-гемолитических стрептококков (Г. Я. Каган, 1963). На чрезвычайную гетерогенность штаммов *Streptococcus viridans* указывают также данные Hijmans с соавторами (1969).

Отмечено наличие штаммов *Str. viridans*, дающих спонтанную индукцию L-форм. Вместе с тем встречаются штаммы, у которых процент индуцибельных клеток бывает очень низким — до 0,01.

При воздействии фагоассоциированным лизином на β-гемолитические стрептококки группы А Freimer и соавторы (1959) добились образования протопластов в 100% случаев, однако лишь 12% протопластов давали рост L-колоний. Gooder и Maxted (1961) сообщили, что, используя этот метод, можно получить у разных штаммов стрептококков группы А индукцию L-форм от 10 до 100% клеток.

Отмечена индукция L-форм у 100% клеток *B. subtilis* при воздействии лизоцима (Landman, 1968).

У *Cl. tetani* под влиянием пенициллина образуется 100% сферопластов и лишь 0,0005% L-колоний.

Приведенные данные позволяют считать, что различия в способности к L-трансформации у разных штаммов и даже клеток связаны с их различ-

ной индивидуальной чувствительностью к L-трансформирующему воздействию и условиям среды, благоприятствующим развитию и селекции L-форм.

L-формы могут в небольших количествах возникать в популяции как бы «спонтанно», без видимых внешних воздействий. Способность к спонтанной L-трансформации отмечена у некоторых грамотрицательных и грамположительных видов, например у *Streptobacillus moniliformis* (Klieneberger, 1935); *Bacteroides funduliformis* и *Flavo bacterium* (Dienes, 1939b, 1941), *B. subtilis* (Madoff et al., 1967), *Streptococcus viridans* (Hijmans, Dienes, 1955), *V. cholerae* (Carrère, Roux, 1953c), *E. coli* (Dienes, Weinberger, 1951).

Причины «спонтанных» превращений бактерий в L-формы пока не известны; тем не менее можно предположить, что L-трансформация в этих случаях обусловлена своеобразным действием продуктов метаболизма, накопившихся в среде культивирования или даже в самих клетках.

Зависимость индуцибельности L-форм от возраста культуры может быть также связана с особенностями метаболизма последней. В опытах ряда авторов (Liebermeister, 1953, 1955; Mattman, Bürgers, Farkas, 1958; Sielberstein, 1953; Hijmans, Kasteline, 1960; Landman, Ginoza, 1961) была установлена четкая зависимость способности к L-трансформации от возраста культуры. Особенно показательны опыты Liebermeister (1955), который отметил прямую зависимость образования L-форм протей под влиянием пенициллина от фазы роста популяции. При внесении пенициллина в начале логарифмической фазы роста появлялись лизированные клетки и клеточный детрит, при более позднем добавлении пенициллина, кроме лизированных клеток, можно было найти отдельные большие тела, которые в дальнейшем лизировались и исчезали. Добавление пенициллина в конце логарифмической фазы роста к жидкой культуре вульгарного протей способствовало формированию шаровидных и пузыревидных тел. При дальнейших пассажах в зависимости от условий можно было наблюдать либо лизис культуры, либо образование L-колоний, либо реверсию в бактериальные формы.

Пользуясь подсчетом колоний, автору удалось показать, что самопроизвольная частота превращения отдельных особей в L-форму колеблется от 5 до 15% в зависимости от состояния популяции. Как известно, в логарифмической фазе роста скорость размножения бактериальных клеток и увеличение популяции достигают максимума. К концу этой фазы размножившиеся клетки в популяции составляют 80% общего числа бактерий. Именно в данном периоде в популяции имеется максимальное число быстро размножающихся клеток, которые, подвергаясь L-трансформирующему воздействию, превращаются вначале в гигантские шаровидные и пузыревидные тела с последующим формированием при определенных условиях культивирования L-форм.

Таким образом, максимальное образование L-форм в логарифмической фазе роста связано с наличием максимального числа быстро размножающихся клеток, подвергающихся соответствующему L-трансформирующему воздействию, однако физиологические механизмы этого процесса остаются по-прежнему нераскрытыми. Возможно, это связано с повышенной ранимостью клеточной стенки быстро размножающихся бактерий, а также с большей чувствительностью некоторых видов бактерий, например *E. coli*, к осмотическому шоку.

В серии работ 50—60-х годов приводятся данные, свидетельствующие о корреляции способности к индукции L-форм и длительности пассирования бактерий в лабораторных условиях. Снижение способности к L-трансформации по мере пассирования в условиях искусственной среды отмече-

но в нашей лаборатории у *Salmonella*, *Streptococcus haemolyticus*, *Staphylococcus aureus*, *N. gonorrhoeae* и *N. meningitidis* (Г. Я. Каган, 1959; С. В. Прозоровский, 1970; Е. И. Коптелова, Г. К. Миронова, 1970) и другими авторами (Carrère, Roux, 1952, 1953c; Tulasne, 1955; Hijmans et al., 1969). Эти факты, на наш взгляд, имеют большое значение, так как могут свидетельствовать о том, что именно в организме хозяина бактерии, сопротивляясь гуморальным и клеточным механизмам защиты, сохраняются в способной к реверсии L-форме, и поэтому при выделении таких культур из организма они некоторое время сохраняют активную способность к индукции в L-формы. Правильность этой гипотезы подтверждают опыты, показавшие возможность получения шарообразных тел типа сферопластов и L-форм *in vivo* и их реверсии в этих условиях в патогенные бактериальные формы.

Ряд наших экспериментов, свидетельствующих о возможности L-трансформации и реверсии *in vivo* и легкости превращения в L-формы ревертантов L-форм, могут явиться косвенным доказательством того, что подобные штаммы, легко превращающиеся в условиях эксперимента в L-формы, ранее реверсировали в организме.

Вполне вероятно и другое предположение о возможности селекции в условиях организма наиболее устойчивых особей популяции, способных сохраняться в L-форме.

L-трансформирующий эффект соответствующих агентов зависит от дозы и длительности их воздействия. Кроме того, в настоящее время хорошо известно, что дозы, индуцирующие образование L-форм, могут в десятки раз превышать дозы, ингибирующие рост соответствующих бактериальных форм. Это установлено для *E. coli* (Lederberg, St. Clair, 1958), *Proteus* (Medill-Brawn, Hutchinson, 1957). Аналогичные данные получены в отношении *S. paratyphi* (Landman et al., 1962), *Staphylococcus* (С. В. Прозоровский, 1959; Hamburger, Carleton, 1966a), *Str. faecalis* (Kubota et al., 1966).

Зависимость L-индуцирующего эффекта от дозы и длительности воздействия пенициллина была продемонстрирована в нашей лаборатории. Так, при испытании индивидуальной способности к L-трансформации различных штаммов *S. typhimurium*, *N. gonorrhoeae*, *Staphylococcus aureus* и *Streptococcus haemolyticus* (С. В. Прозоровский, 1959; Г. Я. Каган, 1963, и др.) была обнаружена четкая зависимость L-трансформирующего действия пенициллина от дозировки антибиотика в среде культивирования. Непосредственное образование L-форм в первичном посеве наблюдалось у 3 из 9 изучавшихся штаммов *S. typhimurium* при относительно высоком содержании антибиотика (125—2000 ЕД/мл); формирование L-колоний отмечалось в относительно поздние сроки культивирования — на 20—30-й день после посева.

Воздействие более низких концентраций вело к образованию уже в первичном посеве у всех 9 штаммов длинных извитых форм, шаровидных тел типа сферопластов и гранул разной оптической плотности. Четыре штамма на средах с более высокими концентрациями пенициллина (от 500 до 10 000 ЕД/мл) образовывали нежизнеспособные L-колонии, не перевивающиеся в субкультурах. При последовательном пассировании этих культур на средах, содержащих более высокие концентрации пенициллина, на II и III пассажах формировались жизнеспособные, хорошо растущие в субкультурах L-колонии у 8 из 9 исследованных штаммов, в том числе у описанных выше 4 штаммов, дающих в первичном посеве при данных концентрациях рост нежизнеспособных L-колоний. Пассирование L-форм сопровождалось сокращением сроков их выращивания; интенсивный рост L-колоний во II и III пассажах отмечался на 6—7-й день.

Идентичные результаты получены при изучении индивидуальной реакции на L-трансформирующее воздействие β -гемолитических стрептококков и гонококков (Г. Я. Каган и др., 1959; Г. Я. Каган, 1963), а также стафилококков и пневмококков (С. В. Прозоровский и др., 1959, 1970).

Результаты этой серии опытов позволяют заключить, что независимо от видового происхождения бактерий разные штаммы обладают разной степенью чувствительности к L-трансформирующим воздействиям: встречаются штаммы, не формирующие L-колонии, но способные давать кратковременную реакцию в виде форм несбалансированного роста, сферопластов и др.; штаммы, формирующие L-колонии после прохождения фазы несбалансированного роста или сферопластов, и штаммы, формирующие L-колонии непосредственно после первичного воздействия.

Высказанное нами ранее предположение (В. Д. Тимаков, Г. Я. Каган, 1960, 1961, 1967) о том, что сферо- и протопласты могут явиться фазами генеза нестабильных и стабильных L-форм, за последнее время получило экспериментальное подтверждение (Gooder, Maxted, 1961; Г. А. Федорова, 1965; Panos, Cohen, 1966; Gumpert, Nermut, 1967; Madoff, 1967; Weibull, 1968; Kagan, 1968a; Gooder, 1968; Clive, Landman, 1968; Landman, Forman, 1969). Так, например, используя метод фильтрации лизоцимных протопластов *B. subtilis* через миллиметровые фильтры с последующим наложением этих фильтров на соответствующую питательную среду, Clive и Landman (1968) наблюдали интенсивный рост L-колоний. Число протопластов на фильтре и число выросших L-колоний составило 100%.

Madoff (1967) назвала L-формы, индуцированные лизоцимом, «протопластными» культурами. Под воздействием лизоцима на *B. subtilis* образовались протопласты, которые при переносе на плотную среду давали рост типичных L-колоний. Аналогичную терминологию предлагают Taubenesck и Gumpert (1967), дифференцирующие L-формы на L-формы сферопластного типа (остаются компоненты клеточной стенки) и протопластного типа (полностью лишенные ее); в составе тех и других имеются культуры, способные стабилизироваться в L-форме.

- Превращение в L-формы — свойство, присущее, вероятно, всем микроорганизмам. Агенты, оказывающие L-трансформирующее воздействие, либо блокируют определенные звенья биосинтеза клеточных стенок, преимущественно муреинового комплекса, либо их разрушают. Действие этих агентов может быть непосредственным либо опосредованным — через фазы синтеза клеточной стенки, осуществляющиеся вне ее, в цитоплазматической мембране. В этой связи следует обратить особое внимание на спектр действия разных лечебных препаратов, которые могут оказывать как непосредственное, так и косвенное действие на клеточную стенку.
- К L-индуцирующим факторам относятся антибиотики соответствующего механизма действия, муралитические ферменты (лизоцим, эндоацетилгексозаминидаза фагоассоциированного лизина стрептококков группы C), некоторые аминокислоты. • Исключение некоторых компонентов клеточной стенки из метаболизма бактерий (например, ДАП из среды культивирования ДАП-зависимого мутанта *E. coli*) может также вести к индукции L-форм. • Пенициллин, лизостафин и циклосерин представляют собой универсальные факторы L-трансформации. • Другие антибиотики, например неомицин, гентамицин или стрептомицин, обладают видовой избиратель-

ностью в отношении L-индуцирующего действия, обусловленной специфичностью их влияния на фазы синтеза клеточной стенки того или иного бактериального вида.

Индукция L-форм под влиянием разнообразных антибиотических препаратов *in vitro* и усиление индуцирующего эффекта некоторых комбинаций, нередко используемых в терапевтической практике, как бы моделируют соответствующие жизненные ситуации и являются наглядной иллюстрацией возможных источников возникновения вариантов, структурная организация которых характеризуется утратой клеточной стенки.

Условия L-трансформации и культивирования L-форм предусматривают конструирование соответствующих сред и создание физико-химического окружения, способствующего стабилизации осмотически хрупкой мембраны L-форм, предохраняющей их от гибели.

• Конечный эффект действия L-трансформирующих агентов зависит от их дозировки, длительности экспозиции, индивидуальной чувствительности вида, штамма, популяции, клона.

В условиях одного и того же опыта можно наблюдать образование в той же самой популяции разнообразных форм несбалансированного роста, сферопластов, нестабильных и стабильных L-форм, деструкцию и гибель отдельных клеток. При равных условиях опыта в пределах каждого вида имеются штаммы, обладающие разной способностью к L-трансформации. В пределах каждого штамма и каждой отдельной популяции имеются клетки, легко и непосредственно превращающиеся в L-формы, клетки с ограниченной способностью к L-трансформации, дающие L-формы после фазы сферо- и (или) протопластообразования, и клетки нежизнеспособные, быстро гибнущие при действии трансформирующих агентов. Растущие культуры в конце логарифмической фазы роста являются наиболее благоприятными объектами для исследования L-трансформации.

Состав питательных сред и условия культивирования варьируют в зависимости от вида бактерий; общим является присутствие нормальной лошадиной сыворотки и полужидкая или полутвердая консистенция агарового геля. В зависимости от потребностей трансформированного вида в соответствующей гипертонической среде культивирования в ее состав вводят вещества, стабилизирующие осмотическую концентрацию агара и способствующие сохранности цитоплазматической мембраны L-форм.

Большое значение имеет качественный и количественный подбор стабилизирующих веществ и L-трансформирующего фактора.

Непосредственный интерес представляет повышенная индуцибельность свежевыделенных штаммов по сравнению со штаммами, длительно перевывавшимися в лабораторных условиях. Это может служить показателем способности бактерий превращаться в L-формы при соответствующих воздействиях в условиях организма.

Глава вторая • Биологическая характеристика L-вариантов бактерий

- Изучение биологической характеристики L-форм бактерий представляет значительный интерес с разных точек зрения. Во-первых, сравнительный анализ биологических свойств L-форм и других вариантов бактерий с разной степенью дефектности или полной утратой клеточной стенки может способствовать выявлению биологической сущности самого явления индукции L-форм и может определить ключевые позиции для оценки их роли в филогенезе микоплазм — микроорганизмов, у которых отсутствие клеточной стенки является эволюционно закрепленным признаком. Во-вторых, эти данные должны явиться основой для последующей оценки роли L-форм в этиологии, патогенезе, иммуногенезе и эпидемиологии нозологических форм неясной инфекционной природы. В-третьих, рациональная терапия, специфическая профилактика и микробиологическая диагностика заболеваний, связанных с вариантами микроорганизмов без клеточной стенки, в том числе с L-формами, могут быть созданы только на основе знания биологических особенностей этих вариантов. •
- Изучение биологии L-форм бактерий было начато нами в 1954 г. В настоящей главе мы обобщаем результаты этих многолетних наблюдений и приводим соответствующие данные литературы, позволившие охарактеризовать основные биологические особенности L-вариантов микроорганизмов.

МОРФОЛОГИЯ КОЛОНИЙ И МИКРОСТРУКТУРНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ УЛЬТРАСТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ

- Морфология L-вариантов бактерий изучается с помощью разных методов более 30 лет. Для этой цели использовались световая микроскопия окрашенных препаратов, фазово-контрастная микроскопия с серийной фото- и цейтраферной киносъемкой, люминесцентная микроскопия с использованием разных флюорохромов, электронная микроскопия с негативным контрастированием и изучением ультратонких срезов. • Каждый из этих методов имеет свои преимущества и недостатки. Все они, дополняя друг друга, дают представление о динамике индукции L-форм из бактерий и о морфологической характеристике отдельных микроструктурных элементов L-колоний.

Люминесцентная микроскопия дала некоторую информацию о цитохимическом составе L-форм, а электронная микроскопия ультратонких срезов — об их ультраструктурной организации.

Изучение морфологии L-форм началось с параллельного описания колоний, их структуры и микроскопии отдельных элементов, составляющих колонии. Впоследствии стали активно исследовать ультраструктурную организацию.

МОРФОЛОГИЯ L-КОЛОНИЙ

• Еще в самом начале изучения L-форм они были дифференцированы на 2 типа колоний: 3А и 3В, описанные у многих видов бактерий (В. Д. Тимаков, Г. Я. Каган, 1964; Dienes, Weinberger, 1951; Tulasne, 1965).

• Колонии В (обозначенные ранее 3В) размером 0,5—2 мм с нежным кружевным краем и врастающим в среду центром хорошо видны невооруженным глазом. При длительном хранении в лабораторных условиях они иногда приобретают желто-коричневую пигментацию за счет накопления фламина. В их структуре преобладают крупные шаровидные тела и в меньшем количестве субмикроскопические элементы по сравнению с колониями типа А.

Колонии типа В легко и быстро реверсируют в бактериальные на средах без пенициллина и могут иногда расти на питательном агаре даже без лошадиной сыворотки. L-формы колоний В сохраняют некоторые компоненты ригидной клеточной стенки, специфические фагочувствительные рецепторы и агглютинируются антисывороткой исходного вида бактерий.

• Колонии типа 3А или А мелкие (диаметром от 50 до 100 мк) вырастают на поверхности агара в большем количестве, чем колонии типа В. Они нежные, белесые с перламутровым оттенком, при длительном выращивании слегка пигментируются, растут лучше в аэробных условиях; присутствие или отсутствие в среде пенициллина не влияет на их рост. Колонии типа А могут расти на жидких питательных средах. Рост их в субкультурах возможен только при посеве молодых колоний на кусочке агара в бульон; хорошо растут группами, единичные колонии при пересеве часто не дают роста и аутолизуются. Они полностью лишены клеточной стенки, не имеют фагочувствительных рецепторов (Taubeneck, 1962a, b, c), не агглютинируются, как правило, антисывороткой к исходной культуре. В связи с полной утратой клеточной стенки L-колонии типа А вообще не реверсируют в исходные формы бактерий либо реверсируют крайне редко. С увеличением числа пересевов L-колоний типа А на средах с индуцирующим агентом их способность к реверсии уменьшается. Тем не менее реверсия бактериальных форм все же отмечалась в колониях типа А *Pr. vulgaris*, *Streptobacillus moniliformis* и *Bacteroides*.

Колонии типов А и В описаны у огромного большинства бактерий: *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis* (Dienes, Weinberger, 1951; Tulasne, 1950, 1951, 1955; Landman et al., 1958; Gumpert, Taubeneck, 1966; Dienes, 1967, 1968), *E. coli* (Lederberg, St. Clair, 1958; В. С. Левашев, 1965), *Salmonella* (В. Д. Тимаков, Г. Я. Каган, 1960, 1961, 1967; Г. Я. Каган, 1963, и др.), холерного вибриона и вибриона Мечникова (Minck, 1955; В. С. Левашев, 1956), *Streptococcus haemolyticus* (Hijmans, Dienes, 1955; Г. Я. Каган, 1959, 1963; Г. Я. Каган, В. С. Левашев и др., 1959).

Следует, однако, отметить условность подразделения L-колоний на стабильные (тип А) и нестабильные (тип В), так как иногда в культурах как стабильных, так и нестабильных L-форм могут содержаться колонии (рис. 1) первого и второго типа (Г. Я. Каган, 1963; Dienes, 1968; Hijmans et al., 1969).

У анаэробов морфология L-колоний еще более разнообразна. Например, варианты L-колоний *Cl. perfringens* не укладываются в схему существующих 2 типов — В и А (Kawatomari Tosio, 1958).

Обнаруживаются также «атипичные» варианты L-форм, отличающиеся по форме колоний и микроструктуре от L-элементов у других видов. Например, известны штаммы стабильных L-форм *Vibrio cholerae*, состоя-

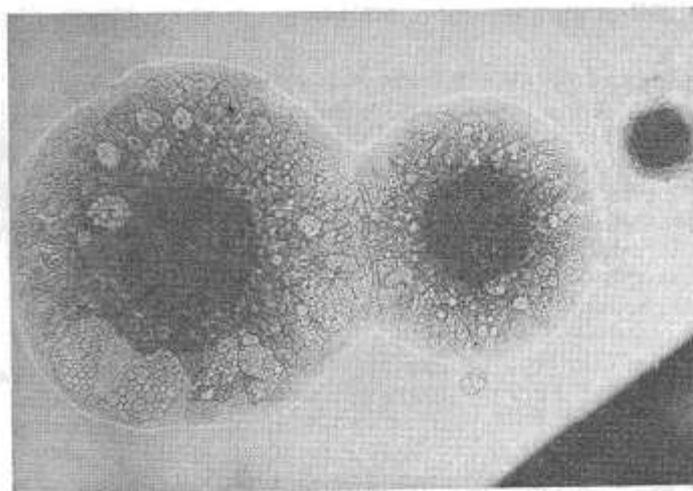


Рис. 1. L-колонии типов А и В β -гемолитических стрептококков группы А. Ув. $\times 100$ (препарат Г. И. Каган).

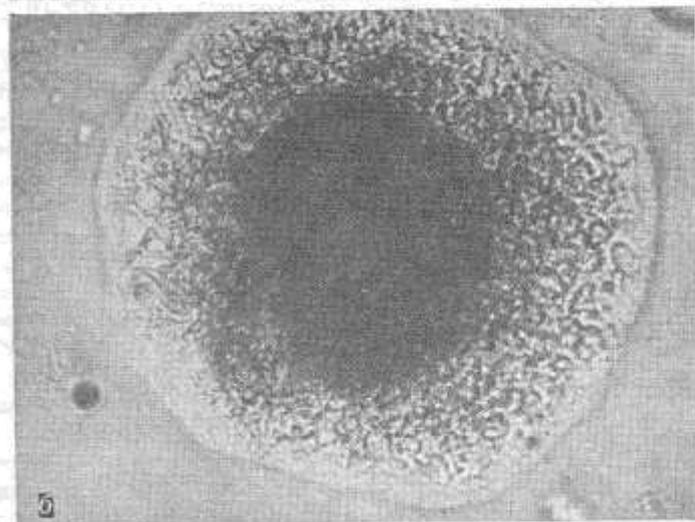
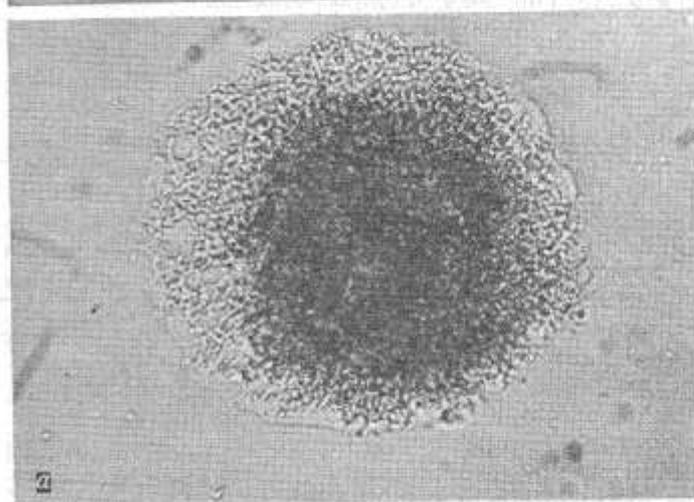


Рис. 2. L-колонии.
а — *N. meningitidis*. Ув. $\times 220$ (препарат Е. И. Коптеловой); б — *Listeria monocytogenes*. Ув. $\times 100$ (препарат С. В. Прохорова и Г. А. Коптеловой).

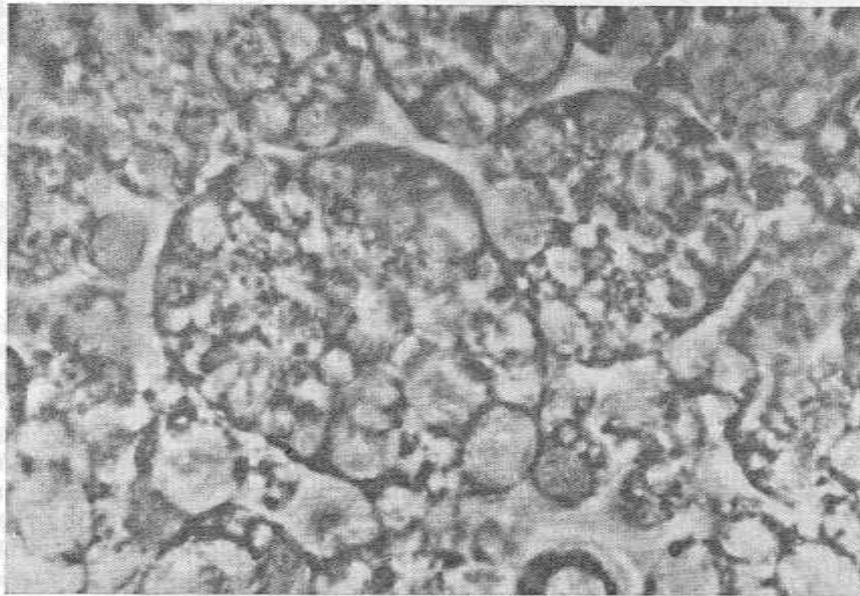


Рис. 3. Сферические тела различных размеров и разной оптической плотности. Гранулы, располагающиеся интра- и экстрацеллюлярно. Фазовый контраст. Ув. $\times 1350$ (препарат С. В. Прозоровского).

щие почти исключительно из гигантских шаровидных тел разной оптической плотности. Эти L-колонии имеют многодольчатое строение, напоминают земляничную ягоду, центр ее вырастает в среду, диаметр доходит до 0,5 мм.

Наиболее характерной способностью развития L-колоний является распространение вглубь и распространение по периферии всех чрезвычайно пластичных структурных элементов — сферических тел, бесформенных масс и ветвистых форм, лишенных ригидной клеточной стенки. Они легко проникают в пространства между отдельными фибриллами агарового геля. Физические свойства среды и влажность ее поверхности оказывают определенное влияние на форму L-колоний и составляющих их структур (Razin, Oliver, 1966; Dienes, 1967b; Dienes, Bullivant, 1967).

Другая весьма важная особенность L-форм бактерий — принципиальное сходство морфологии колоний у разных видов (рис. 2). Некоторые вариации зависят от фазы роста, условий и среды культивирования, но не от видовых особенностей. Тем не менее вид L-колоний и морфология микроструктурных элементов настолько типичны, что могут считаться одним из характерных признаков, дифференцирующих L-формы от других измененных форм микроорганизмов.

МОРФОЛОГИЯ МИКРОСТРУКТУРНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ L-КОЛОНИЙ

В составе L-колоний имеются самые разнообразные по форме, консистенции и размерам микроструктуры, которые можно условно подразделить на несколько групп: 1) сферические тела, варьирующие по форме, оптической плотности и размерам (рис. 3); 2) элементарные тельца или гранулы, располагающиеся экстра- и интрацеллюлярно в крупных сфе-

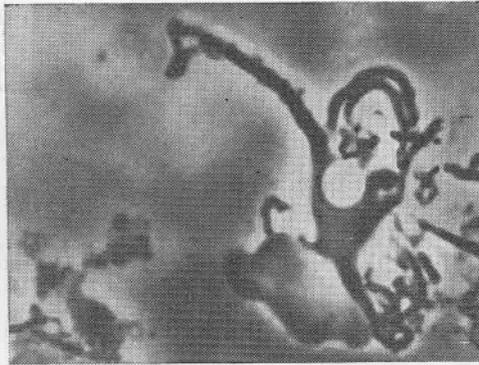


Рис. 4. Извитые структуры L-форм *S. typhi*. Фазовый контраст. Ув. $\times 1500$.

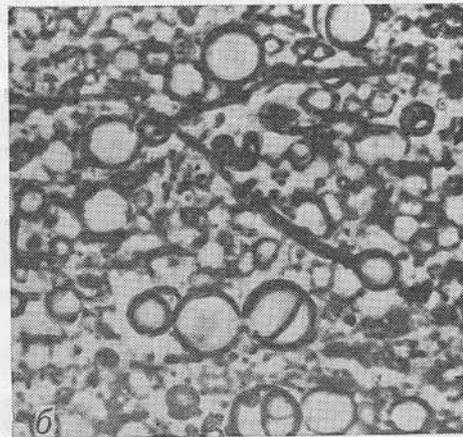
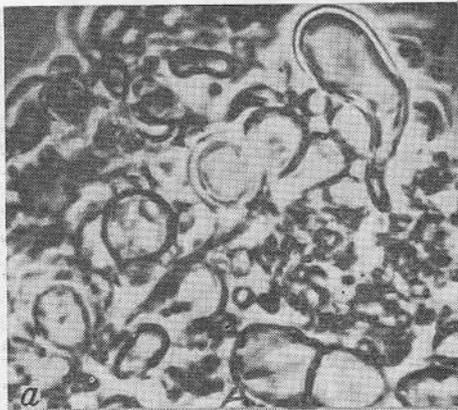


Рис. 5. Фазы индукции L-форм *S. diptheriae*. Фазовый контраст. Ув. $\times 1800$ (препараты Г. Я. Каган, В. Г. Савенковой). а — начальная фаза (I—II пассажа). Видны пузырьвидные тела, тяжи со вздутиями; б — конечная фаза (после IV пассажа). Видны микроструктуры типичной L-колонии.

рических телах и вакуолях (см. рис. 3); 3) аморфные, как бы бесструктурные массы, все время растущие и меняющие конфигурацию; 4) извитые и нитевидные структуры, варьирующие в размерах от едва видимых в световом микроскопе до лежащих за пределами разрешающей способности светового микроскопа, размером до 150 мк (рис. 4).

Размер сферических тел варьирует от 1 до 50 мк. Они также классифицируются на тела с гомогенной цитоплазмой и тела, частично или полностью вакуолизированные. Последние выглядят как пузырьвидные тела и также варьируют по форме и размерам. Иногда они содержат в различных количествах гранулы, которые характеризуются броуновским движением. Сферические тела легко деформируются и изменяют свою форму и консистенцию. Большие тела гигантских размеров (до 50 мк) описаны у L-форм бруцелл (Carré, Roux, 1953b), у некоторых спорообразующих видов бактерий (Diénes, Weinberger, 1951), *S. typhi*, *Streptococcus haemolyticus*, *Staphylococcus aureus* и у других видов бактерий (В. Д. Тимаков, Г. Я. Каган, 1961, 1967; Г. Я. Каган, 1963; С. Г. Комм и др., 1965; С. В. Прозоровский, 1959, 1970). Независимо от видовой принадлежности L-форм гигантские и мелкие тела встречаются в их колониях одновременно.

Извитые, ветвистые, шаровидные, вакуолизированные тела, гигантские неправильной конфигурации массы, пузырьвидные и грушевидные формы размером 10—15 мк также могут одновременно встречаться в составе L-колоний.

Примером может служить индукция L-вариантов *S. diptheriae* (рис. 5). Они располагаются главным образом на поверхности и периферии L-колоний; свободно лежащие вне этих образований суб-

микроскопические и фильтрующиеся микроструктуры (0,1—0,2 мк) находятся чаще всего во вращающемся в агар центре.

Наличие фильтрующихся элементов также является отличительной особенностью L-форм бактерий. Впервые они были обнаружены в культуре *Streptobacillus moniliformis* (Klieneberger, 1949a), а затем и у других видов (Silberstein, 1953; Carrère et al., 1954; Tulasne, Lavillaureix, 1958). Для изучения размеров фильтрующихся элементов L-форм, их жизнеспособности и способности к репродукции использовались два метода: 1) фильтрация взвесей L-форм через бактериальные фильтры разных размеров с последующими посевами фильтратов, а также взвесей L-форм до и после фильтрации; 2) выращивание L-форм на мембранных фильтрах с разной величиной пор и получение роста L-колоний под фильтрами.

Методом фильтрации было установлено, что размеры жизнеспособных минимальных репродуцирующих структур L-форм варьируют от 0,5 до 0,22 мк (Klieneberger-Nobel, 1949a, 1958, 1962; Wittler, 1952; Panos et al., 1960; Mortimer, 1965; Coussons, Cole, 1968; van Boven et al., 1968). Однако эти результаты в настоящее время большинство авторов справедливо принимают с рядом оговорок, учитывая адсорбцию на фильтрах, снижающую фильтруемость, разрушение хрупких, мелких частиц, вероятную необходимость тесного соприкосновения гранул для их последующего развития и высокую пластичность L-элементов (легко деформируясь, они могут проходить через поры меньших размеров). Эта особенность L-форм продемонстрирована в опытах Roux (1960), Weibull и Lundin (1962), показавших при микроскопическом измерении, что размеры минимальных репродуктивных частиц соответствуют 0,6 мк, что превышает размеры пор фильтров. При фильтрации L-форм стрептококка было показано (van Boven et al., 1968a), что наряду с L-элементами размером 0,45 мк проходят и более крупные частицы — до 1,2 мк. В результате наблюдений на агаровых пластинках (так называемые слайд-культуры) выявлено, что только эти крупные частицы дают рост L-колоний; прорастание через поры мелких фильтров обусловлено пластичностью и деформацией L-форм. Таким образом, степень жизнеспособности и способность к репродукции мельчайших элементов пока еще трудно точно установить.

В течение 1956—1964 гг. в нашей лаборатории проводилось изучение морфогенеза индукции L-форм разных патогенных видов бактерий. Установленные в этих работах факты привели нас к выводу, что процесс превращения бактерий в L-формы очень сложен. Отмечается многообразие первичных изменений в бактериальных клетках, с которых начинается последующее развитие микроструктур, формирующих L-колонии. Так, превращение в большие шаровидные тела, образование форм типа пенициллиновых или глициновых сфероластов наблюдаются чаще всего у граммотрицательных палочковидных бактерий, раздутые тяжи, длинные жгуты и пузыревидные формы — у *S. diphtheriae* и *Fusiformis necrophorus*, а бесструктурные зернистые массы клеточного вещества — у гемолитических стрептококков.

При формировании L-колоний типа В у *S. typhi* и гемолитического стрептококка на ранних этапах отмечаются разбухание клеток и значительные изменения клеточных стенок. В результате образуются резко измененные разбухшие гигантские гантелевидные, шаровидные, ланцетовидные, сфероластоподобные формы, существенно отличающиеся по морфологии от интактных бактерий, подвергшихся индукции. Морфогенез L-трансформации может выражаться в следующих проявлениях:

а) образовании раздутых, шаровидных тел, вакуолизирующихся, заполняющихся зернами и другими более сложными структурами (рис. 6).

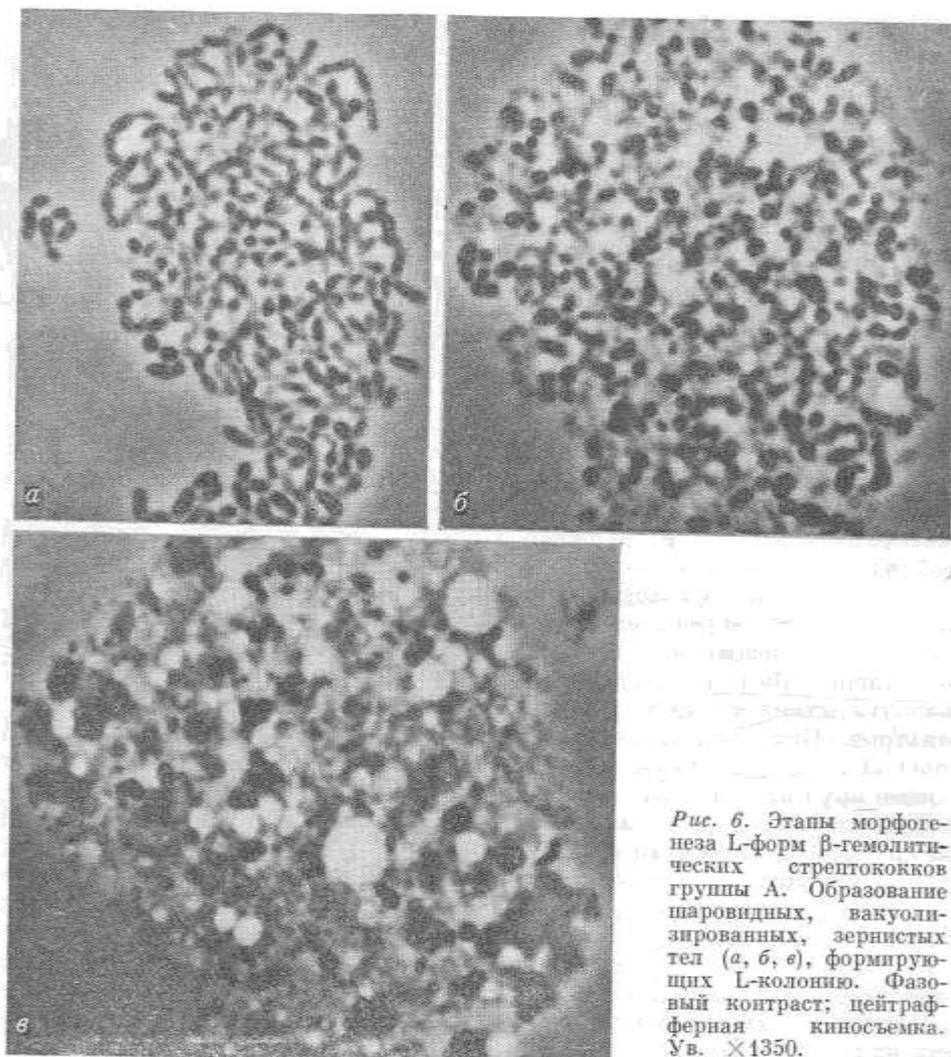


Рис. 6. Этапы морфогенеза L-форм β -гемолитических стрептококков группы А. Образование шаровидных, вакуолизированных, зернистых тел (а, б, в), формирующих L-колонию. Фазовый контраст; центриферная киносъемка. Ув. $\times 1350$.

Такой тип морфогенеза чаще наблюдается при формировании L-колоний типа В;

б) увеличении проницаемости или разрыве клеточной стенки и просачивании через нее и освобождении масс клеточного содержимого, формирующего неопределенной формы структуры, заполняющиеся гранулами и вакуолями, постепенно образующими L-колонию, чаще типа А (рис. 7);

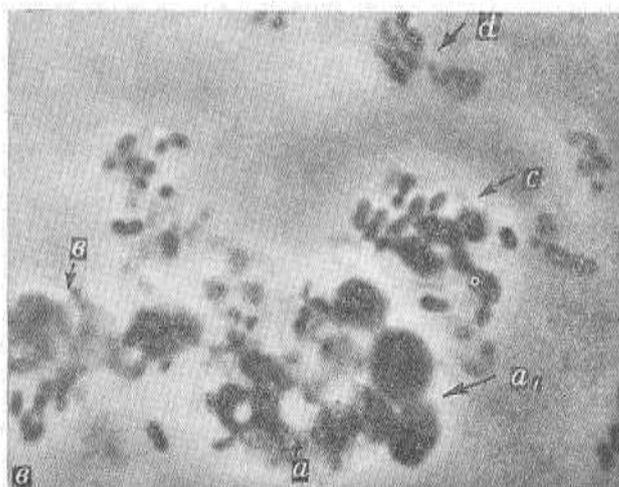
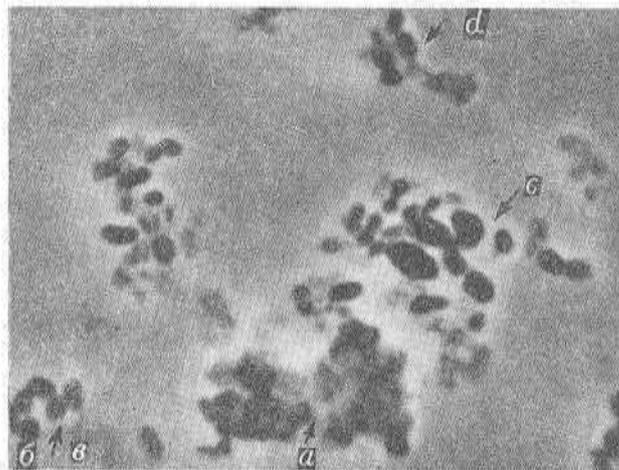
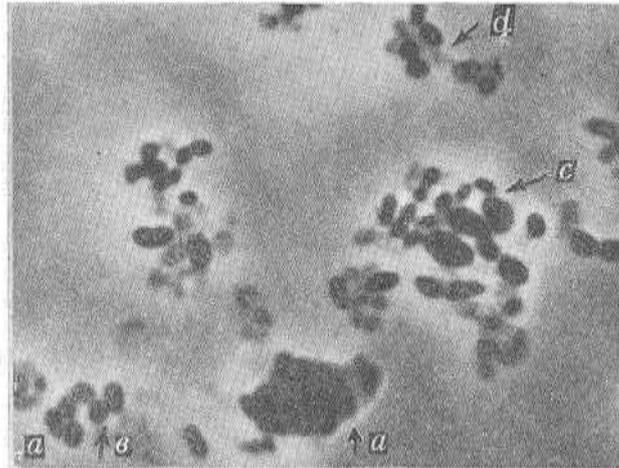
в) распаде клеток с формированием агломератов зерен, которые впоследствии образуют L-колонию преимущественно типа А. Обычно в ходе L-трансформации наблюдаются все 3 типа развития L-форм одновременно. Основой морфогенеза L-форм является нарушение синтеза мукопептидного слоя клеточной стенки и угнетение деления. Вследствие этого происходит накопление клеточного вещества, растяжение клеточной стенки и образование эластичных шаровидных тел. Разрыв клеточной стенки ведет к освобождению цитоплазмы в виде не имеющей определенной формы мас-

сы клеточного вещества и зерен. Последние формируют вежные структуры, напоминающие своеобразные мембраны, разграничивающие друг от друга вновь образовавшиеся L-элементы. Эти наблюдения совпадают с данными Sharp (1954), van Hoff и Hijmans (1959), обнаруживших при электронной микроскопии ультратонких срезов L-форм гемолитических стрептококков наличие мембран, происхождение которых, по мнению авторов, неизвестно. Вероятно, эти образования могут рассматриваться как цитоплазматические мембраны. Наряду с этим нельзя исключить возможность синтеза измененных клеточных стенок.

В процессе L-трансформации происходят также значительные изменения в цитоплазме, обусловленные нарушением синтеза высокополимерных соединений. Накапливаются полипептиды и мононуклеотиды низкого молекулярного веса, вызываю-

Рис. 7. Этапы морфогенеза L-форм β-гемолитических стрептококков группы А. Увеличение проницаемости клеточных стенок и просачивание клеточного содержимого (а, б, в).

а — а₁ — просачивание и преобразование клеточного содержимого в шаровидные тела и вакуоли; б — б₁ — образование масс клеточного содержимого, не имеющего определенной формы; с и d — изменения сферических тел. Фазовый контраст. Цейтрафферная киносъемка. Ув. ×1350.



шие еще большее разрастание бактериальных форм в шары, при этом нарушается цитоплазматическое деление и сохраняется деление ядерного вещества (М. А. Пешков, 1954). Эти данные, несомненно, свидетельствуют о сложных механизмах превращения бактерий в L-формы, образование которых является конечным итогом структурных изменений в клеточной стенке, цитоплазме и ядерной субстанции бактериальной клетки.

УЛЬТРАСТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ

Электронномикроскопические исследования, проведенные главным образом на L-формах протей и *Pseudomonas fluorescens*, позволили подразделить L-элементы на комплексные и простые структуры (Tulasne, 1951, 1955; Rubio, Huertas, 1957; Torsson, Weibull, 1958; Dienes, 1960; Klieneberger-Nobel, 1962). К комплексным микроструктурам относят эллипсоидные или шаровидные тела без клеточной стенки, окруженные двух-трехслойной мембраной (состоит из цепочек гранул), простыми считают шаровидные, гомогенные или пузырьковидные тела с включениями единичных мелких гранул (большие шаровидные тела иногда покрыты тоненькими нитями).

Субмикроскопические фильтрующиеся элементы (0,1—0,5 мк) представлены свободно лежащими скоплениями либо находятся внутри больших тел и вакуолей. Они, имея сферическую или эллипсоидную структуру, сходную со структурой больших тел, содержат гранулярную цитоплазму и окружены мембраной (Tulasne, 1951, 1955; Mandel et al., 1957; Klieneberger-Nobel, 1958, 1962; Dienes, 1960; Ryter, Landman, 1964; Weibull et al., 1965). Трехслойная цитоплазматическая мембрана (75—85 Å) обнаружена у L-форм гемолитического стрептококка (М. А. Пешков, И. А. Шадрина, 1964). Элементы в виде пузырьков также ограничены мембраной, вероятно, цитоплазматического происхождения. Они иногда содержат осмофильные гранулы (van Iterson, 1964). В центральной части больших шаровидных тел обычно видна ядерная вакуоль, заполненная тончайшей сетью нитевидного материала толщиной 30—40 Å.

Тонкое строение стабильной L-формы β-гемолитического стрептококка, полученной под влиянием пенициллина еще в 1959 г. у нас в лаборатории, представлено на рис. 8.

Поверхностные структуры L-форм разные авторы описывают по-разному. Так, Tulasne и Bringmann (1962) наблюдали у стабильных L-форм одну периферическую мембрану, Hofschneider и Martin (1968) — двухслойную периферическую мембрану у стабильной L-формы, а Weibull (1965, 1968) — трехслойную мембрану.

Противоречивые данные получены также при изучении вакуолей. Tulasne и Bringmann (1962), Ryter и Landman (1964) почти не встречали вакуолей и в цитоплазме L-форм, тогда как Marston (1964), van Iterson и др. (1964), Weibull (1963, 1965) обнаруживали их очень часто.

Различия в описаниях тонкой структуры L-форм, безусловно, связаны со штаммовыми различиями, фазами роста, условиями культивирования, возможными видовыми особенностями структуры клеточной стенки, степенью стабильности изучавшейся L-формы и многими другими причинами. Поэтому для выяснения субструктур отдельных форменных элементов L-вариантов представляется наиболее целесообразным сопоставить результаты сравнительного изучения протопластов, сферопластов нестабильных и стабильных L-форм разных видов бактерий с данными их химического анализа.

Сравнительные электронномикроскопические исследования ультратонких срезов сферопластов, протопластов, нестабильных и стабильных L-форм разных видов бактерий позволили получить наиболее точную информацию о структуре их поверхностных слоев, цитоплазматической мемbrane и клеточных органеллах (Weibull, 1965, 1968; Nermut, 1966; Weibull et al., 1967; Gumpert, Nermut, 1967; Hofschneider, Martin, 1968; Smarda, Schumann, 1967; Coussons, Cole, 1968; Cole, 1968; Hatten et al., 1968).

Как известно, лизоцимные протопласты *B. megaterium* полностью лишены ригидной клеточной стенки и мезосом, а также ДАП, и лишь небольшие количества D-аминокислот и рамнозы найдены у протопластов стрептококка (Weibull, 1968; Freimer, 1963a).

При электронной микроскопии сферопластов грамотрицательных бактерий наблюдаются остатки клеточной стенки; могут обнаруживаться такие компоненты, как мукопептиды, протеины и полисахариды. Отсутствие или дефектность ригидной клеточной стенки обуславливает хрупкость сферопластов, протопластов и L-форм.

Ядерные тельца протопластов *B. megaterium* выглядят в виде массы фибрилл без плотных центров. Были изучены также мембранные структуры типа «теней», которые содержали белки (40—70%), липиды (15—40%), небольшие количества углеводов и РНК, все цитохромы, сукцинатдегидрогеназу и НАД.Н-оксидазу цельных клеток. Весьма сходные данные получены при изучении мембран L-форм (Weibull, 1967, 1968).

Нестабильные L-формы бактерий имеют две периферические мембраны: наружная, вероятно, представляет деградированную клеточную стенку, а внутренняя — цитоплазматическую мембрану. Они содержат ДАП и мурамовую кислоту и сходны со сферопластами (Dienes, Bullivant, 1967; Weibull, 1968).

Стабильные L-формы имеют только цитоплазматическую мембрану и не содержат ДАП и мурамовую кислоту или содержат их незначительные количества (Dienes, Bullivant, 1967; Weibull, 1968).

Цитоплазма L-форм структурно сходна с цитоплазмой интактных бактерий, однако у L-форм в ней имеются большие вакуоли и гранулы внутри вакуолей.

Сравнительное изучение мембраны L-форм и сферопластов *Pg. vulgaris* и *Pg. mirabilis* выявило более высокую ее чувствительность у первых к действию детергентов.

При воздействии на L-формы дезоксихолата натрия возникают гранулы величиной 150—200 и 450—550 Å. Стабильные L-формы содержат цитоплазматическую мембрану, которая благодаря включениям липополисахаридов более устойчива, чем мембрана палочковидных форм (Gumpert, Nermut, 1967).

Анализ структуры поверхностных слоев L-форм, выполненный на *Pg. mirabilis* (Hofschneider, Martin, 1968), показал, что стабильные, или так называемые протопластные, не реверсирующие, L-формы полностью лишены клеточных стенок и содержат лишь цитоплазматические мембраны. Сферопластные L-формы авторы также подразделяют на стабильные — не реверсирующие и нестабильные — реверсирующие. Обе разновидности, помимо цитоплазматической мембраны, содержат трехслойные клеточные стенки, соответствующие клеточным стенкам бактериальных форм, но отличающиеся тем, что трехслойность стенок прерывиста и участки трехслойного строения местами соединены однослойной пленкой. Местами часть материала клеточной стенки отделяется от поверхности, образуя полые сферические элементы, покрытые трехслойной оболочкой.



Сравнение поверхностных слоев L-форм *Proteus* и *B. subtilis* выявило полное отсутствие клеточной стенки у первых и наличие фибриллярных сетчатых образований у вторых, которые рассматриваются как остатки клеточной стенки (Nermut, 1966, 1967).

Из значительного числа морфологических работ, посвященных изучению поверхностных структур L-форм, особый интерес представляют данные, свидетельствующие о роли мезосом в процессе образования L-форм бактерий (Ryter, Landman, 1964, 1968; Cole, 1968).

Первые исследования (Charpen, Hillier, 1953) грамположительных бактерий выявили наличие у них органелл вблизи клеточных перегородок. В 1964 г. Fitz-James (1964) показал, что эти органеллы, названные мезосомами, формируются посредством инвагинации цитоплазматической мем-

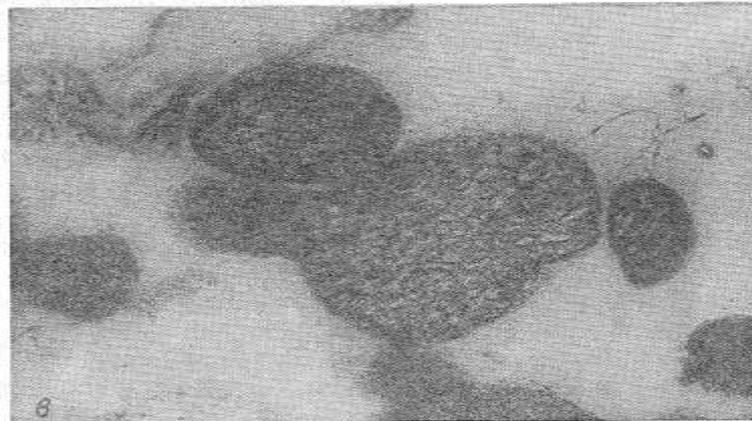
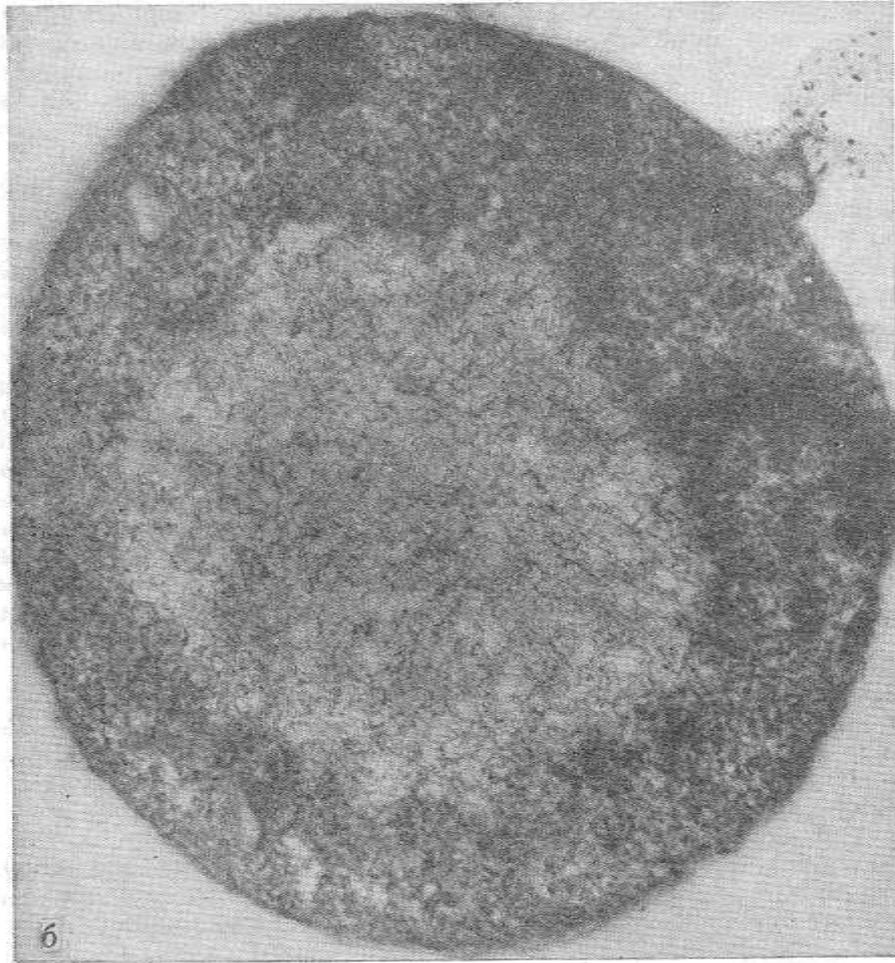


Рис. 8. Электронная микроскопия ультратонких срезов L-форм β -гемолитического стрептококка (препараты Л. Н. Кац и И. А. Римкунас).

а — вакуолизированное шаровидное тело с нуклеоидом в центре. Ув. $\times 40\ 000$; *б* — шаровидные формы, трехслойная мембрана, нуклеоид. Ув. $\times 90\ 000$; *в* — минимальные тельца, связанные фибриллами ДНК. Ув. $\times 70\ 000$.

браны внутрь цитоплазмы и имеются у всех грамположительных и некоторых грамотрицательных видов бактерий. Далее Ryter и Jacob (1964) при изучении 20 видов бактерий установили, что все мезосомы связывают цитоплазматическую мембрану с нуклеоидом. Эти наблюдения явились основанием для предположения, что мезосомы являются связующим звеном между нуклеоидом и цитоплазматической мембраной.

В процессе образования сферо- и протопластов утрачивается как клеточная стенка, так и мезосомы. При переносе протопластов в среду, где происходит их размножение в виде L-форм, клеточная стенка и мезосомы не восстанавливаются. Функция мезосом пока окончательно не выяснена, однако можно полагать, что мезосомы подобно мембране являются местом окислительно-восстановительных реакций, вероятно, генерирующих энергию, необходимую для нормального функционирования ядерной области. Отсутствие мезосом у протопластов и L-форм не препятствует, однако, ядерному делению и сегрегации новых жизнеспособных клеток. Изучение интактных клеток *B. subtilis*, их протопластов и L-форм (Ryter, Landman, 1968) выявило у интактных клеток прикрепление нуклеоида к мембране через посредника — мезосому. У протопластов и L-форм мезосомы утрачиваются и происходит непосредственное прикрепление нуклеоида к мембране, причем в месте их соприкосновения находится отличная от мезосом структура. При реверсии протопластов у реверсирующих форм восстановления мезосом авторы не наблюдали. Таким образом, у протопластов, L-форм и их ревертантов связь между нуклеоидом и мембраной становится прямой в связи с утратой посредника мезосомы.

Аналогичные данные установлены Cole (1968) при изучении субструктур интактных клеток стрептококка группы А и их протопластов, полученных при действии фагоассоциированного лизина и стабильных L-форм. Интактные клетки имели гомогенную клеточную стенку, однородную цитоплазматическую мембрану, внутрицитоплазматические органеллы — мезосомы, связывающие мембрану и нуклеоиды, и цитоплазму, заполненную рибосомами. Кроме того, обнаружена характерная толстая микрокапсула. Протопласты могут сохранять фрагменты измененных клеточных стенок и утрачивают мезосомы. L-формы состоят из протопластоподобных телец и пустых пузырьков разных размеров (500 Å — 50 мк). L-формы утрачивают клеточную стенку (иногда сохраняются измененные ее фрагменты) и мезосомы. Отмечается причудливость конфигурации мембран, наличие множества элементарных телец и волокон (последние часто содержатся в пузырьках, ограниченных мембраной, и, вероятно, являются репликативными формами).

При электронномикроскопическом изучении срезов L-форм *Pr. mirabilis*, *Staph. aureus* и *Corynebacterium* sp. была обнаружена идентичность их морфологии. Они содержали сферические тела, расположенные в отдельности или соединенные друг с другом тоненькими перемычками клеточного вещества. На срезах больших тел видны трехслойная периферическая мембрана, зернистая цитоплазма, ядерные участки и вакуоли, ограниченные такой же мембраной. Внутри вакуолей наблюдались мелкие тельца, имеющие аналогичную мембрану, зернистую цитоплазму, но лишённые ядерной области (Weibull, 1965).

Электронная микроскопия элементарных телец, L-форм стрептококков группы А, прорастающих через поры фильтров диаметром 0,1—0,5 мк, показала, что они не содержат внутренней структуры; ядерная область у них не обнаруживается (Coussons, Cole, 1968). Аналогичные данные получены Dienes и Madoff (1966) в отношении элементарных телец стафилококков. При изучении элементарных частиц L-форм менее 0,3 мк *Proteus*

(Weibull, Beckman, 1961; Sensenbrenner et al., 1960) выявлено крайне низкое содержание у них ДНК. Вполне вероятно, что распределение генетического материала родительской клетки в таких тельцах носит случайный характер: некоторые из них получают достаточно этого материала, другие — очень мало или ничего. Соответствующие расчеты, проведенные Coussans и Cole (1968), свидетельствуют о том, что минимальные размеры генома L-форм стрептококка могут содержаться в сферических элементах размером 0,24 мк. Эта расчетная величина близка минимальной колониеобразующей единице (КОЕ) L-форм данного вида, полученной путем фильтрования. Надо, однако, оговориться, что эти данные также нуждаются в соответствующих поправках, о которых мы говорили выше.

Существующие противоречия в трактовке электронномикроскопических картин обусловлены преимущественно различиями изучаемых объектов, условий их культивирования и методов исследования.

Данные световой и электронной микроскопии позволяют отметить особые, присущие всем L-формам, независимо от их видового происхождения, морфологические признаки: 1) вид и структуру колоний; 2) полиморфизм микроструктур, составляющих L-колонию (в составе их имеются и большие тела, и субмикроскопические формы, комплексные структуры и простые элементы, принципиально одинаковые у разных видов микроорганизмов); 3) отсутствие ригидной клеточной стенки; 4) наличие особой цитоплазматической мембраны; 5) утрату мезосом.

✓ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ВАРИАНТОВ БАКТЕРИЙ

Изменение функциональных особенностей бактерий в ходе L-трансформации связано с изменениями их биофизических и биохимических особенностей, в значительной мере обусловленных полной или частичной утратой клеточной стенки.

Ниже мы приводим краткие, но необходимые для понимания роли L-форм в патологии сведения об их физиологических особенностях¹.

ДНК-И РНК-СОДЕРЖАЩИЕ СТРУКТУРЫ L-ФОРМ ПО ДАННЫМ ЦИТОХИМИИ

Еще в 1954 г. М. А. Пешков, изучая индукцию L-форм вульгарного протей, наблюдал заполнение шаровидных тел ДНК-подобным материалом. Эти шаровидные тела были окаймлены лишь узкой полоской базофильной цитоплазмы.

Tulasne и Vendreli (1947) установили, что большая часть шаровидных тел L-форм вульгарного протей (диаметром 5—25 мк) состоит почти исключительно из ДНК. «Ядерная» субстанция фрагментирована на мелкие элементы, которые, по мнению этих авторов, вероятно, способны давать начало большим телам. Изучение субмикроскопических элементов L-форм вульгарного протей показало, что они являются зернами ДНК (около 0,2—0,3 мк), заполнявшими иногда всю цитоплазму разбухшей шаровидной клетки. Большое число их в культурах L-форм было следствием нарушения в самом начале L-трансформации деления цитоплазмы при сохранении деления ядра.

Сходные картины описал Silberstein (1953), отметивший значительное нарастание хроматиновой реакции в ядерном аппарате L-форм *S. typhimurium*. По данным Crawford и соавторов (1958), Vigouroux и Hannoun

¹ Более подробная информация приведена в обзоре Smith (1964), в монографиях Panos с соавторами (1967) и Hayflick (1969).

(1956, 1957), окраска зернистых элементов L-форм гемолитического стрептококка по Робинсу свидетельствует об их ядерном происхождении (в их составе находили нуклеиновые кислоты и липиды). Тот факт, что зернистые формы длительно сохранялись, росли не только при 37°, но и при комнатной температуре или при 4° и отличались большой устойчивостью к химическим, физическим и биологическим воздействиям, позволяет думать о том, что они являются элементарными формами сохранения жизни и именно в этом заключается их биологическое значение.

Распределение ДНК и РНК в отдельных микроструктурных элементах L-форм *S. typhi* (типы А и В), *S. typhimurium* (типы А и В) и гемолитического стрептококка изучались с помощью люминесцентной микроскопии в сочетании с методом фазового контраста (Г. Я. Каган, Ф. И. Ершов, 1962; Г. Я. Каган, 1963).

L-элементы четко выявлялись при люминесцентной микроскопии. При окраске акридиновым оранжевым ДНК в L-колониях и в отдельных структурных элементах флуоресцировала ярким желто-зеленым светом, РНК — рубиново-красным, цитоплазма была темно-зеленой (рис. 9). Специфичность окраски нуклеиновых кислот проверяли в контрольных опытах путем обработки препаратов соответствующими нуклеазами.

L-колонии по цитохимическому составу формирующих их микроструктур оказались неоднородными. Центральная оптически плохо дифференцируемая при фазово-контрастной микроскопии часть колоний, состоящая из массы свободно лежащих гранул, при цитохимическом анализе представляет собой гранулы ДНК, погруженные в бесструктурную массу цитоплазматического происхождения. Периферия, состоящая из разных по размерам и оптической плотности сферических тел и вакуолей, цитохимически очень разнообразна. В ней преобладают ДНК-содержащие тела, реже встречаются РНК-содержащие тела и тела цитоплазматического происхождения.

Несмотря на разнообразие цитохимического состава различных L-элементов, можно было отметить известную однотипность их построения. По характеру распределения нуклеиновых кислот они были сходны. Ниже приводится цитохимический анализ отдельных L-элементов, формирующих L-колонию.

1. Гомогенные сферические тела разной оптической плотности дифференцировались на следующие элементы: 1) сплошь состоящие из ДНК; 2) состоящие из ДНК, окаймленные узкой сплошной или прерывистой полоской РНК, иногда они содержали включения в виде гранул РНК; 3) сплошь состоящие из РНК, иногда окаймленные полоской ДНК (встречались довольно редко); 4) тела цитоплазматического происхождения, иногда окаймленные полоской ДНК и, реже, РНК с включениями гранул ДНК. Сферические тела преимущественно были представлены ДНК-содержащими формами (1—2 РНК-содержащих элемента приходилось на 10—20 ДНК-содержащих тел).

2. Вакуолизированные тела. При фазово-контрастной микроскопии они были либо совершенно светлые, прозрачные, окаймленные темной полоской (нередко с включениями гранул) либо в виде больших темных гомогенных тел с включениями сферических вакуолей. Цитохимический анализ также выявил их неоднородность.

Первые в подавляющем большинстве выглядели в виде темных, как бы пустотелых форм, по всей вероятности, пузырей с жидким содержимым. Они часто были окаймлены полоской ДНК или РНК. Реже встречались вакуоли, состоящие только из ДНК, только из цитоплазматического содержимого или только из РНК.

Гомогенные тела с включениями вакуолей при цитохимическом анализе чаще всего выглядели в виде ДНК-содержащих тел, с пустотами внутри, полностью соответствующими по форме и размерам вакуолям.

3. L-элементы в виде больших темных зернистых тел, обнаруживаемые при фазово-контрастной микроскопии, по цитохимическому составу почти не отличались от гомогенных сферических тел разной оптической плотности.

4. L-элементы в виде волокнистых структур. При фазово-контрастной микроскопии эти образования обнаруживались редко, в виде резко преломляющих свет бесформенных масс, лежащих между скоплениями гранул. При люминесцентной микроскопии эти резко преломляющие свет образования выглядели в виде массивных волокнистых цитоплазматических структур, окруженных множеством гранул ДНК и в меньшей степени — гранулами РНК.

5. Свободно лежащие мелкие шаровидные тельца и гранулы, а также гранулярные массы неопределенной формы, неоднородные по цитохимическому составу. Они близки описанным выше гомогенным шаровидным телам.

6. Гранулярные массы клеточного содержимого неопределенной формы из цитоплазматических масс и мелких включений ДНК и РНК.

Сопоставление результатов цитохимического исследования L-колоний стабильных L-форм разных патогенных видов (*S. typhi*, *S. typhi murium* и гемолитических стрептококков) указывает на полную идентичность их цитохимического состава.

[Результаты этих опытов показывают, что в процессе образования стабильных L-форм происходит значительное накопление ДНК-содержащих структур.] 3)

Мы привели подробные данные наших цитохимических исследований ДНК- и РНК-содержащих структур L-форм, поскольку они не только дали некоторую характеристику состава разных L-элементов, но и послужили основанием Mattman (1968), Chatman, Mattman и Mattman (1969) для применения цитохимического анализа с целью выявления L-форм в гемокультурах.

Окрашивая препараты культур L-форм акридиновым оранжевым и параллельно измеряя количество ДНК спектрофотометрически, авторы выявили увеличение ДНК в колониях L-форм в 2—7 раз за 24 часа инкубации, в бактериальных же культурах в те же сроки содержание ДНК увеличивалось лишь в 2—3 раза.

В гемокультурах здоровых людей флуоресцирующие колонии выявить не удалось, тогда как в 16 из 20 гемокультур больных были обнаружены флуоресцирующие колонии, которые при последующем высеве дали рост L-колоний.

ОСОБЕННОСТИ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА

В настоящее время имеется большое количество сведений о механизме синтеза клеточной стенки бактерий, о предшественниках нуклеотидов клеточной стенки, о механизмах их синтеза и внутриклеточного контроля и об их вероятной роли в биосинтезе микробного муреина. Известны три нуклеотида мурамовой кислоты, являющиеся предшественниками клеточной стенки: УДФ-мурамовая кислота, УДФ-L-аланин-мурамовая кислота и УДФ-мурамовая кислота-L-аланин-D-глутаминовая кислота-L-лизин-D-аланин-D-аланин. В ходе индукции L-форм агенты, индуцирующие их образование, например пенициллин, блокируя синтез муреина, вызывают

накопление указанных нуклеотидов. Известно, что у L-форм бактерии полностью или частично исчезают ДАП, глутаминовая и мурамовая кислоты, глюкозамин и рамноза (Salton, 1952, 1960; Weibull, 1955, 1965, 1967; Lederberg, St. Clair, 1957; Kandler et al., 1958; Terranova, 1958; Smith, 1964, 1967в, Cohen, Panos, 1964; Panos, 1967).

У нестабильных L-форм эти изменения выражены в меньшей степени; у большей части сферических тел могут сохраняться остатки мукополисахаридного или липопротеинового слоев, может не затрагиваться синтез белков и ДНК, например у L-форм *Pr. vulgaris* и *E. coli* (Nermut, 1960; Hofschneider, 1960).

У стабильных L-форм, например *S. moniliformis*, ДАП и гексозамин не обнаруживаются, что указывает на полную утрату ригидной клеточной стенки (Razin, Argman, 1963).

Сходные данные получены при изучении стабильных L-форм протей (Weibull, Beckman, 1961) и гемолитического стрептококка группы А (Panos et al., 1959; Panos, 1967); они утрачивали мурамовую кислоту и орнитин, содержали меньшие количества аспарагиновой кислоты, аланина и лизина, чем исходная бактериальная форма, но относительно больше серина и лейцина. Представления о механизмах нарушения биосинтеза клеточных стенок у L-форм получены при сравнительном изучении стабильной L-формы и протопластов стрептококка группы А, а также исходного штамма (Panos, 1967). В одинаковых условиях опыта у стрептококка, промежуточного объекта L-трансформации — протопласта и стабильной L-формы (у нее полностью отсутствует способность синтеза клеточных стенок) не было найдено таких структурных компонентов группового С-полисахарида, как рамноза и глюкозамин, отсутствовал важнейший компонент клеточной стенки — мурамовая кислота и вместе с тем сохранялась способность продуцировать М-белок. Сравнительное изучение содержания мономерной и полимерной рамнозы у интактных родительских клеток и протопластов выявило резкое снижение содержания общей и полимерной рамнозы у последних, что подтверждает возможное участие рамнозы в биосинтезе клеточных стенок. Распределение типов рамнозы у L-форм и протопластов было разным. L-формы содержат $1/17$ количества полимерной рамнозы протопластов, и это может указывать на наличие в мембране протопластов акцепторных участков клеточной стенки, отсутствующих у L-форм.

Хотя L-формы, как и протопласты, способны синтезировать ТДФ'-рамнозу, предполагаемый предшественник клеточной стенки, они в отличие от них утратили способность передавать элементы рамнозила, этого нуклеотида, соответствующему акцепторному участку. Эта особенность L-форм, а также полное отсутствие полимерной рамнозы может свидетельствовать о возможном участии предшественников полимера рамнозы (рамнозосодержащего нуклеотида) в биосинтезе клеточной стенки. Угнетение биосинтеза клеточной стенки у L-форм реализуется на уровне мембраны и может быть обусловлено отсутствием акцепторного участка рамнозы на мембране, ферментов, необходимых для эффективной передачи элементов рамнозилрибонуклеотидов к акцепторным участкам мембраны, или комбинацией этих двух механизмов.

Эти данные свидетельствуют о том, что стабильные L-формы бактерий представляют собой не только морфологические варианты бактериальных клеток, лишенные клеточной стенки, но и варианты с резко измененными функциональными особенностями. Потеря ригидной клеточной стенки обуславливает дезорганизацию процесса деления и сказывается на антигенной структуре.

Незащищенная цитоплазматическая мембрана L-форм чувствительна к колебаниям температуры и pH среды. При pH 7,0 отмечается максимальная устойчивость L-форм даже при резких колебаниях температуры; при щелочных значениях pH разрушительное действие наблюдается лишь при высокой температуре, резкая дезинтеграция выявлена при pH 9,0 и температуре 48° (Panos, Cohen, 1964; Panos, Parunack, 1965; Panos et al., 1965; Panos, 1967).

У L-форм меняется химический состав, сухой вес их меньше сухого веса исходных бактерий.

По данным Fleck (1965), Fleck и Minck (1964), у интактных бактерий *Proteus* P18 бактериальная стенка составляет 30% от общего сухого веса, а у его L-форм — не более 10,5%; последние содержали в 5 раз меньше аминокислот, в 10 раз меньше ДАП, в 2 раза меньше метионина. Содержание гистидина, лейцина и изолейцина у L-форм было выше, чем у бактериальных форм данного вида. При изучении 4 компонентов мукопептида (мурамовая кислота, ДАП, глюкозамин и D-глутаминовая кислота) в очищенной цитоплазматической фракции L-форм *Proteus* P18 были найдены следы мукопептидов. При последующем изучении глюконеида стабильной L-формы данного штамма (Fleck, 1968) были обнаружены восстановленные сахара как у L-форм, так и у родительского штамма, что свидетельствует, по мнению автора, об идентичности глюконеидного скелета *Proteus* и его L-формы. Наряду с данными о полной утрате ДАП у многих штаммов L-форм протей (Weibull et al., 1967) имеются сообщения, что обнаружен штамм, содержащий ДАП (Weibull, Gyllang, 1965). Это дает основание считать, что иногда у L-форм могут сохраняться отдельные компоненты ригидного слоя клеточной стенки.

Исследование белков мембран у стабильных L-форм некоторых видов бактерий оказалось весьма перспективным для целей таксономической идентификации. Так, изучение белков цельных клеток L-форм *Streptobacillus moniliformis* и *Proteus* выявило возможность их видовой дифференциации (Rottem, Razin, 1967b). Недавно Theodore и соавторы (1969) на основании электрофоретической разгонки белков неочищенных мембран в полиакриламидном геле и денситометрических записей обнаружили четкие межвидовые различия между L-формами *Proteus*, *Streptococcus*, *Staphylococcus* и *Streptobacillus*. Они установили внутривидовые различия L-форм стрептококков группы A и D, сходство электрофорграмм L-форм и их родительских культур. Результаты изучения белков мембран позволили создать типовые образцы нескольких видов L-форм, пригодные для идентификации по ним штаммов, выделяемых из клинического материала.

В ходе индукции L-форм значительно изменяется химический состав бактериальных клеток. Так, при изучении L-форм *Pr. vulgaris* выявлено (4) снижение содержания общего азота, белка и резкое повышение количества липидов. При обработке взвеси трихлоруксусной кислотой была получена кислоторастворимая фракция, общий азот которой составлял 6% общего азота, а фосфор — около 55% общего фосфора. В аналогичных условиях опыта бактериальная форма протей теряла около 8,5% общего азота и лишь 22% общего фосфора. Соотношение РНК и ДНК, равное у бактериальной формы протей 2,5, резко снижалось и составляло у L-форм 0,14 (у последних ДНК преобладало над РНК) (Vendrel, Tulasne, 1953; Vendrel, 1958; Krembel, Deluzarche, Minck, 1961).

Соотношения РНК и ДНК в цикле роста L-форм по сравнению с интактными бактериями изменяются. Так, при сравнительном изучении родительского штамма и L-формы протей (Weibull, Beckman, 1961; Sensenbrenner et al., 1964) было отмечено более высокое отношение фосфора РНК

к фосфору ДНК у бактерий по сравнению с L-формой в начале логарифмической фазы роста. Наиболее обширные сведения получены при сравнительном изучении стабильной L-формы гемолитического стрептококка группы А и его L-формы (Panos, 1967). Стабильная L-форма в логарифмической фазе роста в 0,5—0,2 раза растет медленнее родительского штамма. Вместе с тем у L-формы содержание ДНК не изменяется, а количество РНК на клетку снижается. Содержание РНК у бактериальной формы стрептококка максимально увеличивается на 20,6%, а у его L-формы — на 13%, тогда как сухой вес клеток в логарифмической фазе у L-форм и у интактных бактерий возрастает пропорционально. Максимальное отношение РНК и ДНК у L-формы было равно приблизительно 0,5 этой величины родительской культуры. Таким образом, у L-форм стрептококка, как и у L-форм протей, содержание ДНК на единицу массы остается постоянным аналогично родительским культурам, а изменяется в основном содержание РНК, которое в период логарифмической фазы роста снижается в 2 раза.

Отношение РНК и ДНК в логарифмической фазе роста L-форм стрептококка несколько выше, чем у старых L-культур.

Синтез нуклеиновых кислот у L-форм значительно снижен. Они содержат около 66% ДНК и 50% РНК от количества их в интактных клетках. Скорость процессов у L-форм по сравнению с родительскими культурами замедлена.

При превращении стрептококка в L-форму отмечается снижение содержания белка, РНК и уменьшение скорости роста. Более низкая скорость роста L-форм коррелирует с более низким содержанием РНК по сравнению с исходным стрептококком и связана с утратой способности синтезировать клеточную стенку.

Причины пониженной способности роста L-форм Panos (1967) пытался выяснить путем сравнительного изучения РНК и ДНК в процессе индукции L-форм из стрептококка и исследования рибосомальной РНК. Данные табл. 2 и 3 свидетельствуют об отсутствии изменений в составе РНК и ДНК стрептококков при их превращении в L-формы. ДНК стрептококка и его L-формы были АТ-типа и содержали одинаковое количество аденина и тимина, что указывает на наличие у них двухспиральной ДНК.

ТАБЛИЦА 2. МОЛЯРНЫЕ СООТНОШЕНИЯ ОСНОВАНИЙ (МОЛЬ %) РНК, ПОЛУЧЕННОЙ ИЗ СТРЕПТОКОККА И ЕГО L-ФОРМЫ (ПО PANOS, 1967)

| Микроорганизм | Гуанин (Г) | Аденин (А) | Цитозин (Ц) | Урацил (У) | $\frac{Г+У}{А+Ц}$ | $\frac{Г+Ц}{А+У}$ | Пурины (ПУ) | |
|---------------|------------|------------|-------------|------------|-------------------|-------------------|-----------------|--|
| | | | | | | | Пиримидины (ПИ) | |
| Стрептококк | 29,6 | 25,6 | 25,0 | 19,9 | 0,98 | 1,20 | 1,23 | |
| L-форма | 29,7 | 26,1 | 24,0 | 20,2 | 0,99 | 1,16 | 1,15 | |

ТАБЛИЦА 3. МОЛЯРНЫЕ СООТНОШЕНИЯ ОСНОВАНИЙ (МОЛЬ %) ДНК, ПОЛУЧЕННОЙ ИЗ СТРЕПТОКОККА И ЕГО L-ФОРМЫ (ПО PANOS, 1967)

| Микроорганизм | Гуанин (Г) | Аденин (а) | Цитозин (Ц) | Тимин (Т) | $\frac{А+Т}{Г+Ц}$ | ПУ | |
|---------------|------------|------------|-------------|-----------|-------------------|------|--|
| | | | | | | ПИ | |
| Стрептококк | 17,1 | 32,5 | 17,6 | 32,8 | 1,88 | 0,98 | |
| L-форма | 16,7 | 32,9 | 17,0 | 33,4 | 1,96 | 0,98 | |

РНК стрептококка и его L-формы были ГЦ-типа.

Сравнительное изучение рибосомальной РНК (рРНК) и транспортной РНК (тРНК) показало, что замедление скорости роста у L-формы стрептококка коррелирует со снижением содержания рРНК, тогда как изменений рРНК у стрептококка не наблюдалось (9,19 и 13,72% от сухого веса соответственно). Изменения в рРНК не зависели от среды культивирования (осмотическое давление среды было одинаковым у стрептококка и его L-формы), а были обусловлены дезорганизацией клеточного деления у L-формы.

Результаты изучения нуклеотидного состава L-форм разных видов бактерий уже начали использоваться для их таксономической идентификации. Критерием идентификации является сравнение соотношения оснований и полинуклеотидной гомологии ДНК у разных видов L-форм и их предполагаемых родительских культур (McGee et al., 1967, Witter et al., 1968).

В серии работ (Edwards, Panos, 1962; Panos, 1967; Panos, Cohen, 1966) показана почти полная потеря группового С-полисахарида и его основных компонентов — рамнозы, глюкозамина и мурамовой кислоты у стабильных L-форм гемолитического стрептококка при сохранении способности продуцировать М-белок. Сравнительное исследование кислоторастворимых нуклеотидов выявило их одинаковое содержание у исходной бактериальной и L-формы. Вместе с тем были отмечены значительные различия в типах нуклеотидов. Так, в отличие от исходной бактериальной культуры L-формы не содержали уридинмонофосфата (УМФ) и содержали высокие концентрации уридиндифосфата (УДФ) — пептида мурамовой кислоты и УДФ-ацетилглюкозамина. Предшественник УДФ-мурамовой кислоты у исходной бактериальной формы вообще не обнаружен.

Первое сообщение о значении липидов в химическом составе L-форм и микроплазм сделано Partridge и Klieneberger (1941), обнаруживших в составе L-форм *Streptobacillus moniliformis* холестерин. Последующие работы показали, что липиды являются существенным ростовым фактором, необходимым для L-форм бактерий. Edward (1954) экстрагировал из L-форм около 16% холестерина (от сухого веса), который входил в состав маслянистых включений L-колоний. У L-форм *Pr. vulgaris* выявлено значительное увеличение содержания липидов по сравнению с исходной бактериальной культурой (14—25% против 5—6% от сухого веса) и снижение концентрации липополисахаридов (Tulasne, 1955; Minck, 1955). Более высокое содержание свободного холестерина и снижение концентрации глюколипидов у L-формы по сравнению с бактериальной формой протея установили Rebel и соавторы (1963).

Изучение липидов мембран *S. pyogenes*, его протопластов и стабильной L-формы (Panos, Cohen, Fagan, 1966; Cohen, Panos, 1966; Panos, 1967) выявило существенное различие между ними. Мембрана L-форм содержала больше общих липидов и гликолипидов и меньше фосфолипидов, чем мембрана протопластов. В мембранах протопластов и L-форм также содержались липопротеины, но соотношение белка и липидов у мембраны протопластов было значительно выше, чем у L-форм, хотя общее количество белка было приблизительно одинаковым (68% у первых и 59% у вторых).

Изолированные мембраны L-форм имели на 57% больше жирных кислот, чем протопласты. С этим связывают большую, чем у L-форм, хрупкость и чувствительность протопластов к вибрационным и осмотическим нагрузкам.

L-форма стрептококка содержит на 62% меньше гексадекановых изомеров и на 39% больше октадекановых кислот, чем родительская культура.

В мембране L-форм обнаружено на 45% меньше гексадекановых изомеров и на 22% больше октадекановых кислот, чем у стрептококка.

Основной гликолипидной и фосфолипидной фракцией протопластов и исходных бактериальных форм стрептококков является цис-вакценовая кислота, а у L-форм ее изомер — олеиновая кислота, которая у последних преобладает.

По мнению Panos (1967), L-формы стрептококка аналогично бактериальным формам этого вида и другим бактериям не синтезируют полиненасыщенных жирных кислот с длинной цепью, но способны ферментативно включать этот компонент как целостную структурную единицу в свои мембраны.

Содержание липидов у L-форм значительно возрастает при их культивировании на средах с повышенным содержанием солей (Mandel, Terranova, 1960; Krembel et al., 1961). Солеозависимые L-формы содержат очень малые количества липидов, особенно фосфолипидов. Smith и Rothblat (1962) предположили, что потребность в повышенной концентрации солей у некоторых L-форм обусловлена необходимостью стабилизации мембраны, состоящей из отдельных липидов с длинной цепью. Уплотнение мембраны с помощью ионов металлов ведет к ее стабилизации. По Smith (1964), отдельные виды микоплазм и L-форм бактерий различаются по содержанию липидов и их свойствам. В этой связи представляют интерес данные о химическом составе цитоплазматической мембраны L-форм *S. moniliformis*. В ней обнаружено (Smith, 1964, 1967) около 86% неомыляемых липидов (стеринов и каротиноидов). Согласно мнению Smith (1964), 2 плотных наружных слоя мембраны L-форм состоят из белковых компонентов, а внутренний слой, электроннопрозрачный (35 Å), — из липидов.

ОСОБЕННОСТИ РЕПРОДУКЦИИ

• Существенные изменения, претерпеваемые бактериями в ходе индукции L-форм, отражаются и на процессе репродукции. •

Репродуктивный цикл L-форм бактерий изучается начиная с 40-х годов с помощью различных морфологических (световая и электронная микроскопия) и микробиологических методов.

Наиболее достоверные сведения о репродукции микроструктур были получены путем их прижизненного наблюдения в световом микроскопе. В отношении репродуктивного цикла элементарных фильтрующих частиц L-форм имеются менее точные данные. • Существуют две точки зрения о характере размножения L-форм бактерий. •

1. Деление L-форм бактерий происходит по принципу деления бактериальной клетки. Однако отсутствие ригидной клеточной стенки сказывается на регуляции этого процесса. Окружающая среда, в какой-то степени играющая роль стенки, является механическим и весьма лабильным регулятором, обуславливающим неравномерное деление.

2. Процесс размножения L-форм отличается от деления бактерий. Согласно этой точке зрения размножение осуществляется преимущественно с помощью элементарных телец, которые развиваются в больших телах, освобождаются при дезинтеграции последних и вновь развиваются в большие тела. •

В серии старых работ (Tulasne, 1949, 1950, 1955; Minck, 1955; Klieneberger-Nobel, 1949, 1951, 1958, 1962) описано размножение L-форм группы протей, которое, по мнению авторов, происходит делением, почкованием и вакуолизацией больших тел с образованием субмикроскопических включений размером 200—250 мкм, освобождающихся при разрыве больших тел.

Stempen, Hutchinson (1951) и Rubio-Huertas (1957) также наблюдали

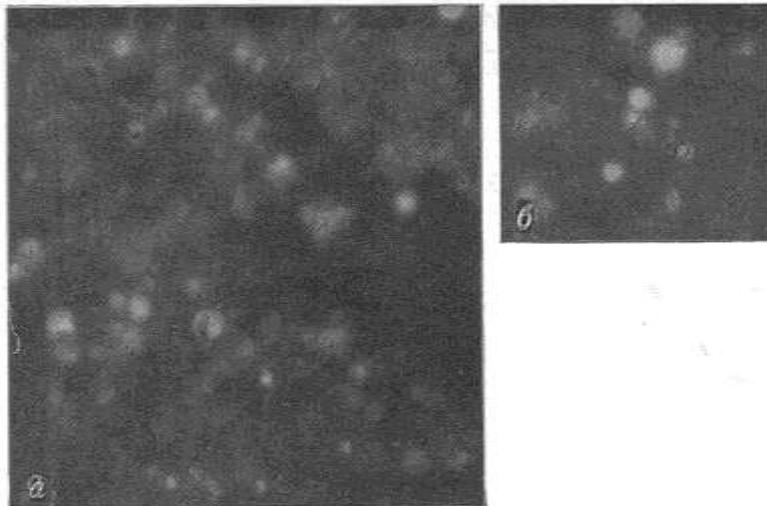


Рис. 9. ДНК- и РНК-содержащие структуры L-колонии. Окраска акридиновым оранжевым. Ув. $\times 900$. Препараты Г. Я. Каган, Ф. И. Ершова.
 а — β -гемолитический стрептококк; б — *S. typhi*.

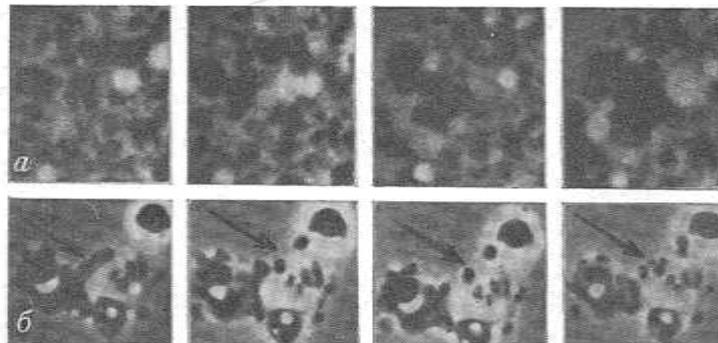


Рис. 10. Репродукция L-форм бактерий.
 а — почкование и деление L-форм гемолитического стрептококка; б — почкование, деление появление гранул L-форм *S. typhi*. Фазовый контраст. Серийная фотосъемка и цейтрафферная киносъемка. Ув. $\times 1350$.

образование элементарных телец в больших телах L-форм протей без вакуолизации последних; освободившись, они разбухали до размеров больших тел и вновь заполнялись элементарными тельцами.

По данным Taubeneck (1962c, d), размножение L-форм *Pr. mirabilis* осуществляется замедленным, а иногда неравномерным делением клеток на 2 дочерние. Их разъединение происходит под действием сил броуновского движения. По наблюдениям Roux (1960), изучавшего репродукцию L-форм *V. cholerae* и *Pr. vulgaris*, репродуктивными потенциами обладают большие шаровидные тела, у субмикроскопических форм они не обнаруживаются. Weibull и Lundin (1962) также отмечают, что только L-элементы размером 0,6—0,7 мк стабильных L-форм вульгарного протей способны увеличиваться в размерах и давать рост микроколоний. Rapos и соавторы (1960) установили, что размер элементарных, способных к воспроизводству единиц L-форм гемолитического стрептококка не превышает 0,3 мк. Определение величины минимальных репродуцирующихся элементов L-форм гемолитических стрептококков группы А методами фазово-контрастной микроскопии и фильтрации дало разные результаты; в первом случае репродуктивными потенциами обладали клетки размером 1,2—1,4 мк, во втором — 0,45—0,65 мк, а методом прорастания в среду через поры фильтров — диаметром 0,22—0,3 мк. Авторы приходят к важному выводу, что благодаря высокой пластичности и способности к деформации L-формы могут проходить через более мелкие поры фильтров (Wyrick, Gooder, 1967; Boven van Ensering, Hijmans, 1968; Weibull, 1958).

Наиболее достоверными размерами репродуцирующихся элементарных телец L-форм разных видов бактерий следует считать приблизительно 0,6—0,7 мк (Roux, 1960; Taubeneck, 1962d; Weibull, Lundin, 1962; Weibull, 1963; Fodor, Miltenyi, 1964; Dienes, 1967e, van Boven et al., 1968a, b).

Эти структуры могут развиваться как на плотных, так и на жидких средах. Развитие структур размером 0,5—0,6 мк происходит преимущественно на плотных средах внутри агарового геля или пористой структуры мембранного фильтра; в жидкой среде мелкие элементарные тельца, по-видимому, не репродуцируются.

Главную роль в размножении L-элементов колоний типа А, по мнению Tulasne и соавторов (1960), играют субмикроскопические единицы. L-формы типа В размножаются в основном посредством больших шаровидных тел, зернистые элементы в размножении L-форм этого типа существенного значения не имеют.

Исследования размножения микроструктур L-форм *S. typhi* и *S. haemolyticus* путем прижизненного наблюдения в фазово-контрастном микроскопе (В. Д. Тимаков, Г. Я. Каган, 1960, 1961, 1967; Г. Я. Каган, 1963; С. Г. Комм и др., 1965) показывают, что размножение разных элементов L-форм следует рассматривать отдельно.

Материалы наших экспериментов касаются лишь видимых в световом микроскопе структур, которые способны равномерно и неравномерно делиться (рис. 10), увеличиваться в размерах, образовывать все увеличивающееся число гранул (освобождение и последующее развитие их в этих опытах наблюдать не удалось), отпочковывать мелкие формы от крупных шаровидных тел или образований, не имеющих определенной формы.

Нам удалось проследить развитие не ограниченных клеточной стенкой масс цитоплазмы, содержащих гранулы, их слияние с последующим появлением тонких нитей, перегородок или мембран и формирование L-колоний. вновь образованные мембраны как бы разграничивают новые структурные элементы развивающихся L-колоний. Сходные результаты были получены Klieneberger-Nobel (1962), отметившей при статическом изуче-

нии фаз размножения L-форм гультарного протея слияние мелких элементарных телец в шаровидные тела, а также слияние волокон в более сложные, неправильной формы структуры. Этот процесс автор рассматривает как своеобразное проявление полового размножения.

Возможность полового размножения у L-форм, однако, нельзя считать полностью доказанной, так как слияние волокон и зерен может быть обусловлено чисто физико-химическими условиями среды.

Наиболее достоверные данные о характере репродукции микроструктур получены с помощью центрифужной киносъемки. Вместе с тем представляется весьма важным изучение возможности репродукции структурных элементов, не видимых в световом микроскопе. По-видимому, все микроструктурные элементы L-форм — шары, вакуолизированные формы, тела неправильной конфигурации и массы клеточного вещества, содержащие гранулы, обладают репродуцирующей способностью. Последняя носит множественный характер, наблюдается бинарное деление и деление в разных направлениях, почкование, образование описанных выше субмикроскопических форм, возможно, также способных к воспроизводству. Эта способность у субмикроскопических форм, по-видимому, связана не только с размерами, их химическим составом (наличие ДНК, определяющей их способность к репродукции), но и многими другими факторами. Многообразие морфологических проявлений процесса размножения L-форм обусловлено, вероятно, отсутствием ригидной клеточной стенки. Необычайные по форме и размерам униполярные и мультиполярные микроструктурные элементы L-форм, появляющиеся в процессе репродукции последних, и необычность репродуктивного процесса определяются во многом физическими условиями культуральной среды.

МЕХАНИЧЕСКАЯ И ОСМОТИЧЕСКАЯ ХРУПКОСТЬ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К НЕКОТОРЫМ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫМ АГЕНТАМ И БАКТЕРИОФАГАМ

- Внутриклеточное осмотическое давление, равное у грамположительных кокков 30 атм, а у грамотрицательных палочек 8 атм (Mitchell, Moyle, 1956; Gilby, Fleck, 1959), регулируется клеточной стенкой. Отсутствие ее у L-форм обуславливает их механическую и осмотическую хрупкость. В зависимости от степени утраты клеточной стенки L-формы подразделяются на солезависимые, например группа *Proteus*, *Salmonella*, *Streptobacillus moniliformis*, и солезависимые — преимущественно грамположительные и грамотрицательные кокки (Sharp, 1954; Panos et al., 1958; Sharp, Dienes, 1959; Г. Я. Каган, 1963; С. В. Прозоровский, 1959, 1970; Smith, 1964; В. Д. Тимаков, Г. Я. Каган, 1961; 1967; Roberts, 1967; Е. И. Контелова, Т. К. Миронова, 1968; Hijmans et al., 1969, и др.).

Лизис солезависимых L-форм предотвращается осмотической стабилизацией среды культивирования, выполняющей функцию клеточной стенки.

Рост солезависимых L-форм связан не только с осмотической концентрацией среды, но и с видом бактерий и типом веществ, стабилизирующих среду. Так, известно, что сахароза и NaCl наиболее способствуют росту L-форм в широком диапазоне осмотических концентраций. Менее эффективны и пригодны для более ограниченного числа видов фосфатные соли, KCl и CaCl₂, сукцинат натрия, действующие в узких пределах концентраций (Г. Я. Каган, З. А. Песина, 1959; Г. Я. Каган, В. Т. Савенкова, 1960; С. В. Прозоровский, 1959). Двухвалентные катионы благоприятны для стабилизации L-форм *E. coli* (Lederberg, St. Clair, 1958) и *S. paratyphi* (Landman, Ginoza, 1961).

Агар, сыворотка и осмотические стабилизаторы оказывают синергическое действие на рост и стабилизацию L-форм *Pr. mirabilis* и *E. coli* (Landman et al., 1958). Солевые стабилизаторы были необходимы при 0,8% концентрации агара; при более высокой концентрации (1,5%) рост L-форм отмечался и без солевых стабилизаторов. Аналогичные явления наблюдались у L-форм гемолитического стрептококка группы А (Michel, 1961); уменьшение содержания сыворотки в агаре сопровождалось увеличением потребности L-форм в NaCl.

Высокая потребность в катионах, вероятно, необходима для стабилизации фосфолипидов цитоплазматической мембраны L-форм (van Iterson, Ruys, 1960; Smith, 1963, 1964, 1967; Razin, Argman, 1963). В пользу этого свидетельствует способность ионов уранила, прикрепляющихся к фосфорным группам фосфолипидов, защищать микроорганизмы от действия анионных и катионных детергентов (Razin, Argman, 1963). L-формы осмотически менее хрупки, чем протопласты. Стабилизация протопластов стрептококков группы А происходит при концентрации NaCl в 2 М, а полученные из них L-формы растут при 0,68 М NaCl в среде (Freimer et al., 1959; Gooder, Maxted, 1961). Различия в осмотической хрупкости протопластов и стабильных L-форм стрептококка группы А, вероятно, связаны с различиями химического состава их клеточных стенок (James et al., 1965; Cohen, Panos, 1966; Panos, 1967). Адаптировать солезависимые L-формы к меньшим концентрациям солей в среде очень трудно, а иногда совершенно невозможно. Например, L-форма стафилококка, первоначально нуждавшаяся в 0,6 М NaCl, после длительной адаптации росла при концентрациях 0,26—0,2 М, однако рост был слабый и пересевы осуществлялись с трудом (Williams, 1963). Аналогичные данные получены в отношении L-формы стрептококка (Michel, 1961), которые росли при концентрации 0,12—0,15 М NaCl, одновременное понижение содержания сыворотки в среде с 10% до 2% требовало повышения концентрации NaCl до 0,19—0,26 М. L-формы чувствительны к быстрому падению осмотической концентрации среды. Они мало жизнеспособны и гибнут в дистиллированной воде. Исключение составляют L-формы *Streptobacillus moniliformis* (Razin, Argman, 1963).

L-формы бактерий отличаются механической хрупкостью. Даже обычная техника приготовления препаратов деформирует и разрушает их (Dienes, 1942, 1962; Klieneberger-Nobel, 1962). Центрифугирование L-форм стрептококка группы А (James, 1965), энергичное встряхивание L-культур, выросших в жидкой среде (Hijmans et al., 1969), могут разрушить их и подавить рост. Воздействие ультразвука на L-формы стрептококков группы А и стафилококков также приводит к их разрушению (Panos et al., 1960; Fodor, Miltényi, 1964).

Чувствительность L-форм к поверхностно-активным агентам пока мало изучена. Имеются лишь ограниченные сведения о литическом действии некоторых детергентов на L-формы *Streptobacillus moniliformis*, протопласты *Micrococcus lysodeikticus* и сферопласты *E. coli*, при этом установлено, что L-формы и сферопласты к ним менее чувствительны, чем протопласты (Razin, Argman, 1963; Gumpert, Nermut, 1967).

L-формы чувствительны к действию неспецифических литических агентов; описан лизис L-форм, индуцированный панкреатической липазой.

Лизоцим, действующий, как известно, на β-гликозидные связи ацетилмурамовой кислоты и ацетилглюкозамина мукоидного комплекса клеточных стенок бактерий (Salton, 1956), в связи с отсутствием их у L-форм не вызывает у последнего литического эффекта (Razin, Argman, 1963). Дигитонин не оказывает литического действия на солезависимые L-формы.

соленезависимый штамм L-форм протей лизировался в незначительной степени, а L-форма *Streptobacillus moniliformis* не лизировалась, но агглютинировалась этим веществом.

✓ L-формы бактерий высокоустойчивы к L-трансформирующим агентам, например в действие некоторых аминокислотосодержащих соединений — карбоксиметоксиламину, глицину, пенициллину и др.

Высокая степень устойчивости L-форм к пенициллину не сопровождается повышением устойчивости к другим антибиотикам, губительно действующим на них. Так, L-культуры *Pr. morganii*, *Pr. vulgaris* и *S. moniliformis*, высокоустойчивые к пенициллину, проявляли повышенную чувствительность к хлоромидецину, тетрациклину, ауреомицину и особенно к тиротрицину (Tulasne, Minck, 1952; Pulvertaft, 1953). Об отсутствии перекрестной устойчивости к пенициллину, стрептомицину и линцину у L-форм *Ps. fluorescens* и *Pr. vulgaris* сообщает Rubio-Huertas (1957).

При изучении чувствительности L-форм *S. typhi* и *S. typhimurium* к пенициллину, хлорамфениколу и ауреомицину Dienes (1950, 1952) отметил резкое снижение чувствительности к пенициллину и некоторое повышение ее к хлорамфениколу, задерживающему рост L-форм при концентрации 0,002 мг на 1 мл среды (рост исходных культур задерживался при несколько более высоких концентрациях — 0,004 мг/мл).

Аналогичные результаты получены при изучении действия ауреомицина, вызывающего слабый рост L-форм *Salmonella* при концентрации 10 мг/мл и полное подавление роста более высокими концентрациями.

В. С. Левашев (1966), изучавший устойчивость к антибиотикам L-форм разных видов бактерий (*Pr. vulgaris*, *S. typhi*, *Streptococcus haemolyticus* и *Staphylococcus aureus*), полученных при воздействии пенициллина, выявил, что независимо от вида исходной бактериальной культуры устойчивость L-форм к пенициллину возрастает в десятки и сотни тысяч раз. Чувствительность же к антибиотикам — ауреомицину, левомидецину и стрептомицину, не вызывающим индукцию L-форм, повышается незначительно (в 2—3 раза) или вообще не меняется.

✓ Исследованиями последних лет установлено, что отсутствие клеточной стенки и наличие цитоплазматической мембраны обуславливают избирательное отношение L-форм бактерий к антибиотикам. Они высокоустойчивы к антибиотикам и веществам, исходное действие которых связано с клеточной стенкой, например к пенициллину, эритромицину, циклосерину, цефалотину, ванкомицину, бацитрацину и др. (Robinson et al., 1959; Wood, Archer, 1961; Molander et al., 1964, и др.).

Концентрации пенициллина и циклосерина, подавляющие рост бактериальных форм, в тысячи раз меньше доз, подавляющих рост L-форм стрептококка, стафилококка и *N. meningitidis*, и в сотни раз применительно к бацитрацину, ванкомицину и ристомицину (Molander et al., 1964; Panos et al., 1967; Williams, 1963; Roberts, 1967).

Чувствительность к некоторым антибиотикам варьирует у L-форм разных видов. Например, L-формы *N. gonorrhoeae* не отличаются от родительских культур по чувствительности к бацитрацину, ристоцину и ванкомицину (Roberts, 1966) и более резистентны, чем родительские штаммы, к пенициллину, ампициллину, метициллину, циклосерину и цефалотину (Roberts, 1968). L-формы *N. meningitidis*, полученные под влиянием пенициллина, ампициллина, циклосерина, цефалотина, ванкомицина, бацитрацина и ристоцитина, оказались более устойчивыми к этим антибиотикам, чем исходные родительские штаммы, за исключением ристоцитина, к которому интактные менингококки и L-формы имели одинаковую степень резистентности (Roberts, 1967).

Существуют некоторые различия в чувствительности к антибиотикам у L-форм и протопластов. Так, протопласты *Str. faecalis* (Stockman, Lampen, 1962) и *B. megaterium* (Hancock, Fitz-James, 1964) обнаружили почти такую же чувствительность к бацитрацину, ристоцетину и ванкомицину, как и исходные бактерии (Reynolds, 1966); протопласты *Bac. licheniformis* и *M. lysodeikticus* оказались более чувствительными (Snoke, Cornell, 1965).

Наличие цитоплазматической мембраны и отсутствие клеточных стенок обуславливают чувствительность L-форм и микоплазм к антибиотикам, первичное действие которых, определяющее их антимикробную активность, не связано с синтезом и интеграцией клеточной стенки. Например, L-формы стафилококка более чувствительны, чем исходные бактериальные формы, к каномоцину, неомицину, полимиксину В, линкомицину и гентамицину (Kagan, 1968; Dalton et al., 1968).

Антибиотики: тетрациклин, хлорамфеникол, эритромицин, стрептомицин — оказывают эффективное действие на L-формы.

L-формы *N. meningitidis* и *N. gonorrhoeae*, как и их бактериальные культуры, очень чувствительны к указанным антибиотикам и сульфаниламидам. Высокая чувствительность к этим препаратам обнаружена у L-форм *Cl. tetani* (Scheibell, Assandro, 1959), стафилококка (Williams, 1963; Kagan, 1968) и протей (Taubeneck, 1962b; Gutman et al., 1967). Фаговосприимчивые рецепторы сохраняются лишь у нестабильных L-форм, чаще В типа; у стабильных L-форм фаговосприимчивые рецепторы утрачиваются. L-формы, полученные из лизогенных бактерий, сохраняют способность образовывать фаг. Это было показано на *Salmonella* (Landman, Ginoza, 1961; Landman et al., 1962), на *Proteus* (Taubeneck, 1963; Tulasne, 1965), на *Staphylococcus* (Williams, 1963) и *E. coli* (В. С. Левашев, 1966).

В цитоплазме стабильных L-форм бактериофаги могут развиваться, но неспособны в нее проникнуть из-за отсутствия необходимых для них рецепторов. У *E. coli* эти рецепторы локализуются в липополисахаридной, а у других видов — в липопротеиновой фракциях клеточной стенки, отсутствующих у стабильных L-форм. Стабильные L-формы *Proteus* (Taubeneck, 1962a, b, 1963; Bloss, 1963), *Proteus mirabilis* (Smarda, Schumann, 1967), *Vibrio* и *Staphylococcus* (Williams, 1963), *E. coli* (Taubeneck, Schumann, 1966) оказались нечувствительными к соответствующим бактериофагам. Утрата фаговосприимчивых рецепторов может не сопровождаться утратой соответствующих рецепторов к колицинам. Так, например, стабильная L-форма *Pr. mirabilis*, нечувствительная к фагу, оказалась чувствительной к некоторым колицинам родительских культур (Smarda, Schumann, 1967).

УСЛОВИЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ. ФЕРМЕНТАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ

* Основной средой культивирования L-форм разных видов чаще всего является триптический перевар бычьего сердца с добавлением сыворотки млекопитающих и дополнительных компонентов в виде яичного желтка, дрожжевого экстракта, альбумина, эритроцитов и др. *

Индукцию L-форм и их начальные пересевы производят преимущественно на плотных питательных средах, хотя недавно были опубликованы данные, свидетельствующие о возможности получения и размножения L-форм и в жидкой среде (Hamburger, Carleton, 1966; Winterbauer et al., 1967). Агаровый гель замещает отсутствующую у L-форм ригидную клеточную стенку и служит механической поддержкой для хрупких микроструктур L-форм, а внедрение в агаровый гель играет существенную роль

в развитии L-колоний, поэтому концентрация агара в среде имеет существенное значение как при их индукции, так и при субкультивировании. Оптимальная концентрация агара равна 0,7—1,3%, более высокие концентрации (2%) или замена агара более плотным гелем препятствуют развитию и внедрению L-элементов.

Использование небольших концентраций агара (0,1—0,3%) обеспечивает хороший рост L-культуры, но затрудняет дифференциацию истинных L-форм от переходных форм. Замена агара желатиной, метилцеллюлозой, коагулированным белком или гелем кремния неблагоприятна для L-форм (Lederberg, St. Clair, 1958; Dienes, Madoff, 1966).

Дополнительными факторами роста L-форм являются печеночный, дрожжевой, яичный экстракты, пептический перевар эритроцитов, фракция V бычьей сыворотки и др. (Butas, 1957). По данным Smith (1964), липопротеиновая фракция бычьей сыворотки обеспечивает потребности L-форм бактерий только в том случае, если ее добавлять интактной.

Созданию единой комплексной среды для индукции и субкультивирования L-форм препятствует недостаток сравнительных сведений о пищевых потребностях L-форм и их родительских культур у разных видов бактерий. Тем не менее некоторые принципиально важные данные уже получены (Medill, O'Kane, 1954; Minck et al., 1957, 1958; Panos, Hynes, 1964; van Boven et al., 1967, и др.). Так, для выращивания L-форм *Proteus* Medill и O'Kane (1954) предложили синтетическую среду. Эта среда была усовершенствована Abrams (1955).

Синтетические среды успешно использовались для культивирования L-форм протей, но они были менее эффективны для культивирования более требовательных L-форм *S. moniliformis*. Этот вид L-форм нуждается в альбумине бычьей сыворотки и нерастворимой в ацетоне фракции липидов яичного желтка (Edward, 1953).

Добавление к среде 5 мг/мл бычьего альбумина способствует обильному росту L-форм, но образуются более мелкие колонии. Умеренный рост L-колоний наблюдается при внесении в среду растворимой в ацетоне фракции яичного желтка в количестве 0,8 мг/мл. Весьма интенсивный рост происходит при добавлении указанной выше фракции и сывороточного бычьего альбумина. Высокие концентрации этой фракции яичного желтка (2 мг/мл) и холестерина угнетающе действуют на рост L-форм.

Потребность L-форм *Proteus* и *S. moniliformis* в аминокислотах частично удовлетворяется казаминовыми кислотами, иногда с добавлением цистина и триптофана.

L-формы нуждаются в углеводах; эти потребности избирательны в зависимости от их вида. Энергетические потребности L-форм *Proteus* обеспечиваются добавлением к среде глюкозы (Abrams, 1955; Razin, Knight, 1960b).

Потребности L-форм в витаминах и некоторых неорганических соединениях зависят от вида и штамма L-форм.

Различия в пищевых потребностях L-форм и родительских форм бактерий обусловлены рядом причин. В процессе индукции L-форм, вероятно, повреждаются некоторые активные транспортные механизмы, усиливается диффузия, уменьшается количество компонентов, необходимых для построения клеточных стенок, и, наконец, вполне вероятным является повреждение некоторых систем метаболизма.

Оптимальный pH для роста L-форм бактерий варьирует в пределах 7,4—7,6.

Осмотические условия культивирования L-форм бактерий зависят от степени их осмотической хрупкости.

Концентрация NaCl в среде может колебаться от 0,25 до 1,1 М. NaCl можно заменить другими солями — KCl, CaCl₂, MgCl, двуосновным фосфатом Na.

Концентрация одновалентных катионов ниже 0,25 М неэффективна; двухвалентные катионы эффективны при 0,18 М, а трехвалентные — при 0,14 М. Некоторые соли нельзя применять из-за их высокой токсичности, например LiCl (Dienes, Sharp, 1956).

По данным Panos, Barkulis (1959), Smith, Rothblat (1963) и Smith (1967), действие солей является не только строго осмотическим, но и комбинированным, сочетающим осмотический эффект и стабилизирующее влияние на цитоплазматическую мембрану, обусловленное связью катионов с остатками фосфолипидов. Отмечено, что 0,25—0,88 М сахара дает возможность выжить солезависимым L-формам. В этом случае сахара, обеспечивая необходимые для роста L-форм осмотические условия, создает возможность солям среды культивирования связываться с фосфолипидами мембраны и тем самым снижает общую потребность L-форм в солях.

Соле nezависимые L-формы способны размножаться в среде при осмотическом давлении обычных сред (5—10 атм), они легко приспособляются к различным осмотическим условиям. Например, L-формы протей хорошо растут на изотонических средах.

Значение аэробных или анаэробных условий культивирования зависит от вида L-форм. Большинство видов растут как в аэробных, так и в анаэробных условиях.

Ферментативные свойства L-форм бактерий изучены недостаточно, однако известно, что некоторые из них способны ферментировать сахара, например L-формы протей (Kandler, Kandler, 1956, 1960; В. С. Левашев, 1956), сальмонелл (Weinberger et al., 1950; Dienes, Weinberger, 1951; В. Д. Тимаков, Г. Я. Каган, 1961; Г. Я. Каган, 1963), *Streptobacillus moniliformis* (Klieneberger-Nobel, 1962) и солезависимая L-форма β-гемолитического стрептококка (Panos, 1967).

Из изученных нами (В. Д. Тимаков, Г. Я. Каган, 1961; Г. Я. Каган, 1963) 8 стабильных L-культур *S. typhi* лишь 1 полностью сохранила ферментативную активность, свойственную исходной бактериальной форме, остальные либо не ферментировали отдельных сахаров (например, мальтозы или маннита), либо дополнительно расщепляли лактозу (2 штамма), сахарозу (1 штамм) и левулезу (3 штамма).

Weinberger и соавторы (1950) отметили сохранение ферментных систем у L-форм *S. typhimurium*, ослабление ферментации мальтозы и приобретение способности ферментировать сахарозу у L-форм *S. typhi*. О приобретении способности ферментировать вещества, не расщепляемые культурами исходных видов бактерий, свидетельствуют также данные Dienes и Weinberger (1951), которые наблюдали разложение мочевины L-культурами нескольких штаммов вульгарного протей. В отличие от исходных культур L-формы хорошо растут на агаре, содержащем мочевины, и расщепляют ее с образованием аммиака.

Механизмы потребления сахаров у L-форм до некоторой степени сходны с соответствующими процессами у исходных бактерий. Чувствительность к разным дыхательным ядам у L-форм несколько изменена. Однако угнетение дыхания цианидами и разобщение дыхания с фосфорилированием под действием 2,4-динитрофенола свидетельствует о сохранении у L-форм дыхательной цепи. Чувствительность L-форм к солям мышьяковой и мышьяковистой кислот указывает на наличие у них не только цикла Эмбдена—Мейергофа, но и цикла трикарбоновых кислот.

Потребление кислорода у L-форм бактерий меньше, чем у исходных бактериальных культур. Так, например, максимальное потребление кислорода в начальной фазе логарифмического роста у *Pr. vulgaris* составляет около 5000 мл/мг (азота белка) в час. При росте бактериальной массы возбудителя на 1 мг азота в среднем требуется 3200 мл кислорода, соответственно максимальное потребление кислорода у L-формы протей составляет 1800 мл/мг белка в час, а для роста бактериальной массы на 1 мг в среднем требуется значительно больше кислорода — 5400 мл (Kandler et al., 1956). Потребление кислорода у L-форм *Proteus «ahmed»* снижено в 5,4 раза по сравнению с исходной культурой, которая в среднем потребляет 88,9 мл кислорода на 1 мг сухого веса, а L-форма — 16,2 мл (Mandel, Terganova, 1956). Потребление глюкозы у протей на 1 г сухого веса 361 мг, а у его L-формы — 50,8 мг, т. е. у исходной культуры приблизительно в 7 раз больше. Различия же в образовании молочной кислоты менее выражены — всего в 3,3 раза (культура протей продуцирует 36,1 мг молочной кислоты на 1 мг сухого веса, а L-форма — 10,9 мг). По продукции молочной кислоты определяется участие анаэробного гликолиза в потреблении глюкозы, который составляет 10% у протей и 25,9% у его L-форм. Таким образом, был показан повышенный анаэробный гликолиз у L-форм протей.

При изучении солевых зависимых L-форм β -гемолитических стрептококков группы А (Panos, 1967; Doolik, Panos, 1968) было обнаружено, что они, как и их родительские бактериальные формы, осуществляют молочнокислое сбраживание глюкозы, глюкозамина, N-ацетилглюкозамина. Гексозы сбраживаются с более высокой скоростью, чем пентозы и фосфорилированные гексозы. В отличие от родительских бактериальных культур L-формы потребляют ацетат и более активны в отношении галактозы, рамнозы, рибозы, глюкозо-6-фосфата и диоксиацетата, чем глюкозы, глюкозамина, N-ацетилглюкозамина, маннозы и фруктозы. Более низкая эффективность использования ацетилгексозаминов, вероятно, обусловлена накоплением ацетата, который L-форма стрептококка неспособна вывести из клетки. Повышенная активность в отношении глюкозы отмечена при культивировании L-форм на средах, содержащих высокие концентрации этого углевода.

В процессе индукции L-форм меняется регуляция α -гликозидазной активности.

Приведенные данные могут свидетельствовать о существовании некоторых различий в метаболической активности у L-форм по сравнению с родительскими культурами, однако при этом нельзя не учитывать, что их ферментативная активность может быть связана с некоторым воздействием высоких концентраций хлористого натрия, в которых нуждается данная L-форма (Lynn, 1960).

Солевые зависимые L-формы β -гемолитических стрептококков группы А содержат кислую и щелочную фосфатазы (Smith, 1964). Содержание щелочной фосфатазы у L-форм ниже, чем у родительской бактериальной формы. Кислая фосфатаза L-форм отличается по оптимуму pH от кислой фосфатазы исходной культуры. Разница в оптимуме pH, вероятно, отражает потерю клеточной стенки, так как кислая фосфатаза стрептококковых протопластов идентична кислой фосфатазе L-форм данного вида.

L-формы *Proteus* обладают более высокой каталазной активностью, чем родительские культуры (Weibull, Humberger, 1962, 1963; Weibull, 1968). Способность синтеза каталазы обнаружена также у L-форм стафилококка (Mattman, Tunstall, Rassmore, 1961; Williams, 1963; Chatterjee, Warg, Perkins, 1967). Наряду с каталазной активностью у L-форм данного вида

сохраняется ДНК-азная, желатиназная и липолитическая активность, а также способность к пигментообразованию и вместе с тем утрачивается фибринолитическая активность и способность синтезировать α -токсин (Smith, Killis, 1967).

Результаты сравнительного изучения биохимической активности L-форм, их родительских культур и культур-ревертантов (*Pr. mirabilis*, *Str. faecalis*, *Str. pyogenes*, *Staph. aureus*, *N. meningitidis*) позволили Cohen с соавторами (1968) предложить несколько биохимических тестов для видовой идентификации L-форм. Наиболее эффективными являются тесты определения оксидазной, каталазной и фосфатазной активности, ферментация глюкозы, дезаминирование фенилаланина, гидролиз эскулина, восстановление нитратов, тетразолия и теллурита. В процессе L-трансформации стрептококков почти не нарушается их синтетическая активность; L-формы продуцируют O-стрептолизин, стрептокиназу, дезоксирибонуклеазу и M-протеин, легко диффундирующий в среду (Freimer, 1963a, b; Maxted, 1968), а также гиалуроновую кислоту (Mortimer, 1967).

В мембранах L-форм *Pr. mirabilis* содержится большее количество сукцинатдегидрогеназы, чем в клеточных стенках исходных культур (Weibull et al., 1967). Эти данные представляют, на наш взгляд, существенный интерес, так как свидетельствуют о том, что предшественники эндотоксинов, синтезируемые в цитоплазме *Proteus*, не только сохраняются, но и легко обнаруживаются, выделяясь через цитоплазматическую мембрану L-форм.

Сходные данные получены и при изучении других видов, например сохранение способности продуцировать нейраминидазы у L-форм *Vibrio cholerae* (Madoff et al., 1961), обнаружение эндотоксиновой активности у *S. paratyphi B* (Casinger, Suter, 1962), сохранение токсигенной функции у *Cl. tetani* (Tulasne, Davillanreix, Sheibell, Assandro, 1959).

Результаты этих исследований представляют исключительный интерес, так как свидетельствуют о сохранении факторов патогенности у L-форм бактерий.

АНТИГЕННАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА L-ВАРИАНТОВ БАКТЕРИЙ ✓

Изменения структуры и химического состава, претерпеваемые бактериями в ходе L-трансформации, нашли отражение и в изменениях их антигенной структуры. Отличительной особенностью ее является преобладание антигенных детерминантов цитоплазматической мембраны и цитоплазмы, которые иногда не выявляются у родительских бактериальных форм из-за преобладания у них антигенных компонентов клеточной стенки.

Изучение L-форм *Streptobacillus moniliformis*, *Proteus* и *Salmonella* выявило сохранение видовой специфичности. Так, L-формы *S. typhi*, *Pr. vulgaris* и *Pr. mirabilis* агглютинировались антисыворотками бактериальных и L-форм, но не давали перекрестной реакции агглютинации (Dienes, Weinberger, 1951; Г. Я. Каган, 1959; В. Д. Тимаков, Г. Я. Каган, 1961, 1967).

Аналогичные результаты получены Lipnicki (1958), который при серологическом анализе антисыворотки L-форм *S. typhi* обнаружил наличие антител к гомо- и гетерологичным штаммам L-форм данного вида и не обнаружил антител к *E. coli* и *Sh. flexneri*.

Антигенные отличия L-форм и интактных бактериальных клеток выявляются при перекрестном серологическом анализе антисывороток бактериальных и L-форм. Так, например, в серии наших опытов с L-формами *S. typhi* эта культура обладала меньшей способностью агглютинироваться гомологичной антисывороткой (титр 1 : 160) по сравнению с родительской

культурой бактериальных форм, которая агглютинировалась антисывороткой L-формы в высоком титре (1 : 1280).

При адсорбции антисыворотки к бактериальной форме *Streptobacillus moniliformis* интактными бактериями удалялись все антигена как в бактериальной, так и в L-форме. При адсорбции L-формой оставались антигена, способные реагировать с бактериальной формой. Адсорбция антисывороток L-формы данного вида L-формой или родительской бактериальной культурой *Streptobacillus moniliformis* как в одном, так и в другом случае удаляла все агглютинины (Klienerberger-Nobel, 1962). Аналогичные данные были получены в отношении двух из трех изучавшихся штаммов L-форм *Proteus* (Dienes et al., 1950).

Антигенное родство L-форм и их родительских бактериальных культур выявляется у разных штаммов по-разному. Так, при изучении антигенных взаимосвязей 3 штаммов L-форм и бактериальных форм протей путем гель-диффузии их фенольных экстрактов полное серологическое родство было отмечено лишь в 2 случаях (Weibull et al., 1967). Выявляемые различия, вероятно, обусловлены характером экстрагируемой антигенной фракции.

Раздельная иммунизация кроликов соматическим и жгутиковым антигенами бактериальной и L-формы протей, проведенная Nelles (1960), выявила возможность получения антибактериальной и L-антисыворотки, содержащих соматические и жгутиковые антигена. Титры L-антисывороток были меньше, чем антибактериальных. Опыты по адсорбции подтвердили наличие соматических и жгутиковых антигенов. L-антисыворотка обладала агглютинирующими и агглютининофиксирующими свойствами. При переходе бактерий в нестабильные L-формы сохранялись жгутики, которые содержали гранулы; подобные гранулы имелись также внутри клеток. Предполагается, что именно в этих гранулах сохраняются жгутиковые антигены.

Несколько иные результаты были получены ранее Tulasne (1951), который, изучая антигенное строение L-форм разных штаммов протей, обнаружил почти полную потерю H-антигена и прогрессирующее уменьшение O-антигена по мере увеличения числа пассажей L-форм в лабораторных условиях. Свежеполученные штаммы L-форм в большей степени сохраняли антигенный состав родительского штамма. Эти наблюдения впоследствии подтвердили Lorkiewicz с соавторами (1957), обнаружившие существенные различия в антигенном строении L-форм типа А и В вульгарного протей. L-формы типа В были наиболее близки по антигенному составу родительским штаммам. Они сохраняли остатки жгутикового антигена и более полный комплекс соматических антигенов по сравнению с высокостабильной L-культурой типа А.

Аналогичные данные были получены нами при изучении L-форм *S. typhi*, которые утрачивают в значительной мере H-антиген и в несколько меньшей степени O-антиген.

При длительном хранении (3-летние наблюдения) L-формы *S. typhi* сохраняли антигенные связи с родительскими штаммами главным образом за счет сохранения O-антигена при значительном снижении содержания H-антигена. Первоначальный титр этой L-культуры с H-антигеном был 1 : 160, после длительного культивирования L-форм стал 1 : 20, O-антигеном — 1 : 320 (равный первоначальному).

Постановка реакции преципитации в геле антигенов L-форм *S. typhi*, полученных 10-кратным замораживанием при температуре -70° и оттаиванием при температуре 37° (АЗО), взвесей L-форм и родительских культур в дистиллированной воде и параллельное изучение в этой же реакции

полного антигена Буавена, экстрагированного из указанных культур, выявили в обоих опытах наличие антигенных связей L-форм и исходных культур, а также дополнительный антигенный компонент, не обнаруживаемый у исходных культур. Последний, вероятно, связан с компонентами цитоплазматической мембраны или цитоплазмы и легче экстрагируется и выявляется у лишенных клеточной стенки L-форм, чем у родительских бактериальных форм, имеющих все антигенные компоненты ригидной клеточной стенки. Наличие антигенных компонентов, не обнаруживаемых у исходных бактериальных форм, было показано также при изучении L-форм протей методом прямой иммуофлуоресценции.

Наблюдениями Edward и Fitzgerald (1954), о которых речь пойдет ниже, было доказано специфическое угнетающее действие иммунных сывороток микоплазм на рост соответствующих культур. Эти факты подтвердились в последующих работах. Ингибиторное специфическое действие иммунных сывороток используется в настоящее время для серологического типирования микоплазм.

Pritwitz-Gaffron (1955) попытался использовать этот тест для изучения серологических особенностей L-форм бактерий, но не получил положительных результатов. В последующих работах Minck, Kirn (1960) и Minck с соавторами (1961) было показано, что L-формы типа *A. E. coli* и протей чувствительны к ингибиторному действию гомологичных иммунных сывороток и что этот эффект связан с наличием специфических L-антител, соответствующих специфическим «внутренним» (цитоплазматическим или мембранным) антигенам L-форм. Этот антиген извлекается только у L-форм типа A с разрушенными клеточными стенками; он не связан с H- и O-антигенами.

Ингибирование роста отмечено у стабильных L-форм протей (Edward, Fitzgerald, 1964; Minck, Kirn, 1960; Minck et al., 1961), стабильных L-форм β -гемолитического стрептококка группы A, *Corynebacterium*, *Proteus* (Lynn, 1962, 1967). При изучении ингибирования роста L-форм гемолитического стрептококка выявлено более сильное угнетающее действие гомологичных L-антисывороток, чем у антисывороток родительских культур (Г. Я. Каган, 1967; Lynn, 1967). Угнетающее действие антисыворотки направлено, вероятно всего, на цитоплазматическую мембрану L-форм, поэтому при полном удалении клеточной стенки, например у L-форм типа A *Proteus*, отмечается выраженное ингибиторное действие иммунной сыворотки. При неполном удалении клеточных стенок у L-форм типа B угнетения роста с помощью специфической сыворотки не происходит.

В выяснении антигенных особенностей L-форм бактерий значительную роль сыграли оригинальные исследования L-форм гемолитических стрептококков. Первая публикация по этому вопросу была сделана Dienes в 1953 г. В этой работе было установлено сохранение у L-форм специфических антигенных связей с исходными культурами стрептококков. Антисыворотка, полученная при иммунизации кроликов L-культурой, агглютинировала гомологичный штамм и исходную культуру стрептококка, но не агглютинировала других гемолитических стрептококков и их L-формы.

При последующем изучении L-форм гемолитических стрептококков группы A результаты оказались иными (Sharp, 1954; Sharp et al., 1957; Gooder, Maxted, 1958; Freimer et al., 1959; Г. Я. Каган, 1963, 1967). Авторы обнаружили утрату группового C-полисахаридного компонента, что было обусловлено изменениями клеточных стенок стрептококка в процессе L-трансформации. Аналогичные данные получены при изучении L-форм стрептококка группы D, в составе клеточной стенки которых имеется тейхоевая кислота (Hijmans et al., 1969). То же отмечено у L-форм стафи-

лококка, которые утрачивают групповой антиген, локализующийся в клеточной стенке, и сохраняют хорошо выявляемые антигены цитоплазматической мембраны (Sharp, 1954; Pratt, 1966).

Утрата группового С-полисахарида у L-форм гемолитического стрептококка группы А не сопровождается потерей типоспецифического М-белка, который сохраняется у стабильных L-форм и легко диффундирует в среду. Эту особенность L-форм используют для получения М-белкового антигена, необходимого для клинико-иммунологических и серо-эпидемиологических наблюдений.

Изучение способности синтеза специфического полисахарида клеточных стенок при искусственном включении его в метаболизм путем длительного пассирования L-форм на среде, содержащей группоспецифический полисахаридный компонент, не дало положительных результатов. Вместе с тем у одного из испытываемых штаммов L-форм было установлено наличие антигена, который мог рассматриваться как соматический антиген. Этот антиген содержал в относительно высоких концентрациях аминный сахар и редуцирующие вещества.

С этими данными согласуются материалы Crawford (1960), получившего при термической экстракции L-форм стрептококка специфический для них комплекссвязывающий антигенный компонент, выявлявшийся в РСК по Кольмеру. Этот антиген не обнаруживался у исходных штаммов стрептококка и других грамположительных кокков. У лиц, перенесших стрептококковые инфекции, отмечались повышенные титры антител по отношению к данному антигену.

В серии наших работ (Г. Я. Каган, 1963, 1967; Г. Я. Каган, Ф. И. Ершов и др., 1965) была установлена полная или частичная утрата группового С-полисахаридного антигена у L-форм стрептококка группы А. Термическая экстракция по Crawford (1960) не дала положительных результатов. Этот антиген выявлялся в реакции кольцепреципитации лишь у одного штамма L-форм (406L).

Наиболее эффективным оказался метод замораживания и оттаивания, позволивший извлечь антигенные комплексы, общие у всех испытываемых штаммов L-форм гемолитического стрептококка. Титры реакций кольцепреципитации с гомологичными антисыворотками варьировали от 1 : 80 до 1 : 320, с гетерологичными — от 1 : 20 до 1 : 80. В составе этого сложного антигенного комплекса L-форм имелись компоненты, родственные компонентам ревертантов (реакция кольцепреципитации L-антигенов с антисыворотками гомологичных ревертантов выявлялась в разведениях 1 : 20, 1 : 10 и неразведенной), с антисыворотками гетерологичных ревертантов и гемолитического стрептококка только в неразведенной.

Результаты этого опыта четко подтвердились в реакции двойной диффузии в геле. Они выявили у L-форм стрептококка целый комплекс антигенов, легко извлекаемых переменным замораживанием и оттаиванием. Антисыворотка L-формы давала очень четкие множественные линии преципитата с гомологичным антигеном, свидетельствующие об его сложности. В составе этого комплекса антигенов имелись компоненты, родственные с соответствующими антигенами у гетерологичных штаммов L-форм. Эти антигены не обнаруживались ни у ревертантов, ни у исходной культуры, из которой в условиях эксперимента был получен один из испытываемых штаммов L-форм. L-формы содержали незначительные следы солянокислого антигена, выявляемого очень нежной линией преципитации с гомологичной антисывороткой. Антиген, полученный термической экстракцией по Crawford, или вообще отсутствовал, или был в незначительных концентрациях, не улавливаемых в данных опытах.

Во второй серии опытов изучали антигенные особенности ревертантов L-форм стрептококка. Первоначально испытывали солянокислые антигены, полученные из 2 групп ревертантов: первой, состоявшей из 6 штаммов, реверсировавших из экспериментально полученных L-форм, и из второй группы, в которую входило 7 штаммов, реверсировавших из L-форм, выделенных из организма больных. Эти опыты показали, что у 7 из 13 ревертантов восстанавливался солянокислый антигенный компонент группы А, вместе с тем в первой (3 из 6) и во второй (3 из 7) группах имелись штаммы, не содержащие антигена группы А. Почти все штаммы независимо от их происхождения и принадлежности к группе А давали перекрестную реакцию преципитации (содержали общий солянокислый антиген, родственный у ревертантов разного происхождения).

Антигены гетерологичных штаммов ревертантов первой группы не преципитировались L-антисывороткой своей группы; 6 из 7 штаммов этой группы давали положительную реакцию кольцепреципитации с данной антисывороткой, т. е. обнаруживали антигенную близость с L-формами.

В отличие от L-форм из штаммов-ревертантов все антигены (солянокислый, Crawford и АЗО) извлекаются примерно одинаково. Все 3 антигена преципитировались антисывороткой группы А, а также антисыворотками гомо- и гетерологичных штаммов, с первыми в несколько больших титрах.

АЗО из всех испытуемых штаммов преципитировались всеми бывшими в опыте сыворотками L-форм, солянокислые антигены преципитировались выборочно. АЗО гемолитического стрептококка давал слабую преципитацию с сывороткой L-форм. Таким образом, в составе этого антигена, полученного из интактных кокковых форм, был выявлен компонент, родственный с L-формами. Для установления локализации антигенов у бактериальных L-форм использовался метод флуоресцирующих антител. Кроме того, с помощью этого метода мы попытались выявить антигенное родство L-форм и бактерий-ревертантов.

Предпосылкой для постановки данных опытов явились результаты наших исследований (Г. Я. Каган, 1959, 1963; В. Д. Тимаков, Г. Я. Каган, 1961), установившие повышенную способность к L-трансформации вследствие некоторой дефектности клеточной стенки бактерий-ревертантов L-форм. Исходя из этого факта, мы предположили, что, воздействуя

ТАБЛИЦА 4. АНТИГЕННАЯ СТРУКТУРА L-ФОРМ И ИХ РЕВЕРТАНТОВ, ВЫЯВЛЕННАЯ МЕТОДОМ ФЛУОРЕСЦИРУЮЩИХ АНТИТЕЛ

| Меченые изотопическим сыворотки | Культуры | | | | | | |
|---------------------------------------|----------|------|------|------|------|------|------|
| | 10S | 196L | 196p | 409L | 409p | 406L | 406p |
| 10S | +++ | - | - | - | - | - | - |
| 196L | + | +++ | - | + | - | - | - |
| 196p | + | - | ++ | - | - | - | - |
| 409L | - | + | - | +++ | - | + | - |
| 409p | - | - | - | - | +++ | - | - |
| 406L | - | + | - | + | - | +++ | + |
| 406p | - | - | - | - | + | + | +++ |

Условные обозначения: +++ флуоресценция максимальной интенсивности всех клеток популяции; ++ флуоресценция средней интенсивности и максимальная большей части клеток популяции; + слабая флуоресценция части клеток популяции.



Рис. 11. Периферическое свечение гемолитического стрептококка при обработке гомологичной антисывороткой. РИФ. Ув. $\times 900$ (препарат Г. Я. Каган, Ф. И. Ершова).

лизосимом на культуры стрептококков-ревертантов, можно будет в отличие от родительских штаммов стрептококка разрушить клеточную стенку и, пользуясь подобной «бесстеночной формой», выявить антигенную общность L-форм с их ревертантами.

Все взятые в опыт штаммы стрептококков (интактная культура 10S, ревертанты 196p, 409p, 406p) до и после обработки лизосимом испытывались с гомологичными сыворотками и антисывороткой L-форм, меченными изотиоцианатом флуоресцеина по обычной методике. Специфичность флуоресценции проверяли в соответствующих контрольных опытах.

Результаты этого опыта (табл. 4) свидетельствуют о специфичности реакции: флуоресценция максимальной и средней интенсивности (+++ и ++) наблюдалась только при обработке культур L-форм и их ревертантов гомологичными сыворотками.

Перекрестная обработка L-форм сыворотками ревертантов и ревертантов сыворотками L-форм давала слабое специфическое свечение, вскрывая, по всей вероятности, следы общего антигенного компонента. Эти данные в основном согласуются с результатами реакции преципитации. Однако именно с помощью метода флуоресцирующих антител удалось выявить различие в распределении антигенов у бактериальных и L-форм.

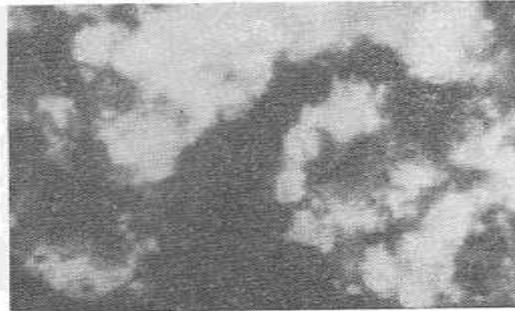
При обработке исходного штамма 10S гемолитического стрептококка соответствующими антисыворотками отмечено периферическое свечение, свидетельствующее о периферической локализации антигена, который, соединяясь с антителом, дает ярко флуоресцирующий преципитат (рис. 11).

Совершенно иная картина наблюдалась при обработке L-форм гомологичными антисыворотками. Отмечалось яркое диффузное свечение большей части микроструктурных элементов L-колоний; встречались разнообразные тела с множеством светящихся гранул преципитата; лишь изредка можно было найти темные тела, окаймленные светящимся ободком, также содержащие отдельные гранулы преципитата (рис. 12). Это свидетельствует о глубинном расположении L-антигена, который может локализоваться в цитоплазматической мембране и цитоплазме отдельных микроструктурных элементов.

Результаты опытов согласуются с результатами реакции преципитации различных антигенов, выявивших у L-форм лишь следы периферически расположенного антигена клеточной стенки (экстракция по Лэнсфильд) и наличие сложного комплекса более глубоко расположенных антигенов, которые легко освобождаются вследствие распада L-форм при замораживании и оттаивании.

У гемолитических стрептококков с неповрежденной клеточной стенкой вскрываются периферически расположенные антигенные компоненты, дающие в прямой реакции Кунса периферическое свечение. Глубинные антигены у защищенных неповрежденной клеточной стенкой интактных стрептококков извлекаются при замораживании и оттаивании в меньшей степени.

Рис. 12. Диффузное свечение L-колони гемолитического стрептококка. Обработка гомологической сывороткой РИФ. Ув. $\times 900$ (препарат Г. Я. Каган, Ф. И. Ершова).



Характер распределения антигенов у L-форм и кокковых форм и наличие родственных антигенных компонентов еще четче выявляются при обработке ревертантов L-форм лизоцимом.

Исходный штамм стрептококка и 2 штамма-ревертанта подвергли воздействию лизоцима. Исходный штамм стрептококка не изменялся, штаммы ревертанта под влиянием 0,1% раствора лизоцима и 17% сахарозы утрачивали клеточные стенки, разбухали, диаметр их увеличивался в 2—3 раза, они не окрашивались по Найзи, давали отрицательную окраску по Граму, превращаясь в протопласты или близкие к ним образования.

Антигенные связи L-форм и их ревертантов, установленные в результате обработки последних лизоцимом и применения флуоресцирующих антител, представлены в табл. 5.

Из табл. 5 видно, что до обработки лизоцимом ревертанта L-форм, меченные гомологичными сыворотками, давали интенсивное свечение (++++) периферического характера. При окраске культур антисыворотками гомологичных штаммов L-форм подобного свечения не наблюдалось. После обработки ревертантов лизоцимом окраска гомологичной меченой антисывороткой не вызывала специфического периферического свечения, а окраска меченой L-антисывороткой давала интенсивное диффузное свечение кокков (утративших поверхностный антиген) (рис. 13).

Таким образом, с помощью флуоресцирующих антител удалось выявить глубинное расположение родственных антигенов L-форм и их ревертантов. Установить антигенные взаимосвязи L-формы с исходным родительским штаммом не представлялось возможным, поскольку лизоцим не способен разрушить клеточные стенки стрептококка, из которого была получена

ТАБЛИЦА 5. АНТИГЕННЫЕ СВЯЗИ L-ФОРМ И ИХ РЕВЕРТАНТОВ, ВЫЯВЛЕННЫЕ ОБРАБОТКОЙ ЛИЗОЦИМОМ С ПОМОЩЬЮ МЕТОДА ФЛУОРЕСЦИРУЮЩИХ АНТИТЕЛ

| Флуоресцирующие антисыворотки | Культура | | | | | | | | | |
|-------------------------------|------------------------|------|------|---------------------------|------|------------------------|------|---------------------------|------|--|
| | до обработки лизоцимом | | | после обработки лизоцимом | | до обработки лизоцимом | | после обработки лизоцимом | | |
| | 10S | 196L | 196p | 10S | 196p | 409L | 409p | 409L | 409p | |
| 10S | ++ | — | — | ++ | — | — | — | — | — | |
| 196L | + | +++ | — | — | ++ | + | — | — | — | |
| 196p | — | — | ++++ | — | — | — | — | — | — | |
| 409L | — | + | — | — | — | +++ | — | — | +++ | |
| 409p | — | — | — | — | — | — | +++ | — | — | |

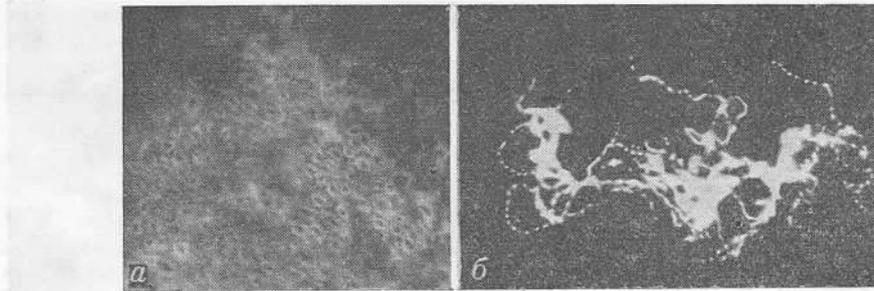


Рис. 13. Свечение ревертанта L-форм стрептококка. Ув. $\times 900$ (препарат Г. Я. Каган, Ф. И. Ершова).

a — Периферическое свечение, обработка гемологичной антисывороткой. РИФ;
б — та же культура после обработки лизоцимом. Диффузное свечение
 кокков; обработка L-антисывороткой. РИФ.

L-форма. Однако вероятно, что при иммунизации животных L-формами, лишенными клеточной стенки, удастся выявить антитела к большому числу разнообразных антигенных детерминант цитоплазматической мембраны и цитоплазмы, чем при иммунизации бактериальными формами.

Аналогичные результаты были получены Lunn (1967) при другой постановке опытов. Первоначально было показано, что антисыворотка L-форм β -гемолитического стрептококка группы А содержит возможно специфические для L-форм антитела, отличающиеся от антител, полученных при иммунизации бактериальной формой данного штамма стрептококка. Эти различия могли быть связаны с: 1) наличием у L-форм антигенных детерминант, отсутствующих у родительских бактериальных форм; 2) выявлением антигенов бактериальной цитоплазматической мембраны, которые у интактных бактерий не обнаруживаются, не извлекаются или не способны контактировать с иммунологически компетентными клетками, ответственными за синтез антител. В последующих экспериментах использование латекс-агглютинации позволило выявить в антисыворотке L-форм наличие антител, реагирующих в высоких титрах с L-формой и родительским штаммом стрептококка; сыворотка бактериальной формы реагировала в высоких титрах с бактериальной формой стрептококка и в очень низких титрах с L-формой.

По-видимому, при иммунизации интактными клетками стрептококков освобождающиеся мембраны и цитоплазма в значительной мере подавляются или разрушаются и в силу этого не вызывают выраженного иммунологического ответа. При введении же L-форм свободные антигены мембраны и цитоплазмы преобладают и дают иммуногенный эффект. Именно поэтому антисыворотки к L-формам обладают большей реактивностью в отношении мембранных и цитоплазматических антигенов. Эти антисыворотки способны ингибировать рост гомологичных и гетерологичных L-форм (Г. Я. Каган, 1963, 1967; Lunn, 1968).

Попытки выявления новых химически определенных антигенов у L-форм стрептококка пока безуспешны (Havlicek, Havlicekova, 1967; Nijmans et al., 1969).

При изучении антигенов цитоплазматических мембран L-форм стафилококков получены аналогичные результаты (Dannis, Marston, 1968). Сравнение антигенов мембран L-форм и бактерий методом гель-диффузии выявило 2 линии идентичности и одну линию, свойственную только мембране L-форм. Антитела к мембране L-форм, адсорбируясь на цитоплазматической мембране L-форм, вызывают ингибирование роста.

Обнаружение у L-форм антигенных компонентов цитоплазматической мембраны является, на наш взгляд, фактом первостепенной важности, особенно в свете последних работ Freimer и Zabriskie (1968), обнаруживших общие антигенные детерминанты цитоплазматической мембраны у протопластов стрептококков группы А и сарколеммы сердечной мышцы (более подробно эти работы рассмотрены в главе IV).

Различными методами показана частичная или полная утрата клеточной стенки в процессе индукции L-форм разных видов бактерий и их сходство в первом случае со сферопластами и во втором — с протопластами.

Наряду с утратой ригидной клеточной стенки (или даже частичной потери ее компонентов) у L-форм и протопластов утрачиваются мезосомы, что приводит к непосредственному прикреплению цитоплазматической мембраны к нуклеониду; восстановления мезосом в процессе реверсии бактерий не наблюдается.

Противоречивые данные о строении (двух- или трехслойном) цитоплазматической мембраны, вероятно, обусловлены использованием разных методов, различных видов и штаммов L-форм, взятых в разных фазах их роста и выращенных в условиях неодинаковых сред.

Отсутствие клеточной стенки и наличие цитоплазматической мембраны обуславливают полиморфизм микроструктур L-форм, их высокую пластичность, способность деформироваться и зависимость до некоторой степени их морфологии от физических свойств среды культивирования.

Структурные элементы L-форм подразделяют на простые и комплексные. Размеры их варьируют от крупных тел порядка 10 мк до субмикроскопических, фильтрующихся гранул приблизительно 250 мкм. Фильтруемость микроструктурных элементов L-форм и их способность прорастать через мелкие поры бактериальных фильтров связаны не только с их размерами, но и с чрезвычайной пластичностью: более крупные структуры, легко деформируясь, проходят через поры более мелких фильтров.

Отсутствие ригидной клеточной стенки обуславливает в известной мере дезорганизацию деления и связанную с этим множественность морфологических проявлений репродукции L-форм бактерий в виде деления, почкования, дезинтеграции на гранулы, а также рост и слияние отдельных микроструктур.

Микроструктуры L-форм представлены РНК- и ДНК-содержащими элементами при преобладании последних. Способность к репродукции, вероятно, находится в прямой связи с содержанием ДНК в микроструктурных элементах L-форм. Полная потеря ригидной клеточной стенки (ДАП, глутаминовой и мурамовой кислоты и др.) сопровождается изменением сухого веса, дезорганизацией процесса деления, изменением кривой роста и антигенной структуры. У нестабильных L-форм, у которых отмечено наличие некоторых предшественников биосинтеза клеточной стенки, эти изменения менее выражены.

В процессе индукции L-форм меняются их потребность в определенной осмотической стабилизации сред культивирования, пищевые потребности и особенности обмена веществ. Физиологические особенности L-форм варьируют в зависимости от вида и степени их стабилизации, которая в свою очередь обусловлена качественными и количественными изменениями клеточной стенки. L-формы подразделяются на 2 группы: солевзависимые и солевнезависимые.

Чувствительность L-форм бактерий к некоторым поверхностно-активным агентам, антибиотикам и бактериофагам также зависит от степени изменений или утраты отдельных компонентов клеточной стенки. Данные, характеризующие чувствительность L-форм к агентам, действующим на цитоплазматическую мембрану и синтез внутриклеточного белка, чрезвычайно важны для рациональной антибиотикотерапии заболеваний, связанных с L-формами бактерий.

L-формы иногда сохраняют некоторые виды ферментативной активности. Так, у L-форм протей и стафилококков отмечается ДНК-азная и липолитическая активность. Некоторые штаммы L-форм стрептококка обладают способностью продуцировать O-стрептолизин, стрептокиназу, ДНК-азу и легко диффундирующий в среду M-белок. Мембраны L-форм *Proteus* содержат предшественник эндотоксина — сукцинатдегидрогеназу; образование эндотоксинов сохраняется у L-форм некоторых сальмонелл; L-формы холерных вибрионов продуцируют нейраминидазу, а *Cl. tetani* — столбнячный экзотоксин. Эти факты свидетельствуют о сохранении у L-форм патогенных функций.

Результаты изучения биохимической активности, нуклеотидного состава и белков мембран L-форм бактерий позволили рекомендовать для таксономических целей три критерия их дифференциации: 1) по оксидазной, каталазной и фосфатазной активности, ферментации глюкозы, дезаминированию фенилаланина, гидролизу эскулина, восстановлению нитратов, тетразолия и теллурита; 2) по соотношению оснований и полинуклеотидной гомологии ДНК и 3) по результатам электрофореграммы белков неочищенных мембран.

Морфология и химический состав L-форм находят свое отражение в их антигенных особенностях. У нестабильных L-форм сохраняются некоторые антигенные компоненты клеточных стенок интактных бактерий, которые по мере стабилизации могут быть полностью утрачены.

Отсутствие или частичная утрата клеточной стенки способствует большому выявлению антигенных детерминант цитоплазматической мембраны и цитоплазмы, которые у L-форм легче извлекаются и в силу этого могут оказаться более активными, чем у родительских культур.

Реакция ингибирования роста у стабильных L-форм обусловлена вероятнее всего адсорбцией антител на цитоплазматической мембране этих форм, лишенных клеточной стенки. Отсутствие реакции ингибирования роста у нестабильных L-форм наиболее четко, по нашему мнению, характеризует антигенные различия стабильных и нестабильных L-форм бактерий, так как у последних в связи с наличием элементов клеточной стенки антитела, ингибирующие рост, не могут полностью адсорбироваться цитоплазматической мембраной. Это обстоятельство представляет несомненный интерес как с точки зрения серологической диагностики нестабильных и стабильных L-форм, так и их судьбы в иммунном организме.

Глава третья • Стабилизация L-форм бактерий. Реверсия бактерий из L-форм и биологическая характеристика бактерий-ревертантов

- Способность бактерий длительно сохраняться и перевиваться в L-форме без реверсии к исходному виду называется стабилизацией. Это явление представляет значительный интерес для биологии и медицины, так как само существование стабильных L-форм сближает их с представителями семейства *Mycoplasmataceae*, а возможность длительного сохранения возбудителя в организме в виде не диагностируемых обычными лабораторными методами L-форм и их возможная реверсия в исходный вид патогенных бактерий, несомненно, имеют значение для инфекционной патологии.

Воздействия L-индуцирующих факторов на микроорганизмы могут вести к образованию разнообразных форм гетероморфного роста, субклеточных форм типа пенициллиновых сферопластов или лизоцимных протопластов, форм незавершенного L- или M-цикла, нестабильных и стабильных L-форм. Поскольку все перечисленные выше дефектные по клеточной стенке формы могут в конечном итоге давать образование L-форм, они условно определяются термином «промежуточные», или «транзитные». К транзитным формам относятся измененные варианты бактерий, близкие L-формам, но гибнущие или чаще всего спонтанно реверсирующие в бактерии исходного вида. Несмотря на продолжающееся воздействие L-трансформирующего фактора, они не способны длительно перевиваться в виде L-форм.

Нестабильными L-формами считают L-варианты, обладающие способностью длительно перевиваться в виде временно измененных форм, передающих последующим поколениям L-признаки лишь при действии L-трансформирующего фактора. Эти формы по существу являются выражением фенотипических изменений или длительной модификации.

К стабильным L-формам относятся L-варианты, отличающиеся наследственным закреплением L-признаков, которые передаются из поколения в поколение независимо от содержания в среде L-трансформирующего агента и утратили способность к реверсии в бактериальные формы.

Процессы стабилизации и реверсии L-форм зависят от многих условий, в том числе от штамма, качественного и количественного состава L-трансформирующих факторов, состава среды, числа пассажей и времени пассирования в условиях соответствующего воздействия.

СТАБИЛИЗАЦИЯ L-ФОРМ БАКТЕРИЙ

Сообщения о стабилизации L-форм и возможности реверсии в бактерии исходного вида были опубликованы в 1939 г. Dienes, установившим, что L₁-форма, выделенная Klieneberger (1935) из культуры *Streptobacillus moniliformis*, является стабильным L-вариантом. Было обнаружено существование стабильных L-форм у *Fusiformis necrophorus* и различных представителей группы протей, а также показана возможность реверсии бакте-

рий исходного вида (Dienes, 1948a, b, c; Dienes, Wienberger, 1951; Dawson, Hobby, 1939; Freundt, 1950).

Как мы отмечали, колонии В были отнесены к нестабильным L-формам, а колонии А — к стабильным. Это подразделение оказалось условным, так как стабильные L-культуры не всегда содержат L-колонии только типа А, хотя большей частью стабилизация сопровождается образованием колоний, приближающихся к данному типу. Это обусловлено полной утратой основных компонентов клеточной стенки и трудностью восстановления всей системы ее биосинтеза. Относительная легкость реверсии L-колоний типа В объясняется сохранением основных структурных компонентов клеточной стенки или их предшественников.

В течение 1956—1966 гг. в нашей лаборатории изучалась стабилизация и реверсия L-форм многих патогенных видов бактерий. В качестве основных объектов исследовали L-формы *S. typhi* и *Streptococcus haemolyticus*. Серии опытов были поставлены также на формах *S. typhimurium*, *Neisseria gonorrhoeae*, *C. diphtheriae*, *Staphylococcus aureus*. Для изучения стабилизации L-форм *S. typhi* мы отобрали 43 штамма, в том числе 15 легко превращавшихся в L-формы. Эти культуры были типичны по морфологическим, биохимическим и антигенным свойствам. При посеве на 0,3% сывороточный агар Хоттингера, содержащий пенициллин, на 12—14-е сутки наблюдался рост L-колоний двух типов, состоящих из всех типичных для L-форм микроструктур. Каждый штамм *S. typhi* засеивали на среды, содержащие 9 различных концентраций пенициллина от 7,5 до 2000 ЕД на 1 мл среды. В результате этого посева было получено 97 первичных L-культур, которые подверглись последующему пассированию на одноименных средах для изучения процесса стабилизации. При пассажах на сывороточных средах с пенициллином в течение 1½—2 лет часть культур оказалась неспособной к стабилизации и погибла (30%); небольшая часть штаммов (16%) давала реверсию бактериальных форм. Эту реверсию мы условно назвали спонтанной реверсией нестабильных L-форм, так как она наблюдалась на средах, содержащих пенициллин, без специальных высевов на среду без пенициллина. Вместе с тем нельзя исключить постепенное снижение концентрации пенициллина в течение времени, необходимого для роста L-колоний. Способность к спонтанной реверсии снижалась с увеличением числа пассажей на сывороточной среде с пенициллином. Реверсирующие культуры состояли из типичных L-колоний. Реверсия произошла после 5—6-месячного их хранения без пересева при комнатной температуре.

В субкультурах L-форм первых пассажей в L-колониях наряду с шаровидными, вакуолизированными и субмикроскопическими формами иногда встречались извитые и нитевидные образования, исчезающие в последующих субкультурах IV—V и X пассажей. Субкультуры более поздних пассажей (5-го и более поздних) росли преимущественно в виде L-колоний типов А и В. Некоторые штаммы давали рост в виде диффузного помутнения полужидкой среды, состоящего из мельчайших зернистых колоний. Они представляли собой субмикроскопические гранулы и мелкие сферические формы, которые в отличие от L-колоний труднее пассировались, медленнее росли на питательных средах и в конце концов погибали.

Как показали последующие эксперименты, стабилизация культуры в L-форме зависела от интенсивности трансформирующего воздействия, индивидуальных особенностей отдельных штаммов и популяции. Была установлена прямая зависимость между стабилизацией L-культур и концентрацией препарата, индуцирующего образование L-форм в среде. На средах, содержащих небольшие концентрации пенициллина (15 ЕД/мл),

образующиеся культуры L-форм *S. typhi* не отличались стабильностью (из 18 пассированных штаммов 16 реверсировали в бактериальные формы). Из 69 штаммов, пассированных на среде, содержащей 62 ЕД/мл пенициллина, большая часть (39 штаммов) стабилизировалась в виде L-колоний, и лишь небольшое число культур (9) реверсировало в исходную бактериальную форму. Культуры L-форм, полученные на средах с высокими концентрациями пенициллина (250—1000 ЕД/мл), как правило, не реверсировали и хорошо перевивались в виде L-колоний или гранулярных субмикроскопических форм. Несмотря на высокую степень стабилизации этих культур, среди них иногда можно было встретить единичные штаммы, сохранявшие способность к «спонтанной» реверсии. Из 12 культур L-форм, полученных на среде, содержащей 125—250 ЕД/мл пенициллина, перевивавшихся 12 раз в течение 6 месяцев, «спонтанная» реверсия отмечена у 2 культур.

Стабилизация культур в виде субмикроскопических гранулярных форм, скудно и медленно растущих в субкультурах, наблюдалась чаще всего на средах, содержащих высокие концентрации трансформирующего агента (1000—2000 ЕД/мл). Гибель небольшого числа культур при пересевах отмечалась при всех концентрациях антибиотика (от 62 до 1000 ЕД/мл). Культуры в виде субмикроскопических гранул обычно дают рост в виде диффузного помутнения полужидкой среды, как правило, не вырастают на плотных средах, иногда могут очень длительно пассироваться. Эти культуры отличаются от классических L-форм. Они не имеют пока четко сформулированного определения и крайне мало изучены.

В результате изучения индукции L-форм *S. paratyphi B* (Landman, 1968) была установлена также зависимость стабилизации L-форм от концентрации индуцирующего агента. При пониженной концентрации пенициллина в среде чаще вырастали нестабильные L-формы, при высокой концентрации — стабильные. Аналогичные результаты были получены при исследовании индукции L-форм *E. coli* K-12. Возникновение стабильных и нестабильных L-форм, по данным Landman (1968), зависит не только от концентрации пенициллина, но и от наличия других селекционирующих факторов (осмотического давления, концентрации сыворотки, возраста и величины посевной дозы бактериальной культуры, а также ее состояния). Так, штамм *E. coli* K-12 с нормальной морфологией и обычной величиной колоний независимо от величины индуцирующей дозы пенициллина давал лишь нестабильные L-формы, а 10 мутантов этого штамма, отличающиеся малыми размерами колоний, полученные на синтетической среде с 25—100 мг/мл менадиона, под действием высоких доз пенициллина превращались в стабильные L-формы, а под действием низких доз — в нестабильные. Прерывистое действие лизоцима на *B. subtilis* вело к образованию реверсирующих L-форм, посев последних на синтетическую среду, содержащую 600 мг/мл D-метионина, завершался индукцией стабильных L-форм.

Длительное пассирование L-форм на средах с L-трансформирующим препаратом сопровождалось полной утратой способности к реверсии на средах без него. Один из полученных нами при длительном пассировании штаммов L-форм *S. typhi* (152L) сохраняется и хорошо перевивается в течение 14 лет. Он полностью утратил способность к реверсии при пассажах на среде без пенициллина.

Способность к L-трансформации неодинакова у разных штаммов *S. typhi*. Наряду со штаммами, у которых эта способность резко выражена, встречаются штаммы менее чувствительные к L-трансформирующему действию пенициллина.

Полученные нами из 12 штаммов *S. typhi* 40 популяций L-форм сохранялись в лабораторных условиях в течение 5 месяцев, после чего производили учет стабилизировавшихся L-культур и L-культур, реверсировавшихся в бактериальные, путем регистрации характера роста, микроскопии и посева на среды без L-трансформирующего агента.

Результаты этих опытов (см. табл. 1) показали, что L-формы *S. typhi* менее способны к стабилизации, чем к L-трансформации. Повышенная чувствительность к L-трансформирующему действию пенициллина не всегда сопровождается повышенной способностью стабилизироваться в L-форме.

Способность к стабилизации присуща меньшей части клеток популяции. Она неодинакова у разных штаммов одного и того же вида.

Образование стабильных L-форм может произойти не только при длительных пересевах на среде с трансформирующим агентом, но и в первичных посевах. Так, при посеве 9 штаммов *S. typhimurium* на агар триптического переваривания, содержащий от 250 до 2000 ЕД/мл пенициллина и 10% сыворотки, было получено 8 стабильных штаммов L-форм. Высевы из первых генераций этих культур на среду без пенициллина не сопровождались реверсией. В результате многократного пассирования этих штаммов на среде без L-трансформирующего агента можно было получать штаммы, дающие реверсию бактериальных форм, штаммы стабилизировавшиеся и, наконец, штаммы, деградирующие на среде без пенициллина вследствие формирования пенициллинзависимости. При пересевах этих штаммов на среды без пенициллина наблюдалось постепенное исчезновение L-колоний и замещение их слабо растущими зернистыми и светопреломляющими телами, рост которых ослабевал от пассажа к пассажи. Пересевы этих культур на среды, содержащие 250—1000 ЕД/мл пенициллина, сопровождались интенсивным ростом L-колоний.

Формирование пенициллинзависимости отмечено также у стабильной культуры L-форм *S. typhi*, полностью утратившей способность к реверсии. Этот штамм, перевивавшийся в L-форме в течение 12 лет на среде с 125 ЕД/мл пенициллина, стал скудно расти; при пересеве его на среду, содержащую 500 ЕД/мл пенициллина, получен интенсивный рост стабильной культуры L-колоний. При посеве на среду без пенициллина отмечался скудный рост единичных L-колоний.

Аналогичные наблюдения сделаны нами при изучении роста двух стабильных штаммов L-форм β -гемолитического стрептококка. Штаммы получены в 1957 г., успешно перевивались на среде, содержащей 125 ЕД/мл пенициллина.

В 1961 г. впервые был отмечен скудный рост L-форм на данной среде; увеличение концентрации пенициллина в среде до 500 ЕД/мл сопровождалось интенсивным ростом L-колоний, при посеве L-культур на среду без пенициллина наблюдался скудный рост лишь единичных, впоследствии погибших L-колоний.

Стабильные L-формы β -гемолитических стрептококков группы А были получены при последовательных пассажах на среде, содержащей 125 ЕД/мл пенициллина, 0,2% $MgSO_4$, 20% сахарозы и 10% нормальной лошадиной сыворотки. Один из этих штаммов хранился в лаборатории 4 года, другой — 9 лет. В процессе формирования L-варианта одного из этих штаммов у большей части особей наблюдалось излияние клеточного содержимого через дефекты клеточной стенки и образование большей частью колоний типа А и в меньшей степени — колоний типа В. Эта культура до настоящего времени пассируется в лаборатории, состоит из колоний типов А и В (первые преобладают).

Близкие результаты получены при изучении стабилизации L-форм стрептококка и другими исследователями. Так, Goeder и Maxted (1958) показали, что большая часть L-форм становится стабильной сразу же после их индукций; серийные пассажи на средах индуцирующим фактором увеличивают число стабильных L-культур. Стабильные L-формы хорошо адаптировались к жидким средам. Goeder (1968), воздействуя муралитическими ферментами — фагоассоциированным лизином стрептококка группы C¹⁴ на стрептококки группы A и лизоцимом на *S. faecalis*, получил протопласты и сферопласты; последующие пассажи вели к селекции возникших из протопластов L-форм и их стабилизации. Изменения, которые происходят в ходе индукции L-форм от начальных интактных стрептококков до стабильных L-форм, связаны с длительным подавлением способности синтезировать конечные единицы клеточной стенки в процессе многоэтапного биосинтеза. Нарушение одного из них может вести к нереверсируемой конверсии бактериальных клеток в стабильные L-формы.

В опытах С. В. Прозоровского (1959), изучавшего стабилизацию L-форм стафилококка, получены аналогичные результаты. Длительное пассирование L-форм стафилококка на средах с пенициллином завершилось, как правило, их стабилизацией. Однако способность к стабилизации у разных штаммов варьировала, одни штаммы стабилизировались после 6, другие — после 13 пассажей.

При посеве золотистого стафилококка на среде, состоящей из 5% NaCl, 10% прогретой сыворотки человека и 100 ЕД/мл метициллина, были получены сферопласты (Hamburger, Carleton, 1966a, b); последующие их пассажи давали рост стабильных L-форм через 4—7 дней.

Таким образом, и у этого вида бактерий была показана возможность стабилизации L-форм при последовательных воздействиях L-индуцирующего фактора.

С. В. Прозоровский (1970) при посеве 56 культур *Dipl. pneumoniae* на видоизмененную среду Madoff, Dienes (1958) (1,2% агар, приготовленный на триптическом переваре бычьего сердца, адсорбированного активированным углем, с добавлением от 10 до 1000 ЕД/мл пенициллина и 10% нормальной лошадиной сыворотки, 15% сахарозы и 0,2% сернокислой магнeзии) получил 2 культуры L-форм. Один штамм уже в первых генерациях оказался стабильным и не реверсировал ни при каких условиях эксперимента, другой не стабилизировался даже после длительных пассажей на средах с 10 000 ЕД/мл пенициллина — концентрацией, значительно превышающей исходную концентрацию, индуцирующую образование L-форм.

Стабильные L-формы были выделены из аутолизированных культур пневмококка и из фаголизата стрептококка (Goeder, 1968).

Е. И. Коптелова и Т. К. Миронова (1970), применяя метод градиентных чашек с пенициллином для образования L-форм *N. meningitidis* при посеве на агаризованную (1,3%) среду триптического перевара бычьего сердца, 0,5% дрожжевого гидролизата, 10% сахарозы, 10% нормальной лошадиной сыворотки, получили в 2 из 8 случаев L-формы менингококка. Одна из этих культур быстро стабилизировалась. При многократных пассажах разных генераций этой культуры на средах без пенициллина неизменно наблюдались L-колонии при полном отсутствии реверсии.

Другой штамм, стабилизовавшийся после многократных пассажей на средах без пенициллина, наряду с L-формами давал рост единичных колоний менингококка. Это, вероятно, обусловлено разной степенью стабилизации отдельных особей в популяции L-форм.

Образование стабильных L-форм *S. diphtheriae* также оказалось возможным лишь в результате длительного воздействия L-индуцирующего агента. L-формы образовывались только после многократных (не менее 5) пересевов в течение 4 месяцев на среде с 62 ЕД/мл пенициллина. Последующее пассирование L-колоний сопровождалось небольшим размножением L-колоний; при посеве на среды без пенициллина реверсии не наблюдалось, т. е. многократное пассирование завершалось формированием медленно растущих стабильных L-форм данного вида возбудителя (Г. Я. Каган, В. С. Савенкова, 1960).

В ряде работ отмечается трудность получения стабильных L-форм *E. coli* (Lederberg, St. Clair, 1958; В. С. Левашев, 1966; Schumann, Taubenbeck, 1969). Стабильные L-формы этого вида, как правило, не растут в условиях жидкой среды. Стабилизации их L-форм способствуют очень высокие концентрации пенициллина (10 000 ЕД/мл), высокое осмотическое давление среды культивирования и ограниченный доступ кислорода.

Стабильные L-формы *E. coli* в этих условиях отличались интенсивным слизееобразованием, но несколько меньшим, чем у нестабильных L-форм этого вида. Они утрачивали фагочувствительные рецепторы. Оба изучавшихся штамма стабильных L-форм *E. coli* полностью сохраняли стрептомицинрезистентность, состав оснований ДНК, но утрачивали ДАП.

РЕВЕРСИЯ БАКТЕРИЙ ИЗ L-ФОРМ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РЕВЕРТАНТОВ

Реверсия — процесс восстановления бактериальных клеток исходного вида из L-форм — зависит от состояния популяции этих L-форм, числа предварительных пассажей в присутствии фактора, индуцирующего образование L-форм, и условий культивирования.

Реверсия происходит при исключении из состава среды культивирования фактора индукции L-форм (пенициллина, метициллина, циклосерина, глицина, DL-метионина, карбоксиметоксиламина и др.) или его разрушении ферментами, например пенициллиназой. У нестабильных L-форм этот процесс воспроизводится быстро и с высокой частотой, у стабильных — медленно и непостоянно. Нёркен, Bartmann (1955), Schönfeld (1959, 1961) для получения реверсии L-форм вульгарного протей и стафилококков успешно использовали пенициллиназу. По данным Dienes, Weinberger (1951) и Tulasne (1955), для реверсии L-форм *Bacteroides* и *Pr. vulgaris* целесообразно, помимо исключения из состава среды пенициллина, добавлять тиогликолат натрия.

По данным Altenbern (1960, 1961b), реверсия L-элементов типа А *Pr. mirabilis* является функцией числа L-колоний, выросших на поверхности среды, периода инкубации и температуры выращивания. Частота реверсии на полутвердом агаре с сывороткой колеблется от $7,7 \times 10^{-6}$ при температуре 36° до $1,5 \times 10^{-8}$ при температуре 23° .

Частота реверсии зависит также от содержания в среде сыворотки (при ее уменьшении или исключении колонии типа А переходят в тип В и отмечается реверсия последних при посеве на среду без пенициллина).

Аналогичные данные получили Hamburger и Carleton (1966), установившие повышение частоты реверсии L-форм золотистого стафилококка и *Vacillus licheniformis* с увеличением концентрации агара.

Процесс реверсии может ингибироваться некоторыми D-аминокислотами, особенно D-метионином, однако введение в среду высоких концентраций желатины, ведущее к изменению физической характеристики среды, подавляет ингибиторный эффект D-метионина.

Результаты всех этих опытов подтверждают мнение Landman (1968), что физическое состояние среды может не только поддерживать механически хрупкие «бесстеночные» элементы, но и в какой-то мере способствовать построению клеточной стенки.

Как мы уже указывали, исключение ДАП из среды культивирования ауксотрофного ДАП-зависимого мутанта *E. coli* в опытах Lederberg и St. Clair (1958) вызвало индукцию L-варианта; добавление к среде ДАП вело к реверсии бактерий.

✓ Реверсия L-форм в бактериальные культуры иногда происходит без каких-либо искусственных воздействий на популяцию. Такого рода реверсия чаще всего наблюдается у L-форм, не успевших стабилизироваться но иногда она встречается и в популяциях стабильных L-форм. При культивировании L-форм гонококка (Г. Я. Каган, З. А. Песина, 1959) в условиях комнатной температуры в высоком столбике полужидкой среды, состоящей из 0,3% агара триптического перевара сердечной мышцы быка, 0,1% $MgSO_4$, 10% сахарозы, 30% асцитической жидкости и 0,05 ЕД/мл пенициллина, мы обнаружили на 42, 58 и 76-е сутки в 3 культурах из 25 методом фазовых контрастов на фоне вакуолизированных форм и зернистых, бесструктурных масс единичные шаровидные формы, крупные кокки и диплококки. При высеве на асцит-агар наблюдался прозрачный зернистый рост, на поверхности его через 3 дня появлялись очень мелкие (видимые лишь в лупу) прозрачные колонии в виде росинок. Они состояли из грамтрицательных мелких кокков и диплококков. В последующих пассажах отмечался нижний рост гонококков. Выделенная культура гонококка характеризовалась высокой устойчивостью к пенициллину: росла в среде с 2 ЕД/мл пенициллина (пределный рост исходной культуры гонококка был при концентрации 0,001 ЕД/мл пенициллина).

Эти опыты показывают, что способность к реверсии может сохраняться и у высокостабильных L-культур. Трудность реверсии и даже полная утрата этой способности у стабильных L-форм свидетельствуют о значительных изменениях, передающихся последующим поколениям L-форм.

Наиболее ранние сведения о морфогенезе реверсии получены при изучении этого процесса у L-форм *Bacteroides* и протей. Так, по Dienes и Smith (1942, 1943), Dienes (1948), морфологическим выражением процесса реверсии L-форм *Bacteroides*, *H. influenzae* и *E. coli* является сегментация больших шаровидных и нитевидных форм на мелкие бациллярные особи. Последние делятся простым делением и образуют впоследствии микроколонию исходного вида. Morris (1963) обнаружил у L-форм *Bacteroides* наличие еще одного пути реверсии. Реверсирующие клетки — шаровидные тела и гигантские бесформенные образования — покрывались множеством отростков, отпочковывающих бактериальные особи исходного вида.

Реверсия L-форм *Bg. melitensis* описана Cartége и Roux (1953b). Авторы наблюдали фрагментацию хроматиновых масс и образование коккобациллярных и бациллярных особей внутри шаровидного тела, освобождающихся при разрыве последнего.

✓ Реверсия L-форм вульгарного протей отмечается при посеве этих культур на среду без пенициллина (Tulasne, 1950). Она происходит двумя путями: 1) непосредственным образованием бактериальных форм внутри шаровидных тел, освобождающихся при разрыве последних; 2) изменением шаровидных тел, превращающихся в извитые формы, дающие образование исходных бактериальных.

Данные Tulasne (1950) в значительной мере подтвердились результатами работ Kuhl и Liebermeister (1956), М. А. Пешкова (1954), отметивших разрастание шаровидных элементов в извитые формы, отпочковывающие

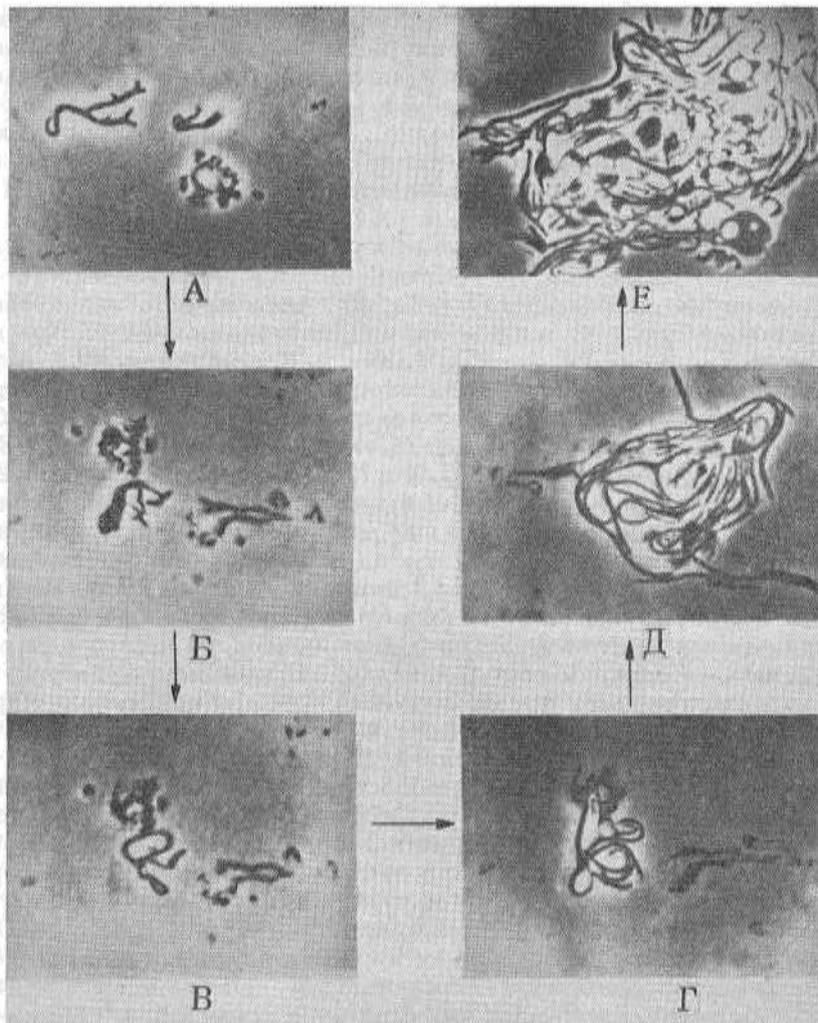


Рис. 14. Этапы морфогенеза реверсии бактерий *S. typhi* из L-форм. Спонтанная индукция L-форм из данного штамма-ревертанта (А — Е). Фазовый контраст. Цейтрафферная киносъемка. Ув. $\times 1350$.

бациллярные особи, Нörkin и Bartman (1955), установивших реверсию L-форм в колониях типов А и В при обработке блоков пенициллиназой в течение 18 часов. В начальном этапе реверсии образовывались тяжи, сегментирующиеся в палочковые формы. Эти авторы отмечают также возникновение тяжей и ветвистых форм не только из шаровидных тел, но из вакуолизированных форм.

Субмикроскопические структуры и фильтрующиеся гранулы L-форм вульгарного протея также обладают способностью к реверсии в бактериальные формы (Tulasne, 1950, 1951; Mandel, Terranova, 1956; Rubio-Huertas, 1957; В. С. Левашев, 1966).

Реверсию бактериальных форм *Klebsiella* из субмикроскопических элементов наблюдал Horoshevich с соавторами (1960).

По данным Rubio-Huertas и Conzales-Vaskez (1960), основным реверсирующим элементом L-форм *Cl. tetani* является шаровидное тело. Реверсия

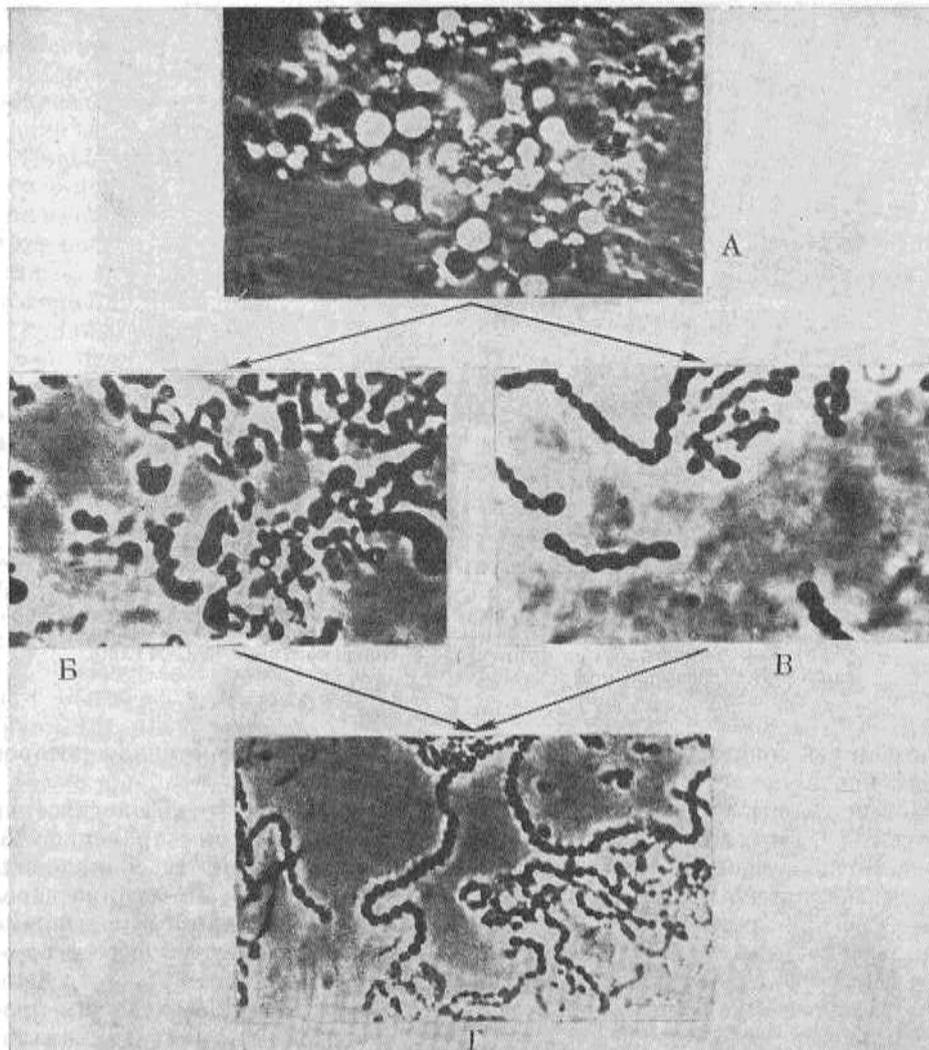


Рис. 15. Этапы морфогенеза реверсии гемолитических стрептококков группы А из L-форм (А, Б, В, Г). Фазовый контраст. Серийная фотосъемка. Ув. $\times 1350$ (препарат Г. Я. Каган).

наблюдалась при трехкратном пассировании стабильных L-форм на среде Прево без трансформирующего агента — глицина.

В приведенных выше работах морфогенез реверсии изучали путем фиксации определенных ее фаз, преимущественно с помощью окрашенных препаратов. В наших опытах использовалось динамическое наблюдение — серийная фотосъемка и в части опытов — цейтрафферная киносъемка живых объектов путем их прижизненного наблюдения в условиях камер методом фазовых контрастов.

В нашей лаборатории изучалась реверсия L-форм *S. typhi* (Г. Я. Каган, В. С. Левашев, 1957), золотистого стафилококка (С. В. Прозоровский, 1959) и гемолитического стрептококка (Г. Я. Каган, 1963). Реверсия достигалась многократным пересевом на среду без L-трансформирующего агента,

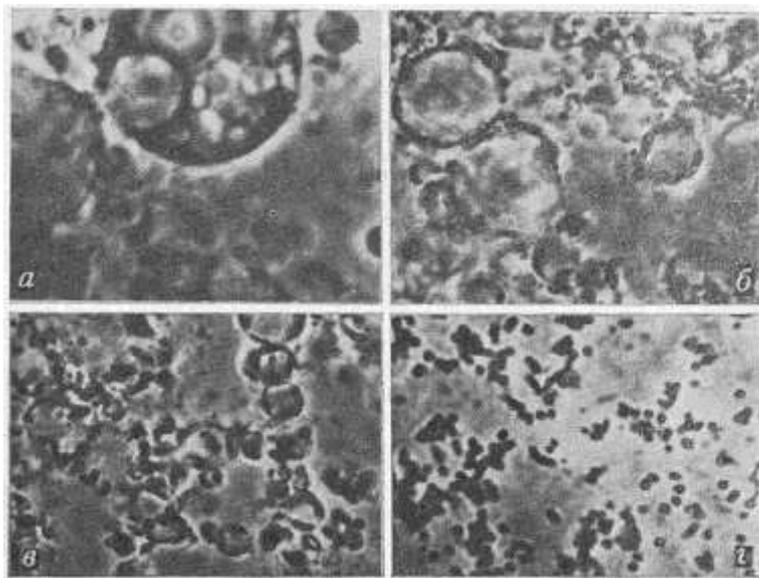


Рис. 16. Этапы морфогенеза реверсии стафилококков из L-форм (а, б, в, з) (первая группа культур). Фазовый контраст. Ув. X1350 (по С. В. Прозоровскому).

нанесенную тонким слоем на поверхность покровного стекла, которое затем монтировалось в масляную камеру Фонбрюна.

Потенциально к реверсии оказались способными все морфологические элементы L-форм. Уже в самых начальных фазах реверсии шаровидное тело вытягивается и превращается в разнообразные вытянутые, бакаловидные и неправильной формы клетки (рис. 14, А, Б, В). Последние через 30—40 часов удлиняются, превращаясь в гигантские длинные и извитые формы; сегментирующиеся в палочки (рис. 14, Г, Д). Этот процесс наблюдается у L-форм *S. typhi* и гемолитического стрептококка.

Морфогенез реверсии стрептококка сложнее, вследствие задержки процесса деления шаровидные формы резко изменяются. Уже в самых начальных фазах реверсии наряду с отдельными L-элементами встречаются разбухшие кокковидные, грушевидные, веретенообразные и эллипсоидные клетки, крупные диплококкобациллярные и дифтероидоподобные формы, ков (небольшие шарики, диаметров (рис. 15, А, Б, В). В процессе пассирования большинство ревертантов медленно восстанавливали типичную для стрептококков морфологию (рис. 15, Г). Однако в некоторых культурах ревертантов, пассирующихся в лаборатории в течение года, наряду с нормальными цепочками стрептококков содержались измененные и увеличенные в размерах особи, а у двух реверсирующих культур даже после длительного пассирования не наблюдалось полного восстановления морфологии исходных штаммов стрептококка.

Морфологические элементы ревертантов стрептококков в момент их выделения и на первых пассажах неодинаково окрашивались по Граму. При дальнейшем пассировании большинство ревертантов окрашивалось грамположительно (однако единичные штаммы не восстанавливали способности положительно окрашиваться по Граму).

По
особ<
С.В.І
подр
кокк
Пе
тур з
тияб
лина
ных
ПОСТ(
ваку
вожд
ем п
амет]
и зе
а). В
сажа
соств
5 до
тонк:
ри
круг,
тые І
или
(рис.
трет!
шаю^г
личи
личи
вклю
зерш
Така
ствев
обна]
росж
щихс
в). 3;
пола
едем
вых]
без
щего
типи¹
17, а'
ем п
много
свето
ла (]
V—V
участ
кокк<
поНВj

По морфологическим особенностям реверсии С.В.Прозоровский (1959) подразделил стафилококки на 3 группы.

Первая группа культур в первые дни развития на среде без пеницилина росла в виде типичных L-форм, но затем постепенно происходила вакуолизация, сопровождавшаяся появлением гигантских форм (диаметром до 25—30 мк) и зернистости (рис. 16, а). В конце второго пассажа колонии целиком состоят из крупных (от 5 до 15 мк) вакуолей с тонкими стенками, внутри которых имеются круглые и продолговатые включения большей или меньшей толщины (рис. 16, б). В начале третьего пассажа уменьшаются количество и величина вакуолей, увеличивается количество включений и мелких зернистых образований. Такая картина непосредственно предшествует обнаружению при микроскопии размножающихся кокков (рис. 16, в). Завершается процесс полной реверсией кокков (рис. 16, г).

Вторая группа в первых пассажах на среде без L-трансформирующего агента росла в виде типичных L-форм (рис. 17, а), но уже на третьем пассаже появлялись многочисленные яркие светопреломляющие тела (количество их на V—VII пассаже резко увеличивалось). К этому времени появлялись участки крупных зерен, по внешнему виду приближающихся к мелким коккам (рис. 17, б). Подобная картина непосредственно предшествовала появлению кокковых форм (рис. 17, в).

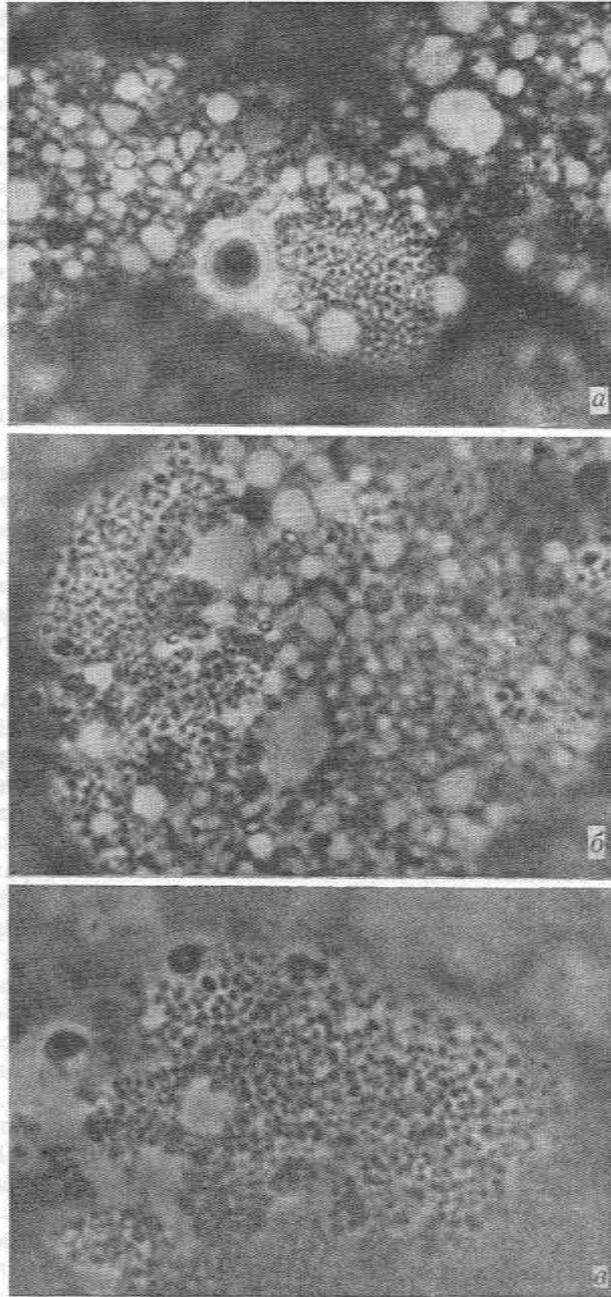


Рис. 17. Этапы морфогенеза реверсии стафилококков из L-форм (вторая группа культур а, б, в). Фазовый контраст. Ув. $\times 1350$ (по С. В. Прозоровскому).

Третья группа культур отличалась более высокой стабильностью; на протяжении 10 пассажей на среде без пенициллина они росли в виде типичных L-форм. Только у одного штамма в некоторых L-колониях на IX—X пассаже появлялись многочисленные вакуоли в включениях различной формы и величины.

Непосредственно после реверсии полученные из L-формы культуры стафилококков отличались резким полиморфизмом. Они состояли из кокков разной величины (до 2—3 мк); среди грамположительных клеток нередко встречались грамтрицательные. После длительных пассажей они восстанавливали типичную для стафилококков морфологию и тинкториальные свойства, но в отдельных генерациях встречались грамтрицательные клетки. Хотя морфологические проявления реверсии у разных патогенных видов сложны и многообразны, можно, однако, отметить сходство отдельных фаз реверсии бактерий из L-форм и фаз индукции последних из бактерий. Оно, очевидно, обусловлено нарушением деления при сохранении роста.

Изучение процесса реверсии отдельных штаммов L-форм сальмонелл стрептококка и золотистого стафилококка позволило выявить зависимость реверсии от степени стабилизации культур в L-форме.

L-формы первых генераций чаще всего реверсируют уже после однократного пересева на среде без L-трансформирующего агента. Так, из 88 L-культур *S. typhi* первой генерации 48 реверсировали в бактерии. L-формы поздних генераций реверсируют лишь после многократных пересевов на среде без пенициллина. Из 20 L-культур пятой — десятой генерации реверсировали только 2 культуры. Аналогичные данные получены при изучении L-форм гемолитического стрептококка.

Культуры, реверсировавшие из L-форм *S. typhi*, гемолитического стрептококка и золотистого стафилококка, обладали повышенной способностью к L-трансформации. Индукцию L-форм у ревертантов гонококка на чашках с сахарозой и сывороткой пенициллина наблюдал Roberts (1966).

Повышенная индуцибельность штаммов, реверсировавших из L-форм, по всей вероятности, обусловлена измененной клеточной стенкой ревертантов, реагирующей на воздействия, не вызывающие блока синтеза клеточных стенок у исходных культур.

Последующие наблюдения Ryter и Landman (1964, 1968) выявили четкую корреляцию между способностью формировать клеточную стенку и наличием мезосом. Последние утрачиваются при образовании протопластов и L-форм и не полностью восстанавливаются в процессе реверсии бактериальных форм.

Способность восстанавливать признаки исходного вида бактерий у культур, реверсировавших из L-форм *S. typhi*, *S. haemolyticus* и *Staphylococcus*, зависела от времени и количества генераций L-форм, подвергшихся последующей реверсии.

Культуры, реверсировавшие из L-форм первых генераций, восстанавливали все признаки родительских культур; культуры, реверсировавшие из L-форм поздних генераций (относительно стабильных), эти признаки не восстанавливали. Было установлено следующее. Культуры, реверсировавшие из типичных L-колоний *S. typhi* (первой — четвертой генерации на сывроточной среде с пенициллином), уже через 1—2 пересева хорошо росли на твердых питательных средах (за исключением 2 культур из 42) в виде нежных стекловидных колоний с неровным краем и более темным центром, слегка врастающим в среду. Рост этих культур отмечался через 4—5 дней выращивания при температуре 37°. Микроскопически они выглядели в виде нежных грамтрицательных палочек.

Культуры, реверсировавшие из зернистых элементов L-форм, как правило, росли очень медленно (7—8 дней) и скудно на твердых питательных средах, часто образуя лимонно-желтый пигмент, не диффундирующий в среду. Они не росли в бульоне. Микроскопически состояли из нежных, плохо окрашенных грамтрицательных палочек. Большая часть этих культур оказалась маложизнеспособной и при последующих пассажах на твердых питательных средах (агар Хоттингера, Мартена, МПА с 20% нормальной лошадиной сыворотки) погибала. Часть культур сохранялась при пересевах на 0,03% агаре Хоттингера, содержащем до 20% нормальной лошадиной сыворотки.

Результаты изучения ферментативных свойств и антигенной характеристики ревертантов L-форм *S. typhi* свидетельствуют о возможности их дифференциации на 3 группы.

Первая группа — культуры, реверсировавшие из L-форм первых генераций и почти полностью восстановившие ферментативные свойства исходных тифозных культур. Они восстанавливали H-, O- и Vi-антигены, сохраняли антигенные связи с типичными L-формами, из которых они реверсировали, и в меньшей степени — с зернистыми элементами L-форм. Эта группа культур сохраняла антигенные связи с гетерологичными штаммами как одноименной, так и второй группы ревертантов, но полностью отличалась в антигенном отношении от третьей, инертной группы. Ревертанты этой группы полностью восстанавливали вирулентность (опыт на белых мышах).

Вторая группа — культуры, отличавшиеся от исходных ферментацией одного или двух сахаров, не расщепляемых исходными брюшнотифозными культурами. Ревертанты этой группы получены из L-форм, длительно пассированных в присутствии L-трансформирующего агента. Штаммы этой группы отличались антигенной неоднородностью. Одни из них имели выраженные антигенные связи с исходной тифозной культурой, у других (в частности, пигментообразующих штаммов) отмечалось незначительное восстановление антигенных признаков бактериальных форм.

Антисыворотки штаммов данной группы содержали агглютинины в отношении гомологичных культур и в более низких титрах агглютинировали гетерологичные штаммы своей и первой группы.

Штаммы второй группы в отличие от первой обладали менее выраженными связями с L-формами, они агглютинировались L-антисыворотками в более низких титрах. Более отчетливо были выражены антигенные связи этой группы культур с зернистыми элементами L-форм.

Третья группа культур, реверсировавшая из стабильных L-форм и культур, состоявших из субмикроскопических гранул и мельчайших сферических телец, отличалась ферментативной и серологической инертностью, H-, O- и Vi-антигены не обнаруживались. Культуры этой группы обладали слабыми антигенными связями с исходными культурами и ревертантами L-форм двух других групп. Вирулентность для белых мышей полностью утрачивалась.

Культуры стрептококков, реверсировавшие из L-форм, утрачивали способность вызывать β -гемолиз при посеве на 5% кровяной агар и не восстанавливали O-стрептолизинной активности (В. С. Михайлова, 1964). При посеве на кровяной агар через 24—48 часов вырастали нежные, мелкие, не гемолизирующие кровь колонии. На 5—7-е сутки вокруг колоний появлялся нежный, слегка зеленоватого оттенка ореол, обусловленный изменением гемоглобина. В процессе реверсии отмечено неполное восстановление токсигенности, которая почти у всех испытанных штаммов снижалась в 4—8 раз.

Гиалуронидазная активность у большей части изученных штаммов полностью восстанавливалась. Значительно снижалась чувствительность реверсировавших из L-форм культур к L-трансформирующему фактору (пенициллину), несколько снижалась чувствительность и к другим антибиотикам, в большей степени — к биомицину и в меньшей — к синтомицину. Восстановление группового полисахаридного антигена в процессе реверсии гемолитических стрептококков было отмечено лишь после длительных пассажей штаммов ревертантов у 3 из 6 испытывавшихся культур.

Совпадающие данные получены при изучении культур стафилококков, реверсировавших из относительно стабильных L-форм (С. В. Прозоровский, 1959, 1970). Так, в отличие от исходных культур стафилококка, ревертанты были ферментативно менее активными. Они сбраживали сахара значительно медленнее (через 48 часов). Способность коагуляции плазмы восстановилась у одной культуры из трех, гиалуронидазная активность была снижена в 50—100 раз, гемолитическая активность была ослаблена у 2 штаммов. Некротическая функция восстанавливалась у одного штамма, вызывавшего зоны некроза в коже кролика в тех же дозах, что и исходная культура стафилококка, но несколько меньшего диаметра. Другая культура в больших концентрациях обуславливала лишь точечные некрозы, третья культура вообще не вызывала никаких некротических поражений. Вирулентность в процессе реверсии этих штаммов не восстанавливалась.

Восстановление вирулентности в процессе реверсии, вероятно, связано со степенью стабилизации культур в L-форме. При полном восстановлении ферментативных и антигенных признаков она восстанавливается. Этот факт наблюдался при реверсии *S. typhi* (Г. Я. Каган, 1963), *Pr. vulgaris* (В. С. Левашев, 1956), холерного вибриона (Minck, 1950; Kawatomari, Tosvo, 1958) и *Cl. perfringens* (Kawatomari, 1958).

Реверсированные из L-форм культуры, несмотря на длительное пассирование L-форм при чрезвычайно высоких концентрациях пенициллина (1000—100 000 ЕД/мл), полностью сохранили высокую чувствительность исходных штаммов к действию этого антибиотика. Чувствительность реверсированных культур к другим антибиотикам (биомицину и стрептомицину) также не изменилась.

Переменное пребывание культур в L- и реверсированной бактериальной форме ведет ко все большему изменению признаков последней, к атипичности ферментативных и антигенных свойств (рис. 18). В отличие от культур, реверсированных из первично трансформированных L-форм, которые полностью восстанавливают признаки исходных штаммов, культуры, полученные при реверсии L-форм, дважды и трижды трансформированных, из реверсированных культур, атипичны и не восстанавливают признаков исходного вида бактерий.

Отсутствие полного восстановления признаков в процессе реверсии стабильных L-форм является серьезным препятствием для их видовой диагностики при выделении из патологического материала. Попытки восстановления признаков у L-форм *S. typhi* протей и гемолитического стрептококка, предпринятые в нашей лаборатории В. С. Левашевым (1966), а также В. В. Андросовым (1969) путем многократных пересевов L-форм на различные среды, содержавшие гидролизат бактерий, диаминопимелиновую кислоту, гидроксиламин, акридиновый оранжевый и азотистую кислоту, дали отрицательные результаты.

Реверсия L-форм *S. typhi* при обработке акридиновым оранжевым установлена в 3 из 25 случаев (В. С. Левашев, 1966). Ревертанты, индуцированные акридиновым оранжевым, существенно отличались от исходной культуры *S. typhi*: одна культура погибла через несколько пассажей,

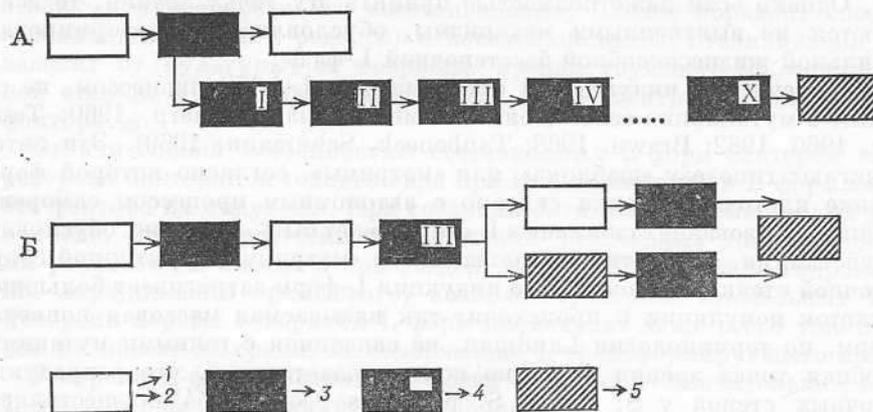


Рис. 18. Изменение признаков культуры-ревертанта L-форм *S. typhi* в зависимости от степени стабилизации L-форм, из которой получены культуры-ревертаны.

А — полное восстановление признаков культуры-ревертанта L-формы *S. typhi*, полученной из первично индуцированной L-формы и изменение признаков ревертанта L-формы X пассажа; Б — изменение признаков *S. typhi* в зависимости от ее переменного пребывания в L- и реверсированной бактериальной форме.

1 — родительские бактериальные культуры; 2 — штаммы-ревертаны, полностью восстановившие признаки исходного вида; 3 — L-формы; 4 — L-формы I, II, III . . . X пассажей; 5 — штаммы-ревертаны с измененными признаками родительской культуры.

2 культуры хорошо росли на питательных средах в виде прозрачных S-колоний, но отличались от исходной по ферментативным и серологическим свойствам (одна культура не сбраживала сахара, другая ферментировала только глюкозу с образованием кислоты и газа). Обе культуры не агглютинировались видовой брюшнотифозной сывороткой, но агглютинировались сыворотками культуры паратифа С и дизентерии Флекснера.

В. В. Андросов (1969), подвергший стабильные L-формы протей мутагенному действию ультрафиолетовых лучей, гидросиламина и акридинового оранжевого, наблюдал индукцию реверсии в 5 случаях из 24 (3 случая под действием гидросиламина, один — под действием акридинового оранжевого и один — под действием азотистой кислоты).

Восстановление признаков исходного вида было установлено лишь у одной культуры.

НЕКОТОРЫЕ ДАННЫЕ О ГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМАХ ИНДУКЦИИ, СТАБИЛИЗАЦИИ И РЕВЕРСИИ L-ВАРИАНТОВ БАКТЕРИЙ

Природа механизмов индукции L-вариантов бактерий, их последующей стабилизации и возможной реверсии все еще остается не выясненной и трактуется по-разному. Одни авторы (Dienes, Weinberger, 1951; Tulasne, 1951, 1955; М. А. Пешков, 1954; Carrere et al., 1954; Minck, 1955; Liebermeister, 1955; Tulasne et al., 1960; Klieneberger-Nobel, 1958, 1962) рассматривают образование L-вариантов бактерий как своеобразный процесс формирования высокорезистентных форм к вредно действующим агентам и расценивают эти формы как пример адаптивной изменчивости. Другие (Hijmans et al., 1969) рассматривают образование L-форм как стадию упорядоченного жизненного цикла и предлагают называть их L-фазой бактерий. Эта точка зрения основывается на гомологии нуклеиновых кислот L-форм и родительских культур, свидетельствующей об их род-

стве. Однако если даже полностью принять эту точку зрения, то все же остаются не выясненными механизмы, обуславливающие формирование стабильной жизнеспособной бесстеночной L-фазы.

Третьи считают индукцию и стабилизацию L-форм процессом, не связанным с мутационно-селекционными механизмами (Sharp, 1960; Taubeneck, 1960, 1962; Brawn, 1968; Taubeneck, Schumann, 1969). Эти авторы выдвигают гипотезу «шаблона», или «матрицы», согласно которой формирование клеточной стенки связано с автономным процессом саморепродукции. Образование стабильных L-форм может быть, вероятно, обусловлено воздействиями, необратимо нарушающими «матрицу» структурной сборки клеточной стенки. В этом случае индукция L-форм затрагивает большинство клеток популяции и происходит так называемая массовая конверсия L-форм, по терминологии Landman, не связанная с генными мутациями. Подобная точка зрения косвенно подтверждается тем, что репродукция клеточных стенок у *S. typhi*, *S. ruogenes* (Cole, 1964) осуществляется путем диффузного включения нового материала клеточной стенки в старый. Индукция L-форм, по мнению Kawakami и Landman (1966), не связана также с эпизодическими факторами (Landman, 1968).

Нельзя исключить возможности образования стабильных L-форм в результате мутационно-селекционного процесса (Lederberg, St. Clair, 1958; Terranova, 1958; Grigoraki, 1958; Bloss-Bender, 1959; Landman, 1958—1968). Согласно этой концепции, индукция L-форм обусловлена мутационным механизмом. Мутанты — стабильные L-формы образуются без предшествующих фаз (сферопласты или протопласты) и, вполне вероятно, отличаются от стабильных L-форм так называемой массовой конверсии. Однако дифференцировать их пока невозможно. В пользу мутационно-селекционной гипотезы приводят факты реверсии стабильных L-форм вульгарного протей и *E. coli*, индуцированной ультрафиолетовыми лучами, мутантнами типа гидроксиламина или акридинового оранжевого (Bloss-Bender, 1959; В. С. Левашев, 1966; В. В. Андросов, 1969) или искусственным восстановлением ДАП у L-формы ДАП-зависимого мутанта *E. coli* K-12 (Lederberg, St. Clair, 1958).

В настоящее время имеются некоторые данные о возможности возникновения мутаций у L-форм. Так, увеличение потребности в аргинине у штаммов L-форм стрептококка по сравнению с родительским штаммом Van Boven и соавторы (1967) склонны рассматривать как возникновение аргининзависимого мутанта. С этих позиций, вероятно, можно проанализировать и возникновение других потребностей у L-форм разных видов по сравнению с родительскими культурами.

Вполне вероятна возможность совместного воздействия одновременной индукции L-форм в популяции в результате изменения автономной системы репродукции клеточной стенки и мутационных механизмов.

Превращение бактерий в L-формы и их последующая стабилизация могут вначале носить характер «массовой конверсии» нестабильных L-форм. Затем процесс может завершиться генными мутациями, наследственно закрепляющими за мутантами признаки стабильных L-форм, и тогда вероятно образование плевропневмониеподобных микроорганизмов (Smith, Sasaki, Shogo, 1958; В. Д. Тимаков, Г. Я. Каган, 1960, 1961).

* * *

Способность бактерий перевиваться в L-форме независимо от наличия в среде L-трансформирующих агентов названа стабилизацией. В основе ее лежит необратимая утрата определенных звеньев биосинтеза клеточных

стенок и способности их восстановления. Таким образом, способность стабильных L-форм к реверсии относительно низка. Стабилизация L-форм зависит от культуры, ее возраста, предшествующего состояния клеточной стенки, среды культивирования и концентрации индуцирующего фактора. ✎

Отличительной особенностью нестабильных L-форм бактерий является реверсия бактерий исходного вида при культивировании L-форм на средах без фактора их индукции. При создании оптимальных физических условий в среде, при искусственном включении утраченных компонентов системы ресинтеза, а иногда и при воздействии мутагенов (типа гидроксилamina, акридинового оранжевого) возможна реверсия стабильных L-форм. Реверсия первых генераций L-форм происходит чаще всего уже при первом их посеве на среды, не содержащие L-трансформирующего агента.

Реверсия L-форм поздних пассажей происходит значительно реже, чем L-форм первых генераций, и медленней.

Морфогенез процесса реверсий сложен, многообразен и сходен у L-форм разных видов бактерий. Начальные фазы реверсии бактерий похожи на начальные фазы морфогенеза L-форм и выражаются в образовании разнообразных форм незавершенного деления, сегментирующихся и отщипывающих бактериальные клетки исходного вида. В ходе индукции L-форм исчезают мезосомы, при реверсии их не отмечено полного восстановления.

Морфология культур-ревертантов восстанавливается постепенно при многократных пересевах на обычных питательных средах.

Признаки культур, реверсировавших из нестабильных L-форм, полностью восстанавливаются. При реверсии бактерий из относительно стабильных L-форм полного восстановления признаков исходного вида, как правило, не происходит; культуры-ревертанты обладают пониженной ферментативной активностью и неполностью восстанавливают антигенные особенности исходного вида бактерий.

Отличительной особенностью культур, реверсировавших из L-форм, является их повышенная способность к L-трансформации, связанная, вероятно, с неполным восстановлением способности ресинтеза клеточных стенок. Эта особенность имеет важное значение для медицинских проблем, так как может свидетельствовать о возможности переменного существования возбудителя в бактериальной и L-форме в организме хозяина.

Вопрос о природе наследственных механизмов, обуславливающих индукцию, стабилизацию и реверсию L-форм бактерий, остается мало изученным. Имеются все основания предполагать множественные механизмы индукции L-форм, их стабилизации и реверсии, в том числе геноуправляемых.

Как известно, L-формы по их геному идентичны бактериальным гомологам. Прямое участие в индукции L-форм ядерной или цитоплазматической нуклеиновой кислоты не доказано, однако возможно, что формирование сферопластов, превращение в L-формы и их реверсия могут происходить в результате мутаций. В этих случаях можно рассматривать L-формы как мутанты с измененным синтезом клеточной стенки, который полностью детерминируется генами. У таких мутантов неспособность реверсировать обусловлена мутационным блоком биосинтеза ригидного клеточного слоя. Вместе с тем в настоящее время также хорошо известно, что, помимо мутационного механизма, существует так называемая массовая конверсия L-форм вследствие непосредственного воздействия разных агентов на клеточную стенку. Отличить эти два вида стабильных L-форм практически невозможно.

Глава четвертая • L-формы бактерий в патологии человека

Выяснение роли разнообразных вариантов микроорганизмов с дефектом клеточной стенки в патологии представляет собой одну из наиболее актуальных проблем современной микробиологии и инфекционной патологии. В последнее десятилетие эта проблема была предметом интенсивных экспериментальных поисков и оживленных дискуссий.

Основными аспектами исследования роли L-форм и других, лишенных клеточной стенки вариантов бактерий в патологии, являются следующие: 1) характеристика их патогенных потенций; 2) поиски моделей патологических процессов, воспроизведенных в эксперименте введением L-вариантов и других близких им форм микроорганизмов; 3) выделение этих вариантов при патологических процессах, инфекционная природа которых еще не выяснена полностью.

ПАТОГЕННЫЕ ПОТЕНЦИИ L-ФОРМ БАКТЕРИЙ

Основой для разносторонних исследований патогенных потенций L-форм бактерий послужили многочисленные факты, свидетельствующие о возникновении L-форм у громадного большинства бактерий и других микроорганизмов под влиянием разнообразных антибиотических и химиотерапевтических средств (табл. 6).

ТАБЛИЦА 6. ПЕРЕЧЕНЬ ИЗВЕСТНЫХ L-ВАРИАНТОВ МИКРООРГАНИЗМОВ, ПОЛУЧЕННЫХ IN VITRO

| Микроорганизмы | Авторы |
|----------------------------------|--|
| <i>Agrobacterium tumefaciens</i> | Rubio-Huertas, Caberas de Herrera (1966) |
| <i>Bacillus</i> sp. | Dienes (1949a) |
| » <i>licheniformis</i> | Fodor, Rogers (1966) |
| <i>Bacillus megaterium</i> | Kusaka (1967) |
| » <i>subtilis</i> | Landman (1968) |
| <i>Bacteroides</i> sp. | Madoff et al. (1967) |
| <i>Bordetella pertussis</i> | Dienes (1948c) |
| <i>Brucella melitensis</i> | Wittler (1952), Carrere, Roux (1953) |
| <i>Clostridium perfringens</i> | Kawatomari (1958) |
| » <i>tetani</i> | Scheibell, Assandre (1959) |
| <i>Corynebacterium</i> sp. | Weibull, Gylland (1965) |
| » <i>diphtheriae</i> | Г. Я. Каран, В. Г. Савенкова (1960) |
| <i>Diplococcus pneumoniae</i> | Madoff, Dienes (1958) |
| | С. В. Прозоровский (1970) |
| | Lederberg, St. Clair (1958) |
| <i>Escherichia coli</i> | В. С. Левашев (1966) |
| | Taubeneck, Schumann (1966) |
| | Winterbauer et al. (1967) |
| <i>Flavobacterium</i> sp. | Dienes (1939b) |
| <i>Haemophilus influenzae</i> | Dienes, Zamecniek (1952) |
| » <i>parainfluenzae</i> | Dienes (1944) |
| » <i>vaginalis</i> | Amies, Jones (1957) |

ТАБЛИЦА 6. (продолжение)

| Микроорганизмы | Авторы |
|-------------------------------------|---|
| <i>Listeria monocytogenes</i> | Madoff, Dienes (1967) Г. А. Коглярова, С. В. Прозоровский и др. (1969) |
| <i>Mycobacterium tuberculosis</i> | Mattman et al. (1960) З. Н. Кочемасова (1939) Sato et al. (1966) Willett, Thacore (1966) |
| <i>Neisseria gonorrhoeae</i> | Г. Я. Калан, З. А. Песина (1959) Roberts (1966) |
| <i>Neisseria meningitidis</i> | Roberts, Wittler (1966) Е. И. Коптелова, Г. К. Миронова (1969) Martin (1964) |
| <i>Proteus mirabilis</i> | Medill-Brown, Hutchinson (1957) Plapp, Kandler (1965) Weibull et al. (1967) |
| <i>Proteus vulgaris</i> | Петков М. А. (1954) Kandler, Kandler (1956) |
| <i>Pseudomonas</i> sp. | Liebermeister, Kellenberger (1956) Ward, Martin (1962) |
| <i>Salmonella typhimurium</i> | Dienes, Zamesnik (1952) Schnauder (1955) Klieneberger-Nobel (1958) |
| » <i>typhi</i> | А. Г. Щеголев, С. В. Прозоровский (1963) Dienes et al. (1950) |
| » <i>paratyphi B</i> | Г. Я. Калан, В. С. Левашев (1959) |
| <i>Sarcina lutea</i> | Landman, Ginoza (1960) |
| <i>Serratia marcescens</i> | Dasinger, Suter (1962) |
| <i>Shigella</i> sp. | Ward, Martin (1962) Bandur, Dienes (1963) Weinberger et al. (1950) С. В. Прозоровский (1959) Schönfeld (1961) |
| <i>Staphylococcus</i> sp. | Kagan et al. (1962) Hamburger, Carleton (1966) Pratt (1966) |
| <i>Streptobacillus moniliformis</i> | Chatterjee et al. (1967) Klieneberger (1935) Brown, Nummaker (1942) Dienes (1953) |
| <i>Streptobacillus haemolyticus</i> | Slarp, Dienes (1954) Г. Я. Калан, В. С. Левашев (1959) Freimer et al. (1959) Goeder, Maxted (1961) |
| » <i>faecalis</i> | Hijmans, Kastelein (1960) Madoff et al. (1967) |
| <i>Vibrio cholerae</i> | Minck, Minck (1951) Madoff et al. (1961) |
| <i>Tr. pallida</i> | Janetta, Wedgwood (1967) Устищенко (1964) |

ИНДУКЦИЯ L-ФОРМ, ИХ ПЕРСИСТЕНЦИЯ И РЕВЕРСИЯ IN VIVO

Изучению индукции L-форм непосредственно в организме предшествовали факты, свидетельствующие о возможности получения сферопластных и протопластных форм, а также L-вариантов под влиянием иммунной сыворотки *in vitro* (Weinberger et al., 1950; Carré, Roux, 1953; Grasset, 1955; Michel, Braun, 1959, и др.).

Изучение кинетики бактерицидного действия иммунных сывороток и свойств полученных протопластов (Davis et al., 1966) показало, что система антитело — комплемент способствует образованию мало жизнеспособных, измененных форм грамотрицательных бактерий (*S. typhi*, *S. typhimurium*, *Shigella boydii* и *V. cholerae*), которые под влиянием лизоцима легко переходят в протопласты. Последние в присутствии осмотических протекторов и соответствующих условий культивирования формируют нестабильные L-варианты, легко реверсирующие в жизнеспособные бактерии исходного вида.

Как известно, сыворотка млекопитающих необходима для получения и культивирования сферопластов, протопластов и L-форм. Вместе с тем установлена избирательная эффективность сыворотки, зависящая от вида бактерий и вида животного. Например, L-формы *Salmonella* не растут в присутствии сыворотки морской свинки и мыши, с трудом вырастают при наличии сыворотки кролика и хорошо растут в среде с сывороткой лошади. Kalmanson и соавторы (1968) обнаружили, что избирательное ингибиторное действие сыворотки зависит от вида и штамма L-форм или протопластов, вида сыворотки и среды культивирования. Протопластовидная способность нормальной сыворотки животных ингибируется повышением осмотической концентрации среды или действием повышенной температуры (56° в течение 30 минут). По данным Clasener и соавторов (1970), сыворотка в конечном итоге не оказывает летального эффекта; характер ее действия скорее протопластостатический, не связанный с комплементом или лизоцимом. В какой мере обнаруженная протопластостатическая способность сыворотки препятствует индукции и персистенции L-форм *in vivo*, не выяснено.

Вместе с тем имеются весьма интересные факты об усилении L-индуцирующего эффекта сывороткой. В 1964 г. Л. М. Устименко установила индукцию L-форм *Tg. pallida* при воздействии на культуру сывороток больных сифилисом, содержащих пенициллин и некоторые другие препараты, применяемые для лечения сифилиса. Индуцирующая L-формы активность пенициллина и других препаратов значительно усиливалась в присутствии сыворотки.

Автором было испытано 14 сывороток больных в разных стадиях заболевания и 15 сывороток от здоровых людей. Из 14 сывороток больных 6 оказывали четкое L-трансформирующее действие. Переход всей популяции в типичные L-формы с последующим ростом L-колоний наблюдался в 4 случаях, в 2 случаях отмечались смешанные культуры, состоящие из L-форм и трепонем.

Полную L-трансформацию всей популяции трепонем наблюдали в 3 случаях при лечении больных пенициллином и в одном случае при лечении биохинолом и новарсенолом. Частичный L-трансформирующий эффект оказывала сыворотка одного больного, леченного пенициллином (0,48 ЕД пенициллина в 1 мл сыворотки), и сыворотка другого больного, леченного биохинолом и новарсенолом. Сыворотки здоровых людей, не содержащие пенициллина, не оказывали L-трансформирующего действия.

В дополнительных сериях опытов испытывалось L-трансформирующее действие сывороток больных другими заболеваниями, леченных пенициллином (14 больных), и сывороток здоровых лиц, к которым перед опытом добавляли разные концентрации пенициллина. В первом случае L-формы получены в присутствии сывороток 6 больных (концентрация пенициллина 0,96—7,68 ЕД/мл). Все сыворотки здоровых людей с искусственно добавленным пенициллином (1,25—20 ЕД/мл) оказывали выраженный индуцирующий L-формы эффект.

Эти данные представляют, на наш взгляд, большой интерес. Они подтверждают возможность индукции L-форм в организме больного в период соответствующих терапевтических вмешательств.

Преобразование бактерий в L-формы в условиях организма было отмечено впервые в 1952 г. Carré и Roux. Поместив в брюшную полость морских свинок стеклянные трубки с 6-часовыми культурами *S. typhimurium* и *Proteus*, авторы обнаружили через 8 дней в капле жидкости, взятой из этих трубок, множество зернистых и вакуолизированных форм, выращенных на полутвердой сывороточной среде в виде нереверсирующих L-колоний, в то время как из желудка и брюшной полости выделялись нормальные бактерии.

Противоположные результаты были получены Hallier и Lynn (1968), изучавшими возможность индукции L-форм гемолитического стрептококка в диффузионных камерах, имплантированных в брюшную полость кроликов: индукции L-форм не наблюдалось ни в камере, ни в окружающей брюшной полости.

Разноречивость результатов, вероятно, зависела от использования разных видов бактерий, животных и условий ведения эксперимента.

Возможность образования L-форм бактерий непосредственно в организме была выявлена Vigouroux и Hannoun (1956, 1957), заражавшими хорион-аллантоисную мембрану и желточный мешок 8-дневных эмбрионов культурой *Streptococcus viridans*. Все фазы L-цикла были патогенны для эмбрионов и кроликов и обладали способностью к реверсии в бактериальные культуры. По существу это были первые факты, свидетельствующие о возможной индукции L-форм в организме без каких-либо дополнительных воздействий. Впоследствии они были подтверждены в других работах (Mortimer, 1965, 1968; Schmitt-Slomska et al., 1966, 1967, и др.).

В условиях иммунного организма бактерии тоже могут превращаться в L-формы. Так, Wittler (1952) при интраназальном и внутрибрюшинном введении культуры *H. pertussis* иммунизированным мышам наблюдала образование L-форм. Образование L-форм *P. vulgaris* и *K. pneumoniae* под влиянием иммунной сыворотки отметил также Grasset (1955). Культуры вводили внутрибрюшинно, а иммунную сыворотку — под кожу; через несколько часов в брюшной полости обнаруживались L-формы.

Аналогичные данные получены Carey с соавторами (1960), наблюдавшими при внутрибрюшинном введении мышам *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus*, *E. coli* образование их протопластоподобных вариантов; специфическая иммунизация повышала протопластообразование.

Преобразование бактерий — естественных обитателей организма (*Streptococcus viridans* и грамотрицательных *Parvobacteria*, регулярно встречающихся в носоглотке крыс) в L-формы при активной и пассивной иммунизации наблюдали Blaskovic и Roux (1959, 1960).

Образование L-формы *in vivo* под действием пенициллина описали Carré и Roux (1954), введшие кроликам внутривенно культуры протей и *S. typhimurium* с последующей подкожной инъекцией пенициллина. Авторы отмечали в гемокультурах пузыревидные и волокнистые формы, которые при высеве на полутвердые среды с сывороткой (в одном случае) давали типичные L-колонии (у контрольных кроликов вырастали обычные бактериальные культуры).

Grasset и Bonifas (1955a, b) сообщают о превращении вульгарного протей, *K. pneumoniae* и *E. coli* в L-формы в организме белых мышей под влиянием пенициллина. Аналогичные данные в опытах с *P. pestis* получены Grasset и Blondel (1956).

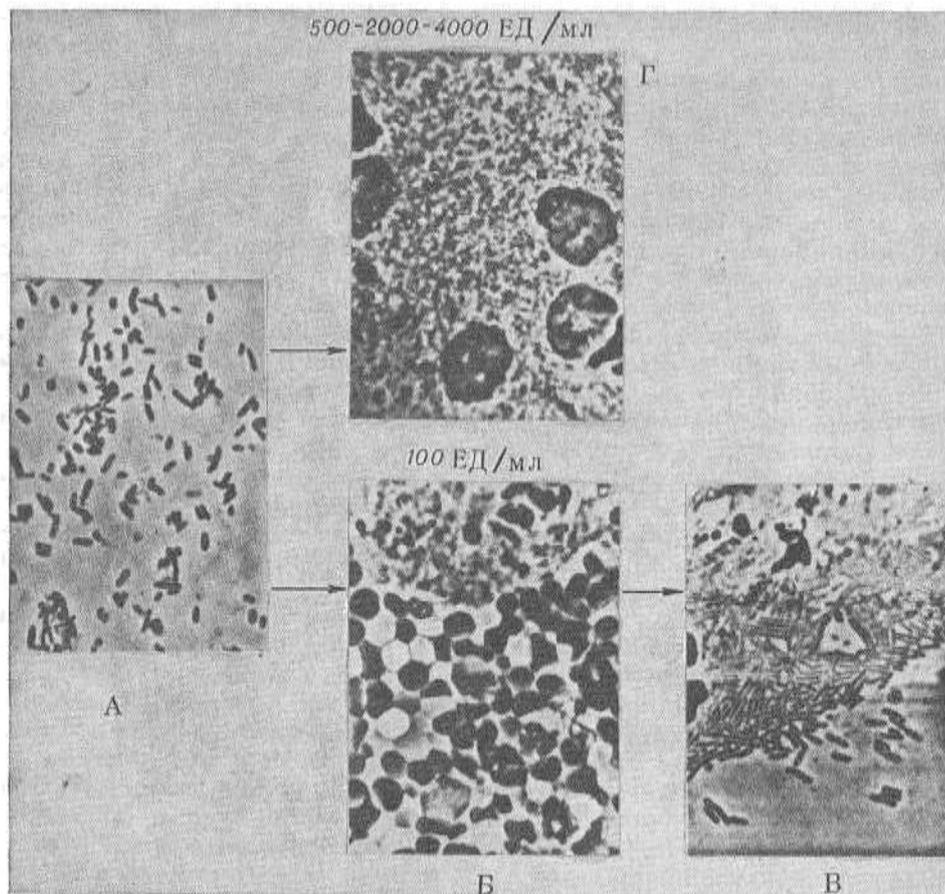


Рис. 19. Индукция L-форм *S. typhi* in vivo (А, Б, В, Г).
 Дозировки пенициллина: 2000 ЕД/мл — реверсия бактерий отсутствует; 100 ЕД/мл — индукция L-форм и реверсия бактерий. Фазовый контраст. Ув. $\times 900$.

Исследования, проведенные у нас в лаборатории (Г. Я. Каган, 1963), также свидетельствуют о L-трансформирующем действии пенициллина на *S. typhi* in vivo. Введение мышам 100 ЕД пенициллина на 1 г веса непосредственно после заражения культурой *S. typhi* вызывало уже через 2—3 часа нарушение деления; образовывались длинные неразделившиеся особи, отмечалось разбухание палочек в шаровидные тела типа пенициллиновых сферопластов. Последние увеличивались в размерах, вакуолизировались, частично распадались на гранулы и через 5 часов превращались в типичные L-формы (рис. 19, А, Б). При тщательной микроскопии препаратов экссудата брюшной полости (15—20 полей зрения) бактериальные формы не обнаруживались; изредка наряду с L-формами встречались «тени» погибших палочек.

Через 24 часа все мыши данной группы погибали. В экссудате выявлялись палочки (рис. 19, В), идентифицированные как *S. typhi*, что указывает на возможность их реверсии из L-форм in vivo. При введении пенициллина в дозе 500 ЕД на 1 г веса нарушение процесса деления и образование сферопластных форм происходят быстрее — в течение 1—2 часов после инъекции. Затем сферопласты еще больше разбухали и распадались

на гранулы. Через 5—6 часов в экссудате обнаруживались массы мельчайших гранул (рис. 19, Г), которые исчезали через 15—18 часов; гибели мышей в этой группе не наблюдалось.

При введении больших концентраций пенициллина (2000—4000 ЕД на 1 г веса) уже через 1—1½ часа отмечалось превращение палочек в мелкие сферопластные формы, быстро распадающиеся на множество зернистых форм (рис. 19, Г). Они интенсивно фагоцитировались и через 5 часов полностью исчезали из экссудата; все подопытные мыши выживали.

Совпадающие данные получены Godzeski с соавторами (1967), наблюдавшими индукцию L-форм и *S. typhimurium*, *P. mirabilis*, *E. coli*, *Str. faecalis*, *Staph. aureus* в перитонеальной полости «безмикробных» мышей Specific pathogen free — «SPf») и в опытах на куриных эмбрионах при внутривенном и внутрибрюшинном введении пенициллина, цефалотина и хлортетрациклина. Обращает на себя внимание тот факт, что индукция L-форм имела место только при внутривенном и внутрибрюшинном введениях индуцирующих агентов; пероральное введение давало отрицательные результаты. L-формы выделялись из селезенки, почек, печени и легких мышей в течение 4 недель после их заражения. Их можно было выделить только при условии тщательной гомогенизации испытуемого материала. L-формы сохраняли жизнеспособность и легко реверсировали в бактерии исходного вида.

Значение локализации микробных агентов в организме хозяина для индукции хорошо иллюстрируют опыты Guze и Kalmanson (1964), Kalmanson и Guze (1964), которые показали возможность индукции протопластов из энтерококков *in vivo* в почках крыс с экспериментальным пиелонефритом, воспроизведенным введением бактериальной формы, подвергнутой воздействию пенициллина.

Совпадающие результаты получены Young и Dahlquist (1967), использовавших модель экспериментального стафилококкового пиелонефрита кролика для доказательства возможности индукции L-форм *in vivo* при пенициллинотерапии. После введения пенициллина L-формы выделялись из мочи и даже из почки, они вырастали на средах, не содержащих пенициллин.

Огромное внимание уделяется изучению возможности индукции, персистенции и реверсии *in vivo* L-форм гемолитического стрептококка. В серии работ Mortimer (1965, 1968) приведены результаты выделения L-форм гемолитического стрептококка группы А из перитонеальной полости и крови мышей, погибших от экспериментальной стрептококковой инфекции. При заражении животных менее вирулентным штаммом стрептококка выделялось большое количество L-колоний. Schmitt-Slomska с соавторами (1966, 1967) в опытах на мышах также показали возможность индукции L-форм гемолитических стрептококков группы А под влиянием пенициллина. Из крови и органов инфицированных животных через 6 часов после соответствующих инъекций стрептококков и пенициллина выделялись смешанные культуры бактериальных и L-форм стрептококка, через 24 часа — только L-колонии (они обнаруживались в течение 5 дней). Максимальное число L-колоний выросло через 24 часа из посевов селезенки и легких; через 5 дней они выделились также из почек. Индукция L-форм под влиянием пенициллина и без него была отмечена у 5 из 7 штаммов гемолитических стрептококков, в том числе у штаммов, не дающих L-трансформации в опытах *in vitro*.

Первые попытки выяснить механизмы, обуславливающие индукцию и персистенцию L-форм *in vivo*, предпринял Mortimer (1968). В серии опытов он показал, что выделение L-форм из организма инфицирован-

ных животных при отсутствии антибиотиков наблюдается через несколько часов после введения стрептококка. Факт выделения L-форм на фоне уже начавшей развиваться стрептококковой инфекции может явиться результатом известной деградации стрептококков под воздействием факторов защиты в организме хозяина (например, клеток ретикуло-эндотелиальной системы и, в частности, нарушения синтеза мукопептида клеточных стенок стрептококка лизосомальными ферментами, главным образом глюкозаминадазой). Вместе с тем наличие в организме таких веществ, как полиамины, может защитить осмотически хрупкие, лишенные клеточной стенки варианты стрептококка от лизиса. Для проверки этой гипотезы Mortimer были проведены эксперименты, целью которых явилось изучение значения ретикуло-эндотелиальной системы в формировании L-форм. Введение торотраста, блокирующего ретикуло-эндотелиальную систему, кортизона, подавляющего выделение лизосомальных ферментов, стибедрона, вызывающего гиперплазию клеток ретикуло-эндотелиальной системы, эндотоксина *S. typhi*, повышающего чувствительность мышей к инфекции, не оказывало, однако, влияния на индукцию L-форм стрептококка.

Опыты по изучению L-трансформирующей способности *in vitro* лизосомальных ферментов, экстрагированных из печени мышей, также оказались безуспешными. Наконец, опыты с разными препаратами крови человека, мыши, кролика, как содержащими, так и не содержащими типоспецифические антитела, не дали ответа на вопрос о механизмах индукции L-форм без индуцирующих воздействий. Что касается индукции L-форм *in vivo* при пенициллинотерапии, то весьма вероятно сходство его воздействия как *in vitro*, так и *in vivo*. При этом следует учесть наличие в организме факторов защиты от осмотического лизиса, которые могут благоприятствовать индукции L-форм в этих условиях.

Анализ материалов, характеризующих персистенцию L-форм и других дефектных по клеточной стенке вариантов бактерий, а также их реверсию *in vivo*, показывает, что результаты этих исследований зависят как от вида или штамма изучавшейся L-формы, так и от вида животного, места введения L-форм и условий ведения эксперимента. Несмотря на известные трудности такого рода анализа, все же определенные обобщения оказались вполне возможными.

Изучение длительности сохранения L-форм в организме экспериментально инфицированных животных проведено в нашей лаборатории на разных объектах: L-формы гемолитического стрептококка группы А, *Proteus vulgaris* (Г. Я. Каган, 1963), *S. typhi* (Г. Я. Каган, Е. И. Коптелова, 1963), *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus haemolyticus*, *Dipl. pneumoniae*, *S. typhimurium*, *P. vulgaris* (С. В. Прозоровский, Г. А. Левина, Е. В. Рыжков, 1969), *Listeria monocytogenes* (Г. А. Котлярова, С. В. Прозоровский, И. А. Бакулов, С. Ф. Чевелев, 1969) и в разных условиях эксперимента.

Результаты этих опытов свидетельствуют о длительности сохранения L-форм *S. typhi* в организме зараженных животных. В течение первых суток L-колоний выделялись из лимфатических узлов и крови, в последующие дни они не выделялись из лимфатических узлов, но их можно было еще обнаружить в крови, селезенке и печени. Наиболее длительно L-формы сохранялись в печени — все 4 штамма L-форм выделялись на 16-й день после инъекции из печени. Реверсии в организме не отмечалось.

Совершенно иные результаты получены С. В. Прозоровским, Г. А. Левиной и Е. В. Рыжковым (1969) при изучении персистенции и реверсии L-формы другого представителя группы, *Salmonella* — *S. typhimurium*

при интраплевральном и интраназальном заражении 7-дневных хлопковых крысят, а также 10—11-дневных куриных эмбрионов — в амнион и 6—7-дневных — в желточный мешок. В этих опытах L-формы *S. typhimurium*, сохранявшиеся в физиологическом растворе до 3 суток, высевались из амниона и желточного мешка до первых суток, из легких и плевры зараженных хлопковых крысят также — до первых суток. Вместе с тем отмечено наличие гистологически подтвержденных крупноочаговых гнойных и гнойно-десквамативных пневмоний при исчезновении L-форм.

Одновременно посевы пораженной легочной ткани на среды, пригодные для культивирования бактериальных форм, позволили уже через 3 часа после заражения крысят стабильной L-формой выделить единичные колонии *S. typhimurium*, число которых достигало $L \cdot 10^6$ на 1 мл взвеси растертой легочной ткани через 9—12 часов после введения L-форм.

Сопоставление результатов изучения персистенции и реверсии L-вариантов *Salmonella* свидетельствует о длительном (до 16 дней) выживании L-форм *S. typhi* в организме белых мышей при полном отсутствии реверсии бактерий и, наоборот, в быстром исчезновении L-форм *S. typhimurium* из организма куриных эмбрионов и хлопковых крыс (в течение 24 часов) при чрезвычайно быстрой реверсии вирулентных бактериальных форм в легочной ткани хлопковых крыс.

Различия эти четко выражены и зависят не только от видового происхождения и степени стабильности L-форм, но и от естественной резистентности хозяина и места введения инфекта.

Изучение персистенции и возможной реверсии стабильных L-форм *Proteus vulgaris*, инокулированных внутрибрюшинно белым мышам в дозе 250 млн. в 1 мл, выявило наличие L-форм в органах животных через 6 часов после инъекции. У большей части животных, павших через 24 часа после инъекции, в крови и органах обнаруживались бактериальные формы вульгарного протея, изредка встречались формы реверсии, отличающиеся от полностью реверсировавших культур протея. L-формы в эти сроки высевались очень редко.

При вскрытии 5 выживших мышей через 48 часов после инъекции из их органов высевались типичные бактериальные формы протея.

Эти исследования показали возможность реверсии *in vivo* относительно стабильной культуры L-форм. Реверсия бактериальной формы сопровождалась восстановлением ее вирулентности. Совпадающие данные были получены на штаммах L-форм протея Silberstein (1953), а также К. П. Шаховским и В. С. Левашевым (1966), отметившими реверсию стабильных L-форм вульгарного протея при заражении куриного эмбриона. Этот же штамм при интраназальном заражении хлопковых крысят (С. В. Прозоровский и др., 1969) вызывал очаги серозно-десквамативной пневмонии, обусловленной реверсией бактериальных форм протея. Реверсия L-форм протея *in vivo* после инокуляции в мочевой пузырь крыс была описана Braude с соавторами (1961).

Таким образом, при разных способах заражения различных видов животных (мыши, куриные эмбрионы, хлопковые крысята, крысы) L-формами протея неизменно наблюдалась реверсия бактерий *in vivo*.

Реверсию бактерий *in vivo* впервые описала в 1938 г. Klieneberger, выделившая, как известно, из легкого лабораторной крысы авирулентную L₁-форму *Streptobacillus moniliformis*. Однако при введении ее животным последние погибали в результате реверсии вирулентных бактерий из L₁-формы. Результаты опытов Klieneberger были подтверждены в 1956 г. Freundt.

Wittler (1952) также отмечала через 24 дня после заражения реверсию бактерий из L-форм *H. influenzae* в организме мышей. Описана реверсия *in vivo* L-форм *typhimurium* (Schneider, 1955). L-формы *E. coli* и *Klebsiella*, не реверсирующие *in vitro*, давали реверсию *in vivo* после их инъекции в мозговое вещество почечной ткани кролика (Alderman, Freedman, 1963). Реверсию *Listeria monocytogenes* в курином эмбрионе и организме кролика отметили у нас в лаборатории Г. А. Котлярова с соавторами (1969).

При изучении персистенции и реверсии стабильных L-форм гемолитического стрептококка группы А, инокулированных внутрибрюшинно белым мышам (Г. Я. Каган, 1963), была установлена возможность их высева из органов до 7 суток. Вместе с тем отмечена реверсия стрептококков на 3-и, 7-е и 14-е сутки. Они выделены в чистой культуре из селезенки на 7-е сутки и в смешанных культурах, состоящих из стрептококков и L-форм, — на 3-и и 14-е сутки из сердца умерщвленных мышей. Реверсировавшие из L-форм стрептококки первоначально давали α -гемолиз и не преципитировались групповой антисывороткой; впоследствии их гемолитические способности и групповой антиген полностью восстанавливались.

Опыты по заражению тем же штаммом L-формы стрептококка куриных эмбрионов в амнион и желточный мешок и хлопковых крысят в легкие и плевру (С. В. Прозоровский и др., 1969) не выявили персистенции и реверсии L-формы. Они высевались из амниона и плевры в течение 3 дней, из желточного мешка и легких — до первого дня.

При использовании других штаммов стабильных L-форм стрептококка группы А (Шмитт-Сломска, 1969) отмечалась разная реакция мышей в зависимости от места введения. Так, при внутривенном заражении L-формы не высевались, а при внутрибрюшинном высевались в течение 25 дней. В 14 из 15 случаев (опыты на SPF мышах) была получена реверсия стрептококков, причем в 5 случаях обнаружена полная реверсия исходного вида с восстановлением антигена группы А.

Эти данные свидетельствуют о значении для персистенции L-форм и их реверсии в бактерии в условиях организма штамма L-форм, вида хозяина, места введения и локализации инфекта. В серии работ (Guze, Kalmanson, 1964; Kalmanson, Guze, 1964; Alderman, Freedman, 1963; Young, Dahlquist, 1967; Winterbauer et al., 1967; Braude et al., 1961, и др.) была показана возможность индукции сфероластов *E. coli*, энтерококка и стафилококка в почках, их длительная персистенция в мозговой ткани почки и реверсия в исходный вид бактерий. Образование сфероластов и нестабильных L-форм в почке и моче зависит от вида и штамма микроорганизмов, индуцирующих факторов, а также от концентрации растворимых веществ, стабилизирующих цитоплазматическую мембрану вариантов бактерий без клеточной стенки. В мозговом веществе почек кролика и крыс имеются условия, благоприятствующие индукции, персистенции, а при прекращении воздействия — реверсии сфероластов в бактериальные формы.

По данным Braude и соавторов (1961), сфероласты способны длительно сохраняться в фагоцитах мочевого пузыря, где они полностью защищены от разных неблагоприятных воздействий. Эти данные также указывают на значение локализации сфероластов или L-форм для их персистенции и реверсии в организме.

Для объяснения представленных материалов были предложены разные гипотезы. Еще в 1960 г. мы высказали мнение о возможности индукции, персистенции и реверсии L-форм, совпадающее со взглядами Wittler (1968), Godzeski (1967, 1968), Mattman (1968).

Иных взглядов придерживаются Nijmans с соавторами (1969), ставящие под сомнение возможность латенции L-форм в организме. Их аргументация основана на фактах осмотической хрупкости многих L-форм, протопластической или протопластостатической способности нормальной сыворотки, четкого ингибирующего эффекта иммунных сывороток (Dannis, Marston, 1967, 1968). Эта точка зрения, казалась бы, также подкрепляется случаями отрицательных результатов индукции, персистенции и реверсии L-форм в организме.

Несмотря на всю серьезность этих доводов, имеющиеся данные с несомненностью указывают на то, что индукция L-форм, их персистенция и реверсия в бактерии непосредственно зависят от вида и штамма микроорганизма, вида животного, локализации L-форм в организме и, вероятно, многих еще не известных факторов.

В последние десятилетия были установлены факты возможности индукции L-форм *in vivo* под влиянием индуцирующих агентов или без них, длительности их сохранения или возможной реверсии бактерий, но пока остаются невыясненными механизмы персистенции, локализация очагов персистенции, условия, способствующие их сохранению в организме. Остается также невыясненным вопрос: имеет место латенция возбудителя в L-форме или его активное размножение? Первые экспериментальные попытки выяснить эти вопросы дали чрезвычайно интересные результаты. Было установлено, что потребность L-форм в осмотической стабилизации в условиях организма значительно меньше, чем в условиях *in vitro*. Присутствие в организме веществ типа полиаминов или спермина оказывает стабилизирующий эффект на хрупкие мембраны протопластов и L-форм, защищая их от лизиса. В организме известны системы, осмотическая концентрация в которых выше осмотической концентрации сыворотки (Orie, 1949; Ullrich et al., 1961). Небезынтересны в этом отношении данные Braude и соавторов (1961) о сохранении сферопластов в фагоцитах мочевого пузыря.

Весьма важны также наблюдения Lisowski и соавторов (1959) о том, что сферопласты *E. coli* фагоцитируются лейкоцитами лошади значительно хуже родительских культур и, естественно, в этих условиях L-формы могут сохраняться.

Имеющиеся данные свидетельствуют, на наш взгляд, о том, что в условиях организма могут быть созданы условия, благоприятствующие индукции L-форм, их персистенции и реверсии в бактерии. Механизмы индукции L-форм *in vivo*, их персистенции и реверсии в бактерии должны быть всесторонне изучены.

ИНДУКЦИЯ, ПЕРСИСТЕНЦИЯ, ЦИТОПАТИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ И РЕВЕРСИЯ L-ФОРМ В КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУРАХ

Несомненный интерес представляют данные об индукции L-форм, их цитопатическом эффекте, персистенции и реверсии бактерий в культурах клеток.

Индукцию L-форм *Brucella abortus* в культуре клеток макрофагов хомячка под влиянием пенициллина и стрептомицина осуществили в 1966 г. Hatten и Sulkin (1968).

L-формы, которые были получены ими в течение первых нескольких дней после введения индуцирующих агентов в клеточную культуру, были близки по морфологии и другим признакам L-формам других видов и идентичны L-формами бруцелл, описанным ранее Carrère и Roux (1953), Nelson и Pickett (1951). Результаты этих опытов послужили основанием для

предположения о возможности индукции и длительной персистенции бруцелл в L-форме при хроническом бруцеллезе животных и человека. Авторы наблюдали длительную персистенцию L-форм бруцелл в зараженной почечной ткани хомячков. L-формы локализовались в цитоплазме вблизи ядер; при высеве на агаре они давали рост L-колоний, способных реверсировать в бруцеллы. Длительное внутриклеточное пребывание L-форм иногда сопровождалось преобладанием зернистых плотных микроструктур, весьма сходных с зернистыми микроструктурными элементами T-колоний микоплазм. Эти варианты плохо культивировались на искусственных питательных средах и реже давали реверсию бруцелл.

Длительная (14 дней) обработка культур клеток пенициллином или стрептомицином задерживала выделение бактерий, L-формы выделялись в возрастающем количестве между 7-м и 14-м днем. Применение тетрациклина или его комбинации со стрептомицином ингибировало выделение бактериальных и L-форм (последние выживали на несколько дней дольше, чем бактериальные формы бруцелл). Выделенные из клеток почки хомячка бруцеллы-ревертанты L-форм были более устойчивыми к стрептомицину и в меньшей степени — к комбинациям стрептомицин — пенициллин и особенно пенициллин — тетрациклин. L-формы бруцелл не ингибировались пенициллином и стрептомицином, но оказались, как и следовало ожидать, чувствительными к тетрациклину.

Возможность индукции L-форм в культурах клеток была показана и на других видах бактерий. Ж. Шмитт-Сломска (1969), Pham Hun, Trung с соавторами (1968) сообщили о возможности индукции, персистенции и размножения L-форм стрептококка группы А в культуре диплоидных клеток эмбриона человека. При заражении 148 таких культур в логарифмической фазе роста разными дозами стрептококка (10^3 — 10^6) у 28 (спустя 24 часа после заражения) были выделены L-колонии на средах с пенициллином и без него, идентифицированные прямой иммунофлуоресценцией и последующей реверсией стрептококков исходной серогруппы и типа. При инфицировании культур клеток L-формами стрептококка авторы не отмечали цитопатического эффекта, хотя уже через 6 часов после инфицирования L-формы обнаруживались в цитоплазме клеток и сохранялись в них в течение 2 месяцев. В самом начале инфицирования L-формы легко выделялись из культур клеток. Затем в течение 2 месяцев они не высевались, хотя выявлялись в виде гранул (были идентифицированы иммунофлуоресценцией), через 3 месяца они вновь высевались и вырастали в виде типичных L-колоний.

Постоянное наличие L-форм в клетках после повторяющихся делений, по мнению авторов, является следствием их внутриклеточного размножения. Авторам удалось показать наличие хронической инфекции, которая поддерживалась как внутриклеточным размножением L-форм, так и переносом инфекции от зараженных клеток к незараженным. О возможности реверсии L-формы *Corynebacterium* sp., выделенной непосредственно из организма, только после ее культивирования в культурах клеток сообщили Wittler с соавторами (1966). Результаты этих хотя и немногочисленных, но весьма убедительных экспериментов свидетельствуют о возможности индукции и длительной персистенции некоторых видов L-форм в культурах клеток, а иногда и их реверсии в бактерии исходного вида.

Первые сообщения о способности L-форм оказывать цитопатическое действие появились в литературе 50-х годов и касались L-форм протей, сальмонелл и холерного вибриона (Tulasne, Lavillaureix, 1954; Lavillaureix, 1957; Minck, Lavillaureix, 1956).

Цитопатическое действие изучавшихся авторами 3 штаммов L-форм *Vibrio cholerae* в клетках HeLa проявлялось уже через 6—24 часа; скорость действия была пропорциональна количеству введенной культуры. Спустя 3—4 часа отмечались начальные изменения в цитоплазме клеток, уменьшалось число митозов, появлялись вакуоли; через 5—6 часов в цитоплазме наблюдалось накопление ацидофильных зерен, некоторые клетки пикнотизировались. Через 6—7 часов число неповрежденных клеток было минимальным, преобладали пикнотические и разрушенные клетки. Культуры L-форм развивались в клетках, на стенках пробирок и в питательной жидкости, они хорошо пассировались в субпассажах (все патогенные штаммы L-форм выдержали 15 пассажей). При высеве на питательные среды был получен рост типичных L-колоний. Заражение мышей этими культурами сопровождалось их гибелью при характерной патологоанатомической картине. Непатогенные L-формы не оказывали цитопатического действия и не пассировались в культурах клеток.

Цитопатическое действие стабильных L-форм *S. typhi* и *Streptococcus haemolyticus* в некоторых культурах клеток было обнаружено нами (Г. Я. Каган, И. В. Раковская, 1964).

Различные клеточные культуры обладали разной степенью чувствительности к цитопатическому действию L-форм. Независимо от видового происхождения цитопатический эффект L-культур в отношении культуры клеток куриных эмбрионов был высоким. L-культуры стрептококка, выделенные из организма больного, оказывали более интенсивное действие, чем L-культура, полученная в условиях эксперимента *in vitro*.

Все испытуемые штаммы L-форм, за исключением одного (культура L-форм гемолитического стрептококка 406L, выделенная из организма больного), оказывали незначительное цитопатическое действие на культуру клеток почек обезьян. Штамм 406L давал более высокий цитопатический эффект в данной культуре.

В кожно-мышечной и почечной ткани эмбриона человека испытуемые L-культуры практически не оказывали цитопатического действия; в культуре клеток почек эмбриона человека цитопатический эффект обнаруживался несколько чаще (в 5 пробах из 10 при испытании L-форм *S. typhi* и в 2 и 3 пробах из 10 при испытании L-форм стрептококка).

Одна культура L-форм стрептококка в отличие от других испытывавшихся штаммов оказывала избирательное цитопатическое действие на перевиваемую тканевую культуру клеток НЕР-2. Все L-культуры, за исключением одного штамма экспериментально полученной культуры L-форм стрептококка, давали выраженный цитопатический эффект в отношении перевиваемой линии клеток СОЦ. Цитопатические изменения, вызываемые L-формами разных видов, появлялись в различные сроки от момента заражения.

Два штамма L-форм стрептококка резко подкисляли среду в некоторых культурах клеток. Один штамм L-форм стрептококка и L-форм *S. typhi* не изменяли рН среды.

Совершенно иные результаты наблюдались при заражении культуры клеток куриного эмбриона (ККЭ) бактериальными формами (*S. typhi*, 5606; *S. haemolyticus* 10S; ревертанты L-форм стрептококка). Получена однотипная реакция в виде полной дегенерации пласта на 2—3-и сутки, резкое помутнение среды за счет роста культур и сдвиг рН в сторону кислой реакции.

При микроскопическом изучении препаратов культуры ККЭ уже на 1-е и 2-е сутки после заражения L-формой *S. typhi* наблюдаются изменения. Наряду с участками нормального роста клеток отмечаются разрежения

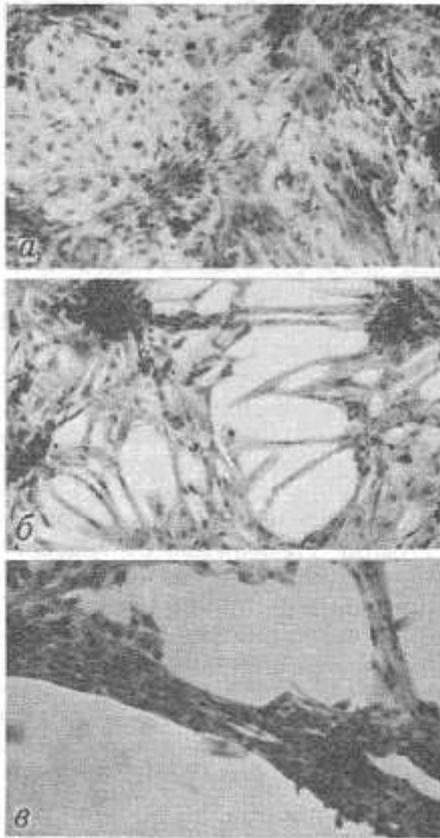


Рис. 20. Цитопатический эффект L-форм *S. typhi* в культуре клеток куриного эмбриона. Ув. $\times 660$ (препарат И. В. Раковской).

а — нормальная ткань; б — ЦПЭ через 24 часа; в — ЦПЭ через 48 часов. Дегенерация клеток.

ли размножение L-форм в культуре клеток куриного эмбриона, были проведены пассажи по общепринятой методике. Пробы среды зараженных культур высевали на среду, пригодную для роста L-форм. При этом было установлено, что цитопатический эффект сопровождается высеваемостью L-форм на агаре. По мере увеличения числа пассажей в культуре клеток интенсивность цитопатических изменений уменьшалась.

При пассировании цитопатическое действие наблюдали еще в III, а иногда и в V пассаже (при разведении исходного инокулюма 1 : 100 000). При контрольных пассажах L-форм в бесклеточной среде 199 (каждые 5 дней) отмечали гибель L-форм уже во II пассаже. Это дает основание полагать, что на протяжении 3, а в некоторых случаях 5 пассажей L-формы *S. typhi* и стрептококки размножались и цитопатические изменения были связаны с их размножением. Вместе с тем была отмечена гибель 2 штаммов L-форм стрептококков к V пассажу; к X пассажу все штаммы L-форм погибли, при этом цитопатических изменений в культурах уже не было.

в монослое и дегенерация клеток (рис. 20). Встречаются целые участки с сильно измененными клеточными ядрами (увеличенные и уменьшенные ядра, ядра причудливых форм, явления лизиса, пикноза и рексиса ядер). В части клеток отмечено оксифильное уплотнение цитоплазмы вблизи ядер. Иногда наблюдаются дегенерирующие блюдцеобразные клетки с бородавчатым краем, сильно вакуолизированные клетки и клетки с выброшенным в сторону ядерным веществом (рис. 21). К 6-м суткам препараты практически лишены клеток; немногочисленные клетки и очень редкие клеточные узлы видны иногда лишь по краю препарата. Весь пласт свернут в один интенсивно окрашенный жгут, в котором невозможно различать отдельные клеточные элементы.

В культуре клеток куриного эмбриона, зараженных L-формой стрептококка, уже на первые, но чаще на 2-е сутки имеется множество зараженных участков, вакуолизация и особенно клеточная дегенерация. Через 5 суток на препаратах остаются лишь островки клеток и многочисленные свернутые клеточные тяжи-жгуты.

Минимальные дозы L-культур, вызывающие цитопатический эффект, варьировали в зависимости от вида и штамма L-формы.

Для того чтобы выяснить, имеется ли размножение L-форм в культуре клеток куриного эмбриона, были проведены пассажи по общепринятой методике. Пробы среды зараженных культур высевали на среду, пригодную для роста L-форм. При этом было установлено, что цитопатический эффект сопровождается высеваемостью L-форм на агаре. По мере увеличения числа пассажей в культуре клеток интенсивность цитопатических изменений уменьшалась.

Сопоставление материалов по изучению индукции, персистенции и цитопатическому действию L-форм в клеточных системах *in vitro*, а также данных о возможности их реверсии показывает, что в зависимости от вида и штамма L-формы и чувствительности клеточной системы они могут вызывать остродеструктивную инфекцию клеток, хроническую инфекцию (при наличии размножения L-форм) и латенцию без выраженного размножения.

ФАКТОРЫ ПАТОГЕННОСТИ L-ФОРМ БАКТЕРИЙ. ПАТОЛОГИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ ЖИВОТНЫХ В ОТВЕТ НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИНФИЦИРОВАНИЕ

Еще в 1964 г. известный исследователь вариантов бактерий бесклеточной

стенки Salton писал: «Будет несчастьем для человечества, если эти формы окажутся способными синтезировать эндо- и экзотоксины — факторы патогенности». Эти слова оказались вещими и первоначальное представление о полной утрате всех факторов патогенности в связи с нарушением биосинтеза поверхностных структур клеточных стенок подверглось ревизии в свете новых фактов, свидетельствующих о сохранении у L-форм функции эндо- и экзотоксинообразования. Именно эти факты позволили другому исследователю патогенных потенциалов L-форм бактерий Godzeski (1968) ответить Salton: «Они синтезируют их, и это так».

Minck (1950, 1951) впервые показал, что сохранение вирулентности стабильных L-форм *Vibrio cholerae* обусловлено действием их эндотоксина. Несколько позже Lavileaugeois (1954), а также Tulasne и Lavileaugeois (1954) обнаружили патогенный эффект при введении мышам живых и убитых L-форм водного вибриона за счет эндотоксических веществ, а Madoff с соавторами (1961) отметили наличие нейрамнидазы у L-форм *Vibrio cholerae*. Wittler (1968) наблюдала смертельную токсемию у мышей при интраперитонеальном введении нестабильных L-форм *H. pertussis*. Dasinger и Suter (1962) отметили эндотоксинообразование у L-вариантов *S. paratyphi B.*, хотя и в меньшем количестве, чем у бактериальных форм.

Каталазная активность у некоторых видов бактерий, как известно, ассоциируется с вирулентностью. Сохранение каталазной активности наблюдалось у L-форм протей (Weibull, Hammarberg, 1962), стафилококков (Mattman et al., 1961) и микобактерий туберкулеза (З. Н. Кочемасова, 1969).

L-формы *Cl. tetani* сохраняют функцию экзотоксинообразования. При внутримышечном введении мышам стабильных L-форм *Cl. tetani* они продуцировали экзотоксин и вызывали патологический эффект, идентичный эффекту, обусловленному введением родительских бактериальных культур (Scheibell, Assandro, 1959). Аналогичные результаты получены в отношении L-форм *Cl. perfringens* (Bittner, Uionesko, 1966).

Значительный интерес представляют данные ряда исследователей (Sharp et al., 1957; Freimer et al., 1959; Freimer, 1963a, 1968; Freimer, Zabriske, 1968a, b; Karakawa et al., 1965, и др.), свидетельствующие о сохра-

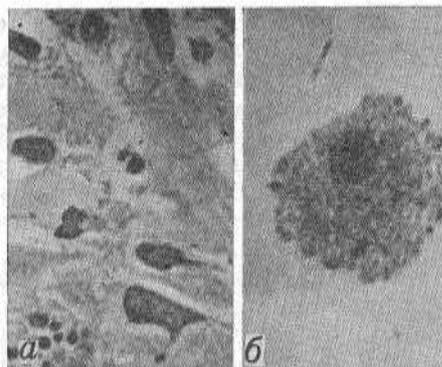


Рис. 21. Цитопатический эффект L-форм *S. typhi* в культуре клеток куриного эмбриона (препараты И. В. Раковской и Б. В. Жив). Окраска гематоксилин-эозином.

а — ядра причудливой формы. Ув. $\times 1350$;
б — блудцеобразные клетки с выброшенным к периферии ядерным веществом. Ув. $\times 666$.

нении у протопластов и L-форм гемолитических стрептококков группы А способности продуцировать гемолизин (O- и S-стрептолизины), стрептокиназу и дезоксирибонуклеазу, а также о сохранении М-белка, легко диффундирующего в окружающую среду. Особенно интересны данные Freimer (1968) и Freimer и Zabriskie (1968a, b), изучавших иммунохимическую природу цитоплазматической мембраны протопластов стрептококка и получивших несомненные доказательства ее антигенной связи с антигенными компонентами сарколеммы мышечной ткани сердца человека.

Как известно, до настоящего времени гемолитический стрептококк группы А рассматривается как этиологический агент острого ревматизма. Согласно одной из господствующих теорий патогенеза этого заболевания, инфицированные стрептококком индивидуумы сенсибилизируются к одному или более антигенам, а острый ревматический процесс является следствием взаимодействия этих антигенов и соответствующих антител в тканях хозяина. Эта концепция стимулировала появление работ, направленных на изучение антигенов стрептококка группы А. Несмотря на значительное число исследований, специфические антигены не были полностью идентифицированы, а механизмы возникновения воспалительной реакции все еще остаются неясными. В работах И. М. Лямперт с соавторами (1962), Kaplan (1956, 1963, 1964), Freimer (1963a, b, 1968) показано антигенное родство стрептококков группы А и сердечной ткани млекопитающих. Это родство обнаружено у стрептококков группы А и группы С и отсутствует у стрептококков других групп и других грамположительных кокков.

Freimer и Zabriskie (1968a, b) выявили, что это антигенное родство обусловлено общими антигенными компонентами, локализующимися в цитоплазматической мембране протопластов стрептококка группы А и в сарколемме (вероятной мембранной структуре сердечной мышцы млекопитающих, в том числе человека). Антисыворотки к очищенным мембранам протопластов стрептококка группы А, свободным от элементов цитоплазмы и клеточных стенок, реагировали в высоких титрах с антигеном сердечной мышцы. Авторами приведены также несомненные доказательства того, что даже самые «чистые» препараты клеточных стенок интактных стрептококков содержат большие количества клеточных мембран. После растворения таких препаратов клеточной стенки муралитическими ферментами нерастворимый осадок по химическим и серологическим свойствам весьма сходен с клеточной мембраной и адсорбирует антитела сердечной мышцы, в то время как растворимая часть, содержащая антигены клеточной стенки, не адсорбирует эти антитела. Как известно, эти антитела обнаруживаются в сыворотке больных с неосложненными стрептококковыми инфекциями и ревматизмом. При более подробном анализе «реактивных с сердечной мышцей» антител, содержащихся в сыворотке больных, установлено, что существует по меньшей мере 2 типа антител: 1) реагирующий с антигенным компонентом цитоплазматической мембраны протопласта стрептококка группы А и сарколеммой сердечной мышцы человека; 2) «сарколеммальный», присутствующий только сарколемме сердечной мышцы и отсутствующий у стрептококка.

Открытие иммунологического родства цитоплазматической мембраны протопластов гемолитического стрептококка группы А и клеточной мембраны ткани млекопитающих может иметь не только широкое биологическое значение, но и являться важным фрагментом изучения патогенеза ревматизма. Небезынтересно сопоставить результаты этих работ с данными Hallier и Lupp (1968), получивших весьма веские доказательства наличия иммуногенных потенциалов L-форм *in vivo*. Имплантация диффу-

зионных камер, содержащих L-формы β -гемолитического стрептококка группы А, сопровождалась продукцией антител к цитоплазматической мембране L-форм и такого экстрацеллюлярного продукта, как О-стрептолизин. Значение этих фактов, на наш взгляд, трудно переоценить с позиций наличия своеобразных патогенных потенций персистирующих в организме L-форм и их возможной роли в аутоиммунных процессах. Именно этот аспект исследований, вероятно, окажется в недалеком будущем наиболее плодотворным.

Данные литературы о реакции разных видов животных на их инфицирование L-формами на первый взгляд, казалось бы, очень противоречивы, однако анализ их позволяет прийти к выводу, что проявление разнообразных патогенных потенций L-форм зависит от их вида и штамма, способности возбудителя к индукции L-форм и их реверсии *in vivo*, видовой резистентности хозяина и локализации L-форм в организме.

Так, в ряде ранних работ было установлено снижение или утрата вирулентности у отдельных штаммов L-форм разных видов бактерий, например у L-формы *Streptobacillus moniliformis* (Klieneberger-Nobel, 1958), вульгарного протей (Tulasne, 1955; Minck, 1955), *Staphylococcus aureus* (С. В. Прозоровский, 1959), *Cl. perfringens* (Kawatamari, Tosio, 1958). Штаммы L-форм, утратившие свою патогенность, не оказывали цитопатического действия на культуру HeLa и не пассировались в этих условиях (Lavillaugreix, 1957).

По данным Minck (1955), Minck и Lavillaugreix (1956), отсутствие патогенности у некоторых штаммов L-форм могло быть связано с ингибиторным действием тканей органов экспериментальных животных (кролики, мыши, морские свинки) на рост L-форм. Выдерживание смеси суспензий растертых тканей и взвесей непатогенных культур L-форм холерного вибриона и протей и патогенного штамма L-форм холерного вибриона в течение 18 часов при температуре 37° сопровождалось гибелью непатогенных штаммов. Однако на патогенный штамм L-форм растертая ткань не оказывала подобного действия: культура высевалась и не утрачивала исходной степени патогенности.

Наряду с этим ингибиторное действие тканей на рост непатогенных L-форм далеко не всегда имело место. Выше приводились факты длительного сохранения непатогенных штаммов L-форм *S. typhi* и *Streptococcus haemolyticus* в организме белых мышей. В данном случае ингибиторное действие ткани на L-формы следует полностью исключить.

В последнее время были установлены факты, свидетельствующие о сохранении патогенных потенций у отдельных штаммов L-форм и о приобретении дополнительных признаков патогенности, отсутствующих у исходных бактериальных культур. Интересно отметить, что даже применительно к тем видам бактерий, L-формы которых в эксперименте оказались авирулентными, решение вопроса об их апатогенности не может быть окончательным. Примером, подтверждающим это положение, может служить культура *Streptobacillus moniliformis*, способная к спонтанному образованию L-форм и их реверсии в исходную родительскую культуру не только *in vitro*, но и *in vivo*.

Аналогичные данные отмечались и при изучении других видов, например патогенный эффект, наблюдающийся при реверсии L-форм *Pr. vulgaris* или реверсии L-форм *S. typhimurium*. Bohnhoff и Page (1968), обнаружившие снижение вирулентности у стабильных L-форм *Neisseria meningitidis* при их внутрибрюшинном введении мышам, показали возможность их сохранения в организме в течение 3 дней и последующей реверсии в вирулентную бактериальную форму.

Таким образом, даже утратившие вирулентность L-формы, сохраняясь в организме, потенциально опасны, так как способны реверсировать в вирулентные бактерии исходного вида.

Характер непосредственной патологической реакции животных на однократное или многократное инфицирование может служить одним из показателей патогенности тех или иных видов L-форм бактерий. Такие исследования проводились у нас в лаборатории (Г. Я. Каган, 1963, 1968; Г. Я. Каган, А. Г. Щеголев, С. В. Прозоровский, 1964). Изучалась реакция лабораторных животных на однократное и многократное инфицирование стабильными L-формами *S. typhi*, *S. typhimurium* и *Streptococcus haemolyticus*.

На возможность существования высоковирулентных штаммов L-форм бактерий указывают данные и других авторов. Так, высоковирулентные штаммы L-форм холерного вибриона получены Tulasne и Lavillaureix (1957, 1958), отметившими гибель белых мышей через 6 суток после их подкожного заражения. В месте инъекции появлялись абсцессы, из которых выделялась прозрачная жидкость, содержащая белые хлопья. При более поздней гибели гной из абсцессов был творожистой консистенции, и из него выделялись чистые культуры L-форм. Сосуды внутренних органов и кишечника у подопытных животных были резко инъецированы. При внутрибрюшинном заражении мыши погибали уже через 8—24 часа; патологоанатомические изменения были идентичны описанным выше, из перитонеальной жидкости была выделена культура L-форм. Внутривенное введение сопровождалось гибелью животных; выделить L-формы из крови не удалось. Инъекция L-форм в легкие вызвала гибель мышей без видимых изменений легочной ткани. При внутримозговом заражении через 12—24 часа после инъекции развивалось коматозное состояние, заканчивавшееся гибелью животных. В месте введения в мозговую ткань образовывалась полость, наполненная жидкостью с беловатыми хлопьями, из которой выделялись культуры L-форм холерного вибриона.

Из изучавшихся штаммов L-форм холерного вибриона высокопатогенными для кроликов, морских свинок, белых мышей, кошек и хомяков оказались три: Ez5, «Багдад» и «Нанкин». Эти культуры независимо от места инъекции вызвали гибель животных. Патологоанатомическая картина была почти такой же, как при введении животным эндотоксинов грамотрицательных бактерий: отмечалась гиперемия внутренних органов, в полостях у места инъекции — скопление прозрачного экссудата, содержащего беловатые хлопья; из экссудата и внутренних органов выделялись культуры L-форм. Внутривенное введение L-культур холерного вибриона сопровождалось появлением резко выраженного холероподобного синдрома и последующей гибелью животных. Сопоставление результатов этих опытов с приведенными выше данными о цитопатической реакции, вызываемой L-формами холерного вибриона, и данными об их способности продуцировать нейраминидазу дает основание для заключения, что патогенность холерного вибриона, связанная с эндотоксинообразованием, не утрачивается при утрате клеточных стенок и переходе холерных вибрионов в L-форму.

Патогенное действие L-форм зависит от вида животного и метода введения культуры. Так, заражение эмбрионов L-формами протей и вибриона (Minsk, 1955) в хорион-аллантоисную оболочку приводило к гибели эмбрионов, но обнаружить L-формы в субкультурах не удавалось. При инъекции в желточный мешок отмечалась нерегулярная гибель эмбрионов, тем не менее L-культуры, как правило, выделялись. L-формы хорошо пассировались в желточном мешке эмбрионов. Автор описывает штамм L-форм

протей, выдержавший 40 пассажей и вызывающий гибель эмбрионов с множественными геморрагическими и конгестивными изменениями в тканях. В результате заражения этим штаммом аллантоисной оболочки погибало 50% эмбрионов с идентичными поражениями и выделением L-форм в субкультурах.

В опытах McKee и соавторов (1966) была показана высокая патогенность стабильных L-форм *Haemophilus influenzae* для птиц. В серии работ Vigououx и соавторов (1956, 1957) описан патогенный штамм L-форм гемолитического стрептококка. При заражении в хорион-аллантоисную оболочку и желточный мешок наступала гибель эмбрионов, возникали геморрагические и эндотелиальные изменения в сосудах, идентичные изменениям, вызываемым исходными культурами, но менее выраженные. Культуры, состоящие из фильтрующихся гранул L-форм, оказались патогенными для эмбрионов. Около 50% зараженных эмбрионов погибало до истечения 4 суток с характерными гистологическими изменениями; другие погибали на несколько дней позже; часть эмбрионов выживала. При заражении на хорион-аллантоисную оболочку часто встречались геморрагии, зоны отека, помутнение с петехиями. При заражении в желточный мешок отмечены менее интенсивные поражения. Иногда исходные культуры в виде шаровидных тел и зернистых форм спонтанно реверсировали в этих условиях в культуры стрептококков.

При испытании вирулентности L-форм β -гемолитических стрептококков на белых мышах нам не удалось выявить вирулентные штаммы (Г. Я. Каган, 1963). Аналогичные результаты получены при внутривенном заражении кроликов. Все животные выживали, не наблюдалось ни повышения температуры, ни снижения веса. Все L-культуры оказались практически авирулентными для кроликов.

Таким образом, разные виды и штаммы L-форм стрептококков при разных способах заражения различных видов животных вызывают избирательную реакцию инфицированного животного: в одних случаях весьма интенсивную, в других — полное отсутствие патологических проявлений. Это положение подтверждается результатами изучения патогенности у L-форм листерий.

В серии работ ряда авторов (Madoff, Dienes, 1967; Brem, Eveland, 1967, 1968a, b; Г. А. Котлярова и др., 1969) были представлены материалы, свидетельствующие о возможности получения L-форм всех серотипов *Listeria monocytogenes* под действием иммунной сыворотки, свежей тканевой суспензии мышей, глицина, лизоцима и пенициллина. В некоторых из этих работ активно обсуждается возможная роль L-форм листерий в патогенезе и эпидемиологии листереллеза. Вместе с тем в ряде опытов были получены отрицательные результаты при изучении патогенного эффекта стабильных L-форм этого вида в организме мышей swiss Webster разного возраста при их внутримозговом, интраназальном, внутрибрюшинном, внутривенном и подкожном заражении. Патологическая реакция не наблюдалась также при снижении естественной резистентности мышей введением кортизона или охлаждением. Хотя L-формы листерий не были патогенны для мышей данной линии, они сохранялись в организме и в течение 3 месяцев не только обнаруживались в тканях с помощью флуоресцирующих антител, но и выделялись в посевах; кроме того, была доказана возможность индукции L-форм и реверсии листерий *in vivo* в тканях мышей.

Данные о значительной патогенности L-форм листерий получены Г. А. Котляровой и др. (1969), наблюдавшими при заражении кроликов L-формами *L. monocytogenes* повышение температуры, парезы передних

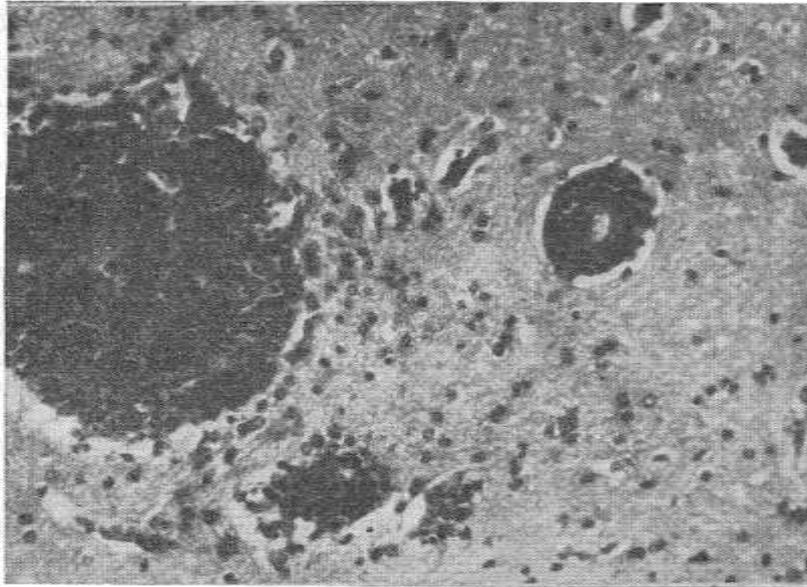


Рис. 22. Аммонов рог кролика на 7-е сутки после заражения L-формой листерий. Острый лимфоцитарный энцефалит. «Муфты» и очаговые глиальные узелки. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 250$ (препарат Г. А. Котляровой и др., 1969).

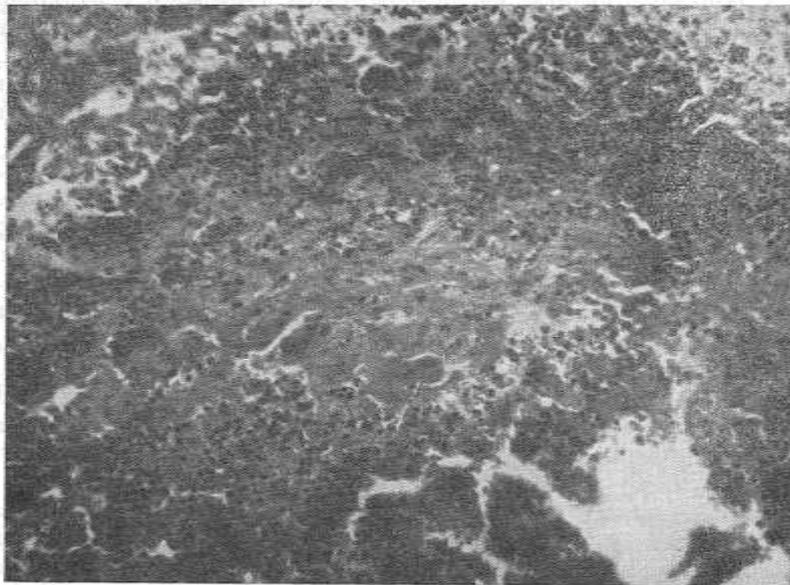


Рис. 23. Печень кролика на 7-е сутки после заражения L-формой листерий. Очаговый некроз печеночных клеток и их инфильтрация лимфоидными элементами и нейтрофильными лейкоцитами. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 250$ (препарат Г. А. Котляровой и др.).

и задних конечностей, развитие специфических клеточно-пролиферативных гранулем в печени и явлений острого лимфацитарного энцефаломиелиита. При заражении L-формой наступают более выраженные изменения в головном мозге кроликов, чем при заражении исходной бактериальной формой. Авторы пишут: «К 7-м суткам после введения L-форм обнаруживались пролиферативные процессы со стороны глиальных, лимфоидных и адвентициальных элементов, а также многочисленные очаговые и диффузные скопления элементов глии, резко выраженные периваскулярные муфты (рис. 22). Местами наблюдался мелкоочаговый некроз вещества мозга. По периферии некротизированных участков отмечалась инфильтрация тканей лимфоидными элементами; такие же изменения, но менее выраженные, были и на 14-е сутки после заражения. Через 20 суток изменений в головном мозге обнаружить не удалось».

На 7-е сутки в печени наблюдались очаговые и диффузные скопления лимфоидных элементов в паренхиме и междольковой соединительной ткани, иногда кровоизлияния, отек и набухание эндотелия кровеносных сосудов. И, наконец, в этот же срок отмечались множественные некрозы паренхимных клеток, распространявшиеся иногда на целую дольку. Клеточная реакция на границе с участками некроза была представлена нейтрофильными лейкоцитами и лимфоидными элементами (рис. 23). На 14-е сутки происходило рассасывание гранулем; они были очень мелкими и, как правило, инфильтрированы лимфоидными элементами. Через 20 суток после заражения воспалительные процессы обнаружены не были».

При заражении бактериальной формой листерий поражения головного мозга были менее выражены; специфические изменения в печени появлялись на 3 дня раньше и исчезали на 7 дней раньше, чем изменения, вызванные L-формой. Выраженный и даже более интенсивный патологический эффект в головном мозге кроликов при внутривенном заражении L-формами представляет, на наш взгляд, исключительный интерес и является еще одним звеном в цепи доказательств существования патогенных потенций у L-форм, которые проявляются в соответствующих условиях эксперимента. Klieneberger (1958) установила, что L-форма *S. moniliformis*, утрачивая патогенность, одновременно теряет иммуногенные свойства. Предварительная иммунизация мышей этой культурой не в состоянии была защитить их от экспериментальных артритов, воспроизведенных введением бактериальной формы данного вида.

По данным Silberstein (1953) и Schnauder (1955), апатогенный штамм L-форм *S. typhimurium* не сообщал иммунитета к последующему заражению исходной вирулентной бактериальной формой, а другой штамм, обладавший пониженной вирулентностью, в значительной мере сохранял иммуногенные свойства.

В наших опытах было установлено значительное снижение иммунизирующих свойств живой стабильной L-культуры *S. typhi* по сравнению с родительским штаммом. Повышение иммунизирующего эффекта при вакцинации L-культурой можно было наблюдать лишь при значительном увеличении иммунизирующих доз. Однако и в данном случае иммунизирующее действие L-форм было более слабым, чем у исходной тифозной культуры.

У иммунизированных животных выявлено значительное изменение их реактивности под влиянием повторных инъекций больших дозировок культуры L-форм, так как у большей части мышей, иммунизированных после второй и особенно после третьей инъекции, возникали тяжелые, длительно не заживающие стерильные абсцессы. Это показывает, что многократное введение больших дозировок L-культур сопровождается

некоторым повышением иммунизирующего эффекта и одновременно вызывает повышенную реакцию у животных, проявляющуюся местно в виде описанных выше длительно не заживающих абсцессов.

Аналогичные результаты получены при изучении L-форм *S. typhimurium*. 7 штаммов L-форм этого вида утратили вирулентность для белых мышей и были использованы в опытах иммунизации. Многократные введения L-форм *S. typhimurium* наряду с некоторым иммунизирующим эффектом вызвали резко измененную реакцию, проявившуюся в гибели 57 мышей из 120 после второй и третьей иммунизации. У 35 из 63 оставшихся мышей в месте инъекции появились тяжелые, длительно не заживающие стерильные абсцессы.

Результаты этих опытов послужили основанием для изучения алергизирующих свойств L-форм. Опыты поставлены с L-формами β -гемолитических стрептококков, исходных родительских культур и бактерий, реверсировавших из данных L-форм (В. А. Фрадкия, 1965).

Антигены получали 10-кратным замораживанием (-70°) и оттаиванием ($+37^{\circ}$). В качестве контроля использовали смывы сред культивирования, обработанные аналогично. Опыты проводили на 79 кроликах весом 3,5 кг, которым в коленный сустав одной из задних лап вводили сенсibilизирующий субстрат в объеме 2 мл, а спустя 18 часов — внутривенно разрешающую дозу антигена в объеме 2 мл (использовали модель феномена Шварцмана в коленном суставе кролика). Реакцию учитывали через 24 часа после разрешающей инъекции; изменения в опытном суставе сопоставляли с контрольным.

Эти опыты показали, что инъекция антигенов L-форм стрептококка в суставную сумку с последующим их введением в кровь сопровождается резко выраженной суставной реакцией в виде значительной отека и болезненности сустава с большим количеством серозно-кровоянистого экссудата.

Действие антигенов из бактериальных форм гемолитического стрептококка было сильнее, чем действие аналогичных антигенов L-форм. Наблюдались большое количество серозно-кровоянистого или гнойно-кровоянистого экссудата и значительная инфильтрация тканей. Во всех экспериментах выявлялся перекрестный сенсibilизирующий эффект между антигенами бактериальных и L-форм стрептококка. Начальная сенсibilизация к L-формам обусловила возникновение феномена Шварцмана в ответ на разрешающее введение антигена бактериальных форм стрептококка и наоборот. При первичной сенсibilизации животных кокковыми формами выраженность феномена Шварцмана оказалась одинаковой независимо от того, какой антиген (кокковых или L-форм) использовали для разрешающей инъекции. Следовательно, свойства исходных культур, их L-форм и культур, реверсировавших из последних, были достаточно близкими. Первичная бактериальная стрептококковая инфекция, вероятно, может дать соответствующий сенсibilизирующий эффект, а последующее разрешающее действие воспроизводится L-формой стрептококка, образовавшейся *in vivo*. Сохранение алергизирующих свойств у L-форм и четко выявленный перекрестный эффект, на наш взгляд, еще раз свидетельствуют о присущих L-формам патогенных потенциях.

Существование патогенных потенций у вариантов бактерий, дефектных по клеточной стенке, в том числе стабильных и нестабильных L-форм, способность к реверсии с восстановлением исходной степени вирулентности в условиях организма, особенности поведения *in vivo* и в клеточных культурах указывают на настоятельную необходимость изучения мало известных факторов патогенности цитоплазматической мембраны, а может быть,

и цитоплазмы у жизнеспособных вариантов бактерий, лишенных клеточной стенки. Возможность образования последних в организме при условии широкого использования антибиотических и химиопрепаратов трудно подвергнуть сомнению.

ВЫДЕЛЕНИЕ L-ФОРМ БАКТЕРИЙ ПРИ НЕКОТОРЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ЧЕЛОВЕКА. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ МОДЕЛИ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ, ВЫЗВАННЫХ L-ФОРМАМИ БАКТЕРИЙ

пусть 7 лет после первого сообщения о выделении L-форм бактерий из организма больного с перитонитом (Dienes, Smith, 1944) Dolman и Chang (1951) выселили L-форму *Streptobacillus moniliformis* из крови двух детей, болевших так называемой крысиной лихорадкой. В течение 8 недель заболевания при повторных исследованиях крови выделялись только бактериальные формы. Последующая интенсивная пенициллинотерапия завершилась отрицательными результатами посева крови. Бактериальные формы *Str. moniliformis* не обнаруживались, но с большим постоянством высевались культуры L-форм. Поскольку пенициллин оказался совершенно неэффективным, был проведен курс лечения ауреомицином, стрептомицином и органическими солями мышьяка. После этого L-формы перестали высеваться, и наступило полное клиническое выздоровление. Эти находки явились началом систематического изучения присутствия L-форм и близких им вариантов с дефектом клеточной стенки в организме больных при разных заболеваниях.

L-ФОРМЫ БАКТЕРИЙ ПРИ СЕПСИСЕ, СЕПТИЧЕСКОМ ЭНДОКАРДИТЕ И РЕВМАТИЗМЕ

В 1953 г. появилось первое сообщение Carré и Roux о выделении близких L-формам вариантов стрептококка из крови септических больных. Несколько позже Lipnicki (1958) представил неоспоримые данные о наличии L-форм стрептококка в крови больных септическим эндокардитом.

В 1960 г. Wittler с соавторами выделил L-форму *Corynebacterium* sp. из крови больной септическим эндокардитом, осложненным септическими поражениями сердца. Первоначально, до лечения антибиотиками, авторы обнаруживали в крови бактериальные формы этого вида возбудителя. Пенициллинотерапия сопровождалась ремиссиями, исчезновением бактериальных форм и появлением переходных и нестабильных L-форм. Каждый раз, когда прерывалась пенициллинотерапия, наступали рецидивы: L-формы не выделялись и выявлялись бактериальные формы *Corynebacterium* sp.

Из крови больных подострым бактериальным эндокардитом и при септицемии Mattman и Mattman (1965) выделили культуры L-форм *Streptococcus faecalis*. Эти больные не реагировали на антибиотикотерапию. На обычных средах бактериальные формы не выделялись. В то же время культивирование крови на средах, пригодных для культивирования L-форм, сопровождалось высевам L-вариантов, сферопластов и других переходных форм, реверсирующих в *Streptococcus faecalis*.

Rosner (1968) описал случай смертельного эндокардита, обусловленный протопластами *Candida albicans*, высевавшимися из крови. Несмотря на интенсивную антибиотикотерапию, были выражены все симптомы острого септического эндокардита. Интактные культуры *Candida albicans* не

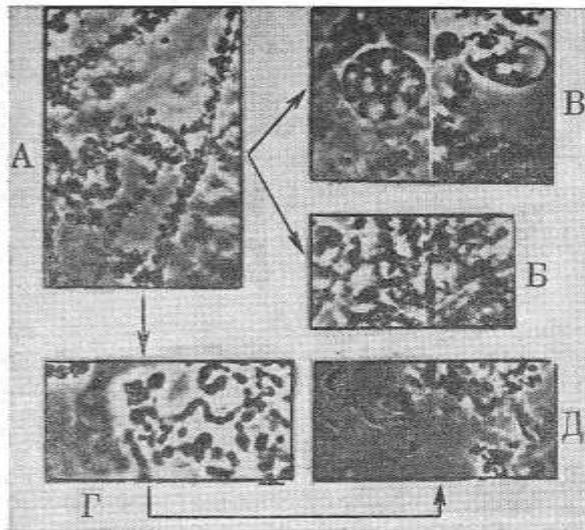


Рис. 24. L-формы стрептококка из крови больного септическим эндокардитом. Фазовый контраст. Ув. $\times 900$ (препарат Г. Я. Каган).

А — микроструктуры L-колоний в виде длинных тонких нитей и гранул; Б — пассив на пенициллиновой среде без изменения морфологии; В — структуры типичных L-колоний при пассиве на среде с пенициллином; Г — формы реверсии стрептококка на среде без пенициллина; Д — реверсия типичной культуры стрептококка на среде без пенициллина.

обнаруживались, и только на осмотически стабилизированной среде были получены протопласты, реверсировавшие через 103 дня в *Candida albicans*. На секции в повреждениях митрального клапана и эмболах обнаружены типичные и протопластные формы дрожжей!

С 1959 г. в нашей лаборатории начаты исследования по выделению и идентификации L-форм из крови больных септическим эндокардитом и ревмокардитом (В. Д. Тимаков, Г. Я. Каган, 1961, 1962) по разработанной нами схеме, согласно которой производят одновременный посев испытуемого материала на среды, содержащие и не содержащие индуцирующий L-формы агент, с последующими пересевами на те же среды (Г. Я. Каган, 1963; В. Д. Тимаков, Г. Я. Каган, 1967).

Эта схема анализа позволила выявить наличие в испытуемом материале: 1) L-форм бактерий, 2) смешанных культур, состоящих из бактериальных и L-форм или вариантов, близких к L-формам. В последнем случае не удалось получить четкий ответ на вопрос, являются ли обнаруживаемые в патологическом материале L-формы или другие близкие им варианты бактерий результатом их индукции *in vivo* или *in vitro*. Идентификация бактериальных форм как возможных ревертантов также оказалась невозможной.

При исследовании крови больных септическим эндокардитом и ревмокардитом были выделены L-культуры (13 из 20). В первичном посеве стрептококки полностью отсутствовали. У 4 больных высевались переходные формы (названные нами ранее формами гетероморфного роста) при полном отсутствии стрептококков в первичном посеве и лишь у 2 больных уже в первом пассаже удалось получить культуры β -гемолитического стрептококка.

При септическом эндокардите L-формы также обнаруживались довольно часто (6 из 14) при полном отсутствии стрептококков в первичном посеве. Несколько реже встречались переходные сферопластоподобные формы, смешанные культуры L-форм и стрептококков (3 из 14), в трех случаях выделялись культуры стрептококков.

Из 5 выделенных культур стрептококка 4 вызывали α -гемолиз, один штамм вызывал β -гемолиз. Эти культуры не обладали способностью

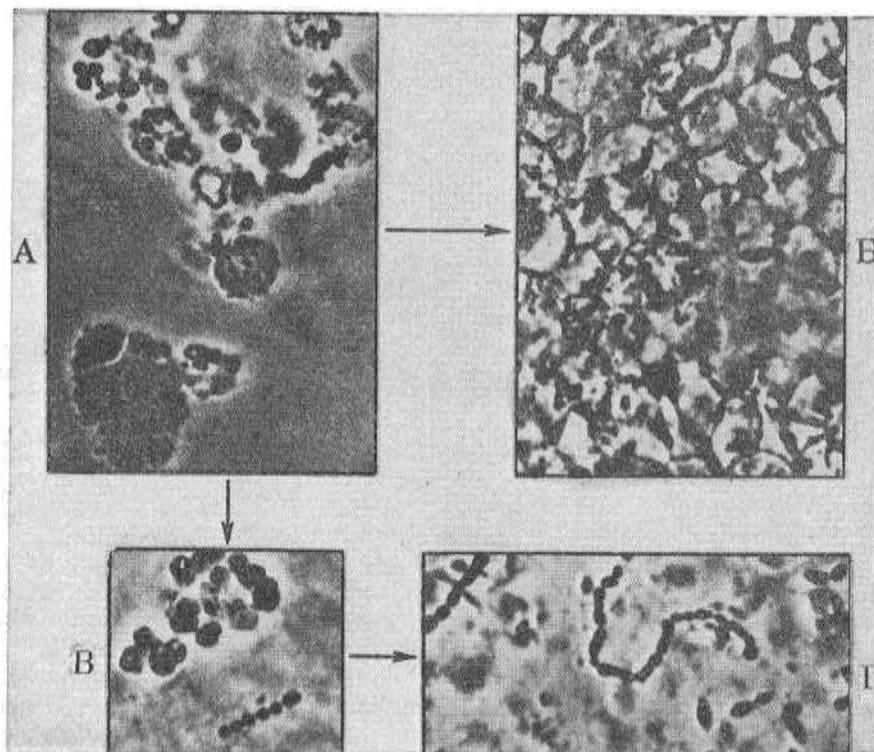


Рис. 25. L-формы стрептококка из крови больного с септическим и ревматическим эндокардитом.

А — микроструктура L-колоний в виде зернистых тел, вакуолизированных форм, гигантских структур неопределенной конфигурации; Б — типичные L-колонии на среде с пенициллином; В — формы реверсии в виде сфероластов, группирующихся в цепочки на среде с пенициллином; Г — типичная культура стрептококка на среде без пенициллина.

к L-трансформации. При пассировании на среде с пенициллином не давали роста L-формы.

Выделенные культуры L-форм в I пассаже отличались полиморфизмом (состояли из зерен и светопреломляющих тел разной величины и формы). Морфологически они вначале не отличались от детрита крови, имеющегося в среде, поэтому диагноз ставился только на основании результатов последующих пассажей.

При пассировании на среде с пенициллином колонии зернистых форм часто приобретали вид типичных L-колоний (вакуолизированные формы, гигантские шары, тела неправильной формы и зернистые массы). При пассажах на средах, не содержащих пенициллина, они реверсировали в бактериальную форму — культуры стрептококка.

На рис. 24 представлена морфология культуры, состоящей из мельчайших гранул и длинных тонких нитей, на которых как бы нанизаны были гранулы (рис. 24, А). При последующих пассажах на средах с пенициллином они иногда не меняли первоначального вида (рис. 24, Б), но чаще выглядели как типичные L-колонии, состоящие из шаров, вакуолизированных форм и зерен (рис. 24, В). Последовательное пассирование на средах без трансформирующего агента завершалось реверсией стрептококков (рис. 24, Д), которой нередко предшествовало образование гетероморфных форм (рис. 24, Г).

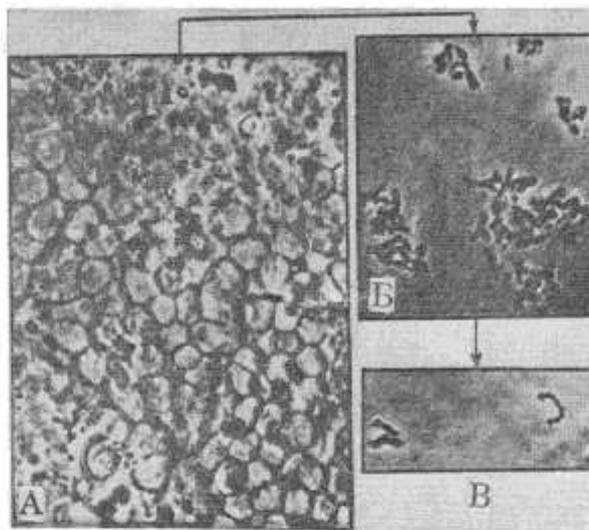


Рис. 26. L-формы стрептококка из крови больного с ревматическим полиартритом и миокардитом.

А — типичные микроструктуры L-колоний; Б — фазы реверсии стрептококков на среде без пенициллина; Б' — реверсия типичных стрептококков на среде без пенициллина.

Микроструктуры L-форм, выделенных из крови больного септическим эндокардитом с митральным пороком сердца и недостаточностью кровообращения II степени, и динамика их реверсии показаны на рис. 25.

Морфология L-культуры из крови больного, страдающего комбинированным пороком сердца, развившимся вследствие септического и ревматического эндокардитов, представлена на рис. 25, А. Видны плоские зернистые тела, измененные вакуолизированные формы с включениями. Эти культуры пассировались, не изменяя морфологии, при пассажах на средах без пенициллина давали удлиненные, грушевидные, гантелевидные формы, гигантские структуры неопределенной конфигурации. При пассажах на средах с пенициллином они вырастали в виде типичных L-колоний (рис. 25, Б), на средах без пенициллина реверсировали, проходя фазу сферопластообразования, в типичные стрептококки (рис. 25, В, Г).

Нередко уже в I или II пассаже вырастали типичные L-колонии при пассажах на средах без пенициллина. Они, пройдя фазу гетероморфного роста (рис. 26, Б), реверсировали в культуру типичных стрептококков (рис. 26, В) (L-культура была выделена из крови больного с остаточными явлениями после перенесенного ревматического полиартрита и миокардита).

В ряде случаев в I и II пассажах обнаруживались фазы индукции L-форм или фазы их реверсии в бактериальные формы (рис. 27, А). При пассажах на средах, содержащих пенициллин, они трансформировались в культуры L-форм (рис. 27, Б), на средах без пенициллина легко реверсировали в стрептококки (рис. 27, В). Эта культура была выделена от больного ревматическим полиартритом.

Иногда в L-культуре, выросшей в виде типичных L-колоний, уже в I пассаже на средах с пенициллином и без него, на III пассаже (на средах без пенициллина) начиналась реверсия кокковых форм, которые на V пассаже приобретали типичную морфологию стрептококков, но они оказывались нежизнеспособными и не перевивались при последующих пересевах (рис. 28) (культура от больного ревматическим полиартритом).

Из 24 культур L-форм и форм гетероморфного роста реверсия стрептококков отмечена у 20 (4 L-культуры, выделенные в I и II пассажах в виде L-колоний, при 6—8-кратном пассировании на средах без пенициллина

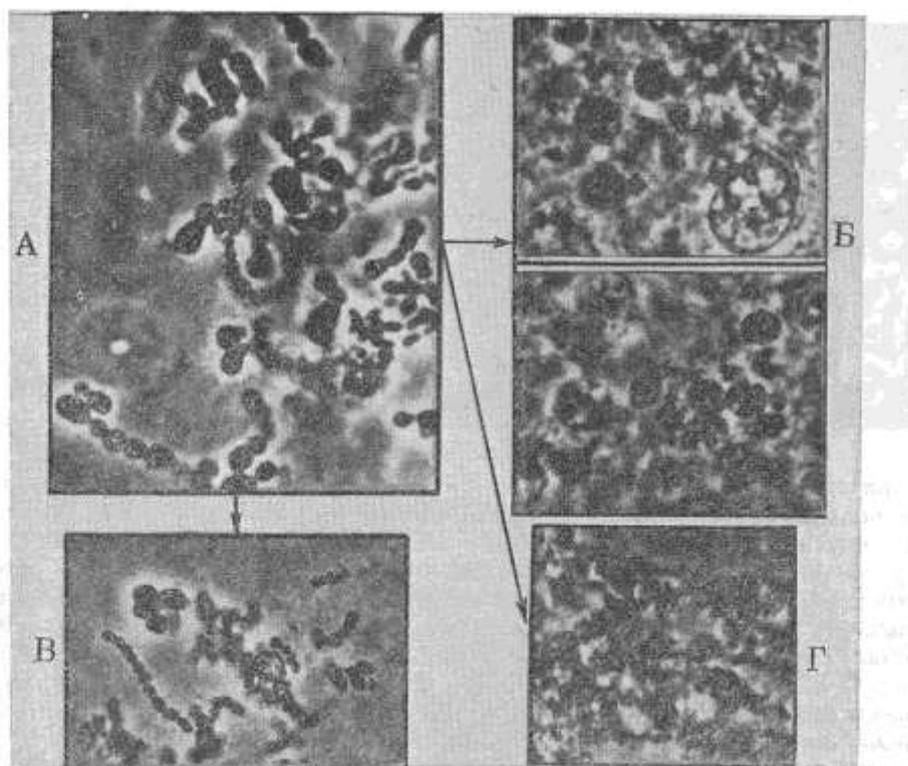


Рис. 27. Фазы индукции L-форм или фазы их реверсии в стрептококки (выделены из крови больного ревматическим полиартритом).

А — фазы индукции L-форм или фазы их реверсии (на среде с пенициллином или без него); Б — L-культуры при пассаже на среде с пенициллином; В — реверсия стрептококков на среде без пенициллина).

не реверсировали). У 2 штаммов L-культур, длительно сохраняющихся у нас в лаборатории, установлена полная идентичность их антигенной структуры с экспериментально полученной L-культурой гемолитического стрептококка группы А (следы полисахаридного С антигена группы А и комплексе антигенов, выявляемый только у L-форм).

В отличие от экспериментально полученной культуры L-форм L-культуры, выделенные из организма, характеризовались дермотоксичностью для кроликов и высоким цитопатическим действием в отношении культуры клеток куриного эмбриона.

Стрептококки, реверсировавшие из L-форм, стрептококки, выделенные из организма, и ревертанты стрептококков из экспериментально полученных L-форм сходны. Обе группы культур морфологически однотипны (отличались большим полиморфизмом в первых фазах реверсии; при последующих пассажах становились типичными). Реверсия стрептококка в обеих группах культур происходила очень медленно.

Начало реверсии бактериальных форм проявлялось в нежном диффундирующем в среду ореоле роста вокруг L-колоний. Начальные фазы реверсии стрептококков отличались ростом разнообразных гетероморфных форм. При фазово-контрастной микроскопии они выглядели в виде раздутых гантелевидных, веретенообразных и реже удлинённых форм, местами фрагментирующихся на разбухшие кокковые формы, располагающиеся

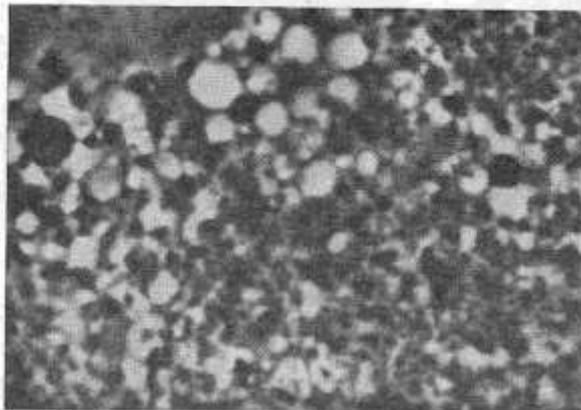


Рис. 28. L-культура, выделенная из крови больного ревматическим полиартритом.

в виде цепочек. Наряду с этим наблюдались также цепочки из мелких шаровидных форм (типа пенициллиновых сферопластов). Эти культуры не росли на кровяном агаре и не окрашивались по Граму. Морфология культуры IV—V пассажей несколько больше приближалась к морфологии стрептококков, но по Граму они либо не окрашивались, либо окрашивались неравномерно. В цепочках грамтрицательных кокков встречались отдельные грамположительные особи. Нормализация морфологии наблюдалась в VI пассаже и позже. Тем не менее в культурах ревертантов, пассирующихся в лаборатории в течение 2 лет, наряду с нормальными цепочками стрептококков встречаются измененные и увеличенные в размерах особи, неопределенно окрашивающиеся по Граму. Рост ревертантов на кровяном агаре наблюдался лишь у субкультур V—VI пассажей (6 штаммов ревертантов из 10 давали α -гемолиз, один штамм вызывал β -гемолиз и 3 росли в виде смешанных культур стрептококков, дающих α - и β -гемолиз).

Все культуры отличались пониженной ферментативной активностью, не продуцировали O-стрептолизина, продуцировали в небольших количествах стрептокиназу, гиалуронидазу и эритрогенный токсин. Ревертанты L-форм, выделенных из организма, отличаются от ревертантов L-форм, полученных в экспериментальных условиях *in vitro*, более высокой стрептокиназной активностью (5 единиц против 1—2 единиц) и большей устойчивостью к пенициллину и стрептомицину.

В антигенном отношении обе группы культур родственны. Восстановление группового полисахаридного антитела (группа A) отмечено в 4 из 7 культур в первой группе и в 3 из 6 — во второй.

Ревертанты стрептококка независимо от их происхождения обладали общим групповым антигенным компонентом.

Разработанная нами схема позволяла с большим постоянством выделять из крови больных ревмокардитом и септическим эндокардитом L-формы, которые идентифицировались по реверсии как L-формы гемолитического стрептококка.

Выделение L-колоний из первичных посевов крови на средах с пенициллином и без него, на пенициллиновой среде или среде без пенициллина при полном отсутствии роста стрептококков позволило прийти к заключению о наличии L-форм стрептококков непосредственно в крови больных. L-формы были выделены от 13 больных ревматизмом в 3 случаях из первичного посева крови на среде без пенициллина, у 6 одновременно на среде без пенициллина и с пенициллином и у 4 только на среде, содержащей

пенициллин. Реверсия стрептококков наблюдалась у 2 из 4 культур, выделенных из первичного посева крови на пенициллиновой среде через 3—4 месяца (IV—VI пассажи) на средах без пенициллина. Появлению стрептококков предшествовал рост переходных форм (раздутые, гантелевидные и длинные цепочки небольших шаровидных тел).

Из 6 культур, выделенных от больных септическим эндокардитом, 3 получены в результате первичного посева крови на пенициллиновой среде, 2 вследствие одновременного посева на среде с пенициллином и среде без него и одна культура в результате посева на среде без пенициллина. Эти культуры вырастали в виде L-колоний уже в I пассаже на пенициллиновых средах и средах без пенициллина. Реверсия стрептококков отмечалась в IV—VI пассажах и позже на средах без пенициллина. Из 3 культур, полученных из первичного пассажа на пенициллиновой среде, лишь одна культура реверсировала в стрептококк при пятикратных пассажах на среде без пенициллина. Эти данные показывают, что при септическом эндокардите культуры L-форм могут быть получены непосредственно из крови.

При одновременном выделении из первичных посевов крови L-форм и стрептококков первые, как правило, выявлялись в первых пассажах на пенициллиновых средах, вторые — в первых пассажах на средах без пенициллина. Эти результаты расценивались нами как выделение смешанных культур L-форм и стрептококков. Подобные смешанные культуры не высевались при ревматизме и обнаружены лишь у 3 больных септическим эндокардитом.

При наличии в первичных посевах переходных форм в последующих пассажах на средах с пенициллином наблюдались L-колонии, а на средах без пенициллина отмечен рост стрептококков. Формы гетероморфного роста были обнаружены у 4 больных ревматизмом и у одного больного септическим эндокардитом.

Выделение L-форм стрептококка из крови больных ревматизмом наблюдали С. Н. Клодницкая (1961) и Wittler с соавторами (1962). Антитела к L-формам при разных стрептококковых инфекциях находил Crawford (1960, 1962).

Несомненный интерес представляют данные Godzeski (1968) о выделении L-форм из 6 гомогенатов сердечной ткани, полученных при хирургическом вмешательстве от 9 больных ревмокардитом. Автор подчеркивает значение L-форм при бактериальных эндокардитах и смешанных формах эндокардитов (у контрольной группы больных с врожденными пороками сердца L-формы не выделялись). Можно думать, что все отрицательные результаты посевов крови при разных хронических рецидивирующих процессах, леченных антибиотиками, могут быть связаны с «маскировкой» возбудителя, который в виде разных утративших или изменивших клеточную стенку форм скрывается в благоприятных для его персистенции тканевых очагах. Латенция стрептококков в виде разнообразных протопластных форм или L-вариантов может играть весьма существенную роль в патогенезе хронических рецидивирующих стрептококковых инфекций.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ, ИНДУЦИРОВАННЫЕ ВВЕДЕНИЕМ СРЕПТОКОККОВ И ИХ L-ФОРМ. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ АНГИНА ОБЕЗЬЯН

Выделение L-форм гемолитических стрептококков группы А из крови больных ревмокардитом и отдельные факты латенции возбудителя в виде протопластов и L-форм послужили основанием для моделирования пато-

логических процессов путем экспериментального инфицирования восприимчивых видов животных L-формами стрептококков.

Экспериментальные модели патологических процессов удается создать далеко не всегда. Особое значение имеют правильный выбор вида и возраста животного, места введения, дозы и кратности введения инфекта и многие другие факторы.

Мы остановимся на некоторых данных, обосновавших путь наших исследований моделей патологических процессов, индуцированных введением L-форм этого возбудителя.

На основе многочисленных результатов экспериментального инфицирования животных, клинко-иммунологических, клинко-эпидемиологических и патогенетических данных о роли стрептококка группы А в этиологии и патогенезе ревматизма Misher и Vorlaender (1961) пришли к выводу, что многообразие протекания стрептококковой инфекции, сопровождающейся осложнениями (ревматизм, гломерулонефрит и др.), обусловлено соотношением степени патогенности возбудителя и потенциями иммунологической защиты, определяющей уровень иммунитета. При слабом иммунитете и высокой вирулентности стрептококка возникает септический процесс. В тех случаях, когда вирулентность ослаблена и преобладает иммунитет, наблюдается стерильный эндокардит с субэндокардиальной клеточной инфильтрацией.

Первичное действие инфекта невысокой вирулентности сводится к индуцированию иммунологической перестройки с образованием антител к β -гемолитическому стрептококку, сохраняющемуся у больных в течение длительного времени. В основе последующих явлений лежит гиперергическое воспаление замедленного типа. Эта поздняя реакция развивается вследствие ранней сенсибилизации организма без участия циркулирующих антител и завершается в конце концов соответствующими изменениями в тканях сердца и суставов.

Таким образом, для возникновения ревматического процесса обязательным является реакция гиперчувствительности немедленного типа с последующим образованием антистрептококковых циркулирующих антител, а затем реакция гиперчувствительности замедленного типа без участия циркулирующих антител, с нарушениями иммунокомпетентных клеток, образованием аутоантител, соответствующей реакцией ткани, характерной для ревматического процесса.

Изучение реакции животных (мышей разных линий, морских свинок, кроликов, крыс) проводилось при использовании штаммов высокой и низкой вирулентности, однократных и многократных инъекций (внутривенно, внутрибрюшинно, интрадермально, интратонзиллярно и интракардиально). Для инфицирования применяли живые культуры β -гемолитических стрептококков разных групп (А, В, D, G), преимущественно группы А, но разных серотипов, а также их экстрацеллюлярные продукты и разные антигенные компоненты. Потенция иммунологической защиты также играет важную роль при экспериментальном инфицировании. Однократное инфицирование кроликов иногда завершалось изменениями в эндокарде, миокарде и суставах (Albertini, Grumbach, 1957). Вместе с тем известны безрезультатные эксперименты многократного введения того же инфекта тому же виду животных. Ohanian (1968) и Ginsburg с соавторами (1968), исследуя реакции животных на экспериментальное их инфицирование стрептококками группы А, его антигенами, экстрацеллюлярными продуктами и L-формами, установили кардиотоксическое действие O-стрептолизина. Они показали его избирательное действие на клетки, содержащие в составе мембран холестерин, токсическое дей-

ствие на эритроциты, лейкоциты — нейтрофилы и макрофаги (обусловлено лизисом лизосомальных структур). Была выявлена токсичность S-стрептолизина для эритроцитов, кровяных бляшек, лизосом лейкоцитов и действие его на все клетки, содержащие в мембране холестерин (введение в сустав вызывало у кроликов артриты).

Внутрисердечное введение стрептококков группы А кроликам сопровождалось некрозом миокарда, образованием гранулематозных очагов, в составе которых обнаруживали мононуклеары, гистиоциты, фибробласты и гигантские клетки с базофильной цитоплазмой (Ginsburg et al., 1968). При введении антигенных субстанций клеточной стенки отмечалась нейтрофильная инфильтрация мышечных волокон, появлялись измененные гистиоциты с отодвинутым к периферии ядром и прозрачной цитоплазмой в центре.

Сходные явления наблюдались при внутрисердечном введении С-полисахарида (гистиоцитарная и лимфоцитарная инфильтрация).

Мукопептидный компонент стрептококков вызывает более выраженные изменения: деструкции миокарда, гранулематозные поражения разных размеров, окруженные реактивной тканью, состоящей из гистиоцитов, фибробластов и нейтрофилов.

В результате интракардиального введения L-форм стрептококка (Ginsburg et al., 1968) появлялись очаги некроза миокарда, периферия которых имела две зоны: первая состояла из пролиферирующих фибробластов, вторая — из гистиоцитов, фибробластов и большого числа гигантских клеток, содержащих эозинофильную зернистость. Таким образом, гистологическая картина имела некоторые особенности по сравнению с картиной, вызванной введением интактных стрептококков или их дериватов.

Несколько другие результаты получены в серии работ Schwab с соавторами (1968) и Chromatic, Craddock (1968).

Первые обнаружили токсичность мукопептид-С-полисахаридного комплекса стенок клеточных β-гемолитического стрептококка группы А, проявившуюся в тяжелых рецидивирующих повреждениях соединительной ткани кроликов при их интрадермальном заражении. Ни протопласты, ни L-формы не индуцировали хронических рецидивирующих узелковых поражений. Авторы считают действенным началом мукопептид, а С-полисахарид рассматривают как защитный фактор, предохраняющий мукопептид от разрушения тканевыми ферментами. Chromatic и Craddock (1968) установили патогенное действие однократной инъекции стерильных неочищенных экстрактов стрептококков группы А, разрушенных ультразвуком. Экстракт вводили внутривнутрибрюшинно, в течение 8—56 дней отмечались изменения в эндокарде, миокарде и перикарде. При другой локализации инъекций изменения регистрировались также в суставах, были получены изменения соединительной ткани и гранулемы, напоминающие гранулемы Ашоффа — Талалаева, но все же не идентичные им. Активным началом, по мнению авторов, являются и компоненты клеточных стенок.

Таким образом, патогенная активность L-форм проявлялась лишь при интракардиальном введении. Значение места введения для проявления патогенных потенциалов L-форм стрептококка отчетливо видно из опытов Cook с соавторами (1969), которые наблюдали хронические моноарткулярные артриты кроликов при внутрисуставном введении L-форм стрептококка, полученных из штамма, продуцирующего стрептолизин, и из его негемолитического мутанта. Артритогенная активность L-форм не зависела от продукции S-стрептолизина (L-формы негемолитического мутанта и формы, прогретые при температуре 80° в течение 20 минут, вызывали идентичные повреждения суставов).

Характер патологической реакции зависит от кратности введения инфекта. Длительное введение пневмококков и стрептококков лошадям, даже в виде убитых вакцин, нередко сопровождается изменениями в миокарде: образуются очаги миофиброза, иногда гранулемы, напоминающие гранулемы Ашоффа — Талалаева, иногда появляется стерильный экссудат в суставах (Bieling, 1940).

Повторные и длительные инъекции разных типов стрептококка могут вызвать в сердце и суставах животных изменения, сходные с ревматическими. Эти тканевые изменения отличались от неспецифической предстadium и от продуктивно-гранулематозной стадии ревматической тканевой реакции. В каждом случае им предшествовала высокая степень сенсибилизации, однако четкой специфики, обусловленной именно стрептококком, эти опыты не выявили (введение чужеродных белков вызывало аналогичную реакцию). Таким образом, многократное введение бактериальных и небактериальных антигенов может вызвать воспалительный процесс в сердце и суставах, имеющий сходство с ревматическим процессом. Характер и интенсивность этой реакции обусловлены главным образом соотношением напряженности иммунитета и вирулентности возбудителя (Miescher, Vorlaender, 1964).

По данным Rapijel и соавторов (1968), в любой культуре стрептококков группы А имеется два типа бактерий — вирулентный, вызывающий гибель от сепсиса, и неспособный убить животное, легко фагоцитирующийся. Длительное сохранение (8 дней) в макрофагах авирулентных, но сохранивших определенные патогенные потенции стрептококков оказывает патогенное действие на сердце, суставы и мозговые оболочки зараженных белых швейцарских мышей. Изменения в сердце и суставах были близки по гистологическому выражению — поражались серозные оболочки (перикард и синовиальные), мышечная ткань и эндотелий (клапаны и эндокард).

В серозных оболочках наиболее часто наблюдался гранулематозный тип изменений, проявлявшийся в инфильтрации мононуклеарными элементами, включая лимфоциты и гистиоциты. Гранулематозная реакция иногда сопровождалась некрозом, в этом случае из очагов поражения всегда выделялись бактерии. Значительно реже наблюдались некрозы туберкулезного типа с очагами казеозного распада. При повреждении мышечных волокон и перикарда очень редко появлялись туберкулоидные гранулематозные узелки. Таким образом, в эндокарде, миокарде и перикарде наблюдались поражения различной интенсивности. Варьирующие по интенсивности изменения отмечались в синовиальных оболочках суставов, туберкулоидные некротические повреждения в суставах, главным образом тибияметатарзальных, обнаруживались чаще, чем в сердце. Мозговые повреждения напоминали повреждения при энцефалите с поражением преимущественно мозжечка.

Еще в 1956 г. Karlan показал, что при иммунизации животных гетерологичной и реже гомологичной тканью сердца появляются антитела к сердечной ткани у иммунизированных животных, а у части животных возникают изменения в миокарде очагового характера с дегенерацией мышечных волокон, воспалительной реакцией в интерстиции, мононуклеарной, лимфоцитарной и очаговой инфильтрацией. Полученные очаговые изменения и в этом случае не соответствовали гранулемам Ашоффа — Талалаева.

Иммунизация животных гомологичной тканью сердца удается далеко не всегда. Наиболее эффективно использование смеси гомологичной сердечной ткани и β -гемолитических стрептококков (Cavelti 1947; И. М. Лямперт и др., 1962). В отношении действия стрептококков имеются разные

мнения. Одни считают, что стрептококки изменяют антигенные свойства ткани сердца (Cavelti, 1947), другие рассматривают это действие как адьювантное усиление иммуногенной функции антигенов ткани сердца (И. М. Лямперт и др., 1962), третьи предполагают наличие общих антигенов у стрептококков группы А и сарколеммы сердечной мышцы (Karlan, 1965) и даже более точно — цитоплазматической мембраны протопластов стрептококка и сарколеммы (Freimer, Zabriskie, 1968). Многократное введение гомологичной ткани сердца и β -гемолитического стрептококка для создания экспериментальной модели ревматизма (Cavelti, 1947) оказалось безуспешным: отмечалась интенсивная иммунологическая реакция на антигены ткани сердца, и лишь у части животных были обнаружены изменения в мышечной и соединительной ткани типа аллергического миокардита. Эти данные убедили нас в целесообразности поиска наименее сложных моделей патологических процессов для доказательства патогенных потенций L-форм. Именно поэтому в первую очередь мы попытались экспериментально воспроизвести ангину у приматов при их заражении бактериальными и L-формами гемолитических стрептококков группы А с учетом возможных осложнений в сердце.

Реакцию обезьян на экспериментальное инфицирование стрептококком изучали многие исследователи. Использование приматов было обусловлено их естественной восприимчивостью к стрептококковой инфекции и сходством соединительной ткани человека и обезьян. Однако получить характерные изменения в виде гранулемы Ашоффа — Талалаева в сердечной ткани приматов пока не удалось (Watson et al., 1946; Friou, 1950; П. В. Смирнов и др., 1950; Kennedy et al., 1957; Vance, 1960). Экспериментальная стрептококковая инфекция обезьян воспроизводилась непостоянно, носила острый или субклинический характер, иногда сопровождалась повышенной РОЭ, увеличением содержания О-антистрептолизина, лейкоцитозом и появлением кардитов. Лишь в 1 случае при многократном фарингеальном заражении 3 шимпанзе наблюдалась реакция в виде хронического тонзиллита (Friou, 1950).

Ряд лет в нашей лаборатории (Г. Я. Каган и др., 1965, 1966; Г. Я. Каган, 1967, 1968) изучалась возможность воспроизведения экспериментальной ангины обезьян путем многократного и длительного их инфицирования стабильными L-формами β -гемолитических стрептококков группы А в сравнении с их родительскими культурами.

Было использовано 2 метода заражения: в область параминдальной клетчатки и внутривенно. Инфицирование производили циклами (3 и более) с интервалом в 4—6 месяцев и более, каждый цикл включал 3—6 инъекций с интервалами в 6—7 дней.

В опытах длительного и многократного инфицирования (условно названного нами хроническим) вводили по 0,5 г взвеси отмытых от питательной среды и ресуспендированных в слегка гипертоническом растворе (физиологический раствор + 10% сахарозы) 4 культур стабильных L-форм стрептококка группы А параминдально 0,5 мл и внутривенно 2 мл (2 млрд. в 1 мл). Взвеси исходных бактериальных форм подготавливали так же, дозировки использовали те же. Группа параминдального заражения L-формами обозначена: L + L + L . . . п/м; внутривенного: L + L + L . . . в/в; соответственно группы, зараженные стрептококком, обозначены: S + S + S . . . п/м и S + S + S . . . в/в.

В группе с хроническим инфицированием под наблюдением было 12 обезьян *Macacus speciosus* в возрасте от 3 до 5 лет и 20 обезьян *Macacus rhesus* в возрасте до одного года.

За месяц до каждого цикла заражения и после него проводили тщательное клиническое, рентгенологическое (рентгенокинограмма — РКГ) и электрокардиографическое (ЭКГ) обследования. Были изучены показатели воспалительного процесса [РОЭ,

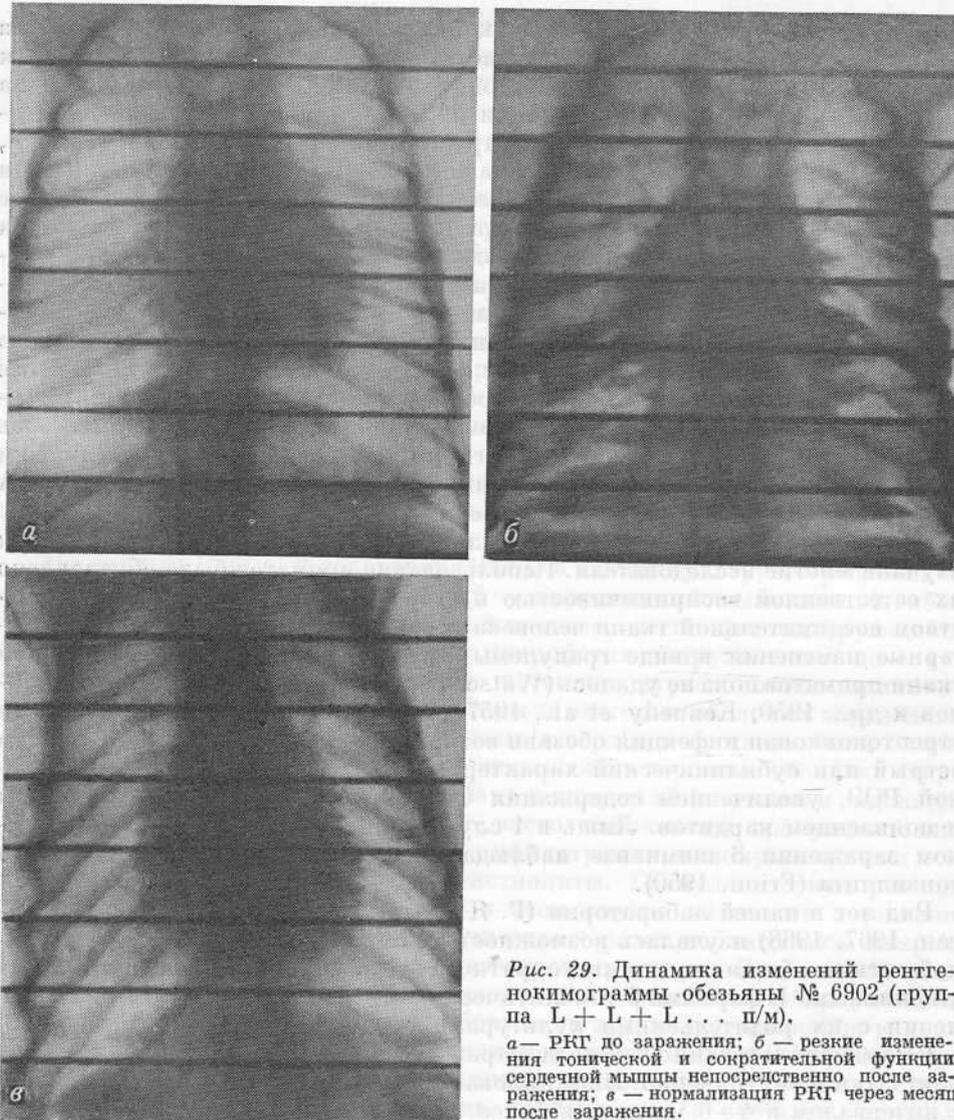


Рис. 29. Динамика изменений рентгенокинограммы обезьяны № 6902 (группа L + L + L . . . п/м).
 а — РКГ до заражения; б — резкие изменения тонической и сократительной функции сердечной мышцы непосредственно после заражения; в — нормализация РКГ через месяц после заражения.

С-реактивный белок (СРБ) и лейкоцитоз] и специфические иммунологические показатели (антистрептолизин-О — АСО, преципитины к антигенам, извлеченным солянокислой экстракцией по Лэнсфилд — СКЭ и экстракцией замораживанием и оттаиванием водных взвесей при -70° и $+37^{\circ}$ — ЭЗО, обозначенных по отношению к L-формам стрептококка LP и бактериальным формам стрептокока SP).

Клиническое наблюдение производили ежедневно и через 1—2 дня после каждого заражения, все остальные обследования — еженедельно. У обезьян, погибших в поздние сроки после заражения от не связанных с заражением причин, и у нескольких обезьян, умерщвленных в ранние сроки после заражения, проведены соответствующие патоморфологические и гистологические исследования по общепринятым методикам.

После первого заражения у 3 из 5 обезьян в группе L + L + L . . . п/м появилась легкая ангина. Последующие инъекции вызвали усиление реакции, ангины отмечены у 4 обезьян, в том числе у 2 они протекали длительно, с тяжелыми гнойными налетами.

После второй внутриминдальной инъекции L-формы были выделены из крови у 3 обезьян данной группы. Клинические изменения сердца и выраженные изменения ЭКГ не регистрировались, в то же время выявлена динамика РКГ у 2 из 4 обезьян данной группы.

Значительные изменения морфологии рентгенокимограммы (резкие изменения тонической и сократительной функции сердечной мышцы, а также ее проводимости) обнаружены у обезьяны 6902 (группа L + L + L ... п/м), длительно болевшей тяжелой ангиной с гнойными налетами. Эти изменения фиксировались после второго заражения (рис. 29).

ТАБЛИЦА 7. ОБОБЩЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ 3 ЦИКЛОВ ЗАРАЖЕНИЯ ОБЕЗЬЯН MACACUS SPECIOSUS L-ФОРМАМИ И БАКТЕРИАЛЬНЫМИ ФОРМАМИ β -ГЕМОЛИТИЧЕСКИХ СТРЕПТОКОККОВ

| Группа животных | Число животных | Число циклов заражения | Ангина | Поражения сердца | | Показатели воспалительного процесса | Специфические иммунологические показатели | | | Выделение гемокультур | |
|--------------------------|----------------|------------------------|--------|------------------|-----|-------------------------------------|---|-----|-----|-----------------------|--------------------|
| | | | | клинические | ЭКГ | | ASO | LP | SP | L-форм | бактериальных форм |
| L+L+L... ⁿ /м | 5 | I | ■ ■ | □ □ | □ □ | ■ ■ | ■ ■ | □ □ | □ □ | ■ ■ | □ □ |
| | | II | ■ ■ | ■ ■ | □ □ | ■ ■ | ■ ■ | ■ ■ | ■ ■ | □ □ | □ □ |
| | | III | ■ ■ | ■ ■ | □ □ | □ □ | □ □ | □ □ | □ □ | □ □ | □ □ |
| S+S+S... ⁿ /м | 3 | I | ■ ■ | □ □ | □ □ | ■ ■ | ■ ■ | □ □ | □ □ | □ □ | □ □ |
| | | II | □ □ | □ □ | □ □ | □ □ | □ □ | □ □ | □ □ | □ □ | □ □ |
| | | III | □ □ | ■ ■ | ■ ■ | □ □ | □ □ | □ □ | □ □ | □ □ | □ □ |
| L+L+L... ^θ /θ | 2 | I | ■ ■ | □ □ | □ □ | □ □ | □ □ | □ □ | □ □ | □ □ | □ □ |
| | | III | ■ ■ | □ □ | □ □ | □ □ | □ □ | □ □ | □ □ | □ □ | □ □ |
| S+S+S... ^θ /θ | 1 | I | □ □ | □ □ | □ □ | ■ ■ | ■ ■ | □ □ | ■ ■ | □ □ | □ □ |
| | | II | ■ ■ | ■ ■ | ■ ■ | ■ ■ | □ □ | ■ ■ | ■ ■ | □ □ | □ □ |
| | | III | ■ ■ | ■ ■ | ■ ■ | ■ ■ | □ □ | ■ ■ | ■ ■ | □ □ | □ □ |

1 □ 2 ■ 3 ■ 4 ■ 5 ■

Условные обозначения: 1—отрицательные результаты; 2—положительные результаты, в том числе умеренно выраженная ангина с ограниченной гиперемией зева и параминдальной клетчатки; 3—ангина средней тяжести, значительная гиперемия зева, отек параминдальной клетчатки; 4—тяжелая ангина, распространенная гиперемия и отек параминдальной клетчатки; 5—те же явления, а также гнойные и некротические изменения миндалин.

После третьего заражения РКГ постепенно нормализовалась и приблизительно через месяц приходила к норме.

Результаты опытов (табл. 7 и 8) показывают, что многократное и циклическое (хроническое) заражение L-формами стрептококка, как и бактериальными формами этого возбудителя, сопровождается реакцией обезьян (*Macacus speciosus* и *Macacus rhesus*) в виде длительно протекающих,

ТАБЛИЦА 8. ОБОБЩЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ 2 ЦИКЛОВ ЗАРАЖЕНИЯ ОБЕЗЬЯН *MACACUS RHESUS* L-ФОРМАМИ И БАКТЕРИАЛЬНЫМИ ФОРМАМИ

| Группа животных | | S+S+S... ⁿ /в | | S+S+S... ⁿ /м | | L+L+L... ⁿ /в | | L+L+L... ⁿ /м | |
|------------------------|-------------|--------------------------|---|--------------------------|---|--------------------------|---|--------------------------|---|
| Число животных | | 5 | | 5 | | 5 | | 5 | |
| Число циклов заражения | | 2 | 1 | 2 | 1 | 2 | 1 | 2 | 1 |
| Ангина | | | | | | | | | |
| Изменения сердца | Клиническое | | | | | | | | |
| | РКГ | | | | | | | | |
| | ЭКГ | | | | | | | | |

1 □ 2 ■ 3 ■ 4 ■ 5 ■

Условные обозначения: 1—отрицательные результаты; 2—положительные результаты, в том числе умеренно выраженная ангина с ограниченной гиперемией зева и параминдалной клетчатки; 3—ангина средней тяжести, значительная гиперемия зева, отек параминдалной клетчатки; 4—тяжелая ангина, распространенная гиперемия и отек параминдалной клетчатки; 5—те же явления, а также гнойные и некротические изменения миндалин.

часто очень тяжелых ангин независимо от места первичного введения инфекта (область параминдалной клетчатки или внутривенно), осложненных очаговым миокардитом. Выборочные гистологические исследования выявили изменения в миндалинах: участки некроза эпителия и склероза подлежащей ткани. Реакция в виде ангины не зависела от банальной микрофлоры зева обезьян, так как последняя была одинаковой как до заражения, так и после него. Результаты этих опытов позволили сделать весьма важный вывод о том, что обезьяны, не болеющие ангиной в естественных условиях, являются благоприятным объектом для воспроизведения экспериментальной модели ангины, вызванной L-формой и бактериальными формами стрептококка.

Тяжелое течение ангины с последующими поражениями миокарда было в несколько большей степени выражено при заражении обезьян L-формами стрептококка и в меньшей степени — бактериальными формами этого возбудителя. Клинические наблюдения подтвердились рентгенокимографическим исследованием (см. рис. 29). Оно свидетельствовало о наличии различных нарушений тонической и сократительной функций миокарда, увеличении поперечника сердца, сглаженности «сердечных дуг», уменьшении амплитуды пульсации, деформации зубцов РКГ и появлении аритмий, что может явиться признаками поражения миокарда по типу миокардита.

Многократные исследования ЭКГ зараженных обезьян показали, что сроки появления изменений преимущественно после 4—6-го заражения

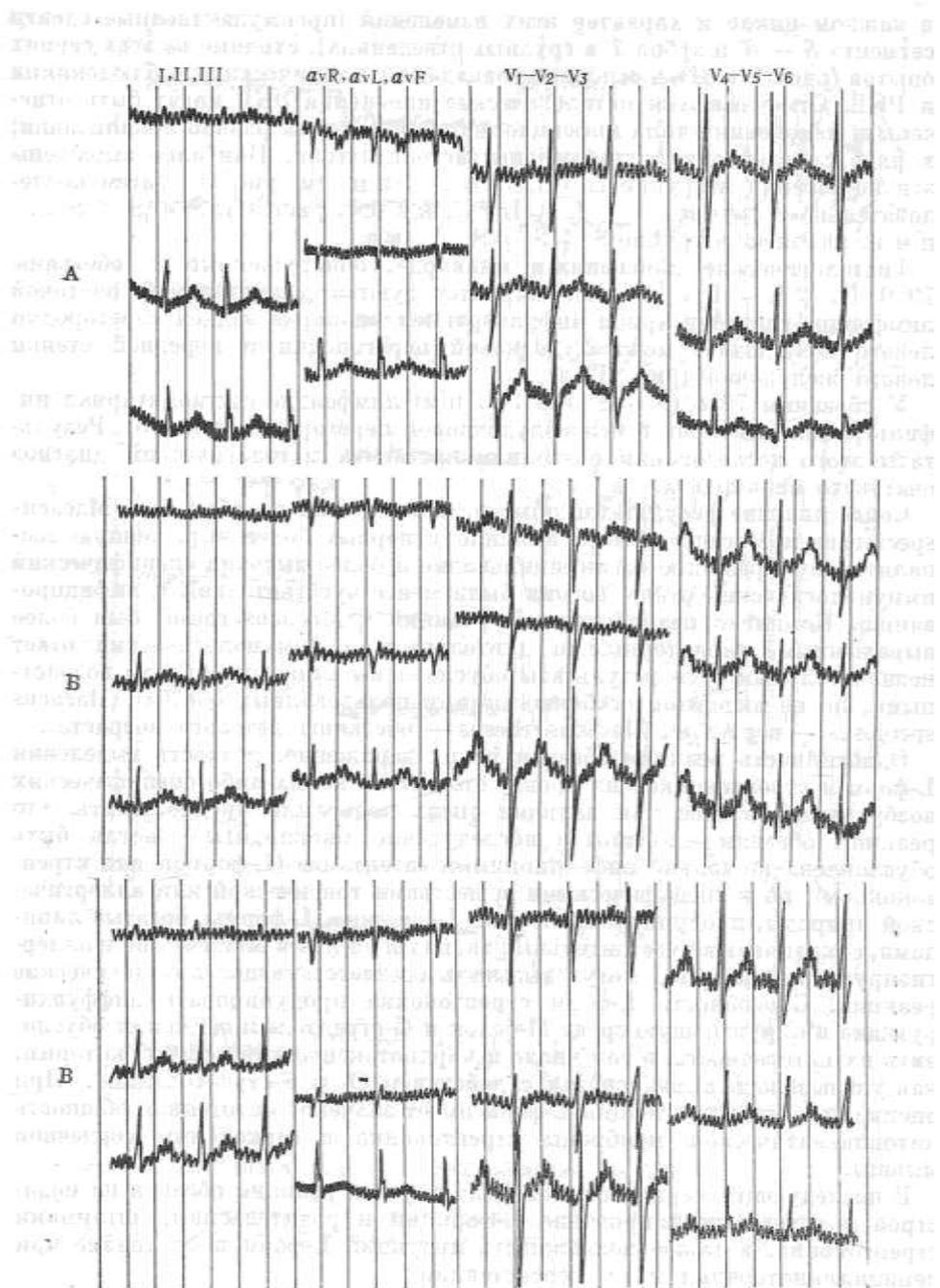


Рис. 30. Динамика изменений ЭКГ обезьяны № 7948 (L + L + L... v/v).
 А — ЭКГ до заражения; Б — ЭКГ через 6 дней после заражения; появился отрицательный зубец Т в отведении V₁ и двухфазный V₂; — Т; В — нормализация ЭКГ через месяц.

в каждом цикле и характер этих изменений (преимущественные сдвиги сегмента $S - T$ и зубца T в грудных отведениях), сходные во всех сериях опытов (рис. 30 и 31), в основном совпадают с клиническими наблюдениями и РКГ. Отмечающиеся патологические изменения ЭКГ могут быть отнесены к изменениям типа инфекционного миокардита разной локализации; в ряде случаев они подтверждены гистологически. Наиболее выражены эти поражения в группе $L + L + L \dots$ п/м (см. рис. 3), затем последовательно в группах $L + L + L \dots$ в/в (см. рис. 31), $S + S + S \dots$ п/м и, наконец, в группе $S + S + S \dots$ в/в.

Гистологические изменения в миокарде, обнаруженные у обезьяны 7959 ($L + L + L \dots$ п/м), характеризуются значительной очаговой лимфоидно-гистиоцитарной инфильтрацией миокарда задней перегородки левого желудочка, межжелудочковой перегородки и передней стенки левого желудочка (рис. 32).

У обезьяны 7958 ($S + S + S \dots$ п/м) лимфоидно-гистиоцитарная инфильтрация выявлена в межжелудочковой перегородке (рис. 33). Результаты этого исследования позволили поставить гистологический диагноз очагового миокардита.

Сопоставление результатов опытов, проведенных на обезьянах *Macacus speciosus* и *Macacus rhesus*, выявило у первых более выраженную воспалительную реакцию на инфицирование и более высокий специфический иммунологический ответ, но они были менее чувствительны к инфицированию. Комплекс патологических реакций у *Macacus rhesus* был более выраженным, характерным и длительным, а иммунологический ответ незначительным. Эти результаты обусловлены главным образом возрастными, но не видовыми особенностями использованных обезьян (*Macacus speciosus* — взрослые, *Macacus rhesus* — обезьяны детского возраста).

Однотипность реакции обезьян на их заражение, редкость выделения L-форм и стрептококков из крови, отсутствие каких-либо специфических возбудителей в зеве при наличии ангина позволили предположить, что реакция обезьян — ангины и последующие миокардиты — могла быть обусловлена не только инфекционными «агентами» (L-формой или стрептококком), но и специфическими веществами токсической или аллергической природы, продуцируемыми ими. Возможно, L-формы, богатые липидами, сохраняясь в чувствительных тканях и выделяя токсические и аллергизирующие вещества, могут вызывать соответствующие патологические реакции. Способность L-форм стрептококка продуцировать диффундирующие в окружающую среду M-белок и O-стрептолизины может обусловить их патогенность, в том числе и кардиотоксический эффект, который, как указывалось выше, связан с действием O- и S-стрептолизина. При оценке патогенных потенций L-форм имеет значение антигенная общность цитоплазматической мембраны стрептококка и сарколеммы сердечной мышцы.

В последующих сериях опытов была изучена реакция обезьян на подострое и острое инфицирование L-формами и родительскими штаммами стрептококка, а также возможность индукции L-форм в организме при пенициллинотерапии и их персистенции.

Группа животных в опытах острого инфицирования состояла из 6 подгрупп. Внутривенное инфицирование обезьян проводилось ежедневно в течение 4 дней в дозе $10^8 - 10^9$ в 1 мл на 1 кг веса. В составе этой группы были следующие подгруппы: 1) 4 обезьяны, получившие соответствующие инъекции стрептококка типа 49 (обозначение: Str. t. 49); 2) 4 обезьяны, зараженные той же культурой, которым в течение первых 4 дней после заражения вводили внутримышечно по 500 000 ЕД/мл пенициллина для индукции L-форм (обозначение: Str. t. 49 + П); 3) контрольная — 2 обезьяны, получившие инъекцию той же культуры стрептококка, прогретой в течение часа при

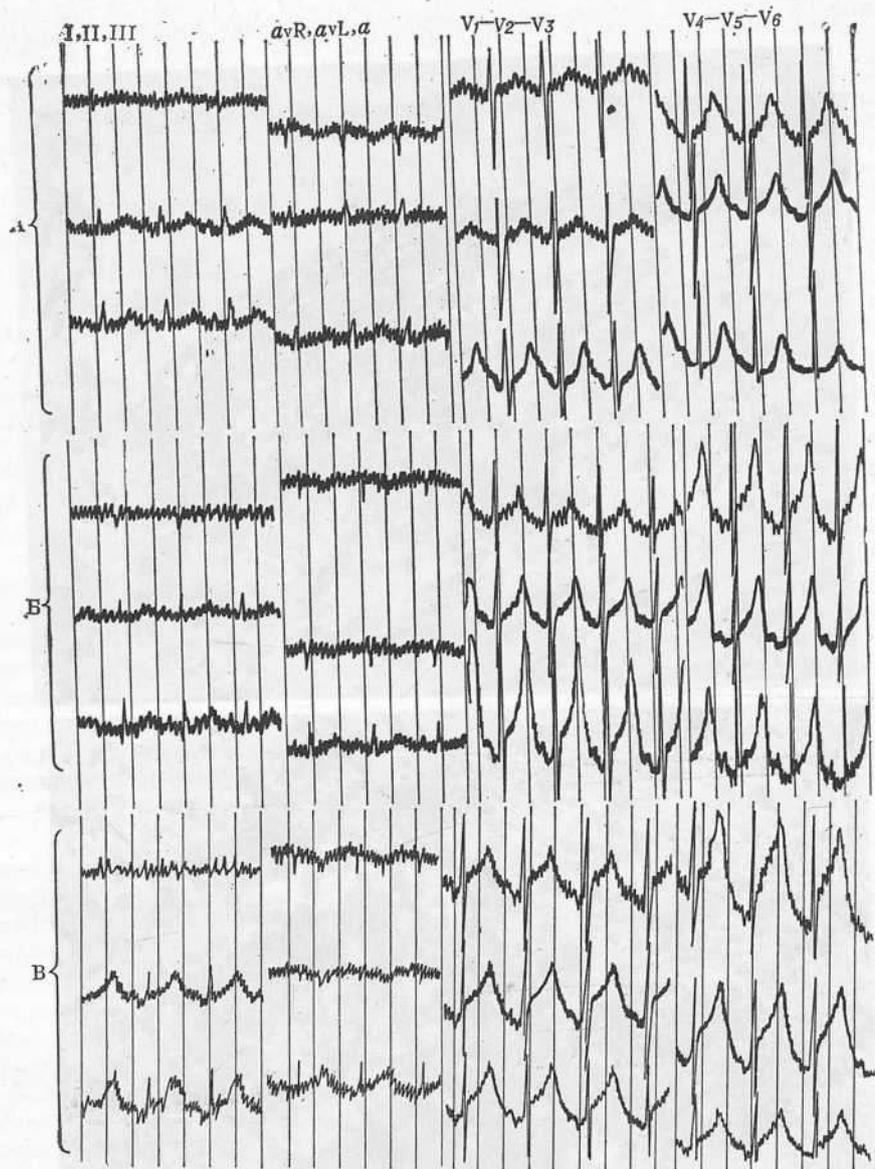


Рис. 31. Динамика изменений ЭКГ обезьяны № 7916 (L + L + L... п/м).
 А — ЭКГ до заражения; Б — ЭКГ после первого заражения: S — T приподнят в V₂₋₃₋₄₋₅₋₆;
 В — ЭКГ после третьего заражения: S — T приподнят в V₁₋₂₋₃₋₄₋₅₋₆ и в II и III.

температуре 60° (обозначение: Str. t. 49 — прогретый); 4) контрольная — 2 обезьяны, подвергшиеся 4 инъекциям среды культивирования — триптиказо-соевого бульона (обозначение: контроль BTS); 5) 4 обезьяны, инфицированные L-формой стрептококка типа 49 (обозначение: L_ф Str. t. 49); 6) 2 обезьяны, получившие те же инъекции культуры L-форм, прогретой в течение часа при температуре 60° (обозначение: L_ф Str. t. 49L — прогретый).

Группа животных, подвергшихся подострому опыту, состояла из 9 подгрупп. Их внутривенное инфицирование проводилось 4-кратно с интервалами в 4—7 дней

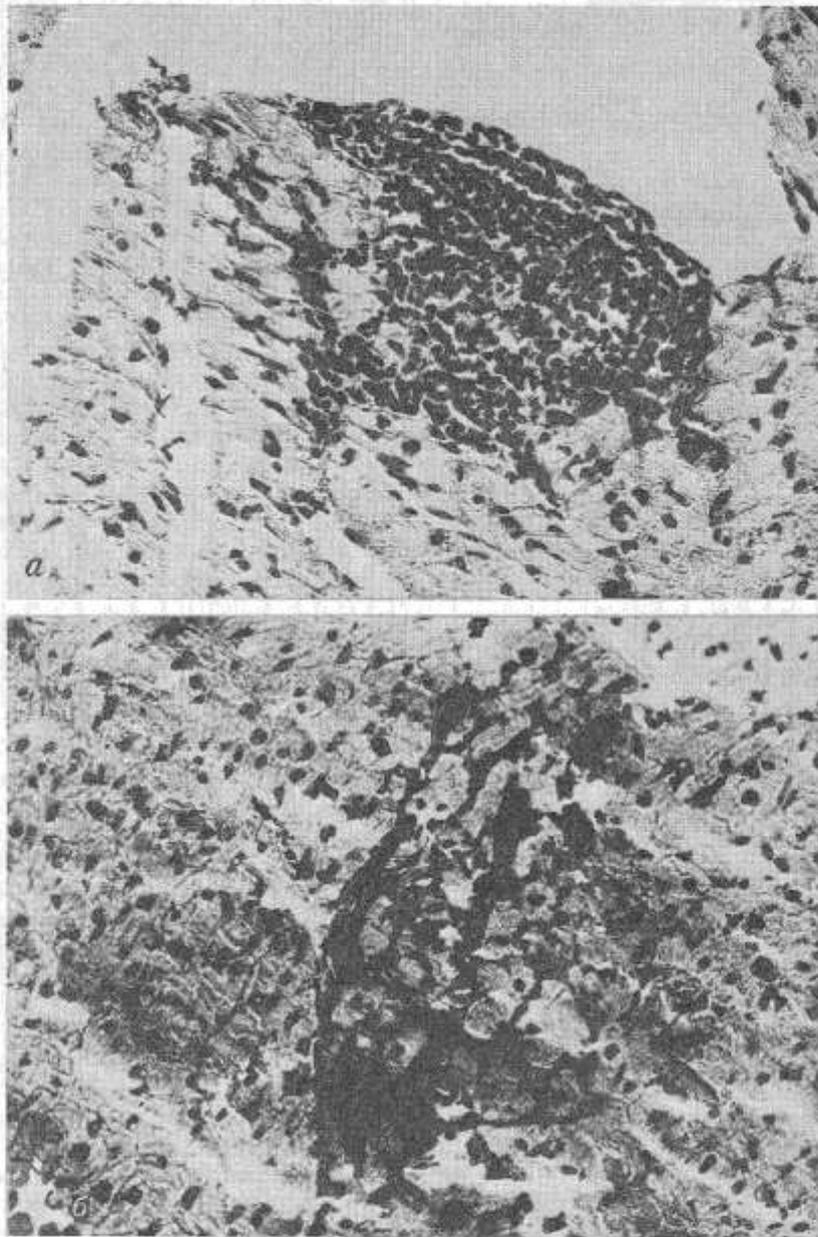


Рис. 32. Значительная очаговая лимфоидно-гистиоцитарная инфильтрация миокарда обезьяны № 7959 (L + L + L . . . п/м).

а — задняя стенка левого желудочка; *б* — межжелудочковая перегородка;

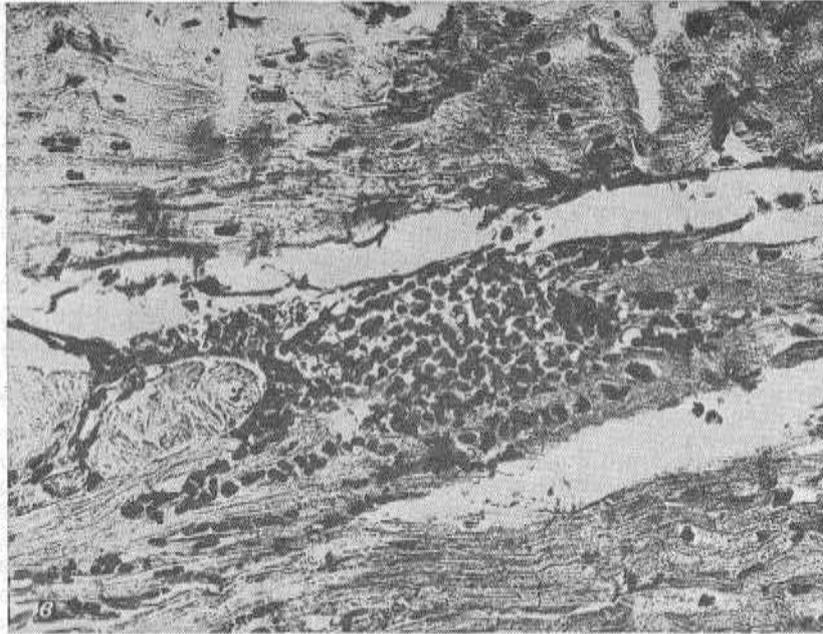


Рис. 32. Значительная очаговая лимфоидно-гистиоцитарная инфильтрация миокарда обезьяны № 7959 (L + L + L . . . п/м). а — передняя стенка левого желудочка. Ув. ×400.

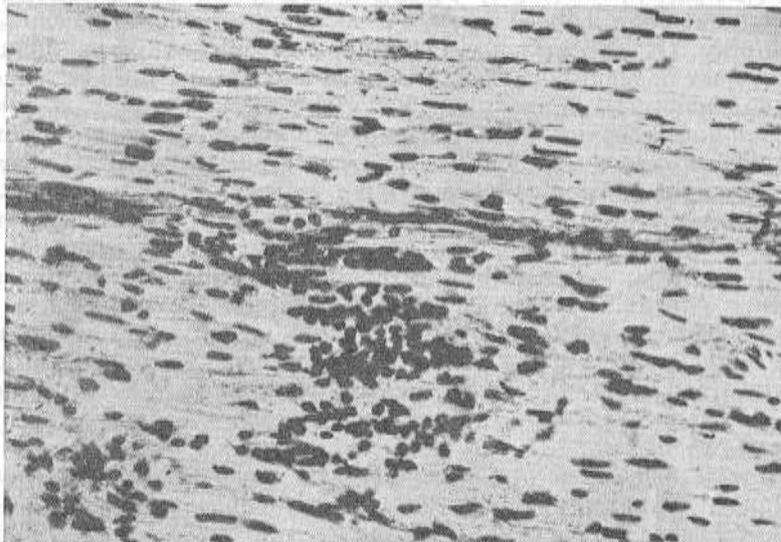


Рис. 33. Очаговая лимфоидно-гистиоцитарная инфильтрация миокарда. Межжелудочковая перегородка обезьяны № 7958 (S + S + S . . . п/м). Ув. ×400.

в дозе 10^7 в 1 мл на 1 кг веса. В первую подгруппу вошли 3 обезьяны, зараженные культурой стрептококка GL_s (обозначение: Str. GL_s); во вторую — 4 обезьяны, зараженные стрептококком, получившие после инъекций 2 инъекции пенициллина внутримышечно по 500 000 ЕД/мл (обозначение: Str. $GL_s + П$); третью подгруппу составили 2 обезьяны, получившие те же инъекции стрептококков, прогретых в течение 4 часов при температуре 60° (обозначение: Str. GL_s — прогретый); четвертую подгруппу — 4 обезьяны, инфицированные L-формой стрептококка (обозначение: Str. GL_sL), в пятую подгруппу включены 2 обезьяны, получившие ту же L-культуру, прогретую в течение часа при температуре 60° (обозначение: L_ϕ — Str. GL_sL — прогретая); в шестую — 2 обезьяны, инфицированные стрептококком типа 49 (обозначение: Str. t. 49); в седьмую — 2 обезьяны, инфицированные стрептококком типа 49, получившие дополнительно 2 инъекции пенициллина в дозе по 500 000 ЕД/мл (обозначение: Str. t. 49 + П); восьмую подгруппу составили 3 обезьяны, инфицированные L-формой стрептококка типа 49 (обозначение: L_ϕ Str. t. 49L) и девятую подгруппу — 2 обезьяны, получившие 4 инъекции среды культивирования Todd — Hewitt — Broth (обозначение: контроль ТНВ).

Культуры L-форм выращивали в течение 3 суток при температуре 37° в триптиказосоевом бульоне (обозначение BTS) с добавлением 10% нормальной лошадиной сыворотки, 1000 ЕД пенициллина в 1 мл и 1,5% NaCl с рН 7,4 (обозначение: BTS P). После центрифугирования при 8000 об/мин в течение 30 минут осадок L-форм ресуспендировали и концентрировали в этом же бульоне до 10^7 , 10^8 и 10^9 .

Посев крови и проб из органов, полученных при аутопсии от обезьян всех 3 групп (хронического, подострого и острого инфицирования), делали перед каждым заражением и в разное, в том числе отдаленные, сроки после последнего заражения по упомянутой выше схеме анализа, пригодной для выделения L-форм непосредственно из организма.

В опытах острого инфицирования бактериальными формами стрептококков почти все обезьяны подгрупп 1 и 2, получившие культуру стрептококка 49, ответили на это введение клинической реакцией в виде ангины и изменений со стороны сердца (приглушенные и глухие тоны, тахикардия, цианоз кожных покровов). Заболевание носило острый характер и купировалось введением пенициллина у части животных, однако катаральные ангины при этом не исчезали.

Клинический диагноз ангины был подтвержден гистологически. Острое инфицирование стрептококком сопровождалось сепсисом. Так, у обезьяны 10037 из подгруппы 1 острого опыта была резко выраженная картина септикоциемии при образовании очагов микробизма в печени, почках и миокарде. Очаги микробизма окружены скоплениями лейкоцитов, часть которых подверглась гибели так же, как и мышечные волокна в очагах микробизма. В миндалинах и лимфатических узлах наблюдалась диффузная инфильтрация сегментоядерными лейкоцитами. Множественные очаги некроза были в миокарде, печени, селезенке и почках. В печени лейкоцитарные клетки были найдены как в капиллярах, так и в местах гибели печеночных клеток. В селезенке наряду с лейкоцитарной инфильтрацией определялись массивные участки некрозов всех ее структур. В почках отмечена картина тотального двустороннего некроза в корковом слое, сходного с картиной генерализованной реакции Шварцмана.

Острое инфицирование обезьян L-формой не вызывало острого септического заболевания; ангина и клинические изменения в сердце были менее выражены, чем при острой стрептококковой инфекции. При введении животным прогретой взвесей L-форм таких патологических реакций не развивалось.

Результаты подострой инфекции обезьян свидетельствовали о нерезко выраженном характере заболевания, хотя ангины и клинические изменения со стороны сердца регистрировались уже после 1 и 2 инъекций как бактериальных, так и L-форм. Введение пенициллина (подгруппы 2 и 7) купировало процесс, температура снижалась, но изменения в зеве в виде катаральных ангин оставались. Клинические явления, регистрируемые у обезьян всех подгрупп заражения (инфицированных бактери-

альными и L-формами стрептококка), были приблизительно одинаковыми.

Патологической реакции у контрольных животных в ответ на введение среды культивирования и прогретых культур L-форм и стрептококка не отмечено, реакция же на подострое инфицирование напоминала реакцию на хроническое инфицирование.

Хроническая инфекция обезьян L-формами сопровождается крайне редким их выделением из крови (табл. 9). Многократное обследование (от 15 до 20 раз) 17 обезьян (перед каждым последующим заражением в течение 2 лет) завершилось выделением типичных L-форм лишь у 5 животных. Длительно пассирующиеся L-формы обнаружены у 2 обезьян, у 3 выделялись непассирующиеся или кратковременно пассирующиеся L-колонии, а у 2 — колонии гранул, которые не удалось идентифицировать.

Пассирующиеся L-колонии были выделены из крови одной обезьяны при внутривенном заражении (через неделю после инъекции) и у одной обезьяны, зараженной параминдално. В последней группе у 3 обезьян обнаружены непассирующиеся L-колонии.

При аналогичном обследовании 14 обезьян, инъецированных родительскими штаммами стрептококка, L-формы не выделялись; культура стрептококка (исходной группы) обнаружена у 1 обезьяны при параминдалном ее заражении. У 3 обезьян выделялись колонии, состоящие из гранул.

Из крови контрольных групп обезьян ни стрептококки, ни L-формы не выделялись.

При подострой инфекции обезьян (II серия) L-формами также относительно редко выделялись L-формы из крови. Так, из 7 обезьян, обследованных от 4 до 6 раз каждая, у 3 обезьян были обнаружены непассирующиеся или выдержавшие несколько пассажей L-формы, у 3 обезьян — колонии гранул. Заражение стрептококком или стрептококком в комбинации с пенициллином не сопровождалось выделением стрептококков. Непассирующиеся L-колонии выделялись у 1 из 5 обезьян от первых и у 1 из 6 обезьян от последних; колонии гранул обнаруживались у тех и других. В контрольных группах данной серии стрептококки и L-формы не выделялись.

При острой инфекции обезьян (III серия) L-формы и бактериальные формы стрептококков обнаруживались несколько чаще. В группах, инфицированных L-формами, они выделялись в виде непассирующихся или мало пассирующихся L-колоний: у 3 из 4 обезьян, получивших инъекцию L-форм (6-кратное обследование каждой), у 1 обезьяны обнаружены колонии гранул. У всех 4 обезьян, зараженных стрептококком, они выделялись из крови. Картина острого сепсиса у этих обезьян была подтверждена гистологически. Из крови всех 4 обезьян, инфицированных стрептококком и пенициллином, выделены стрептококки, идентичные по серологической группе стрептококкам первичного заражения. У 2 из 4 обезьян этой группы одновременно со стрептококком выделялись L-колонии, длительно пассирующиеся и идентифицированные как L-формы стрептококка группы А. Из крови контрольных групп обезьян стрептококки не выделялись.

Определенный интерес представляют анализы сроков выделения L-форм и стрептококков при экспериментальной инфекции обезьян. Так, в группах хронического инфицирования L-формы выделялись преимущественно из крови обезьян, зараженных L-формами; наиболее длительный срок был 8—9-й день после последней инъекции L-форм.

В группах подострого инфицирования обезьян L-формами последние выделялись через 2, 3 и 6 дней после последней инъекции. При подо-

ТАБЛИЦА 9. ВЫДЕЛЕНИЕ L-КУЛЬТУР ОТ ОБЕЗЬЯН, ЗАРАЖЕННЫХ БАКТЕРИАЛЬНЫМИ И L-ФОРМАМИ ГЕМОЛИТИЧЕСКИХ СТРЕПТОКОККОВ ГРУППЫ А¹

| Группа | Хроническая инфекция | | | | | Подострая инфекция | | | | | Острая инфекция | | | | |
|---------------------------|----------------------|----------------|---------------------|----------------|----------------|--------------------|---------------|---------------------|---------------|----------------|-----------------|---------------|---------------------|---------------|----------------|
| | число обезьян | выделено | | | колонии гранул | число обезьян | выделено | | | колонии гранул | число обезьян | выделено | | | колонии гранул |
| | | стрептококки | L-формы пассируются | | | | стрептококки | L-формы пассируются | | | | стрептококки | L-формы пассируются | | |
| | | > 10 пассажей | < 10 пассажей | | | > 10 пассажей | < 10 пассажей | | | > 10 пассажей | < 10 пассажей | | | | |
| L-формы | 17 | $\frac{0}{17}$ | $\frac{2}{17}$ | $\frac{3}{17}$ | $\frac{2}{17}$ | 7 | $\frac{0}{7}$ | $\frac{0}{7}$ | $\frac{3}{7}$ | $\frac{3}{7}$ | 4 | $\frac{0}{4}$ | $\frac{0}{4}$ | $\frac{3}{4}$ | $\frac{1}{4}$ |
| Стрептококки | 14 | $\frac{1}{14}$ | $\frac{0}{14}$ | $\frac{0}{14}$ | $\frac{3}{14}$ | 5 | $\frac{0}{5}$ | $\frac{0}{5}$ | $\frac{1}{5}$ | $\frac{1}{5}$ | 4 | $\frac{4}{4}$ | $\frac{0}{4}$ | $\frac{0}{4}$ | $\frac{0}{4}$ |
| Стрептококки + пенициллин | — | — | — | — | — | 6 | $\frac{0}{6}$ | $\frac{0}{6}$ | $\frac{1}{6}$ | $\frac{2}{6}$ | 4 | $\frac{4}{4}$ | $\frac{2}{4}$ | $\frac{0}{4}$ | $\frac{0}{4}$ |
| L-формы, прогретые | 4 | $\frac{0}{4}$ | $\frac{0}{4}$ | $\frac{0}{4}$ | $\frac{2}{4}$ | 2 | $\frac{0}{2}$ | $\frac{0}{2}$ | $\frac{0}{2}$ | $\frac{0}{2}$ | 2 | $\frac{0}{2}$ | $\frac{0}{2}$ | $\frac{1}{2}$ | $\frac{0}{2}$ |
| Стрептококки, прогретые | — | — | — | — | — | 2 | $\frac{0}{2}$ | $\frac{0}{2}$ | $\frac{0}{2}$ | $\frac{0}{2}$ | 2 | $\frac{0}{2}$ | $\frac{0}{2}$ | $\frac{0}{2}$ | $\frac{0}{2}$ |
| Среды культивирования | 2 | $\frac{0}{2}$ | $\frac{0}{2}$ | $\frac{0}{2}$ | $\frac{0}{2}$ | 2 | $\frac{0}{2}$ | $\frac{0}{2}$ | $\frac{0}{2}$ | $\frac{0}{2}$ | 2 | $\frac{0}{2}$ | $\frac{0}{2}$ | $\frac{0}{2}$ | $\frac{0}{2}$ |

¹ Опыты хронического инфицирования проведены Г. Я. Каган, С. В. Прозоровским, Е. И. Коптеловой, Л. В. Данько, опыты подострого и острого инфицирования — Г. Я. Каган, Ж. Шмит-Сломской, Е. И. Коптеловой, Н. В. Чумаченко, И. В. Раковской, С. В. Прозоровским; в числителе число обезьян, от которых выделены культуры, в знаменателе — число зараженных обезьян.

стром инфицировании стрептококком лишь у 1 обезьяны была выделена L-форма на 12-й день после заражения. При пенициллинотерапии животных, инфицированных стрептококком, L-форма обнаружена у одной обезьяны на 2-й день после последней инъекции.

В группе острого инфицирования обезьян в подгруппе, получившей кратковременно массивные дозы L-форм, L-формы выделялись через сутки после 3-го заражения (2 обезьяны), на 4-е сутки после последней инъекции при аутопсии из селезенки и крови — у одной обезьяны, на 13-е сутки из крови после последней инъекции — у 2 обезьян.

В подгруппе обезьян, зараженных стрептококком, последние выделены в ближайшие дни после окончания заражения (2—6-е сутки), в том числе при аутопсии.

В подгруппе обезьян, получивших стрептококк и пенициллин, стрептококки выделялись у 3 из 4 обезьян через сутки после 2-й инъекции, у всех 4 обезьян через сутки после инъекции, у 1 обезьяны из почек при аутопсии на 4-е сутки после последней инъекции и у 1 обезьяны из крови при аутопсии на 22-е сутки после последней инъекции. В тот же срок у этой обезьяны были выделены при аутопсии из почек единичные непасырующиеся L-колонии. После 2-й и 3-й инъекций стрептококков и соответствующих инъекций пенициллина через сутки у 2 обезьян наряду со стрептококком выделялись колонии L-форм.

Выраженные различия в реакции обезьян в ответ на введение стрептококка в бактериальной или L-форме отмечены лишь в условиях острого инфицирования. В этом случае стрептококк вызывает сепсис, а L-формы стрептококка септического процесса не вызывают. Подострое и хроническое инфицирование сопровождается сходной патологической реакцией при введении L-форм и бактериальных форм стрептококка. Оно выражается в возникновении ангины, осложняющихся соответствующими поражениями сердца.

В организме обезьян, инфицированных массивными дозами стрептококка, возможна индукция L-форм под влиянием пенициллина.

Выделение бактериальных и L-форм из организма инфицированных животных наблюдается, как правило, в ближайшие дни после инъекции. В единичных случаях L-формы обнаруживались в более поздние сроки (9-й день — в группе хронического инфицирования L-формами, 12-й день — в группе подострого инфицирования стрептококком и 22-й день — в группе острого инфицирования стрептококком).

Выделение L-форм в поздние сроки в группах подострого и острого инфицирования бактериальной формой стрептококка связано, вероятно, со сроками их индукции и последующей персистенции, когда активная инфекция уже не имеет места.

L-ФОРМЫ БАКТЕРИЙ ПРИ ГНОЙНЫХ МЕНИНГИТАХ И МЕНИНГОЭНЦЕФАЛИТАХ

Нами было обследовано 144 больных с гнойными менингитами и менингоэнцефалитами, в том числе 8 больных с абсцессами мозга. У последних при летальных исходах и при возможности прижизненной пункции абсцессов производили посев не только ликвора, но и гноя из абсцессов. Контрольная группа состояла из 25 больных, из них 7 с туберкулезным и 18 — с серозным менингитом.

Рост бактериальных форм появлялся через 24—48 часов культивирования при температуре 37°, форм гетероморфного роста в виде сфероластоподобных — на 3—4-е сутки, L-колоний — на 6—8-е сутки. Стабиль-

ные L-формы вырастали одновременно на средах с пенициллином и без него. Иногда одновременно появлялся рост L-колоний на средах, содержащих пенициллин, и бактериальных форм на средах без антибиотика. Подобные результаты расценивались как выделение смешанных культур из бактериальных и L-форм. Бактериальные формы с преобладанием кокковой флоры выделены в 14% (у 21 больного). В 3 случаях высеяны сферопластоподобные формы, реверсировавшие в стафилококки, ланцетовидные диплококки и гемофильную палочку (они были выделены на среде без антибиотика). Это позволяет высказать предположение, что в организме сферопластоподобные формы были в виде нестабильных L-форм, реверсирующих *in vitro* в бактериальные формы соответствующего вида.

В одном случае на среде без пенициллина была выделена культура нестабильных L-форм, впоследствии реверсировавшая в кокки. У 4 больных были обнаружены смешанные культуры (бактерии и нестабильные L-формы кокковой группы).

Стабильные L-формы выделялись непосредственно из ликвора у 15% больных, у 23% больных обнаруживался рост светопреломляющих и зернистых телец, у 44% рост не выявлен. Пассирование на средах без пенициллина стабильных L-форм и культур, состоящих из гранул, не сопровождалось реверсией. Эти культуры перевивались лишь в 2 или 3 субкультурах, а затем погибали.

Из ликвора больных контрольной группы бактериальные и L-формы не высеивались, у 3 из 25 больных туберкулезным менингитом обнаружен слабый рост зернистых форм.

Микроструктуры выделявшихся из ликвора колоний стабильных L-форм состояли из шаровидных тел разных размеров и разной оптической плотности, вакуолизированных тел и множества субмикроскопических гранул.

По срокам выделения L-форм из ликвора и характеру клинического течения заболевания больные с положительными результатами анализа были подразделены на следующие группы:

— первая группа, куда вошло 8 больных; L-формы у них выделялись в раннем периоде заболевания, до лечения антибиотиками. У этих больных отмечалось типичное бурное клиническое течение с острым началом, высоким лейкоцитозом, нейтрофильным плеоцитозом (1000—15 000 мл^{-3}) и высоким содержанием белка в ликворе. Лечение пенициллином в массивных дозах (200 000 ЕД на 1 кг веса в сутки) было эффективным.

Клиническое течение и результаты лечения не отличались от течения и исходов гнойных менингитов, сопровождавшихся выделением кокковой флоры из ликвора;

— вторая группа, объединившая 7 больных с тяжелым длительным течением. L-формы у них выделялись в поздние сроки (на 8—45-й день болезни) после длительного лечения антибиотиками. У этих больных L-формы иногда сменяли выделявшиеся ранее бактериальные формы возбудителя. Пенициллинотерапия у 5 из 7 больных была эффективной, у 2 больных эффект от пенициллинотерапии в комбинации с другими антибиотиками отмечался поздно — на 30-й и 63-й день от начала лечения; выздоровление наступало очень медленно;

— третья группа, в которую входило 8 больных с абсцессами мозга и гнойными менингитами, возникшими вследствие прорыва абсцессов в субарахноидальное пространство. Стабильные L-формы у этих больных выделялись с большим постоянством; выделение, как правило, сопровождалось ухудшением состояния больных. Антибиотикотерапия была совершенно неэффективной.

Динамика освобождения ликвора от бактериальных и L-форм была прослежена у нескольких больных. Из 6 больных, из ликвора которых выделялись бактериальные формы возбудителя, при повторном исследовании у одного больного роста бактерий уже не было, у 5 выделялись зернистые формы и светопреломляющие тельца. При третьем посеве у 2 больных обнаружить бактерий не удалось; у одного больного продолжали выделяться зернистые формы.

Результаты анализа клинической картины больных, в ликворе которых при повторных посевах обнаружались зернистые формы, свидетельствовали о затяжном и вялом течении.

Так, у больного М. с клиническим диагнозом стафилококкового менингита, из ликвора которого при первом обследовании был выделен стафилококк, агглютинировавшийся аутоантисывороткой в разведении 1 : 800, при последующем посеве через 4 месяца обнаружен рост зернистых и светопреломляющих форм, спустя 1½ месяца третий посев ликвора дал отрицательные результаты. Заболевание у данного больного характеризовалось вялым затяжным течением, около 2½ месяцев он был в бессознательном состоянии, затем началось медленное и полное выздоровление, которое совпало с отрицательным посевом ликвора.

У 3 больных, из ликвора которых выделялись формы гетероморфного роста, нестабильные L-формы и смешанная культура бактериальных и L-форм, при повторном обследовании культуру выделить не удалось, очищение произошло у одного больного. У двух других больных продолжали высеваться смешанные культуры бактерий и L-форм. Третий посев ликвора сопровождался отрицательным результатом у одного из больных. При четвертом посеве ликвора данного больного вновь была выделена смешанная культура бактериальных и L-форм. У этого больного был абсцесс мозга, который периодически прорывался в субарахноидальную полость, вызывая разлитой гнойный менингит, в период которого и выделялась смешанная культура из бактериальных и L-форм.

В отличие от бактериальных форм стабильные L-формы сохранялись в организме длительное время. Так, 4-кратное обследование в течение 2 месяцев и более 5 больных, из ликвора которых были выделены ранее стабильные L-формы, дало положительные результаты. В посеве обнаруживались стабильные L-формы и зернистые формы почти у всех бывших под наблюдением больных; отрицательные результаты регистрировались лишь в 3-м и 4-м посевах.

Подобные культуры были выделены в 1, 3-м и 4-м посевах ликвора одного из больных с клиническим диагнозом бронхоэктатической болезни, абсцесса мозга и гнойного менингоэнцефалита, впоследствии подтвержденных на секции. Несмотря на интенсивную и длительную антибиотикотерапию, состояние больного оставалось очень тяжелым. Из ликвора в первые дни болезни выделен пневмококк, в последующих посевах пневмококки не обнаруживались; высевались стабильные L-формы.

Последние неизменно выделялись на всех этапах заболевания, завершившегося смертью. Описанный случай приведен в качестве примера, так как стабильные L-формы обычно неоднократно выделялись из ликвора, а также из посевов гноя абсцессов при летальных исходах.

Стабильные L-формы могут длительно сохраняться в ликворе. В 12 случаях из 22 положительных находок стабильных L-форм в ликворе они высевались после его хранения при температуре 4° в течение периода от 2 месяцев до 1 года. Наши данные о выделении L-форм разных видов бактерий из ликвора больных гнойным менингитом согласуются с материалами Mattman и Raris (1966), Mattman (1968), которые при разных формах менингитов выделяли из ликвора больных культуры L-форм и смешанные культуры бактериальных и L-форм *H. influenzae*, стафилококков, стрептококков и *M. tuberculosis*.

Динамика выделения L-форм на разных фазах заболевания, неоднократно наблюдавшаяся длительность выделения, возможность сохранения L-форм в ликворе и способность реверсии бактерий свидетельствуют об определенном патогенном значении L-форм при гнойных воспалительных процессах мозговых оболочек и мозга. Этот факт должен привлечь внимание не только клиницистов, но и эпидемиологов. Длительная латенция возбудителя в виде L-форм в организме больного, возможная зависимость рецидивов и ремиссий от пребывания возбудителя в бактериальной и L-форме и, наконец, длительность сохранения L-форм в ликворе должны учитываться не только при разработке рациональных методов терапии подобных заболеваний, но и при разработке наиболее эффективных мер их профилактики.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ МЕНИНГИТ КРОЛИКОВ

Изучение возможности воспроизведения модели экспериментального менингита при субокципитальном заражении кроликов L-формой проведено у нас в лаборатории Е. И. Коптеловой и В. И. Покровским (1964, 1965), В. И. Покровским с соавторами (1969). Для заражения использовали стабильные L-культуры стрептококка, стафилококка, менингококка, а также интактные бактериальные формы. Заражение производили путем субокципитальной пункции в субарахноидальное пространство; в качестве контрольных опытов осуществляли пунктирование без заражения и введение разнообразных компонентов среды культивирования и среды суспендирования. Субокципитальной инъекцией L-форм удалось воспроизвести менингеальный синдром у кролика, характеризующийся повышенной периферической возбудимостью, припадками общих судорог, парезами и параличами задних конечностей, одышкой, сменой лихорадочной реакции и гипотермии, явлениями протрации. Отмечены значительное снижение веса (250—300 г в течение первых 2—3 суток), лейкоцитоз (15 000—20 000) и характерные изменения ликвора (повышение цитоза и содержания белка).

Клинические явления у кроликов, зараженных L-формами, развивались медленнее, чем при заражении бактериальной формой, и носили более затяжной характер (табл. 10). Острый период заболевания при заражении бактериальной формой наблюдался в течение 2—5 дней, гибель при резко выраженных менингеальных явлениях наступала на 2—5-е сутки; при заражении L-формой острый период начинался на 5—12-й день.

Патологические явления продолжались до 20-х суток, животные гибли, как правило, на 5—10-е сутки. Число погибших животных меньше среди животных, зараженных L-формами. Среди животных, зараженных разными видами бактерий, наиболее острое течение процесса зафиксировано в группах, инфицированных менингококком и стафилококком. При инфицировании L-формами разных видов бактерий каких-либо различий в течении процесса в зависимости от вида инфицирующей L-формы выявить не удалось.

Данные патологогистологического исследования подтвердили наличие острого разлитого менингоэнцефалита у кроликов, зараженных бактериальными и L-формами бактерий (рис. 34, *a—e*). У кроликов, зараженных бактериальной формой, эти явления затухают к 15—20-му дню; в это время нормализуются мозговые оболочки. Репаративный процесс при заражении L-формой происходит медленнее — на 15—20-й день у большей части животных еще остается умеренная очаговая инфильтрация оболочек. В веществе мозга даже в поздние сроки после заражения (12—20-й день)

ТАБЛИЦА 10. РЕЗУЛЬТАТЫ СУБОКЦИПИТАЛЬНОГО ЗАРАЖЕНИЯ КРОЛИКОВ БАКТЕРИАЛЬНЫМИ И L-ФОРМАМИ РАЗНЫХ ВИДОВ БАКТЕРИЙ (ПО В. И. ПОКРОВСКОМУ И Е. И. КОПТЕЛОВОЙ, 1969)

| Культуры | Число животных | Всего погибло | Сроки гибели, сутки | Длительность болезни, сутки | Число кроликов | | | | | | |
|--|----------------|---------------|---------------------|-----------------------------|---------------------------|----------|-------------------|---|----------|-------------------------------|-----|
| | | | | | с клиническими симптомами | | | с показателями цитоза в ликворе в мм ³ | | | |
| | | | | | температурная реакция | судороги | парезы и параличи | после заражения на 2-5-е сутки | | после заражения на 12-е сутки | |
| | | | | | | | | 100-500 | 500-2000 | 100 | 100 |
| L-форма β-гемолитического стрептококка | 32 | 4 | 2-10-е | до 20 | 20 | 15 | 15 | 15 | 15 | 9 | 18 |
| Бактериальная форма β-гемолитического стрептококка | 18 | 7 | 2-3-и | 5-7 | 12 | 12 | 12 | 8 | 10 | 2 | 4 |
| L-форма стафилококка | 18 | 2 | 2-15-е | до 20 | 8 | 12 | 12 | 2 | 16 | 2 | 12 |
| Бактериальная форма стафилококка | 12 | 10 | 2-5-е | 2-5 | 12 | 12 | 12 | — | 12 | — | — |
| L-форма S. typhi | 18 | 4 | 11-20-е | до 20 | 5 | 7 | 7 | 7 | 10 | 8 | 4 |
| Бактериальная форма S. typhi | 12 | 12 | 1-3-и | 1-3 | 12 | 12 | 12 | — | 12 | — | — |
| L-форма менингококка | 24 | 8 | 4-12-е | до 22 | — | 19 | 19 | 14 | 4 | 5 | 5 |
| Бактериальная форма менингококка | 12 | 12 | 2-5-е | 2-5 | 12 | 12 | 12 | — | 12 | — | — |
| Среда культивирования и суспендирования | 6 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Пункция без заражения (травма) | 3 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |

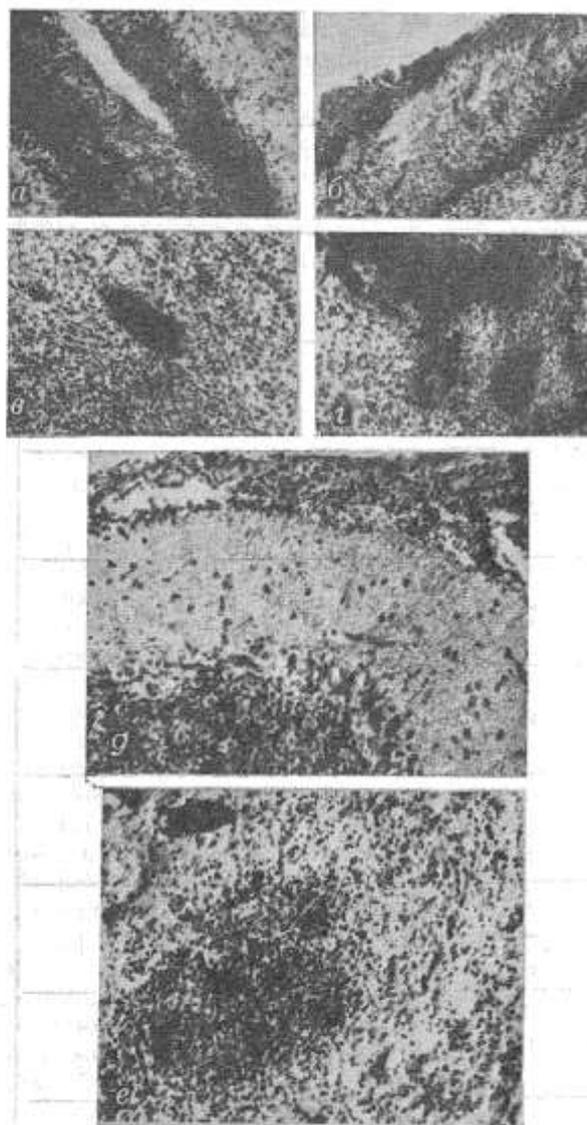


Рис. 34. Изменения у кроликов, вызванные суб-
 окципитальной инъекцией L-форм стрептококка.
 Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 200$ (препа-
 раты В. И. Покровского, Е. В. Рыжкова, Е. И. Ко-
 теловой).

a — множественные фокusy геморрагий, окруженных вос-
 палительными инфильтратами; *b* — диффузная воспалитель-
 ная инфильтрация в белом веществе мозга; *в* — инфильтра-
 ция мозговых оболочек, выпот фибрина; *г* — гнойный менин-
 гит, инфильтрация мягких мозговых оболочек; *д* — гнойный
 менингит. Умеренная инфильтрация мягких мозговых оболоч-
 ек, концентрация воспалительных элементов в области моз-
 гочка; *е* — множественные абсцессы с очагами некроза в
 белом веществе мозга; *a* — *г* — изменения через 5 дней по-
 сле инъекции; *д* — *е* — через 12 дней после инъекции.

уретритами варианты, близкие L-формам, реверсировавшие в бактерии *Streptococcus faecalis*. Barile и соавторы (1958) при обследовании

отмечаются набухание нервных клеток, рассеянные, а местами скученные глиозные узелки и околососудистые воспалительные инфильтраты (рис. 34, *д*). Особый интерес представляет факт появления множественных гнойников и очагов некроза в мозговой ткани (рис. 34, *е*).

Стабильные L-формы разнообразных патогенных видов бактерий сохраняют способность вызывать менингиты и менингоэнцефалиты. При патологическом процессе, воспроизведенном L-формами, более длительный период инкубации и менее острое, но более продолжительное течение заболевания.

L-ФОРМЫ БАКТЕРИЙ И ДРУГИЕ ВАРИАНТЫ С ДЕФЕКТОМ КЛЕТочНОЙ СТЕНКИ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ МОЧЕПОЛОВОЙ СФЕРЫ ЧЕЛОВЕКА И ПРИ ДРУГИХ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССАХ

Наиболее ранние исследова-
 ния возможности пер-
 sistенции микробных аген-
 тов в виде протопластных
 и L-подобных вариантов в
 организме больных с пора-
 жениями мочеполового
 тракта относятся к 1951 г.,
 когда Voureka (1951) об-
 наружил подобные вари-
 анты в моче больных, ле-
 ченных хлорамфениколом.
 Эти варианты в опытах
in vitro реверсировали в
 бактерии. Несколько поз-
 же Moustardier и соавто-
 ры (1953) выделили от
 больных негонококковыми

больных с негонококковыми уретритами выделяли L-формы *Corynebacterium hoffmanii* и *Haemophilus haemoliticus*. При гонорее им удалось высеять подобные варианты, реверсировавшие в α -гемолитический стрептококк и *Neisseria gonorrhoeae*. Авторы уже тогда высказали предположение о возможной роли L-форм в персистенции гонококка при гонорее и других видов бактерий при разных хронических воспалительных процессах мочеполовой сферы человека.

Значение персистенции возбудителей в виде протопластов и нестабильных L-форм при заболеваниях почек, особенно при пиелонефрите, возможность выделения протопластов разных видов бактерий из мочи и ткани почек на средах с повышенной осмотической концентрацией, а также экспериментальное моделирование пиелонефрита крыс и кроликов рассмотрено в работах Braude и соавторов (1961), Gutman и соавторов (1965, 1967, 1968), Guze, Kalmanson (1964, 1968), Turck и соавторов (1968) и др. Эти исследования способствовали последующим успехам в изучении роли протопластов и L-форм при пиелонефритах и других заболеваниях мочевыводящих путей.

Gutman с соавторами (1965) показали возможность выделения на сывроточно-дрожжевой-сахарозной среде протопластов и L-формоподобных вариантов бактерий из мочи больных с хронической бактериурией (в 11 случаях из 57). L-формы выделялись в периоде пенициллинотерапии; при реверсии были получены бактерии, идентичные исходным. Авторы считают, что L-формы и протопласты могут играть роль в микробной персистенции, обуславливающей хроническую инфекцию почек. Gutman и соавторы (1968) подтвердили значительный процент находок L-форм и протопластов при хронической бактериурии в момент отсутствия бактерий в моче.

Аналогичные данные получены Turck и соавторами (1968), отметившими связь рецидивов с реверсией бактерий из L-форм. Kalmanson и Guze (1968) выделяли с большой частотой протопласты α - и β -гемолитических стрептококков, энтерококка и плазмокоагулирующего стафилококка из биопсированной почечной ткани при почти полном отсутствии бактериальных форм (протопласты выделены в 8 пробах, взятых от 7 больных, бактериальные формы — лишь у одного больного).

Из 25 больных, подвергавшихся биопсии почек, протопласты выделены у 7 (в 5 случаях пиелонефрит был доказан гистологически). Эти исследования подтверждают мнение, что протопласты являются формой персистенции инфекционного возбудителя при хроническом пиелонефрите. Они согласуются с экспериментами моделирования пиелонефрита, выполненными на протопластах или относительно стабильных (Braude et al., 1961; Alderman, Freedman, 1963; Guze, Kalmanson, 1964, и др.) L-формах, не реверсирующих в бактериальные культуры при пассажах на искусственных средах *in vitro*. Предпосылкой для этих опытов явилось высокое содержание стабилизирующих веществ, обуславливающих повышенное осмотическое давление в почках и моче (в 4 раза выше, чем в крови). Высокая концентрация стабилизирующих веществ может предохранять протопласты и L-формы от лизиса, создавать условия для их персистенции и последующей реверсии. Действительно, введение протопластных форм протей в мочевой пузырь крыс сопровождалось развитием через 7—8 дней после инъекции пиелонефрита, обусловленного реверсией бактериальных форм протей (Braude et al., 1961). Сферопласты и протопласты хорошо сохранялись в фагоцитах мочевого пузыря, и некоторые из них даже размножались. Авторы допускают возможность внутриклеточной персистенции этих вариантов и последующую их реверсию в условиях организма,

что может вызвать рецидивы при таких хронических заболеваниях, как воспалительные процессы мочеполовой сферы человека.

Согласующиеся результаты получили Alderman и Freedman (1963) при изучении экспериментального пиелонефрита кролика, вызванного реверсией протопластов *E. coli* *in vitro*. Пиелонефрит развивался после инъекции протопластов в мозговую субстанцию почек; при внутрикожной инъекции протопластов не развивалось патологической реакции. Осмотические условия в почечной ткани благоприятствовали персистенции протопластов *E. coli* и их последующей реверсии в бактериальные формы. Gutman и соавторы (1968) воспроизвели экспериментальный пиелонефрит крыс при инъекции в мозговую субстанцию почек стабильных «протопластоподобных вариантов» *E. coli*, не реверсирующих в условиях *in vitro*. Эти варианты быстро реверсируют в почечной ткани в бактериальные формы в отсутствие пенициллина и более длительно выживают в почках, чем

ТАБЛИЦА 11. ЗАБОЛЕВАНИЯ, ПРИ КОТОРЫХ ВЫДЕЛЕНЫ НЕОБЫЧНЫЕ, СХОДНЫЕ С L-ВАРИАНТАМИ ФОРМЫ БАКТЕРИЙ (ПО SCHARACHE, 1968)

Агаммаглобулинемия
Синдром Олдриха (Aldrich syndrome)
Лимфома
Болезнь Ходжкина
Лейкемия
Системная красная волчанка
Ревматоидный артрит
Болезнь Стилла (Still's disease)
Синдром Сьегрена (Sjögren's syndrome)
Периартерииты
Уремия
Цирроз
Хронические инфекции мочеполового тракта
Заболевания сердца

в селезенке. Гистологическая реакция, вызванная ревертантами, аналогична реакции, обусловленной интактной культурой *E. coli*, и характеризуется острой гранулоцитарной инфильтрацией, типичной для острого пиелонефрита.

Сходные результаты были получены Guze, Kalmanson (1964) и Kalmanson, Guze (1968) на протопластах *S. faecalis*.

При хронических стафилококковых инфекциях также возможна персистенция возбудителя в виде протопластов и L-форм. Godzieski (1968) при обследовании 11 больных с длительным, повторяющимся фурункулезом выделял из крови L-формы, выживавшие

на средах, пригодных для культивирования L-форм; бактериальные формы на этих средах не высевались. После продолжительного культивирования L-форм при еженедельных посевах на среде ВНУ без антибиотиков была получена реверсия стафилококков.

Интересное наблюдение выделения протопластов золотистого стафилококка при остеомиелите было сделано Rosner (1968). У 18-летнего юноши после операции по поводу остеомиелита бедра и последующего лечения митициллин-оксациллином наступило полное клиническое выздоровление, сопровождавшееся отрицательными результатами бактериологического обследования. На месте бывшего очага поражения рентгенографически определялось затемнение. Через 2½ года после ушиба появились боли в очаге, а при операции обнаружен хронический абсцесс, из гноя выделена чистая культура протопластов при полном отсутствии бактериальных форм. После длительного пассирования в лабораторных условиях протопласты реверсировали в исходный вид стафилококка.

В. Каган (1968) при обследовании 51 больного с хроническим остеомиелитом у одного больного выделил L-форму стафилококка.

Автор сообщает, что при культивировании мокроты 54 детей с «кистозным фиброзом» на осмотически стабилизированной среде в 30% случаев выделялись протопласты и L-формы, реверсировавшие в серийных пассажах *in vitro* в *Staphylococcus aureus*.

Обширный материал, свидетельствующий о возможности выделения L-форм разных видов бактерий из крови и другого патологического материала больных приводит Mattman (1968). При изучении 328 гемокультур, взятых от разных больных, она получила у 11% рост бактерий и у 28% рост L-форм, реверсировавших в условиях *in vitro* в разные виды (стафилококки, стрептококки, пневмококки, *E. coli*, *S. acnes*).

Особый интерес представляют данные, полученные Mattman при изучении туберкулеза. Используя иммуофлуоресценцию мокроты, Mattman обнаружила L-формы *M. tuberculosis* у 33% обследованных больных, в том числе у 7% — только L-формы. У одного больного с лихорадкой неизвестного происхождения было исследовано 6 культур; во всех случаях были выделены L-формы, реверсировавшие в кислотоустойчивые бациллы.

При постмортальном вскрытии установлены характерные для туберкулеза повреждения в легких.

Chagache (1968) выделены необычные, весьма сходные с L-формами варианты бактерий при заболеваниях инфекционной и неинфекционной природы (табл. 11).

К необычным формам возбудителей Chagache (1968) относит бактерии с измененной клеточной стенкой, сферопласты, протопласты, L-формы и другие сходные с ними варианты, отличающиеся, однако, от классических форм неспособностью давать рост на плотных средах типичных L-колоний.

Описанные варианты были выделены от 41 больного, в том числе от 21 больного сепсисом, от 7 больных — из гноя, от 7 больных — в случаях пиартроза, от 5 больных — при эмпиемах и от одного больного — путем кожной биопсии.

Все выделенные варианты в опытах *in vitro* реверсировали в стрептококки, стафилококки, *Herellae*, *Klebsiella*, *E. coli*, *Proteus*, *Haemophilus*, *Listeria*, *Corynebacteria*, *Candida*. По-видимому, в условиях организма больного даже тогда, когда антибиотикотерапия не применяется, многие факторы самого организма (лейкоцитарные ферменты, низкий pH, лизоцим, система комплемент — антитело и др.) могут способствовать образованию измененных форм бактерий, близких L-вариантам. Сам факт их обнаружения при заболеваниях, инфекционной природы которых не доказана (см. табл. 11), свидетельствует о настоятельной необходимости проведения разносторонних исследований роли указанных вариантов возбудителей при подобных заболеваниях.

ПРОБЛЕМА ИДЕНТИФИКАЦИИ L-ФОРМ БАКТЕРИЙ ✓

Основные трудности, возникающие при оценке результатов исследования патологического материала, заключаются в том, что иногда невозможно четко дифференцировать микоплазмы от стабильных L-форм, идентифицировать последние, а также различать нестабильные L-варианты от близких им разнообразных «транзитных» форм.

Видовая идентификация L-форм является все еще нерешенной проблемой. Известно 2 возможных, используемых пока еще в эксперименте, критерия их идентификации: 1) непрямой, основанный на реверсии бактерий определенного вида из испытуемых L-форм, и 2) прямой, основанный на идентификации вида L-форм путем определения: а) серологической характеристики, что удается крайне редко, б) гомологии ДНК (McGee et al., 1967; Wittler et al., 1968), в) дифференциации белков электрофорезом в полиакриламидном геле (Rottem, Razin, 1967; King, Theodore, Cole, 1968; Wittler et al., 1968; Theodore et al., 1969, 1971).

Приведенные выше материалы о выделении L-форм при разных патологических процессах и при экспериментальной инфекции свидетельствуют о крайне редком их выделении и о еще более редкой возможности их видовой идентификации, которая осуществляется преимущественно с помощью реверсии бактериальных форм.

Многообразие морфологических картин, чрезвычайный полиморфизм ревертантов первых генераций, сходство начальных фаз реверсии бактерий из L-форм с начальными фазами морфогенеза индукции L-форм из бактерий создают трудности для дифференциации фаз индукции L-форм и фаз реверсии бактерий, которые могут выделяться из разного патологического материала.

Трудность и редкость восстановления признаков исходного вида бактерий при реверсии относительно стабилизированных L-форм, повышенная способность ревертантов к индукции L-форм, способствующая переменному существованию возбудителя в бактериальной и L-форме в организме хозяина, — все это затрудняет диагностику и идентификацию агентов с дефектом клеточной стенки в клиническом материале.

* * *

Возможность образования L-форм и близких вариантов бактерий под влиянием антибиотиков и других факторов в организме, длительная их персистенция и возможность реверсии исходных видов бактерий требуют ревизии наших взглядов на роль разных форм существования инфекционных возбудителей в инфекционной патологии. Они показывают, что L-формы далеко не безразличны для организма хозяина. Имеются данные о находках L-форм, сохранивших исходную степень патогенности, свойственную родительской культуре (вирулентные штаммы L-форм холерного вибриона, *Cl. tetani* или *Cl. perfringens*).

Сохранение у L-форм способности продуцировать M-белок, стрептолизин, стрептокиназу и дезоксирибонуклеазу (у L-форм стрептококка), коагулазу (у L-форм стафилококка), нейраминидазу (у L-форм холерного вибриона), эндотоксина (у L-форм сальмонелл), экзотоксина (у L-форм *Cl. tetani*) свидетельствует о наличии у них многих признаков патогенности.

На патогенные потенции L-форм бактерий указывают также возможная индукция L-форм в клеточных системах *in vitro*, выраженный цитопатический эффект в некоторых культурах ткани, а также отдельные факты персистирования L-форм в условиях клеточных культур.

Подходы к созданию экспериментальных моделей можно подразделить на простые и сложные.

К первым относятся попытки прямого инфицирования теми или иными инфекционными агентами и их дериватами при дифференциальном и комплексном их изучении в разных аранжировках опыта.

Ко вторым можно отнести все попытки опосредованного, более сложного пути создания экспериментальных моделей патологических процессов, конструирующихся на фоне снижения естественной резистентности или изменения реактивности инфицируемого животного. Эти воздействия могут вызвать целую гамму разнообразных изменений от гиперергических реакций немедленного типа до самых сложных аутоиммунных процессов, на фоне которых разыгрывается патологический процесс, призванный моделировать то или иное заболевание.

Согласно представлениям классической микробиологии, факторы вирулентности и антигенной специфичности сосредоточены в поверхностных

структурах клеточной стенки бактерий, поэтому еще 5—7 лет назад изучение патогенных потенций L-форм бактерий казалось бесперспективным.

Однако новые данные о структуре и функции разных агентов, лишенных клеточной стенки, о биосинтезе антигенных компонентов в цитоплазматических мембранах, о патогенности разных дефектных по клеточной стенке форм микроорганизмов стимулировали поиски экспериментальных моделей патологических процессов, индуцированных этими агентами.

Начальной фазой этих исследований явились попытки прямого инфицирования экспериментальных животных L-формами и протопластов разных видов бактерий.

Многочисленное хроническое инфицирование стабильными L-формами стрептококка группы А обезьян независимо от места введения инфекта вызывало ангины, которые у некоторых обезьян осложнялись диффузным инфекционным миокардитом. Ангины и изменения миокарда наблюдались в течение продолжительного времени.

Сходные результаты были получены при подостром инфицировании.

В отличие от хронического и подострого инфицирования при остром инфицировании большими дозами инфекта отмечается существенное различие в реакции обезьян на введение стрептококков и их L-форм. При введении стрептококков наблюдалась бурная и кратковременная реакция, завершавшаяся гибелью животных или купированием процесса пенициллинотерапией. Была воспроизведена типичная септикопиемия, сопровождавшаяся катаральной ангиной. При введении L-форм реакция не столь бурная; возникновение и течение ангины и поражений сердца были такими же, как у обезьян, подвергшихся хроническому и подострому инфицированию.

В отличие от экспериментальной ангины обезьян другие модели патологических процессов связаны с локализацией первичного поступления L-форм в организм. Примерами могут служить опыты моделирования менингита и менингоэнцефалита, а также пиелонефритов. При субокипитальном инфицировании кроликов разными видами L-форм и их родительскими культурами воспроизведена модель экспериментального менингита.

В данном случае удалось проследить ряд особенностей процесса, вызываемого L-формами, по сравнению с процессом, обусловленным интактными бактериями. Независимо от видового происхождения L-форм их субокипитальная инъекция вызывала менингеальный синдром, отличающийся более медленным развитием симптомов, более вялым и длительным течением. Острый период наступал позже, менингеальные симптомы, изменения в спинномозговой жидкости нарастали и затухали медленнее. Процесс завершался гибелью меньшего числа животных и в более поздние сроки.

Создание экспериментального пиелонефрита оказалось возможным при введении бактерий в мозговую субстанцию почек крыс и кроликов. Хроническое течение пиелонефрита было обусловлено формированием протопластов, образующихся под влиянием пенициллинотерапии. Комбинированное лечение экспериментального пиелонефрита (сочетание антибиотиков типа пенициллина и эритромицина или канамицина) оказалось высокоэффективным. Последние два антибиотика не действенны в отношении интактных клеток. Они проникают внутриклеточно лишь в протопласт, у которого синтез клеточной стенки предварительно заблокирован действием пенициллина, и оказывают разрушающее действие. Этот принцип может оказаться весьма перспективным для разработки эффективных методов терапии хронических процессов, связанных с протопластами, L-формами и другими вариантами микроорганизмов, лишенных клеточной стенки.

Необычные формы возбудителей с разной степенью дефектности клеточной стенки, выделяемые при разных патологических процессах, могут быть представлены: 1) семейством микоплазм; 2) стабильными и нестабильными L-формами; 3) полиморфными агентами (разнообразные протопласты и сферопластоподобные варианты).

Последняя группа, по нашему мнению, объединяет разные формы существования агентов с дефектом клеточной стенки от разных фаз индукции L-форм до разных фаз реверсии бактерий из нестабильных и стабильных L-форм.

Трудности исследования клинического материала заключаются в необходимости создания условий анализа, свидетельствующих о непосредственном выделении агента из организма, а также о дифференциации и идентификации указанных групп возбудителей.

Одновременные посевы на среды, содержащие индуцирующий L-формы фактор, и на среды, не содержащие его повышенной или обычной осмотической концентрации, оказались эффективными для непосредственной изоляции разнообразных дефектных по клеточной стенке агентов из клинического материала (выделение разнообразных протопластов и L-форм из крови больных септическим эндокардитом, ревмокардитом, гнойным менингитом и др.).

Выделение протопластов и L-форм в периоде ремиссии при пенициллинотерапии и бактериальных форм при рецидивах неопровержимо свидетельствует о роли L-форм и их ревертантов при таких хронических заболеваниях мочеполовой сферы, как пиелонефрит.

Особое значение имеет разработка точных, простых и доступных методов выделения и идентификации L-форм. Методы молекулярной гибридизации и электрофоретической дифференциации белков мембран в полиакриламидном геле являются весьма перспективными прямыми методами идентификации L-форм бактерий.

Трудности идентификации L-форм посредством определения вида бактерий, реверсировавших из транзитных или L-форм, связаны с неполным восстановлением признаков исходного вида в ходе реверсии.

Переменное существование возбудителя в бактериальной и L-форме не только затрудняет микробиологическую диагностику, оно может также коренным образом влиять на весь ход инфекционного процесса, играть значительную роль при рецидивирующих формах инфекций, осложнять инфекционный процесс, снижать эффективность терапевтического воздействия, способствовать формированию бациллоносительства и создавать не поддающиеся соответствующему эпидемиологическому контролю очаги инфекции.

Часть вторая • Семейство
Mycoplasmataceae
в патологии
человека и животных

Десятилетие 1960—1970 является периодом самых интенсивных исследований микоплазма-инфекций. Если еще в 1960 г. на первой конференции по изучению биологии микоплазм указывалось, что неизвестно, полностью ли лишены микоплазмы клеточной стенки или содержат ее в модифицированном виде, то уже на второй аналогичной конференции в 1967 г. был сделан окончательный вывод о том, что микоплазмы являются уникальной группой среди прокариотических клеток, имеющих одну липопротеиновую мембрану, выполняющую функции собственно цитоплазматической мембраны и клеточной стенки. Этот принципиально новый вывод лег в основу всех исследований микоплазм и нашел свое отражение в их биологической характеристике, филогении и таксономии, характеристике патогенности, в клинических, эпидемиологических и эпизоотологических особенностях микоплазма-инфекций, а также в принципиально новых подходах к их лабораторной диагностике, терапии и специфической профилактике.

Специфика биологических особенностей микоплазм дала возможность объединить их в единое семейство *Mycoplasmataceae* и ввести в систематику новый класс — класс *Mollicutes*. В настоящее время все *Protophyta* разделены на 4 класса: 1) *Schizophyceae* (синезеленые водоросли); 2) *Schizomycetes* (бактерии); 3) *Microtatiobites* (вирусы и риккетсии); 4) *Mollicutes* (микоплазмы).

Введение в систематику нового класса позволило выделить в современной микробиологии новую отрасль — микоплазматологию.

В данном разделе книги приводятся основные сведения, характеризующие современные представления о биологии и патогенных потенциях класса *Mollicutes* семейства *Mycoplasmataceae*.

Глава пятая • Биологическая характеристика семейства *Mycoplasmataceae*

Семейство *Mycoplasmataceae* — это группа полиморфных микроорганизмов, в составе которых содержатся наиболее мелкие свободно живущие в условиях искусственных питательных сред организмы.

По форме и структурной организации микоплазмы сходны со стабильными L-формами бактерий.

Размеры минимальных жизнеспособных единиц микоплазм (элементарных телец) близки к размерам некоторых вирусов. В то же время способность размножаться на бесклеточных питательных средах дает основание предполагать,¹ что именно микоплазмы являются наиболее простыми автономными самовоспроизводящимися системами. В связи с этим большой интерес представляют исследования жизненного цикла микоплазм и роли минимальных единиц в репродуктивном цикле. Отсутствие клеточной стенки, особенности структуры цитоплазматической мембраны отражаются на морфологических, физиологических и антигенных особенностях этого семейства и обуславливают новые подходы к изучению их таксономии и роли в патологии.

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МИКОПЛАЗМ

МОРФОЛОГИЯ КОЛОНИЙ

Микоплазмы на плотных питательных средах растут в виде характерных колоний с уплотненным, врастающим в среду центром, нежным ажурным краем и по форме напоминает яичницу глазунью — «fried egg». После 3—5 дней инкубации диаметр микоплазм может достигнуть 1,5—2 мм, но чаще всего они настолько малы, что трудно уловимы невооруженным глазом.

Размеры колоний варьируют в зависимости от видовой принадлежности микоплазм, среды культивирования, посевной дозы и одновременного развития близлежащих клеток. Наиболее крупные размеры колоний у *M. laidlawii*, наиболее мелкие — у T-группы микоплазм Shepard; остальные виды микоплазм, выделенные от человека, животных и птиц, занимают промежуточное место, приближаясь в одних случаях к максимальным *M. gallisepticum*, в других — к минимальным *M. pneumoniae* или *M. hominis*. Колонии микоплазм тесно спаяны со средой; у одних видов имеется выраженный сосочкообразный центр, у других его нет: поверхность колоний иногда гомогенная (*M. pneumoniae*) (рис. 35, а), иногда зернистая (*M. laidlawii*) (рис. 35, б). При небольших увеличениях светового микроскопа в проходящем свете колонии некоторых видов микоплазм отличаются плоской и нежной периферической зоной. При продолжительном культивировании на среде с лошадиной сывороткой

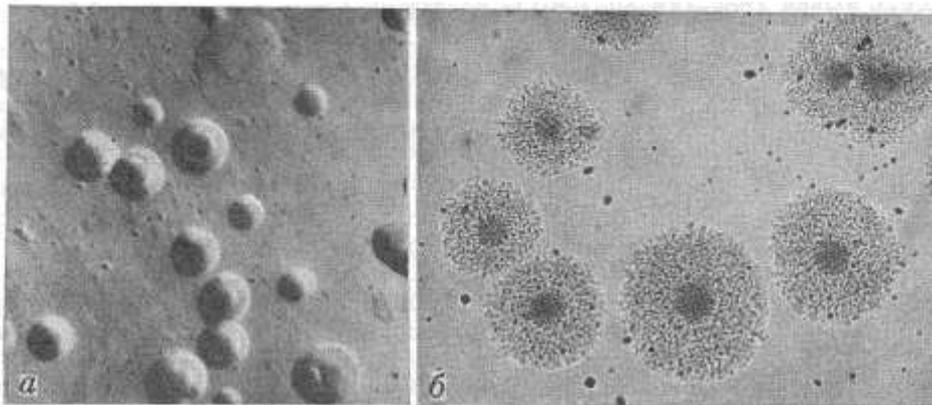


Рис. 35. Морфология колоний микоплазм.
 а — *M. pneumoniae*. Ув. $\times 120$; б — *M. laidlawii*. Ув. $\times 60$.

в глубине среды, вокруг колоний и под ними могут возникать пятна преципитата и макроскопически видимые складчатые тяжи, покрывающие поверхность среды. Этот феномен является следствием образования липидных компонентов, магниевых и кальциевых мыл под влиянием выделяемых микоплазмами ферментов (Edward, 1950b, 1954).

Описаны колонии микоплазм «гладкого» и «шероховатого» типа у микоплазм одного и того же вида. Вполне вероятно, что образование таких типов колоний в пределах одного вида микоплазм является следствием их диссоциации. Иногда процесс диссоциации настолько выражен, что в пределах одной и той же популяции микоплазмы растут в виде мельчайших типичных «fried egg» колоний и более крупных, напоминающих бактериальные, например у *M. gallisepticum*.

Принципиально важная особенность микоплазм — сходство морфологии колоний у разных видов; весьма незначительные различия могут оцениваться лишь как весьма приблизительный признак видовой дифференциации микоплазм, который не может использоваться в практических целях.

В условиях жидких и полужидких питательных сред рост микоплазм регистрируется в виде нежного диффузного помутнения, варьирующего от легкой, едва видимой невооруженным глазом опалесценции до более выраженного интенсивного помутнения. Локализация роста (приданный, диффузный или поверхностный) зависит от видового отношения микоплазм к аэро-анаэробнозю.

В условиях полужидкой среды можно иногда отметить «облаковидный», или нитевидный, рост, а в некоторых случаях рост в виде нежных крошковидных колоний, варьирующих в размерах, но чаще очень мелких, с нежными нитевидными отростками.

Большое практическое значение имеет выявленная недавно способность микоплазм адсорбироваться на поверхности стекла или пластика и давать рост на этих поверхностях, покрытых лишь небольшим слоем питательного бульона. Микоплазмы могут расти в виде сплошного нежного слоя, покрывающего всю поверхность стеклянных матрасов (Somerson et al., 1967), либо в виде колоний разных размеров, иногда даже крупных, которые с помощью нитевидных и волокнистых структур прорастают в бульон (Bredt, 1968, 1969).

Микоплазмы отличаются полиморфизмом. Наряду с относительно крупными формами встречаются мелкие фильтрующиеся жизнеспособные элементы, известные под названием минимальных репродуктивных форм, размеры которых около 150 мкм.

При анализе морфологии микоплазм следует четко дифференцировать структуры, видимые в световом микроскопе, и структуры за пределами разрешающей способности световой микроскопии.

Первые описания морфологии видимых в световом микроскопе микроструктурных элементов микоплазм были сделаны Bordet (1910) и Borrel с соавторами (1910), отметившими, что возбудитель плевропневмонии рогатого скота при окраске по Романовскому — Гимзе и в темном поле выглядел в виде весьма полиморфных структур, состоящих из мелких зерен, крупных шаров, колец и нитевидных форм. Последующие наблюдения подтвердили эти данные и послужили основанием для выяснения роли указанных микроструктурных элементов микоплазм в их жизненном цикле (Marzinowski, 1911; Ørskow, 1927, 1942b; Turner, 1935; Freundt, 1952a, 1958, 1960, 1969; Dienes, 1960; Razin, Oliver, 1961; Klieneberger-Nobel, 1962, и др.).

Первым наиболее интенсивно изучавшимся видом была *M. mycoides*. Еще в 1927 г. Ørskow путем непосредственной микроскопии колоний этого вида на плотной питательной среде проследил динамику морфологических изменений и пришел к убеждению, что *M. mycoides* является ветвящимся микроорганизмом, репродукция которого осуществляется путем образования нежных сферических телец в ветвистых структурах и последующего их освобождения. Более 10 лет продолжалось изучение морфологии *M. mycoides* с использованием различных сред культивирования и разных методов. В результате Tang и соавторы (1935, 1936) охарактеризовали морфологическое развитие этой микоплазмы как последовательную смену 5 фаз роста: элементарных телец, нитевидных структур, их ветвления, формирования цепочек, дезинтеграции последних на элементарные тельца. Выводы авторов были отлично документированы микрофотографиями фаз развития *M. mycoides* в темном поле. Затем эти структуры были найдены и у других видов.

Последующее изучение роли нитевидных структур в жизненном цикле микоплазм (Freundt, 1952a, b, 1953, 1958, 1960a, 1969) на примере фаз роста *M. mycoides* в жидкой и плотной средах одновременно с помощью светового и электронного микроскопа (сравнивались живые объекты и фиксированные) в основном подтвердили наблюдения Ørskow (1927, 1938, 1942a, b) и Tang и соавторов (1935, 1936). Они установили, что в оптимальных условиях культивирования *M. mycoides* проходит в своем развитии ряд последовательных фаз. Основной репродуцирующейся единицей, или «начальной точкой роста» (Freundt, 1958), является сферическое или несколько вытянутое овоидное плотное или преломляющее свет элементарное тельце размером 130—220 мкм. Рост начинается с выростов из элементарных телец 4—5 тончайших однородных нитей длиной до 10 мк, заканчивающихся либо утолщением, либо сферическим, преломляющим свет тельцем. Нити разветвляются дихотомически и латерально, образуя мицелиальные структуры, затем в результате эндомицелиальной реорганизации возникают сферические тельца. Постепенное истончение нитей в промежутках между сферическими тельцами завершается появлением цепочечных форм, состоящих из сферических телец, как бы нанизанных на тончайшие нити. Далее происходит фрагментация цепочек с освобождением множества

новых сферических репродуцирующихся единиц, начинающих новый цикл развития. Фазы развития мицелиальных форм *M. mycoides* были описаны при анализе препаратов из культур, выращенных на жидкой среде.

Согласно Freundt (1958, 1969), микоплазмы можно дифференцировать по следующим показателям: 1) длине нитей; 2) частоте их раздвоения и 3) стабильности мицелия. Колонии микоплазм подразделяются на 3 типа: 1) А — содержащие длиннонитчатый мицелий; 2) В — скудно развивающийся мицелий с короткими нитями; 3) С — промежуточный тип.

На плотной питательной среде было труднее проследить морфологию микоплазм, чем на бульоне, так как колонии были представлены скоплениями гранул или коккобациллярных элементов, растущих в глубь среды и окруженных более плоской периферической зоной. Нитевидные элементы в зависимости от возраста колонии были гомогенными либо состояли из элементарных телец, обладающих броуновским движением. Обнаружение мицелиальных структур в каждой колонии зависело также от состава питательной среды и техники исследования. Они хорошо обнаруживались при электронной микроскопии (Hillier et al., 1948). *M. mycoides* var. *sarpi* менее изучена, однако образование коротких нитевидных структур было отмечено Klieneberger-Nobel (1962). Развитие коротких, ветвящихся нитей обнаружено и у других штаммов (Razin et al., 1967; Chu, Horne, 1967). Как указывает Freundt (1969), «для козьих штаммов характерны более короткие нитевидные структуры, чем для штаммов коровьего происхождения».

Изучение *M. agalactiae* также выявило сходство морфологии и фаз репродукции с *M. mycoides* и наличие более коротких нитевидных форм (Ørskow, 1942). Нитевидный рост без ветвления был также отмечен у *M. laidlawii* и *M. arthritidis*.

Изучение большего числа штаммов, выделенных от человека (Freundt, 1958, 1960, 1969), выявило ту же варибельность микроструктур, вместе с тем *M. hominis* 1 и *M. fermentans* отличались более короткими нитями, менее ветвящимися, чем у *M. mycoides* var. *mycoides*.

Нитевидные структуры обнаружены при фазово-контрастной микроскопии также у *M. pneumoniae*, выросшей на поверхности стекла (Somerson et al., 1967; Bredt, 1968, 1969). Bredt наблюдал эти структуры в условиях камер. Они были тонкими, длиной 2—5 мк и заканчивались вздутием. Из него, возможно, вырастали другие нити, хотя истинный мицелий, по-видимому, не развивался. Фрагментация нитей в нежные сферические тельца наблюдалась только в 4—7-дневных культурах и, вероятно, являлась признаком их дегенерации.

Результаты изучения морфологии птичьих штаммов (Yoder, Hofstadt, 1964) свидетельствуют о преобладании кокковидных, коккобациллярных и тоненьких палочковидных форм. Относительно короткие и тонкие нити наблюдались у серотипов Е и G, тогда как у типа К преобладали большие нитевидные структуры, впоследствии фрагментирующиеся.

При комбинированном исследовании (фазово-контрастная и электронная микроскопия) 48-часовой культуры *M. pulmonis* обнаружены короткие нитевидные структуры, не склонные к ветвлению. Репродукция осуществлялась терминальным почкованием и сегментацией нитей. Утолщения нитей иногда содержали хорошо выраженные овоидные плотные включения, близкие по размерам элементарным тельцам. В 72-часовой культуре преобладали большие плеоморфные клетки. *M. pulmonis* обладает истинной подвижностью (скольжение бациллярных элементов и постоянное вращение кокковидных форм). В этих же условиях у *M. neurolyticum* нитевидные формы не найдены.

Согласно концепции Klieneberger-Nobel (1962), ветвистые структуры необычны для нормальной морфологии микоплазм, которая характеризуется присутствием разных сферических тел. По мнению автора, основными жизнеспособными элементами являются мельчайшие гранулы, или минимальные репродуктивные единицы, сферической формы, размером 125 мкм, лишенные клеточной стенки, которые в условиях плотной среды разрастаются в виде каплеподобных клеток. Внедряясь в среду, они выглядят в виде плоских дискообразных или неправильной формы клеток, которые сегментируются и формируют микроколонию. В дискообразных клетках можно наблюдать дифференциацию цитоплазмы и ее концентрацию в тонкие сферы; появляются уплотненные зоны внутри элементов, которые частично или целиком окружают периферию клеток. Концентрированная цитоплазма внутри клеток продуцирует гранулы. Нередко гранулы формируют плотные цепочки по периферии материнской клетки, затем они освобождаются из материнской клетки, растут, образуя более крупные элементы. В результате микроколонию увеличивается в размерах, на ее периферии и вершине преобладают плоские клетки, центр проникает в глубь среды и состоит главным образом из множества мельчайших форм.

В условиях жидкой питательной среды рост микоплазм активизируется, мелкие гранулы развиваются в шарики, дископодобные тела, плеоморфные или ветвистые структуры, минимальные репродуктивные элементы достигают 250—300 мкм. Хотя размеры и форма их отличаются от клеток, растущих на плотной среде, сохраняется сходная тенденция развития. Уже после первого периода их роста и сегментации (деления) наблюдаются концентрация цитоплазматического вещества и развитие уплотнений на периферии, постепенно переходящих в шарики, дископодобные и плеоморфные клетки. В случае образования коротких нитей-тяжей вещество концентрируется только по полюсам. Если образуются длинные нити, концентрация материала распространяется по всей длине. Концентрация материала сопровождается формированием минимальных репродуктивных единиц. Если тяжи очень длинные, то образуются ряды гранул, если короткие, то появляются только 2 гранулы на концах; у плеоморфных клеток гранулы формируются по периферии. Обычная клетка микоплазм может продуцировать одну—две или много гранул соответственно своей форме и размерам. Эти гранулы снова растут и размножаются аналогично минимальным репродуктивным единицам на плотной питательной среде. Гранулы могут освобождаться и, наоборот, сохраняться соединенными с материнской клеткой, формируя при этом клетки разнообразной конфигурации.

Параллельное исследование фиксированных препаратов с помощью световой и электронной микроскопии осадков бульонных культур *M. hominis*, *M. arthritidis* и *M. gallisepticum* выявило зависимость преобладания тех или иных структур от метода исследования. Тем не менее, как считает Clark (1965), основной структурой микоплазм следует считать сферические тела, а не нитевидные структуры.

«Большие тела», по мнению Kang и Casida (1967), изучавших их методом флуоресцентной микроскопии, являются каплями липидов, которые могут быть либо продуктами метаболизма микоплазм, либо оградительными липидными мешками, защищающими минимальные репродуктивные единицы микоплазм. Своеобразие морфологии микоплазм отразилось на многолетней, но еще не завершенной дискуссии о том, какие из полиморфных структур следует считать основными жизнеспособными репродуктивными единицами. Следует отметить, что все эти данные были получены на уровне разрешающей возможности светового микроскопа.

Микоплазмы, выделенные от человека, по микроскопической структуре

мало отличаются от штаммов животного происхождения. Они также состоят из шаровидных, мицелиальных, субмикроскопических и фильтрующих форм и характеризуются сложной картиной размножения (Pulvertaft, 1953; Morton et al., 1954). Процесс размножения начинается с прорастания шаровидных тел нитевидными и мицелиальными формами и образования в нитях элементарных зернистых форм, которые могут разрастаться в шаровидные тела, дающие начало новым нитям. Иногда из элементарных частиц как бы выделяются тонкие волокна, достигающие 150 мкм, дающие образование новых элементарных частиц.

Следует признать, что морфология и размножение микроструктурных элементов микоплазм весьма многообразны и не исчерпываются приведенным выше описанием. В условиях жидких сред, как было указано, преобладают нитевидные, ветвистые формы и элементы неправильной конфигурации. Морфологические вариации этих структур зависят от фазы роста, сред и условий культивирования. При оценке морфологических особенностей микоплазм необходимо исходить из того, что они лишены плотной клеточной стенки, их цитоплазма труднее поддается окрашиванию, чем цитоплазма других микроорганизмов, особенно у молодых особей. Отдельные структурные элементы очень мягкие, хрупкие, легко разрушаются при приготовлении препаратов, фиксации и окрашивании и вместе с тем они весьма пластичны, вследствие чего принимают необычные формы в зависимости от физических свойств среды культивирования. Весьма интересно предположение о наличии «защитных липидных мешков», содержащих элементарные репродуцирующиеся тельца. Представленные описания и схемы более или менее верно отражают развитие микроструктур микоплазм, однако некоторая противоречивость отдельных положений этих работ, вероятно, связана с разнообразием методов исследования, сред культивирования, видов и штаммов изучавшихся микоплазм, находящихся в разных фазах роста, а также использования статических методов наблюдения.

Наиболее цельное представление о фазах роста, развития и размножения отдельных клеток у разных видов микоплазм можно получить при динамическом прижизненном их наблюдении. Такие наблюдения были проведены в нашей лаборатории (С. Г. Комм и др., 1965; Г. Я. Каган, 1967) методом фазового контраста и регистрировались с помощью центрифферной кино съемки. Объектами исследования служили *M. laidlawii*, *M. hominis* тип 1, *M. pneumoniae* FN и *M. sp.* — контаминант линии клеток HeLa. Все видимые в световом микроскопе морфологические формы на плотной среде (1,3% агара) можно было классифицировать следующим образом.

1. Шаровидные тела разной оптической плотности от темных гомогенных тел до преломляющих свет структур и вакуолизированные формы разных размеров (рис. 36, а). Эти формы наблюдались у всех испытывавшихся видов микоплазм, наиболее часто у *M. laidlawii* и *M. sp.* из клеток HeLa. У них подобные клетки нередко достигали очень больших размеров (рис. 36, б). Значительно реже и преимущественно в виде мелких форм встречались у *M. hominis* 1 и *M. pneumoniae* (рис. 36, в). Сферические тела преобладали при культивировании на плотных питательных средах.

2. Тела разных размеров, располагающихся по периферии и внутри колоний, все время меняющие конфигурацию. Эти структуры бывают гомогенными, а иногда содержат гранулы. Они встречались у всех испытанных нами видов микоплазм независимо от среды культивирования (см. рис. 36, а, б, в).

3. Зернистые массы неопределенной формы, растущие и сливающиеся (рис. 36, г), сферические тела, заполненные зернами и свободно лежащие

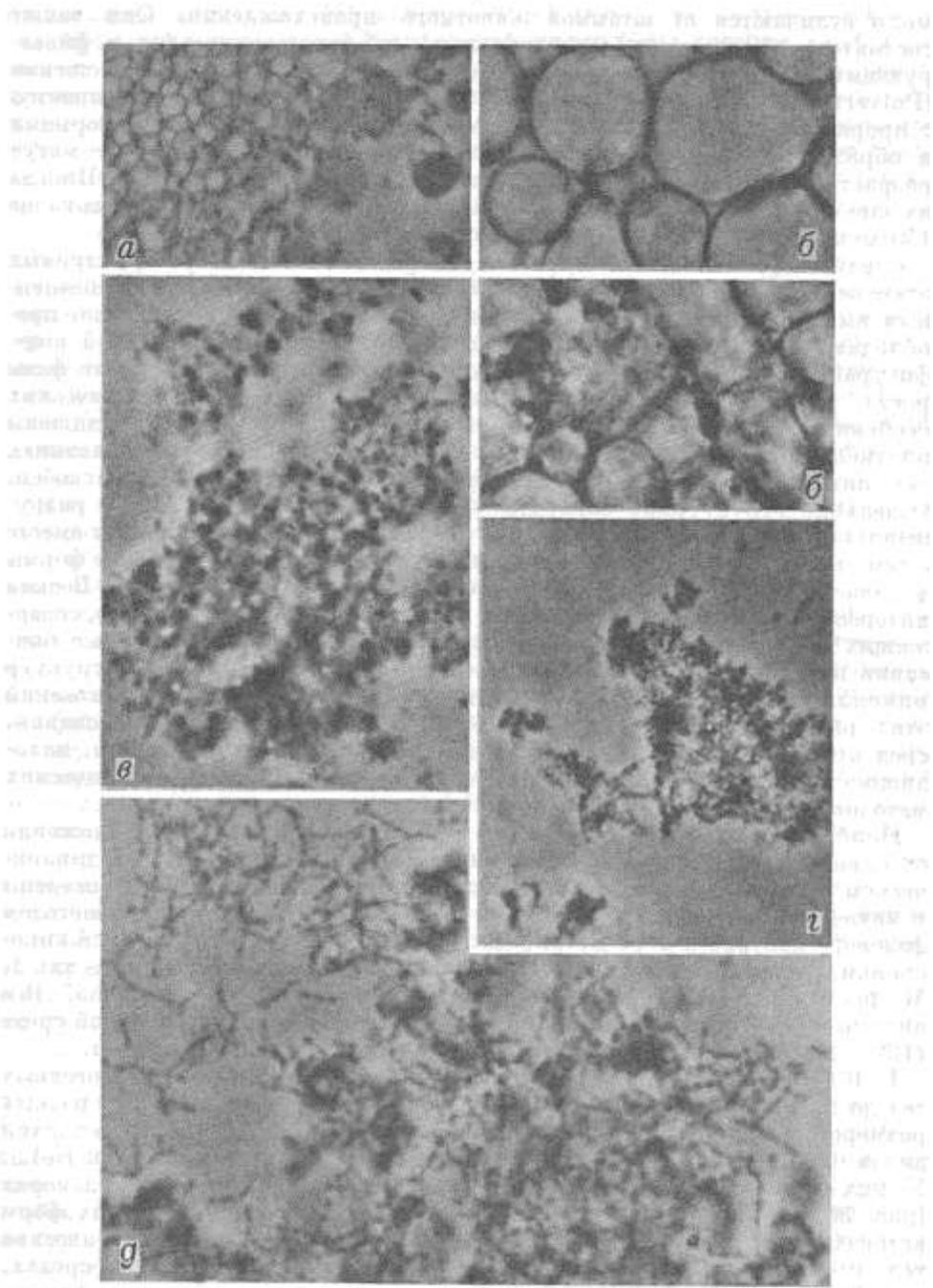


Рис. 36. Микроструктуры разных видов микоплазм. Ув. $\times 1350$.
 а — шаровидные тела различных размеров и разной оптической плотности *M. laidlawii*; б — гигантские вакуолизированные тела *M. sp.* HeLa; в — мелкие сферические формы *M. hominis* и не имеющие определенной формы тела; г — зернистые формы; д — ветвящиеся нитевидные формы и стрептококкоподобные формы.

зерна. Подобные структуры также встречались независимо от среды культивирования у всех испытанных нами видов микоплазм.

4. Нитевидные и ветвистые формы (тоненькие нити, густо покрытые мельчайшими гранулами, рис. 36, *д*), более плотные и прозрачные тяжи; в структуре их встречаются шаровидные и вакуолизированные формы и нити в виде бус. Такие стрептококкоподобные структуры, преобладавшие в условиях увлажненной среды, встречались у всех видов микоплазм, но особенно часто у *M. laidlawii*.

5. Мелкие изогнутые палочковидные и диплококкобациллярные формы.

Все перечисленные микроструктуры встречаются в колониях одновременно, иногда преобладают одни, иногда — другие. Они жизнеспособны, не отличаются стабильностью, в процессе роста меняют форму, размеры и лучепреломление. В ходе развития и размножения сферических клеток светлые вакуолизированные формы превращаются в оптически более плотные темные гомогенные тела. В последних появляются темные включения, напоминающие гранулы. В ряде случаев в них происходит вакуолизация. Нередко имеет место размножение в виде отпочковывания мелких сферических телец от вытянувшихся цитоплазматических выростов.

Весьма интересно развитие нитевидных структур, образующихся, вероятнее всего, за счет вытягивания терминальных участков сферических телец в тоненькие нити, соединяющие отдельные тельца (см. рис. 36, *д*). Отдельные элементы соединены со своим потомством тоненькими цитоплазматическими нитями, вследствие чего образуются цепочечные, бусоподобные или стрептококкоподобные формы. Следующей фазой репродукции является дезинтеграция этих форм, а также отпочковывание отдельных сферических дочерних клеток, начинающих новый репродуктивный цикл.

Аналогичные наблюдения сделаны были Razin и соавторами (1967). Нередко отмечалось также отпочковывание мелких сферических тел от образований неопределенной конфигурации.

Морфология микроструктурных элементов микоплазм и преобладание того или иного репродуктивного цикла у микоплазм разного видового происхождения зависят от условий и состава среды культивирования. Присутствие в среде холестерина, глицерина и сбалансированных смесей насыщенных и ненасыщенных жирных кислот способствует мицелиальному росту микоплазм (Freundt, 1952; Rodwell, Abbot, 1961; Razin et al., 1966, 1967). При добавлении повышающихся концентраций холестерина увеличивается число типичных мицелиальных колоний. На морфологию микроструктур и число колоний влияет вид применяемой сыворотки. Так, наличие в среде кроличьей сыворотки, бедной холестерином, обеспечивает минимальный рост колоний, а человеческая сыворотка, наиболее богатая холестерином, способствует обильному росту колоний; промежуточный эффект дают лошадиная и бычья сыворотка. Число сферических тел в условиях плотных питательных сред обратно пропорционально мицелиальным элементам. Разбухание гранул в шары зависит от рН среды, при уменьшении последнего увеличивается количество вакуолизированных и гранулярных форм, при этом резко уменьшается способность перевиваться в субкультурах. Это обстоятельство, а также распад больших тел на гранулы, по Freundt (1960), следует рассматривать как образование инволюционных форм, возникших вследствие повреждающего действия изменений рН среды. Это положение не разделяют другие исследователи (Klieneberger-Nobel, 1962).

При добавлении к бульону длинноцепочечных ненасыщенных жирных кислот (олеиновой, линоленовой, арахидоновой) наряду с увеличением титра микоплазм образуются длинные ветвистые формы. Длинные нити

и цепочки оставались даже в фазе отмирания, но отдельные кокковидные элементы в них становились растянутыми и тентовидными. В триптозном бульоне с 1% сывороточной фракции PPLO клетки *M. laidlawii* в ранней фазе логарифмического роста становились нитевидными, образовывали короткие ветвящиеся отростки, вскоре фрагментирующиеся в цепочки кокковидных элементов, которые в фазе отмирания дезинтегрировались и гибли.

Влияние на морфологию длинноцепочечных жирных кислот в среде культивирования наиболее полно изучено на *M. laidlawii* и в меньшей мере на других видах микоплазм, не растущих на средах без сыворотки. Так, известно, что в среде, содержащей все необходимые для роста микоплазм компоненты, *M. mycoides* var. *capri*, *M. neurolyticum*, *M. hominis*, *M. arthritidis* образуют длинные ветвящиеся нити, а *M. gallisepticum*, *M. bovigenitalium*, *M. gallinarum*, *M. agalactiae* var. *bovis* в логарифмической фазе роста представлены короткими отростками. Чем короче отростки, тем быстрее они дезинтегрируются на кокковые формы, размер которых может варьировать от 0,4 мк у *M. hominis* и *M. bovigenitalium* до 0,6—0,8 мк у *M. laidlawii*.

Обнаружена определенная зависимость морфологии микоплазм от фазы роста. Например, при культивировании *M. laidlawii* в триптозном бульоне без сывороточной фракции уже в течение логарифмической фазы роста обнаруживалось падение титра и образование коротких отростков, а затем цепочек кокков; в фазе отмирания преобладали тени больших клеток размером 10—20 мк, иногда располагавшиеся цепочками (Razin et al., 1967).

Морфология некоторых ферментативноактивных видов микоплазм *M. mycoides* или *M. laidlawii* зависит от концентрации глюкозы в среде культивирования. При повышенных концентрациях глюкозы образуются большие тела, впоследствии повреждающиеся в результате ферментации избытка глюкозы (Anderson et al., 1965a, b).

Невыясненными остаются репродуктивные возможности и размеры минимальных структур микоплазм. В связи с этим изучается субструктурная организация микоплазм, определяются размеры и упаковка их генома, плавучая плотность различных полиморфных структурных элементов, величина элементарных размножающихся единиц, а также их соответствие с плавучей плотностью, размерами генома и его упаковкой.

УЛЬТРАСТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ МИКОПЛАЗМ

Уже первые электронномикроскопические исследования (Weiss, 1944; Smith et al., 1948) установили в популяции разных видов микоплазм наличие разнообразных сферических тел, вакуолизированных форм, элементарных телец и ветвящихся нитевидных структур. Это способствовало еще большему обострению дискуссии о роли разнообразных микро-структур в жизненном цикле микоплазм.

Применение методики фиксации через агар, позволившей изучать разные участки одной и той же колонии (Liebermeister, 1953), дало возможность обнаружить в ее составе округлые и овальные тела (до 0,4 мк), чрезвычайно пластичные, которые иногда при изготовлении препаратов в силу сдвига агаровых блоков могли выглядеть в виде многоугольных, вытянутых и даже нитевидных структур. Последующие наблюдения одних авторов полностью или частично подтвердили данные Liebermeister о преобладании в культурах микоплазм сферических тел и элементарных корпускул и оценки нитевидных структур как возможных артефактов (Morton

et al., 1954; Klieneberger-Nobel, 1962) либо полностью опровергли их (Freundt et al., 1954, 1969). В результате использования методики негативного контрастирования подтверждено наличие в популяции микоплазм «элементарных телец» размером 0,1 мк (Anderson, Barile, 1965, 1966; Anderson, Manaker, 1966; Dmochowski et al., 1965, 1967; Reuss, 1967). Наиболее полные представления о структуре колоний микоплазм и ультраструктурной организации последних были получены при использовании электронной микроскопии ультратонких срезов (van Iterson, Ruys, 1960; Ruys, van Iterson, 1961; Domermuth et al., 1964a, b; Anderson, Barile, 1965; Moniloff et al., 1965a, b; Anderson, Manaker, 1966; Morowitz, Moniloff, 1966; Chu, Horne, 1967; Williams, 1967; Spanoghe et al., 1967; Anderson, 1969). Были установлены принципиальное сходство структуры колоний разных видов микоплазм, преимущественная локализация крупных шаровидных и нитевидных клеток на поверхности колоний, мелких и более плотных — в глубине.

Размеры зрелых форм варьировали от 400 до 1400 мкм, элементарных телец — от 75 до 250 мкм. У всех клеток обнаружена ограничительная трехслойная мембрана толщиной около 75 Å, состоящая из 2 электронноплотных и промежуточного электроннопрозрачного слоев. Внутри клеток имеется цитоплазма, в центре которой находится нуклеоид с ДНК-подобными нитями. Была выявлена двухспиральная структура ДНК у некоторых видов микоплазм (Bode, Morowitz, 1965, 1967; В. А. Мельников и др., 1968). Кроме того, в цитоплазме находятся рибосомы размером 150 Å.

Иногда у некоторых видов микоплазм отдельные клетки окружены образованиями липидной, полисахаридной или липополисахаридной капсулы. Они выявлены у *M. mycoides* var. *mycoides* (Plakett et al., 1963; Courlay, Thrower, 1968) и штаммов Т группы (Williams, 1967). Все виды микоплазм, по Domermuth с соавторами (1964a, b), дифференцируются по симметрии мембраны (табл. 12), которая определяется совпадением толщины ее внутреннего и внешнего слоя (асимметричная мембрана — внешний слой несколько толще внутреннего).

Внутри зрелых клеток микоплазм обнаружены интрацеллюлярные включения в виде «пустых сферических пузырьков» или электронноплотных включений; те и другие покрыты трехслойной мембраной.

Изучение включений в виде так называемых пузырьков или вакуолей позволило высказать предположение о том, что они являются стадией образования элементарных тел (Dmochowski et al., 1965; Anderson, Barile, 1965; Anderson, 1969; Dienes, Bullivant, 1967). Элементарные тела большинство исследователей рассматривают как основную репродуцирующую стадию в клеточном цикле микоплазм (Freundt, 1952a, 1958; Klieneberger-Nobel, 1962; Morowitz, Tourtellotte, 1962; Domermuth et al., 1964a, b; Clark, 1965; Dienes, Bullivant, 1967, 1968). Anderson (1969) предполагает, что они появляются в поздние сроки культивирования, когда в среде истощаются питательные вещества и накапливаются продукты метаболизма, т. е. образование элементарных тел является защитной функцией микоплазм и, возможно, именно они способствуют выживанию и репродукции микоплазм. Однако изучение роли элементарных тел в жизненном цикле *M. laidlawii*, культивируемой в мешочках для диализа, показало, что число клеток размером более 250 мкм совпадало с числом выросших колоний, а элементы меньших размеров, содержавшихся в большом количестве в старых культурах, оказались не способными к развитию колоний на плотных средах. Образование элементов размером 0,1—0,25 мк, возникающих преимущественно в стационарной фазе роста, является результатом неблагоприятного воздействия рН среды (Pollock et al.,

ТАБЛИЦА 12. СРАВНИТЕЛЬНЫЕ МИКРОСТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ МИКОПЛАЗМ РАЗНЫХ ВИДОВ (ПО DOMERMUTH ET AL., 1964).

| Виды изучающихся микоплазм | Возраст культур, дни | Клетки диаметром, мкм | | | Симметрическая (S) или асимметрическая мембрана (A) | Наружная формирующая мембрана* | Цитоплазматический включенный | |
|---------------------------------------|----------------------|-----------------------|---------------|----------|---|--------------------------------|-------------------------------|---------|
| | | элементарные тельца | зрелые клетки | | | | плотные тельца | вакуоли |
| | | | максимальные | средние | | | | |
| <i>M. agalactiae</i> | 3/4 | 210—210 | 750—1100 | 650—900 | A | + | — | + |
| <i>M. arthritidis</i> | 2 | 120—140 | 850—1200 | 490—750 | A | + | + | — |
| <i>M. canis</i> | 2 | 160—210 | 750—1300 | 560—750 | A | + | + | + |
| <i>M. fermentans</i> | 1 | 130—140 | 600—900 | 410—590 | S | — | + | + |
| <i>M. gallinarum</i> | 2 | 130—140 | 850—850 | 460—720 | A | + | + | + |
| <i>M. gallisepticum</i> JA | 4 | 170—190 | 900—1400 | 510—720 | A | + | + | — |
| <i>M. gallisepticum</i> W. | 4 | 120—190 | 850—1900 | 610—790 | A | + | + | — |
| <i>M. hominis</i> , t. <i>hominis</i> | 3 | 95—130 | 750—1200 | 430—750 | S | — | — | — |
| <i>M. hominis</i> «Самро» | 2 | 150—170 | 650—950 | 550—720 | A | + | + | — |
| <i>M. hyorhinis</i> | 3 | 130—140 | 690—1420 | 510—850 | A | — | + | — |
| <i>M. laidlawii</i> A | 1 | 130—160 | 690—1300 | 470—720 | S | — | + | + |
| <i>M. laidlawii</i> B | 1 | 120—140 | 650—900 | 500—650 | S | — | — | + |
| <i>M. mycoides</i> v. <i>mycoides</i> | 2 | 140—170 | 850—1000 | 480—690 | S | — | + | + |
| <i>M. mycoides</i> v. <i>capri</i> | 1 | — | 600—1000 | 460—670 | S | — | — | + |
| <i>M. neurolyticum</i> | 4 | 75—105 | 1400—1900 | 850—1008 | S | + | — | — |
| <i>M. pneumoniae</i> | 7 | 105—120 | 690—750 | 440—590 | A | + | + | — |
| <i>M. spumans</i> | 1 | 105—130 | 1200—1400 | 700—940 | A | — | + | — |
| Средние размеры клеток | | 132—153 | 802—1206 | 548—729 | | | | |

* Электронноплотные линии.

1963). При изучении *M. hominis* (Anderson, Barile, 1965), выращенной на жидкой питательной среде, обнаружено одновременное содержание «элементарных репродуцирующихся телец» размером 80—100 мкм и крупных вакуолизированных форм размером до 10 мкм, покрытых трехслойной мембраной. Внутренние компоненты больших структур (500—1000 мкм) переменны, имеют нуклеоидную область, рибосомоподобные гранулы и вакуоли, содержащие иногда микроформы.

У некоторых клеток обнаружены нитчатые отростки сложной структуры, в ряде случаев с колбовидными утолщениями. Авторы считают, что микроформы осуществляют репликацию микоплазмы в неблагоприятных условиях, образуются самыми разнообразными путями — сегментацией нитевидных форм, образованием четковидных форм, отпочковыванием от поверхности микоплазм наружу или внутри вакуолей. В зависимости от возраста культуры и условий культивирования преобладает тот или иной путь репродукции микоплазм. Господствует мнение о репродуцирующей функции элементарных телец в жизненном цикле микоплазм, однако пока еще никому не удалось получить их чистую фракцию и показать развитие и репродукцию элементарных тел в условиях эксперимента.

Morowitz с соавторами (1966) приводят данные о жизненном цикле *M. gallisepticum*, исследовавшемся с помощью электронной микроскопии.

седиментационного и химического анализа. Репродуцирующиеся клетки имели каплевидную форму и объем $5 \cdot 10^{-14}$ см³. На одном из концов клетки располагалось выпячивание в виде «пузырька» сложной внутренней структуры, отделенного от остальной части клетки так называемой околопузырьковой областью. Клетки были окружены цитоплазматической мембраной толщиной 110 Å, содержали ядерный материал в виде фибрилл ДНК (30 Å) и рибосомоподобные структуры (140 Å).

Перед делением на другом конце клетки, противоположном выпячиванию, появлялось другое выпячивание, в свою очередь отделенное вновь образующейся околопузырьковой областью, также имеющей зернистое строение. Затем наблюдалась сегрегация ядра на 2 части. Они расходились и между ними располагалась зона, содержащая рибосомы, формировалась перетяжка и образовывались две дочерние клетки.

Размеры ядерной области микоплазм, точнее размеры их генома, коррелируют с размерами геномов отдельных клеток.

Morowitz (1966, 1967, 1969) показал, что геном *M. hominis* H-33 состоит из единственной циркулярной двуспиральной ДНК с молекулярным весом $520 \cdot 10^6$ дальтон. У *M. laidlawii* содержание ДНК на одну колониюобразующую единицу КОЕ составляет $800 \cdot 10^6$ дальтон.

По данным В. А. Мельникова с соавторами (1968), нижний предел молекулярного веса ДНК *M. laidlawii* должен быть около $700-800 \cdot 10^6$ дальтон. Они обнаружили клетки с содержанием ДНК не менее $1,45 \cdot 10^9$ дальтон, по-видимому, в момент деления.

На основании этих данных В. М. Андреев (1969) произвел расчеты, из которых следует, что минимальные размеры 1 КОЕ у *M. laidlawii* могли бы составлять 1430—1680 Å и *M. hominis* 1180—1430 Å. Автор пришел к весьма важному выводу, что при содержании ДНК более $400 \cdot 10^6$ дальтон на 1 КОЕ диаметр элементарного тела должен превосходить 1200 Å. Следовательно, тела, диаметр которых варьирует в пределах 800—1200 Å, не могут быть колониюобразующими единицами, так как в приведенном расчете не были учтены другие компоненты клеток.

Совпадающие данные были получены Morowitz (1966, 1967). Таким образом, исходя из величины генома и допустимой плотности упаковки ДНК, размеры колониюобразующих единиц не могут быть менее 1300 Å.

Молекулярная биология микоплазм начала изучаться лишь в самое последнее время, имеющиеся пока ограниченные сведения наиболее полно представлены в обзоре Morowitz (1969) (табл. 13).

ТАБЛИЦА 13. РАЗМЕРЫ ГЕНОМА У МИКОПЛАЗМ [ПО MOROWITZ (1969) И В. А. МЕЛЬНИКОВУ И ДР. (1968)]

| Штамм | Размер | Метод | Авторы |
|-------------------------------|-----------------------|-------------------------|------------------------------|
| <i>M. arthritis</i> | 444×10 | Электронная микроскопия | Morowitz, Klein, 1967 |
| <i>M. hominis</i> H39 | 510×10^6 | То же | Bode, Morowitz, 1967 |
| <i>M. agalactiae</i> bovis | 685×10^6 | » » | Morowitz, Klein, 1967 |
| <i>M. gallisepticum</i> A5969 | 1000×10^6 | » » | Riggs, 1966 |
| <i>M. gallisepticum</i> A5969 | 1200×10^6 | Радиоавтография | Riggs, 1966 |
| <i>M. laidlawii</i> A. | 790×10^6 | » | Riggs, 1966 |
| <i>M. laidlawii</i> B. | 760×10^6 | » | Wepsie, 1967 |
| <i>M. laidlawii</i> | $780-800 \times 10^6$ | Электронная микроскопия | В. А. Мельников, и др., 1968 |

По размерам генома и числу цистронов микоплазмы располагаются между Т-фагами и *E. coli*. *M. gallisepticum* ближе к *E. coli*, *M. hominis* — ближе к Т-фагам (Morowitz, 1967). Наиболее точные сведения получены о *M. hominis*, кодирующей 637 цистронами. Все изученные виды микоплазм (*M. arthritidis*, *M. hominis*, *M. agalactiae bovis*, *M. gallisepticum*, *M. laidlawii* В., *M. laidlawii*) имеют циркулярные хромосомы, реплицирующиеся по полуконсервативному типу.

До настоящего времени нет сообщений о рекомбинациях у микоплазм. Данных о получении мутантов микоплазм пока очень мало; известны температурочувствительные мутанты *M. laidlawii* (Folsome, 1968) и *M. pneumoniae* (Chanock, 1970).

Трансдукция у микоплазм еще не описана. Лишь недавно получено первое сообщение о нахождении фага у *M. laidlawii* (Gourlay, 1970). Опыты по трансформации с использованием стрептомицинрезистентных мутантов *M. laidlawii* А и В показали, что ввиду нестабильности стрептомицинрезистентности полученный феномен нельзя отнести к истинной генетической трансформации (Iha et al., 1967; Folsome, 1968).

ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ И БИОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МИКОПЛАЗМ

Представленные в этом разделе краткие сведения о химическом составе микоплазм, особенностях их метаболизма, чувствительности их к поверхностно-активным агентам и фазам роста, по нашему мнению, характеризуют именно те черты физиологии и биохимии микоплазм, которые имеют непосредственное отношение к систематике и поведению микоплазм при их паразитировании в макроорганизме. Более подробные данные приведены в обзорных работах Smith (1964, 1967a, b, 1969), Rodwell (1965), Razin (1969), Tourtellotte (1969), van Demark (1969).

ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ, ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЗМА

Цитоплазматическая мембрана микоплазм состоит из липопротеиновых субъединиц, соединенных друг с другом неполярными и полярными связями; в сохранении их целостности большую роль играют двухвалентные и поливалентные катионы (Smith, 1964, 1967a, b; Terry et al., 1967; Razin, 1967a, b, 1969a, b; Rottem et al., 1968).

При дезинтеграции микоплазм с помощью ультразвука и последующем центрифугировании мембраны микоплазм седиментируются в осадке; помимо липопротеинов, найдены фосфолипиды с включением стероидов.

Липидные компоненты мембраны микоплазм более изучены, чем другие мембранные компоненты. Полярные липиды составляют большую часть мембранных липидов. Липидная структура мембраны подвержена значительным вариациям в зависимости от липидного состава среды культивирования. Вариации в среде культивирования могут влиять на физические свойства мембраны, что проявляется в изменении морфологии и осмотической хрупкости клеток микоплазм. Мембраны микоплазм более эластичны и стабильны, чем мембраны бактериальных протопластов.

Вероятно, одним из наиболее решающих факторов стабильности и эластичности мембраны микоплазм является холестерин — главный липидный компонент так называемых паразитических микоплазм. Содержание значительных количеств холестерина сближает мембраны микоплазм с мембранами животных клеток, тем не менее по энзиматической активности мембраны микоплазм ближе мембранам бактериальных протопластов.

Показано, что все виды микоплазм, кроме стериннезависимых, нуждаются для нормального роста в холестерине, который включается из среды культивирования в липиды мембран. Однако и в клеточной мембране стериннезависимых микоплазм содержатся холестерин и некоторые каротиноиды (Razin, 1967a, b; Razin, Tully, 1970; Tully, Razin, 1970).

Недавно, помимо *M. laidlawii*, были выявлены еще два стериннезависимых вида микоплазм: *Acholeplasma granularum* и *A. axantum* (Tully, Razin, 1969, 1970). По-видимому, говоря о стериннезависимых микоплазмах, следует иметь в виду не только данные три вида микоплазм, но и другие, может быть, еще неизвестные виды, которые впоследствии будут объединены в одну группу по отношению к стеринам. В настоящее время они объединены в семейство *Acholeplasmataceae*.

В экстрактах липидов такой стериннезависимой микоплазмы, как *M. laidlawii*, и ряда патогенных видов, помимо свободного холестерина, был обнаружен этерифицированный холестерин (Argman, Razin, 1965; Razin, 1967a, b).

По Razin (1967a, b), холестерин может выполнять несколько функций: 1) оказывать детоксирующее действие на жирные кислоты, лизирующие микоплазмы; 2) служить источником энергии; 3) обеспечивать структурную целостность микоплазм, являясь важнейшим компонентом липопротеинов цитоплазматических мембран; 4) способствовать проникновению жирных кислот в клетки и их утилизации.

Глицерин, холестерин и высокомолекулярные насыщенные и ненасыщенные жирные кислоты необходимы также для синтеза клеточных компонентов. Холестерин может быть заменен стероидами и каротиноидами (Rodwell, Abbot, 1964; Henrikson, Smith, 1966).

Изучение потребности микоплазм в фосфолипидах показало, что любой поверхностно-активный агент (фосфолипид соли желчных и жирных кислот с длинной цепью) стимулирует их рост. Фосфолипиды являются агентами, растворяющими нерастворимые в воде липиды. Они выполняют функцию растворителя стеринов, которые легче включаются в цитоплазматическую мембрану (Smith, 1960a, b, 1962, 1963a, b, 1964).

M. laidlawii и *M. gallisepticum* включают C^{14} -ацетат из среды культивирования в полярные липиды, *M. hominis* и *M. orale* — в нейтральные липиды, а *M. mycoides* var. *mycoides* и *M. fermentans* не включают ацетат. Большая часть радиоактивного ацетата была обнаружена в жирнокислотной фракции липидов *M. laidlawii*. Значительная часть включенного ацетата используется *M. laidlawii* для синтеза жирных кислот. Коэнзим А, Mg^{++} и глюкоза необходимы *M. laidlawii* для включения ацетата. Пируват усиливает его включение в липиды *M. laidlawii* (Rottem, Razin, 1967a).

Как известно, патогенные виды микоплазм нуждаются в сыворотке млекопитающих, из которой они используют наряду со стеринами, фосфолипидами и ацетонрастворимыми липидами и белковый компонент (Edward, 1954, 1960; Smith, 1955a, 1957a, b, 1960b, 1964; Razin, 1967a, b). Белковый компонент сыворотки имеет низкий молекулярный вес и состоит из 8 аминокислот с преобладанием лейцина, глицина, аргинина и лизина.

Потребность микоплазм в белке носит избирательный характер, так как не каждый белок может поддерживать рост микоплазм. Белок, экстрагированный Smith (1960a, b), может быть заменен сывороточным альбумином и β -лактоглобулином со следами липопротеина. Rodwell (1956, 1960, 1969) также выделил из лошадиной сыворотки белок, близкий белку, выделенному Smith.

По Smith, Baughton (1960), Rodwell и Abbot (1961), к основным функциям липопротеинового фактора сыворотки следует отнести способность белка поддерживать рост микоплазм, регуляцию потребления стерина и детоксикацию литического действия агентов, обладающих поверхностной активностью.

Подобно бактериям, микоплазмы содержат от 31 до 59% белка; белковый гидролизат состоит из 17 разных аминокислот, причем ДАП не обнаружена (Lynn, 1960; Tourtellotte et al., 1963; Smith, 1964; Razin, 1969). Белки мембран микоплазм выполняют сложную структурную и каталитическую функции; их можно освободить из липопротеинового компонента путем экстрагирования либо воздействием детергентов. Синтез белка из свободных аминокислот у микоплазм осуществляется, как и у других свободно живущих микроорганизмов (Tourtellotte, 1969).

Razin (1967a, b, 1969a, b) по аналогии с бактериями полагает, что многие из рибосом микоплазм тесно связаны с клеточной мембраной и формируют функциональные единицы активности белкового синтеза.

Белковый компонент мембраны микоплазм включает многие ферменты, играющие роль в транспорте метаболитов.

Изучение структурных белков мембран с помощью электрофореза в полиакриламидном геле выявило для каждого вида микоплазм определенные, присущие лишь данному виду зоны электрофореза. Четкие межвидовые различия и внутривидовое сходство белков мембран микоплазм позволили использовать их для таксономической идентификации микоплазм (Rottem, Razin, 1967a, b; Razin, 1968, 1969a, b; Razin et al., 1970).

Серологические свойства мембранных белков мало изучены, предварительные данные (Razin, 1969a, b) показывают, что их антигенность связана с гидрофобным компонентом.

Количество углеводов у микоплазм варьирует в зависимости от вида. Так, у *M. mycoides* var. *mycoides* почти 10% сухого веса составляет галактан. Сложный полисахарид — глюкан обнаружен у микоплазм, выделенных от коров. У других видов выявляются лишь следы рибозы, галактозы, глюкозы и маннозы (Plakett et al., 1963). В процессе роста микоплазмы нуждаются в углеводах, которые являются источником углерода и обеспечивают их энергетические потребности (Razin, Knight, 1960b; Rodwell, 1960; Smith, 1963a, b, 1964, и др.). В результате изучения характера роста микоплазм на среде с 1% глюкозы в стационарных условиях и в условиях встряхивания установлены одинаковые кривые роста у микоплазм, ферментирующих и не ферментирующих этот сахар. Кривая роста не зависела от условий культивирования; уменьшение содержания глюкозы сопровождалось снижением pH. Потребление глюкозы было одинаковым у разных видов, например *M. gallisepticum* и *M. canis* потребляли 250—300 мг%, *M. laidlawii* — 160 мг% (Skalka, Krejler, 1968).

Еще в 1957 г. Lynn и Smith провели сравнительное изучение нуклеотидного состава *M. hominis* и *M. gallisepticum*. Несколько позже у 4 микоплазм было установлено, что нуклеотидный состав их отличается низким содержанием Г+Ц (Neimark, Pene, 1965; Neimark, 1967). Исследовалась группа ферментативно активных микоплазм, накапливающих молочную кислоту: *M. mycoides*, *M. pneumoniae* и ферментативно инертные штаммы *M. neurolyticum*. Содержание Г+Ц колебалось в пределах 24—27% от общей суммы азотистых оснований, т. е. было чрезвычайно низким, что не свойственно бактериальной ДНК. У *M. pneumoniae* содержание Г+Ц составляло 39%, т. е. было наиболее высоким, приближающимся к содержанию Г+Ц в клетках *Lactobacillaceae*, *Haemophilus pleuropneumoniae* и стрептококков. Последующие исследования подтвердили эти наблюде-

ния. Процент Г + Ц у разных видов микоплазм колеблется в пределах 22,8—39 (Folsome, 1968; McGee et al., 1967). Так, у *M. laidlawii* содержание Г + Ц-пар составляет 33,46, у *M. laidlawii* В — 35,5, у *M. canis* — 33, у *M. hominis* 2—33,9, у *M. hominis* 2, штамма Н-39 — 31,7—39, у *M. gallinarum* — 27,7, у других штаммов птичьего происхождения — 24—35,7, у *M. bovigenitalium* — 33%. Эти данные показывают, что процентное отношение Г — Ц-пар в составе некоторых далеко стоящих друг от друга микоплазм совпадает (например, *M. laidlawii* и *M. bovigenitalium* или *M. pneumoniae* и *M. hominis* тип 2, штамм Н-39).

Изучение гомологии нуклеиновых кислот у *M. hominis* 2 и *M. arthritis* выявило их родство. *M. salivarium* оказалась родственной двум штаммам микоплазм, выделенным от обезьян; 4 штамма микоплазм, выделенных из тканевых культур, зараженных материалом из человеческого опухолей, не отличались друг от друга и от *M. hyorhinis*. Микоплазма CW (агент Negroni) и другая микоплазма (№ 880), также выделенная из опухолевого материала, были родственны между собой и *M. pulmonis* (Somerson et al., 1966; Somerson, Weissman, 1969). Помимо приведенных данных о межвидовом сходстве некоторых видов микоплазм, имеются сведения и о внутривидовых различиях. Например, Reich с соавторами (1966) при изучении *M. pneumoniae*, *M. hominis* 1 и 2, *M. orale* 1 и 2, *M. fermentans* и *M. salivarium* выявили видовые генетические различия; сравнение трех штаммов *M. pneumoniae* показало их идентичность. В то же время аналогичное изучение трех штаммов *M. salivarium* свидетельствовало об их различии.

Анализ гомологии ДНК, на наш взгляд, не может служить единственным критерием для видовой идентификации микоплазм; он может использоваться лишь в сочетании с другими критериями.

Поскольку в начальных фазах роста микоплазм на искусственных средах затруднен синтез нуклеопротеидов, они нуждаются в добавлении мучина, ДНК и РНК. *M. hominis* 07 необходимы РНК и ДНК. При культивировании микоплазм на плотной среде нуклеиновые кислоты и пурины можно заменить гуанином, урацилом, цитозином, рибозой и дезоксирибозой. При культивировании их в жидких средах потребность в предшественниках нуклеиновых кислот может быть удовлетворена смесью дезоксиаденозина, дезоксигуанозина, дезоксицитидина и тимидина (Smith, 1964); *M. laidlawii* также нуждается в РНК и ДНК (Razin, Knight, 1960a). По данным Rodwell и Abbot (1961), нуклеиновые кислоты в средах культивирования *M. mycoides* можно заменить их предшественниками — пуриновыми и пиримидиновыми основаниями.

По способности ферментировать углеводы микоплазмы подразделяют на 3 группы: 1) ферментативно активные стериннезависимые (*M. laidlawii*); 2) ферментативно активные стеринзависимые (*M. mycoides* var. *mycoides* и другие микоплазмы коров, большая часть микоплазм коз, овец, грызунов, птиц и 2 вида микоплазм человека — *M. pneumoniae* и *M. fermentans*); 3) ферментативно неактивные (*M. hominis* 1 и 2, *M. salivarium* и *M. arthritis*, *M. agalactiae* и некоторые штаммы, выделенные от мышей). Все микоплазмы групп 1 и 2 ферментируют глюкозу, фруктозу, маннозу, мальтозу, крахмал гликоген с образованием кислоты, не ферментируют лактозу и пентозы, характеризуются наличием цикла Эмбдена — Мейергофа. У двух видов этих групп микоплазм (*M. laidlawii*, *M. gallisepticum*) выделена β-гликозидаза, связанная с клеточной мембраной, у ферментативно инертных микоплазм (*M. hominis* 07) этот фермент не обнаружен (Henriksen, Smith, 1964).

Добавление к средам 0,002% метиленового синего или 2,3,5-трифенилтетразолхлорида способствует селекции таких ферментативно активных ми-

коплазм, как *M. laidlawii* и *M. pneumoniae* (Kraybill, Crawford, 1965, 1967).

Ферментативно активная группа микоплазм имеет ряд ферментных систем: НАДН₂-оксидазу, НАДФН₂-оксидазу, лактатдегидрогеназу, весьма также вероятно, сукцинатдегидрогеназу и диафоразы.

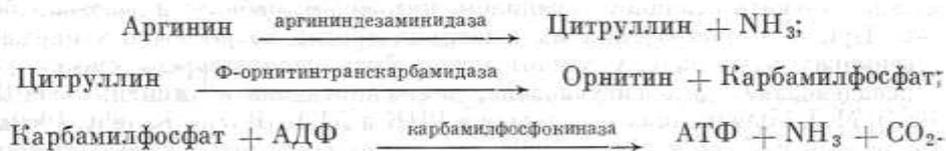
У ферментативно инертной группы дополнительно содержатся цитохром-с-редуктаза, цитохромоксидаза и каталаза.

Группа ферментативно инертных микоплазм не ферментирует глюкозу, фруктозу, маннозу, мальтозу, крахмал и гликоген, восстанавливает тетразоловые соединения, способна окислять лактат и в слабой степени глутамат, α-кетоглутарат, а также формиат. Максимальная активность отмечена в отношении одноатомных спиртов с короткой цепью и жирных кислот с короткой цепью — соли масляной, каприловой и валериановой кислот (Smith, 1964).

Изучение липолитической активности микоплазм выявило видовую избирательность этого признака. Выяснено, что у них разная липолитическая активность. При культивировании на среде с pH 7,5 *M. laidlawii* обладала низкой липолитической активностью, *M. gallisepticum* — высокой, особенно в логарифмической фазе роста. Липолитическая активность не связана с клеточными мембранами и при разрушении клеток микоплазм переходит в растворимую фракцию.

У некоторых видов микоплазм изучен азотистый обмен. Так, известна способность разных штаммов *M. mycoides* расщеплять белки (Rodwell, 1960); некоторые штаммы вызывают образование сероводорода и аммиака (Freundt, 1958). Микоплазмы не восстанавливают нитраты и не образуют индол. Некоторые штаммы микоплазм, выделенные от людей, утилизируют аргинин, нистатин, глутаминовую и аспарагиновую кислоты, в условиях аэробноза медленно утилизируют гистидин, лейцин, в условиях анаэробноза — тирозин и триптофан.

Аргинин (Schimcke, Barile, 1963; Smith, 1964) расщепляется с помощью аргининдегидролазной системы ферментов следующим образом:



Расщепление аргинина и глутамина обнаружила Powelson (1961) в клеточных культурах, зараженных овечьими штаммами микоплазм.

Исследование способности расщеплять аргинин, проведенное у 61 штамма 18 видов микоплазм, показало целесообразность использования этого признака как для идентификации микоплазм, так и для сравнения этой группы микроорганизмов с некоторыми вирусами, бактериями и риккетсиями (Barile et al., 1966).

Результаты этого исследования показали, что быстрое превращение аргинина в орнитин в контаминированной микоплазмами культуре ткани обусловлено наличием трехэнзимной аргининдегидролазной системы. Были разработаны пропись соответствующей среды и методика определения аргининдегидролазной активности. 56% испытуемых культур оказались положительными по аргининдегидролазному признаку; разные штаммы в пределах одного вида давали одинаковые результаты. К группе аргининдегидролазноактивных микоплазм отнесены *M. hominis* 1, 2, *M. fermentans*, *M. orale*, *M. salivarium*, *M. gallisepticum*, *M. iners*, *M. spumans*, *M. maculosum*, *M. arthritidis*. Аргининдегидролазной системы

ферментов лишены микоплазмы *M. pneumoniae*, *M. gallisepticum*, *M. canis*, *M. hyorhinae*, *M. pulmonis*, *M. neurolyticum*, *M. laidlawii*.

На среде, содержащей аргинин, активные виды микоплазм росли интенсивней, чем инертные виды микоплазм. Аргининдегидролазная система ферментов не обнаружена в клетках млекопитающих, у риккетсий, возбудителя пситтакоза; она найдена у стрептококков, лактобактерий, кластридий, псевдомонас и большого количества микоплазм; 39 штаммов микоплазм — контаминантов культур клеток — отнесены к группе активных.

Анализ данных, характеризующих азотистый обмен микоплазм, показывает, что их можно также дифференцировать по способности продуцировать ферменты типа уреаз, например T-штаммы расщепляют мочевины (Clyde et al., 1967).

Впервые Lynn и Smith (1957) обнаружили ферментативную активность *M. hominis* 07 в отношении составных компонентов нуклеиновых кислот. Этот вид микоплазм содержит фосфорилазу нуклеозида, вызывающую фосфорилитическое расщепление тимидина, дезоксиинозина, дезоксиаденозина и дезоксигуанозина с освобождением свободного основания и фосфорилированной дезоксирибозы. Один штамм микоплазм, выделенный от человека, способен превращать аденин в гипоксантин, а цитидин — в уридин (Smith, 1964). Фосфодиэстераза и аденозинотрифосфатаза найдены у *M. mycoides* (Plackett, 1959, 1964; Rodwell, 1960). О наличии ферментов, расщепляющих ДНК и РНК, у *M. laidlawii* сообщили Razin и Knight (1960a).

Вполне вероятно, что знание ферментативной активности микоплазм в отношении нуклеиновых кислот и их составных компонентов позволит использовать эту их особенность в качестве дифференцирующего видового признака.

Исследование продуктов метаболизма микоплазм, связанных с их патогенностью, выявило несколько токсических субстанций. Наиболее изучен истинный экзотоксин *M. neurolyticum*, являющийся термолabileм белком с молекулярным весом выше 200 000. Он быстро прикрепляется к рецепторам астроцитов мозга.

По способности продуцировать гемолизин микоплазмы дифференцируются на виды, вызывающие: 1) β -гемолиз, например, *M. pneumoniae*, *M. laidlawii*; некоторые микоплазмы, выделенные из лейкозного материала; 2) α -гемолиз и 3) не вызывающие гемолиза. Гемолитические свойства микоплазм и их ферментативную активность используют для селекции видов. Так, для культивирования *M. pneumoniae* применяют двухслойную среду с добавлением эритроцитов (Somerson et al., 1963, 1965). Гемолитическая активность по отношению к эритроцитам морской свинки у *M. pneumoniae*, *M. hominis*, *M. orale* 1, 2, 3, *M. salivarium*, *M. fermentans* (штаммы, выделенные от человека), а также *M. gallisepticum*, *M. pulmonis* и *M. neurolyticum* (микоплазмы птиц и грызунов) подавляется ферментами типа каталазы и пероксидазы. Это позволило установить, что гемолизин является перекисью водорода (H_2O_2). Самая высокая активность обнаружена у *M. pneumoniae* (Sobeslavsky, Chanock, 1968; Brennan, Feinstein 1969).

Перекись водорода вызывает окислительные повреждения мембраны эритроцитов. При продукции больших количеств перекиси водорода она не успевает разрушиться каталазой и пероксидазой внеклеточных жидкостей. Появление аутоантител у больных при *M. pneumoniae*-инфекции связывают со способностью *M. pneumoniae* к гемадсорбции и освобождению больших количеств перекиси водорода.

Как уже указывалось выше, *M. mycoides* var. *mycoides* отличается от других микоплазм наличием галактановой капсулы. Экстрагированный

галактан сходен по патогенному действию с эндотоксином грамотрицательных бактерий (пирогенность, способность вызывать лейкопению у крупного рогатого скота).

Микоплазмы имеют ряд ферментов, нарушающих нормальный метаболизм клеток. Так, аргининдегидролазные ферменты разрушают необходимый для жизни клеток аргинин; содержащаяся у микоплазм нуклеозидфосфорилаза вызывает расщепление в клетках тимидина и тем нарушает их нормальное размножение.

Некоторые морфологические и физиологические признаки микоплазм человека приведены в табл. 14.

ТАБЛИЦА 14. ТАКСОНОМИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ МИКОПЛАЗМ ЧЕЛОВЕКА (ПО HAYFLICK И CHANOCK, 1965)

| Вид микоплазм | Рост | | | Скорость роста | Морфология колоний | Ферментация глюкозы | Гемолиз эритроцитов | Гемадсорбция | Аэробная редукция тетразола |
|---------------|------------|----------|-----------------------------------|----------------|--|---------------------|---------------------|--------------|-----------------------------|
| | анаэробный | аэробный | потребность в дрожжевом экстракте | | | | | | |
| M. hominis 1 | + | + | — | Высокая | «Яичница-глазунья» | — | Медленный | — | — |
| M. hominis 2 | + | + | — | » | То же | — | То же | — | — |
| M. salivarium | + | — | — | » | » » | — | » » | — | — |
| M. orale 1 | + | ± | + | Умеренная | «Яичница-глазунья», с небольшой периферической зоной | — | » » | — | — |
| M. orale 2 | + | ± | — | Умеренная | Зернистая | + | » » | — | — |
| M. fermentans | + | ± | — | Умеренная | Зернистая | + | Быстрый | + | + |
| M. pneumoniae | + | + | + | Низкая | Часто без периферической зоны | + | Быстрый | + | + |
| T-штаммы | + | — | + | Высокая | Очень мелкие колонии | 2 | — | + | + |

В настоящее время эти данные могут быть дополнены другими характеристиками (отношение к аргинину, предшественникам нуклеиновых кислот, рН среды культивирования, ее осмотическое давление и др.).

Описанные выше особенности структур, химического состава и метаболизма микоплазм послужили основанием для конструирования эффективных сред их культивирования. Существует значительное число разнообразных сред, используемых для культивирования разных видов микоплазм. Основой этих сред является триптический перевар сердечной мышцы быка, триптиказо-соевый бульон, триптический перевар сердца и мозга и т. д. К основной среде в зависимости от культивируемых видов добавляют (в различных количествах) дрожжевой гидролизат, разные аминокислоты, углеводы (чаще всего глюкозу), нуклеиновые кислоты или их предшественники, витамины и нормальную лошадиную сыворотку и некоторые другие вещества (Edward, 1954; Morton, 1959; Dienes, 1960; Hayflick, 1960b; Law, Eaton, 1965; Falberg et al., 1966; Kraybill, Crawford, 1967; Shepard, 1967; Taylor-Robinson et al., 1969; Sammons et al., 1969). Так, ДНК из тимуса теленка и нуклеиновые кислоты бактерий и животных тканей стимулируют рост микоплазм, особенно M. orale 1,

фракция кислого мукополисахарида — муцин ускоряет рост *M. salivarium* и *M. orale* и не влияет на *M. pneumoniae*; L-глутамин, L-лизин, L-метионин, L-фениламин, L-треонин и L-аргинин усиливают рост микоплазм (Nakamura, Sakamoto, 1968).

Добавление к агаровым средам диэтиламиноэтилдекстрана стимулирует рост *M. gallisepticum*, *M. pulmonis*, штаммов Pg-34 и 88a. Это действие препарата, возможно, связано с его способностью связывать и осаждать сульфатированные полисахариды, подавляющие рост микоплазм в агаре (Taugasowicola, 1967). Предложен также ряд полусинтетических и синтетических сред (Medill, O'Kane, 1954; Pollack, et al., 1965; Rodwell, 1965, 1969b и др.)

Известны потребности некоторых видов микоплазм в витаминах. Так, *M. laidlawii* В нуждается в никотиновой кислоте, рибофлавине, фолиевой кислоте, пиридоксине, пиридоксале, тиамине, инозите и холине. Для роста *M. mycoides* необходимы пантотеновая кислота, рибофлавин, пиридоксаль, никотинамид, тиамин, биотин, α -липоевая кислота, инозит и холин. Штаммы микоплазм, выделенные от людей, нуждаются в холине, инозите, биотине, фолиевой и пантотеновой кислотах, пиридоксине и тиамине (Razin, Knight, 1960; Rodwell, Abbot, 1961; Smith, 1964, 1967).

Kunzel и Meisner (1968) обнаружили, что стерилизация компонентов среды с помощью пропиолактона В способствует интенсификации роста микоплазм.

Микоплазмы в зависимости от их видовой принадлежности культивируются в аэробных условиях, в условиях повышенной аэрации путем встряхивания (Law, Eaton, 1965; Pollack et al., 1965; Somerson et al., 1967, и др.) или анаэробно.

В нашей лаборатории (С. В. Прозоровский и др., 1965; В. И. Васильева и др., 1969) установлено, что анаэробные условия культивирования наиболее благоприятны для выделения микоплазм из зубодесневых карманов больных пародонтозом, тогда как оптимум роста *M. pneumoniae* отмечен в условиях максимальной аэрации.

Особое значение имеет метод Somerson и соавторов (1967), позволяющий получать большие массы *M. pneumoniae* путем выращивания этого возбудителя на поверхности стекла. Среда культивирования легко удаляется без нарушения целостности колоний, прилипших к стеклу. Таким образом может быть получена концентрированная масса микоплазм без центрифугирования.

БИОФИЗИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА. ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К ФИЗИЧЕСКИМ И ХИМИЧЕСКИМ ВОЗДЕЙСТВИЯМ. ФАЗЫ РОСТА

Результаты изучения биофизической характеристики микоплазм — формы, размеров и пловучей плотности, пластичности и чувствительности к факторам физического (температурным, механическим, осмотическим) и химического воздействий (рН среды, состав среды, действие поверхностно-активных веществ) свидетельствуют о гетерогенности микоплазм и их некоторых отличиях от структурно сходных микробных вариантов, лишенных клеточной стенки.

Clyde (1969) дифференцирует микоплазмы в зависимости от их способности образовывать нити и мицелий на 3 группы: 1) не образующие нитевидных структур или редко образующие их (*M. pneumoniae*, T-штамм); 2) дающие рост коротких нитей до 2 мк (большинство микоплазм человека); 3) нитеобразующие, ветвящиеся нити длиной 4—8 мк (*M. orale*). Эта классификация совпадает с I и II группой классификации Freundt.

Обе они условны, так как микоплазмы по форме и размерам отдельных клеток весьма гетерогенны. Преобладание тех или иных структур зависит от фазы роста, условий культивирования и состава среды. У молодых культур в жидких средах преобладают нитевидные формы и мицелиальный репродуктивный цикл, в условиях плотных сред — сферические элементы, их почкование и деление; у старых культур нитевидные формы чаще всего репродуцируются путем дезинтеграции цепочек, сферические — путем образования элементарных телец.

Изучение полиморфных клеточных популяций микоплазм, выяснение клеточного цикла и репродуктивных возможностей отдельных клеток, в том числе элементарных телец, должно базироваться на исследовании однородных структур по таким характеристикам, как плотность и размеры. Представляется необходимым выделение фракции элементарных телец и последующее прослеживание их клеточного цикла при условии роста в искусственных питательных средах. Для выделения этой фракции нужно изучить и фракционировать популяции по пловучей плотности и размерам структурных элементов. Первым этапом подобного исследования явилось изучение отдельных фракций гетерогенных популяций *M. laidlawii*, проведенное Mogowitz и Tourtellotte (1962) и нашей лаборатории совместно с Институтом химической физики АН СССР В. А. Мельниковым и И. В. Раковской (1969, 1971). Применение изопикнического зонального центрифугирования в градиенте плотности урографина (В. А. Мельников, И. В. Раковская, 1971) и сахарозы (Altucci et al., 1968) позволило разделить гетерогенную популяцию *M. laidlawii* (первые авторы) и неидентифицированного штамма микоплазм (вторые авторы) на отдельные фракции. Несмотря на то что основную массу популяции *M. laidlawii* разного возраста составляют клетки с плотностью $1,19 \pm 0,015$ г/см³, все они весьма гетерогенны и варьируют от 1,015 до 1,35 г/см³.

Независимо от возраста популяции характер распределения жизнеспособных клеток в градиенте постоянен. Пловучая плотность *M. laidlawii* для значительной части клеток больше, чем у бактерий. Фильтрованием популяций *M. laidlawii* через миллипоровые фильтры (0,2) не удалось определить размеры клетки как в цельной культуре, так и в отдельных фракциях после центрифугирования в градиенте плотности. Кривые роста отдельных фракций оказались сходными между собой и кривой роста цельной гетерогенной популяции. Последующее центрифугирование в градиентах плотности популяций, выросших после посева клеток из отдельных фракций, выявило в них уже через 20 часов присутствие клеток всех плотностей. Характер их распределения говорит о получении гетерогенной популяции.

Оптимальные температура культивирования микоплазм и pH среды варьируют в зависимости от их видовой принадлежности. Так, температурный оптимум для большей части патогенных видов микоплазм человека и животных соответствует 37°, *M. laidlawii* — 30° (Laidlaw, Elford, 1936), микоплазм птиц — 38° (Gill, 1962), T-штаммов — 36° (Ford, 1962, 1966; Kim et al., 1966) и т. д.

Изучение температурной чувствительности микоплазм, культивированных в бульоне, отмытых в фазе логарифмического роста в физиологическом растворе и сохранившихся при температуре 4°, выявило их гетерогенность (табл. 15).

Время выживания в какой-то мере коррелирует с морфологией клеток (меньшая устойчивость нитевидных форм). Термостабильность микоплазм зависит от среды их окружения, pH и т. д.

Представление о механической хрупкости микоплазм получено на основании исследования их звуковой дезинтеграции. Для большинства микоплазм предел сохранения их репродуктивных способностей не более 5—6 минут при обработке 9 кгц при температуре 4°, за исключением *M. pharyngis*, которая более лабильна (2,4 кгц) (Clyde, 1969). Ультразвуковая дезинтеграция микоплазм зависит от условий и среды их суспендирования. Повторное замораживание и оттаивание в дистиллированной воде ведут к разрушению микоплазм, вместе с тем они выдерживают лиофильное высушивание в определенных режимах (применительно к разным видам). Микоплазмы способны выживать во влажных аэрозолях (Wright, 1968a, b) и сохраняться в водопроводной и дистиллированной воде в течение 48 часов. Так, из питьевой воды была выделена *M. gallisepticum*. Этот факт — питьевая вода как источник заражения цыплят имеет важное эпидемиологическое значение.

Осмотическое давление среды в 10 атм. является оптимальным для микоплазм; более требовательные виды растут в диапазоне от 6,7 до 14 атм., менее требовательные — от 2,7 до 27 атм. Свежевыделенные штаммы не отличаются от музейных штаммов микоплазм по чувствительности к осмотическому давлению среды (Leach, 1962).

Осмотический шок не разрушает микоплазмы, наблюдается лишь потеря некоторых внутриклеточных компонентов (Smith et al., 1958; Razin, Argman, 1963; Smith, 1964, 1967; Clyde, 1969), в других отмечена избирательная видовая чувствительность микоплазм.

Патогенные виды микоплазм более устойчивы к осмотическому шоку, чем *M. laidlawii*. При температуре 0° микоплазмы выдерживают осмотический шок, при 20—37° они разрушаются в гипотонической среде в течение нескольких минут; рН 6,0 усиливает их устойчивость, рН 8,0 — снижает. Микоплазмы в фазе логарифмического роста более чувствительны к осмотическому лизису. В то же время двухвалентные и поливалентные катионы, спермин, спермидин в концентрации 10^{-5} М защищают микоплазмы от осмотического шока (Razin, 1964; Rodwell, 1965). Обобщив данные об осмотической стабильности, Clyde (1969) пришел к следующему заключению: 1) микоплазмы не дают немедленного лизиса при их суспендировании в гипотонических растворителях; 2) нет значительных видовых различий в лабильности микоплазм в гипотонических средах; 3) имеется выраженное стабилизирующее действие гипертонических сред на клетки микоплазм. Уменьшение репродуктивной способности и лизис микоплазм в гипотонических условиях могут быть связаны с повреждением целостности мембраны.

Оптимальные условия рН варьируют в пределах 7,5—8,0, на синтетических средах — в пределах 7,0—8,0, тем не менее отдельные виды лучше культивируются при других значениях рН. Так, например, рН 5,5—6,5 благоприятствует росту Т-группы и *M. salivarium*, рН 7,0 способствует усилению *M. pharyngis*, рН 6,0—8,0 — *M. pneumoniae* (Kraybill, Crawford, 1966; Hottle, Wright, 1966). *M. meleagridis*, *M. laidlawii* могут расти в жидкой среде при значительных вариациях рН до 8,5—8,9 (Da Massa, Adler, 1969). Агенты, растворяющие липопротеиновые мембраны (лецитин,

ТАБЛИЦА 15. ВЫЖИВАНИЕ МИКОПЛАЗМ ПРИ 4° (ПО CLYDE, 1969)

| Вид микоплазм | Время выживания, часы |
|----------------------|-----------------------|
| <i>M. pneumoniae</i> | 37 |
| Т-штамм (960) | 6 |
| <i>M. hominis</i> | 3,4 |
| <i>M. salivarium</i> | 2,4 |
| <i>M. fermentans</i> | 1,3 |
| <i>M. pharyngis</i> | 0,43 |

соли жирных кислот, жирные кислоты с длинной цепью, спирты, анионные и катионные детергенты), разрушают некоторые виды микоплазм, выделенные от людей, — штаммы микоплазм, не нуждающиеся в стеринах, и *M. mycoides* (Smith, 1964, 1967). Микоплазмы чувствительны к действию некоторых ферментов. Например, панкреатическая липаза вызывает лизис микоплазм и L-форм бактерий (Razin, Argman, 1963). Действие протеолитических ферментов на микоплазмы и L-формы мало изучено. Тем не менее Mогowitz и Tourtellotte (1962) показали, что белок *M. gallisepticum*, разрушенный триметиламином (для получения ДНК), разлагался с помощью трипсина до аминокислот. Затем Razin и Argman (1963) нашли, что папаин неэффективен в отношении микоплазм и L-форм бактерий, а трипсин действует на них, но лишь после прогрева при температуре 70°. Трипсин не влияет на *M. hominis* — ни на интактные клетки этого микроорганизма, ни на клеточные мембраны. Все это, по мнению Smith (1964), указывает на достоверность предположения, что цитоплазматические мембраны микоплазм и L-формы бактерий состоят из липопротеинов со сходной морфологией и молекулярной структурой и различаются лишь по количеству липидов и их свойствам, обуславливающим в свою очередь относительную стабильность видов и штаммов этих двух групп микроорганизмов.

При выделении и последующем культивировании микоплазм используются комбинации бактерицидных агентов, к которым микоплазмы не чувствительны: 1) пенициллин, ацетат галлия, сульфадимезин и полимиксин В; 2) ампициллин и полимиксин В; 3) пенициллин, полимиксин В, сульфадимезин и др. (Davis, Read, 1968; В. В. Неустроева, 1969).

Микоплазмы чувствительны к агентам, действующим на синтез внутриклеточного белка и цитоплазматических мембран, однако отмечена видовая дифференциация их чувствительности. Так, при испытании 4 видов микоплазм человека (*M. hominis*, *M. orale*, *M. salivarium*, *M. pneumoniae*) к 27 различным антибиотикам выявлена их чувствительность к тилозину и линкомицину. Тетрациклины были наиболее эффективны в отношении *M. pneumoniae*. Линкомицин в концентрациях 0,6—6 мкг/мл угнетал рост *M. orale*, *M. salivarium* и *M. hominis*, не действовал на *M. pneumoniae*. Актиномицин D и митомицин С угнетали рост 4 микоплазм в дозах 0,3—0,7 мкг/мл (Arai et al., 1967).

При изучении цикла роста микоплазм на модели *M. laidlawii* и нескольких микоплазмах птиц установлено сходство с циклом роста бактерий (Keller, Morton, 1954; Butler, Knight, 1956, 1960a, b). Установление характера роста *M. laidlawii* А на жидкой среде с помощью подсчета колоний, определения мутности, сухого веса, общего азота и ДНК промытых осадков, полученных после центрифугирования, показало, что кривые их роста напоминают кривые роста у бактерий. Урожай микроорганизмов даже на оптимальной среде был невысоким, значительно ниже минимальных урожаев, обычно отмечающихся у бактерий.

Характер роста микоплазм и бактерий трудно сравнивать из-за преобладания у первых клеток значительно меньших размеров, чем бактериальные. Поэтому, вероятно, имеются большие расхождения между примерно одинаковыми кривыми роста и различиями в урожайности, общем азоте и ДНК.

При изучении динамики роста *M. laidlawii*, *M. pneumoniae* и *M. hominis* 1 в условиях соответствующих жидких питательных сред у нас в лаборатории (В. А. Мельников, И. В. Раковская, 1969; В. И. Васильева и др., 1969; С. В. Прозоровский, 1970; И. С. Новикова, Л. М. Курносова, 1970) были получены кинетические кривые, характеризующиеся лаг-фазой,

фазой экспоненциального роста, стационарной фазой и фазой уменьшения числа колониеобразующих единиц. Цикл роста всех изучавшихся микоплазм в основном сходен, варьирует лишь протяженность фаз в зависимости от вида, штамма и возраста популяции. Наиболее резкие отличия от других видов отмечены у штамма *M. hominis*, выделенного от больного НГУ. Жизненный цикл его в отличие от других испытывавшихся видов и штаммов микоплазм и прототипа *M. hominis* был очень коротким (измерялся 16—24 часами), как у микоплазм Т-группы.

Более детальные исследования фаз роста, выполненные на *M. laidlawii* в жидкой среде, позволили выявить целый ряд закономерностей. Обнаружена зависимость роста культуры от возраста посевного материала и числа клеток в нем.

Длительность лаг-фазы при возрасте посевного материала 72—144 часа колеблется от 10 до 15 часов в зависимости от величины исходного титра. При увеличении последнего с 10^3 до 10^6 КОЕ/мл лаг-фаза сокращается на 5 часов при возрасте посевного материала 72 часа и на $1\frac{1}{2}$ часа при возрасте инокулюма в 144 часа. Максимальный титр клеток в популяции при любом исходном титре и возрасте клеток посевного материала составляет $2-5 \cdot 10^9$ КОЕ/мл; стационарная фаза продолжается 58—70 часов, после чего наступает период уменьшения числа КОЕ; скорость падения титра около одного порядка в неделю.

Длительность лаг-фазы *M. laidlawii* определяется, вероятно, особенностями ее размножения в жидкой среде, где могут появляться сложные ветвящиеся и почкующиеся формы, которые в дальнейшем распадаются на отдельные коккоидные элементы.

АНТИГЕННАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МИКОПЛАЗМ

Наличие у микоплазм лимитирующей цитоплазматической мембраны, выполняющей двойную функцию собственно мембраны и клеточной стенки, находит свое отражение в антигенной характеристике микоплазм и результатах разных серологических методов, используемых для изучения иммунохимии антигенов микоплазм, их серологической идентификации, серологической диагностики и серо-эпидемиологического изучения микоплазма-инфекций.

МЕТОДЫ СЕРОЛОГИЧЕСКОГО ИЗУЧЕНИЯ МИКОПЛАЗМ МЕЖВИДОВАЯ И ВНУТРИВИДОВАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ

Для серологического изучения микоплазм используется ряд серологических реакций: агглютинации (РАГ), пассивной гемагглютинации (РПГА), латекс-агглютинации (РЛА), связывания компонента (РСК), преципитации (РП), гель-диффузии (РГД) и иммуноэлектрофореза (РИЭ), иммунофлуоресценции (РИФ), ингибирование роста (РИР), ее модификации в виде разнообразных реакций ингибирования метаболизма (РИМ) и др.

Реакцию агглютинации (РА) применяют относительно редко (Klieneberger, 1938; Edward, 1950; Nicol, Edward, 1953; Edward, Kanarek, 1960; Adles, 1954); описаны модификации РА на стекле (Kerr et al., 1964). В качестве антигена обычно используют отмытые в формализированном физиологическом растворе культуры с жидкой или плотной среды. Двукратные разведения иммунной сыворотки смешивают с равным объемом антигена. Результаты чаще всего учитывают после 4—6 часов инкубации при температуре $52-56^\circ$. РА по чувствительности примерно равна РСК, однако используется значительно реже, так как суспензии микоплазм

иногда способны давать спонтанную агглютинацию, а в ряде случаев они бывают неагглютинабельными. Хороший результат типовой серологической идентификации микоплазм получен при использовании реакции адсорбции агглютининов (Provast et al., 1967).

Перекрестное изучение 8 разных видов микоплазм в реакции агглютинации позволило прийти к выводу, что эта реакция специфична и в достаточной мере чувствительна.

При использовании реакции пассивной гемагглютинации (РПГА) в качестве антигена чаще всего применяют растворимые и экстрагированные тем или иным путем компоненты микоплазм. Методика приготовления антигенов, обработка танином и сенсibilизация эритроцитов (чаще всего бараньих или человека группы 0) соответствующими антигенами подробно описаны (Dowdle, Robinson, 1964; Taylor-Robinson et al., 1964, 1965). По специфичности РПГА приблизительно совпадает с РА и РИФ, хотя менее чувствительна. РПГА более чувствительна и специфична, чем РСК, и именно поэтому Taylor-Robinson с соавторами (1965) рекомендовали РПГА для количественного определения антител к *M. hominis* или *M. pneumoniae*. Эту реакцию используют для идентификации микоплазм, но она не получила широкого распространения, так как имеются трудности в стандартизации постановки опытов вследствие разной способности бараньих эритроцитов сенсibilизироваться даже одним и тем же антигеном. Эту трудность преодолевают замораживанием при температуре -70° отобранных наиболее оптимальных проб эритроцитов, которые могут использоваться в течение месяца (Hubert et al., 1963). Для этой же цели могут применяться и формализированные эритроциты (Lynd, 1968). Вторым, еще более важным, осложнением являются неспецифические результаты, которые могут быть получены вследствие культивирования микоплазм на средах, содержащих лошадиную сыворотку. В этом случае при положительных результатах в контрольных опытах можно использовать предварительную адсорбцию антител к лошадиной сыворотке, что в значительной мере усложняет постановку самой реакции (РПГА).

Антигены микоплазм легко адсорбируются на частицах латекса, и эти комплексы специфически реагируют с соответствующими иммунными сыворотками в реакции латекс-агглютинации (РЛА). По чувствительности и специфичности РЛА приблизительно такая же как РСК, но она менее чувствительна, чем РПГА (Morton, 1966; Lynn, 1967). Ее преимущества заключаются в стабильности латекс-антигена, который при температуре рефрижератора сохраняется 70 дней. Результаты РЛА обычно совпадают с результатами РА; преимущество заключается в отсутствии спонтанной агглютинации. РЛА хотя и не нашла широкого применения, но весьма перспективна для практического использования.

Наиболее широкое распространение в серологии микоплазма-инфекции получила РСК (Campbell, Turner, 1936; Beveridge et al., 1946; Edward, 1950a; Card, 1959; Coriell et al., 1960; Klieneberger-Nobel, 1962; Chanock et al., 1962b, 1963; Jansson, 1964; Lemcke, 1964a, b; Grayston et al., 1965; И. В. Рыбакова, 1969, и др.). Ее применяют для серологической идентификации микоплазм, выделенных из разных источников, для серодиагностики и сероэпидемиологии микоплазма-инфекции животных, человека и реже птиц, для изучения внутривидовых и межвидовых различий и сходства разных антигенов микоплазм. Для РСК используют микоплазмы, выращенные преимущественно в жидкой среде (лучше всего на поверхности стекла), отмытые, ресуспендированные и сконцентрированные в 10—40 раз, а также применяют нативный корпускулярный антиген (Taylor-Robinson et al., 1964, 1966; Lemcke, 1964a), либо кипяченый в дистилли-

рованной воде. По Card (1959), целесообразно работать одновременно с этими двумя антигенами, так как одна и та же сыворотка может давать отрицательную реакцию с одним антигеном и положительную с другими.

Помимо корпускулярного нативного концентрированного антигена, успешно применяют обработанные трипсином концентрированные взвеси микоплазм (Somerson et al., 1967), фенольный антиген (Chanock et al., 1963), хлороформно-метаноловый экстракт — высокоспецифичный липидный антиген (Kenny, Grayston, 1965).

Изучение РСК для серологической классификации микоплазм было проведено у нас в лаборатории с двумя типами антигенов 8 видов микоплазм (В. Н. Петросова и др., 1969), корпускулярным (тремякратно отмытой физиологическим раствором концентрированной в 100 раз взвеси) и растворимым (фракция S). Последний получен из корпускулярного антигена, подвергнутого 10 минут воздействию ультразвука (18—20 кгц/сек). После озвучивания взвесь центрифугировали при 8000—10 000 г в течение 20—30 минут, прозрачную, слегка опалесцирующую надосадочную жидкость, обозначенную как фракция S, использовали в РСК. Антигены и антисыворотки консервировали мертиололом (1 : 10 000).

При постановке РСК использовали веронал-мединаловый буфер. Для устранения антикомплемментарности антигены микоплазм обрабатывали комплементом до концентрации 1 : 10, выдерживая 2 часа при 37° и 18 часов при 4°. Обработанные антигены и испытуемые антисыворотки в разведении 1 : 10 инактивировали прогреванием при температуре 56° в течение 30 минут. Постановку реакции осуществляли по общепринятой методике в два этапа.

Результаты этих опытов выявили специфичность РСК, однако она была менее чувствительна, чем РА. С помощью РСК хорошо выявлялись видоспецифические комплементсвязывающие антигены и почти не выявлялись антигенные связи между гетерологичными видами микоплазм. Чувствительность, простота реализации и относительная специфичность обусловили распространенность РСК для исследования разных аспектов микоплазма-инфекций, особенно серологических показателей перенесенных заболеваний микоплазменной этиологии.

Для изучения внутривидовых и межвидовых антигенных связей часто применяют реакцию преципитации (РП), особенно двойной диффузии в геле (РГД), которая принесла известные результаты не только в ветеринарной микоплазматологии, но и при исследовании микоплазм человека.

Наиболее эффективными для РГД являются антигены микоплазм, полученные с помощью звуковой дезинтеграции либо замораживанием и оттаиванием (В. Н. Петросова и др., 1969; Purcell et al., 1969). Для получения этих антигенов необходима тщательная отмывка микоплазм от среды культивирования и их концентрация в 100—800 раз. РГД менее чувствительна, чем другие методы, для количественного определения антигел в иммунных сыворотках (Taylor-Robinson et al., 1965) или в сыворотках реконвалесцентов, хотя и использовалась для серологической диагностики *M. pneumoniae*-инфекции (Conant et al., 1968).

При изучении антигенной структуры микоплазм несомненный интерес представляют данные, полученные с помощью РГД. Однако культивирование микоплазм на средах, содержащих лошадиную сыворотку, создает серьезные препятствия при учете специфичности результатов РГД. В этих случаях рекомендуется проводить культивирование по возможности на среде с кроличьей сывороткой, а также использовать сыворотки разных видов животных для иммунизации и приготовления антигенов (Taylor-

Robinson et al., 1963; Hayflick, Chanock, 1965; В. Д. Тимаков, Г. Я. Коган, 1967; Purcell et al., 1969). Успешные результаты дает также адсорбция сывороток гетеро- и гомологичными антигенами (Pease, 1965; В. Н. Петросова и др., 1969). Опыты В. Н. Петросовой (1969) выявили целесообразность адсорбции иммунных сывороток нормальной лошадиной сывороткой для извлечения антител в ней, осложняющих чтение РГД.

Реакцию иммунофлуоресценции (РИФ) в виде прямого и непрямого метода используют в современной микоплазматологии для идентификации микоплазм, выявления их антигенов в организме и клеточных культурах *in vitro* и обнаружения антител в сыворотках. Идентификацию микоплазм по РИФ можно проводить путем непосредственного окрашивания колоний микоплазм на блоках агаровой плотной среды (Chanock et al., 1962b, c; Clark et al., 1963; Mufson et al., 1965; Del Guidice et al., 1967). Прямая РИФ колоний на агаре позволяет их идентифицировать в первичных культурах, а также в смешанных культурах путем последовательного окрашивания набором видовых иммунных сывороток, когда выделение отдельных видов невозможно в силу того, что один вид может заглушаться другим, более активно растущим. РИФ используют также для идентификации бульонных культур микоплазм. В этом случае микоплазмы осаждают центрифугированием и концентрированный осадок исследуют либо на предметных стеклах, либо в пробирках (Clark et al., 1963). РИФ выявляет межвидовые различия; ее с успехом использовали для серологической дифференциации микоплазм человека (Del Guidice et al., 1964). Наблюдавшиеся при этом положительные гетерологические реакции (особенно у *M. salivarium* и *M. fermentans*) в неяркой РИФ не отмечены в прямой реакции (Tully, 1963). РИФ оказалась достаточно чувствительной для выявления внутривидовых антигенных различий. Так, у *M. hominis* PG-21 было выявлено наличие более высоких титров РИФ с гомологичным штаммом, чем с гетерологичными штаммами.

Результаты идентификации микоплазм по РИФ приблизительно совпадают с результатами РА, РПГА и РИМ.

РИФ применяют также для выявления микоплазм в тканях инфицированного хозяина или в клеточных культурах. В 1957 г. Liu впервые показал возможность выявления с помощью РИФ агента Итона в курином эмбрионе, инфицированном этим агентом. В последующем РИФ активно использовали для выявления не только *M. pneumoniae* (Liu, 1961; Marmion, Goodburn, 1961, 1963; Lind, 1966, и др.), но и других видов микоплазм. Кроме того, с помощью РИФ микоплазмы неоднократно обнаруживались в инфицированных клеточных культурах (Malizia et al., 1961; Carski, Shepard, 1961; Clyde et al., 1961; Barile et al., 1962, и др.).

Данные РИФ показывают, что ее можно применять как для видовой идентификации микоплазм и классификации серотипов, так и для целей серодиагностики и сероэпидемиологии.

Основным и наиболее специфическим методом серологической дифференциации микоплазм является реакция нейтрализации, или ингибирования роста (РИР), впервые описанная Edward и Fitzgerald (1954), Nicol и Edward (1953) и впоследствии модифицированная многими исследователями (Hijmans et al., 1956; Clyde, 1964; Lynn, Hallier, 1966; Hayflick, 1967; С. В. Прозоровский, Г. М. Бочко, 1969; В. Н. Петросова и др., 1969, и др.). Этот метод основан на способности антисывороток микоплазм подавлять рост гомологичных или родственных штаммов. При добавлении иммунной сыворотки к среде культивирования отмечено полное подавление роста в условиях плотных сред и преимущественно угнетение на полужидких и жидких средах.

Результаты РИР на плотной питательной среде учитывают по разнице числа колониеобразующих единиц, выросших на чашках с иммунной сывороткой, по сравнению со средой, содержащей нормальную сыворотку. Примерно также учитывают результаты РИР на полужидкой среде. На жидкой среде учет производят по снижению показателя мутности.

Действие специфической иммунной сыворотки, ингибирующей рост микоплазм, не всегда соответствует ее агглютинирующим и другим серологическим свойствам. Оно связано с термостабильным компонентом, так как прогрев сыворотки при температуре 56° в течение 30 минут не снижает этого действия антисыворотки.

Механизм ингибиторного действия иммунных сывороток относительно мало изучен. Vailly и соавторы (1963) показали, что ингибиторное действие специфических иммунных сывороток связано с растворимой в воде фракцией глобулина, не дающей диализа. Эта фракция может быть получена при диссоциации комплекса антиген—антитело с помощью звуковой вибрации и остается активной как для последующей агглютинации, так и для последующего ингибирования роста.

В присутствии избытка антитела наблюдается частичная и обратимая задержка роста микоплазм. Это явление пока необъяснимо. Можно лишь предполагать, что контакт микоплазм с избытком гомологичных антител не дает полного непосредственного подавления жизнеспособности всех колониеобразующих единиц микоплазм.

Восстановление жизнеспособных микоплазм из комплекса антитело + микоплазмы звуковой вибрацией исключает лизис как возможную причину подавления роста. Допустимо также, что ингибирование роста вызвано реакцией антител с поверхностными антигенами микоплазм. Аналогичные данные получены Clark (1963) при изучении микоплазм, выделенных из культуры ткани. Этот исследователь, пытаясь использовать звуковую вибрацию для освобождения микоплазм данного вида из комплекса микоплазмы + флуоресцирующие антитела, отметил, что после звуковой вибрации антитела оставались фиксированными на остатках цитоплазматической мембраны микоплазм. Наконец, можно полагать, что видимый ингибиторный эффект может быть связан не с истинным подавлением, а с агглютинацией или агрегацией микоплазм иммунной сывороткой. Вместе с тем ингибиторный эффект может зависеть и от особенностей испытываемого штамма микоплазм, так как не все клоны одной и той же популяции одинаково способны ингибироваться иммунной сывороткой; гетерогенность популяции в отношении ее способности ингибироваться иммунной сывороткой показана в опытах Hayflick, Stanbridge (1967) и Hayflick (1969).

РИР микоплазм является наиболее специфическим методом, используемым для идентификации микоплазм в разных вариациях: 1) контакт микоплазм с разными дозами иммунной сыворотки с последующим посевом на агар или в бульон; 2) включение сыворотки в среду и одновременный посев разных штаммов сегментами на чашку (Fabricant, 1960); 3) нанесение капель сыворотки на поверхность чашек с последующим посевом микоплазм (Herderchiê et al., 1963); 4) метод бумажных дисков, пропитанных антисывороткой (Hujsmans-Evers, Ruys, 1956; Clyde, 1964; Hayflick, 1969); 5) использование индикаторной системы — исчезновение зоны гемолиза эритроцитов морской свинки при подавлении иммунной сывороткой роста, например *M. pneumoniae* (Somerson et al., 1963); 6) титрование колоний микоплазм в полужидкой среде (И. В. Раковская, 1966; С. В. Прозоровский, Г. М. Бочко, 1969; В. Н. Петросова и др., 1969).

Замораживание и оттаивание сыворотки (20 циклов) не разрушают ее ингибиторного эффекта; высушивание на бумажных дисках и сохранение последних при температуре 4° также не сказываются на ингибиторных свойствах сыворотки. Результаты РИР зависят от величины инокулюма; избыточные количества микоплазм тормозят реакцию даже при использовании очень сильных иммунных сывороток, зоны ингибирования роста могут быть стертыми при больших инокулюмах (Clyde, 1964; Taylor-Robinson et al., 1966; И. В. Раковская, 1966), поэтому необходим очень строгий подбор доз. Иногда и при правильном подборе дозировки инокулюма даже гипериммунные сыворотки не дают РИР. Вместе с тем эта реакция отличается не только строгой межвидовой специфичностью — она весьма эффективна для выявления внутривидовых штаммовых различий. В этом отношении очень интересны наблюдения Dinter с соавторами (1965), обнаружившими с помощью РИР серологическую внутривидовую гетерогенность *M. hyoghinis*. Среда культивирования микоплазм в меньшей степени сказывается на результатах РИР по сравнению с другими серологическими методами.

РИР в условиях плотных и полужидких сред чаще используют для серологической идентификации микоплазм, а в жидкой среде — для определения ингибирующих рост антител в гипериммунных сыворотках или сыворотках реконвалесцентов.

Реакция дифференцируется на обратимую и необратимую. Последняя наблюдается уже через 6—48 часов, эффект возрастает до 72 часов, после чего дальнейшего усиления ингибиторного действия нет; температурный оптимум 30—37°.

Разработанная у нас в лаборатории модификация РИР в полужидкой среде (И. В. Раковская, 1966; В. Н. Петросова и др., 1969; С. В. Прозоровский, 1970; И. С. Новикова, А. М. Курносова, 1970) применяется для таксономической идентификации микоплазм разного происхождения. Обычно для постановки РИР используют 48—96-часовые культуры в разных дозировках по числу КОЕ на 1 мл среды при параллельном испытании иммунных и нормальных сывороток. Разведение сывороток и микоплазм готовят на физиологическом растворе. После 30 минут контакта 0,2 мл сыворотки разных разведений и 0,2 мл культуры разных доз при комнатной температуре добавляют к 1,6 мл 0,3% питательного агара. Учет результатов производят через 72—96 часов инкубирования при температуре 37°. За титр реакции ингибирования принимали полное подавление роста микоплазм (+++) — уменьшение числа колоний на 75%. Результаты РИР показали, что ингибирующая рост микоплазм активность антисывороток была строго видоспецифична и проявлялась лишь в отношении гомологичных видов. По сравнению с реакциями агглютинации и связывания комплемента реакция ингибирования роста была более специфичной. Представленные данные согласуются с материалами других исследователей (Edward, Fitzgerald, 1954; Clyde, 1964; Taylor-Robinson et al., 1966, и др.) и свидетельствуют о том, что реакция ингибирования роста является наиболее приемлемым методом для таксономической идентификации микоплазм. Предложенная у нас в лаборатории модификация реакции позволяла выявлять не только наличие или отсутствие подавления роста, но и уровень антител, обладавших ингибирующей активностью. В наших опытах титры антисывороток варьировали в пределах 1 : 40—1 : 2560.

Близкой РИР является нейтрализация микоплазм в организме экспериментального животного, а также ингибция ЦПЭ и фокусов флуоресценции в культурах клеток *in vitro*. Ингибирование или нейтрализация микоплазм в организме были обнаружены еще в 1945 г. (Eaton et al., 1945;

Eaton, van Herick, 1947). Сходный с реакцией нейтрализации феномен был недавно описан Bredt с соавторами (1969), отметившими разрушение микроструктур микоплазм специфическими иммунными сыворотками. Так, при взаимодействии антисыворотки *M. pneumoniae*, *M. orale* 1, *M. salivarium*, GDL с гомологичными штаммами в условиях микрокамеры можно было наблюдать в микроскоп при фазовом контрасте полное разрушение волокнистых структур. Как определенный аналог РИР следует рассматривать протективный эффект иммунных сывороток на мышах (Smith, 1967a). Специфическая иммунная сыворотка способна значительно уменьшить число фокусов или колоний, окрашенных флуоресцирующими антителами в клеточных культурах (Clyde, 1963a, b; Pollock, Kenny, 1963; Murphy et al., 1967a, b; Sabin, 1967). С помощью этого метода можно определить наличие ингибирующих рост антител, а иногда и их титр в сыворотках реконвалесцентов и в гипериммунных сыворотках, полученных экспериментально, однако чувствительность этого метода невелика.

Более чувствителен метод ингибирования цитопатического действия непосредственно в культурах клеток, но самый оптимальный результат получен при последующем посеве обработанных микоплазмами и сывороткой клеток на плотные среды с подсчетом выросших колоний. Число КОЕ определяет степень ингибирования микоплазм соответствующей иммунной сывороткой в клеточной культуре (Murphy et al., 1967a, b; Purcell et al., 1966a, b, 1967, 1969, и др.).

Все методы ингибирования микоплазм в клеточных культурах становятся более чувствительными и вместе с тем не утрачивают специфичности при добавлении термолabile сывороточного фактора. Их можно успешно использовать при работе с микоплазмами, не растущими или плохо растущими на бесклеточных средах. Осложнениями при применении этих модификаций РИР являются наличие микоплазм, не дающих цитопатического эффекта, трудности строгого определения оптимальной дозировки инокулюма, контаминация клеточных культур разными видами микоплазм.

Весьма интересной модификацией реакции ингибирования роста является тест серологического ингибирования метаболизма. Как известно, ферментативно активные виды микоплазм, расщепляющие глюкозу с образованием кислоты, меняют цвет содержащейся в среде индикаторной системы. Аналогичный феномен наблюдается при ферментации аргинина и мочевины аргининдегидролазоактивными или уреазоактивными видами микоплазм, а также редукции 2,3,5-трифенилтетразолия, например *M. pneumoniae*. Ингибирование метаболизма (РИМ) основано на подавлении иммунной сывороткой соответствующего типа метаболизма, характерного для активно растущей микоплазмы (Jensen, 1963, 1964; Taylor-Robinson et al., 1966, 1967, 1969; Purcell et al., 1967, 1969; Cole et al., 1969). Близкими РИР и РИМ являются реакции торможения гемадсорбции (РТГАД) и торможения гемагглютинации (РТГАГ), используемые для идентификации и других серологических исследований некоторых птичьих микоплазм и *M. pneumoniae* (Manchee, Taylor-Robinson, 1968; Neimark, 1968; John et al., 1969; Pollack et al., 1969).

В реакции ингибирования метаболизма различают 2 фазы: 1) фаза первоначального ингибирования, которая наблюдается также в контрольной пробе, содержащей одни микоплазмы (она не зависит от их дозировки и сопровождается изменением рН на 0,5 сразу после внесения микоплазм); 2) фаза конечного ингибирования метаболизма. Отмечается значительное изменение рН под влиянием иммунной сыворотки; титры ее зависят от дозы микоплазм, результаты остаются стабильными, несмотря на длитель-

ность инкубации. Титрование обычно проводят, используя варьирующие дозы микоплазм, при постоянной дозировке иммунной сыворотки. Максимальные титры сыворотки измеряют по их способности подавлять метаболизм максимальных доз микоплазм, взятых в опыт. РИМ наиболее чувствительна и специфична по сравнению с другими серологическими реакциями; ее используют не только для межвидовой и внутривидовой дифференциации микоплазм, но и для серодиагностики и сероэпидемиологии (Stanbridge, Hayflick, 1967; Purcell et al., 1969).

Роль дополнительного термолабильного сывороточного фактора в подавлении роста микоплазм и в разных вариациях ингибирования метаболизма в последнее время интенсивно изучается. Установленный первоначально факт независимости подавления роста микоплазм от присутствия комплемента подтвердился в опытах одних исследователей и был опровергнут другими. Так, по данным Gourlay и Domermuth (1967), реакция ингибирования роста *M. mycoides* не зависит от присутствия термолабильного фактора. Аналогичные факты были получены у нас в лаборатории (С. В. Прозоровский, Г. М. Бочко, 1969) в отношении *M. laidlawii*. Вместе с тем весьма убедительные данные свидетельствуют об усилении ингибиторного эффекта иммунных сывороток, например *M. fermentans*, *M. pneumoniae*, *M. gallisepticum* и др., дополнительным термолабильным фактором, содержащимся в свежей непрогретой лошадиной сыворотке или сыворотке морской свинки (Prestly, 1951; Taylor-Robinson et al., 1966; Barker, Patt, 1967; Davis, Read, 1968; Purcell et al., 1969). Анализ материалов, посвященных этому вопросу, позволяет прийти к выводу, что комплементоподобные субстанции усиливают ингибирование роста и метаболизма в условиях жидких питательных сред и не оказывают подобного действия в условиях плотных питательных сред. Сывороточный фактор, усиливающий РИМ, вероятнее всего является комплементом. Он может быть удален путем обработки зимозаном, иммунными преципитинами, агрегированным глобулином и др. (Riggs et al., 1967; Barker, Patt, 1967).

По мнению Purcell и соавторов (1969), эти данные свидетельствуют о том, что С'1 и С'3 компоненты комплемента играют роль дополнительных факторов, активирующих ингибирование микоплазм. Весьма вероятно также роль С'7, С'8 и С'9 компонентов, которые, по-видимому, повреждают клеточные мембраны микоплазм, что может вызывать их лизис и гибель.

Независимо от среды, используемой для реакции ингибирования, ее конечный результат определяется температурным режимом. Так, для ингибирующих систем *M. mycoides* или *M. gallisepticum* температурный оптимум 30—37°, неблагоприятное действие оказывает инкубация при температуре 5° (Domermuth, Gourlay, 1967; Gourlay, Domermuth, 1967; Barker, Patt, 1967).

Сыворотки морской свинки, кролика, человека и лошади содержат термолабильные активаторы ингибирующего действия. При начинающемся снижении титров иммунного ингибирования в гомологичных системах *M. hominis*, *M. salivarium*, *M. orale*, 1,2 *M. pneumoniae* и *M. fermentans* добавление термолабильного фактора ведет к усилению ингибиторного эффекта. Термолабильный фактор — свежую сыворотку — добавляют примерно в количестве 3% (продажный комплемент для этой цели не используют).

Некоторые виды микоплазм птиц и млекопитающих (*M. gallisepticum*, *M. pneumoniae* и др.) обладают способностью агглютинировать эритроциты (van Herick, Eaton, 1945; Morton, 1959; А. Я. Фомина, Г. А. Прошева, 1962; Manchee, Taylor-Robinson, 1968).

Adler с соавторами (1961) рассматривают способность агглютинировать эритроциты курицы *M. gallisepticum* как признак патогенности.

M. pneumoniae агглютинирует эритроциты человека в небольших разведениях 1 : 2—1 : 16. Эта агглютинация может подавляться иммунной сывороткой даже в высоких титрах (Feldman, Sachs, 1966). Относительно недавно был описан и другой феномен — адсорбция эритроцитов нескольких видов млекопитающих на поверхности колоний микоплазм птиц, животных и человека (Del, Giudacie, Pavia, 1964; Taylor-Robinson, Manchee, 1967b; Manchee, Taylor-Robinson, 1968). Этот феномен подавляется соответствующей иммунной сывороткой. Гемадсорбирующие виды *M. gallisepticum*, *M. agalactiae* или *M. pneumoniae* выращивают на поверхности агара, затем добавляют иммунную сыворотку, разведенную свежей сывороткой морской свинки. После добавления эритроцитов и инкубации в течение 15—30 минут при температуре 37° производят учет реакции. РТГАГ и РТГАД могут использоваться ограниченно — лишь для гемадсорбирующих видов микоплазм.

При проведении разносторонних иммунологических исследований, в частности разработке вопросов, касающихся серологической идентификации и антигенной характеристики микоплазм, необходимо использовать несколько серологических методов, данные которых должны дополнять друг друга.

СЕРОЛОГИЧЕСКАЯ КЛАССИФИКАЦИЯ МИКОПЛАЗМ. МЕЖВИДОВАЯ И ВНУТРИВИДОВАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ

Первые сведения о видовой серологической дифференциации микоплазм разного происхождения относятся к 1940 г., когда Klieneberger, используя предложенную ею модификацию реакции агглютинации, установила серологические различия между изучавшимися отдельными видами микоплазм (*M. mycoides*, *M. agalactiae*, *M. pulmonis*, *M. arthritidis* и *M. neurolyticum*) и вместе с тем выявила антигенную общность у разных штаммов *M. mycoides*.

Дальнейшее изучение микоплазм — возбудителей контагиозной плевропневмонии рогатого скота и коз, весьма сходных по культуральным и ферментативным свойствам, а также по характеру вызываемых ими патологических процессов у разных видов животных, выявило их серологические различия, позволившие провести дифференциацию данных видов на *M. mycoides* var. *mycoides*, возбудителя контагиозной плевропневмонии рогатого скота, и *M. mycoides* var. *capri*, возбудителя плевропневмонии коз.

При выделении *M. mycoides* var. *mycoides* от больных животных встречаются штаммы, отличающиеся серологически от классических. Например, Joshida (1961) среди изученных им культур *M. mycoides* обнаружил 2 штамма, типичных по всем признакам, за исключением серологических свойств. Эти штаммы не реагировали в РСК с соответствующими иммунными сыворотками.

Edward (1950) выделил из половых органов коров 2 серологически обособленные группы микоплазм. Первая группа известна ранее как Р-штаммы (паразитирующие PPLO), названа впоследствии *M. bovis genitalium*, вторая группа — S-штаммы (сапрофитирующие PPLO). Первая группа хотя и гетерогенна в антигенном отношении, но имеет серологическую специфику, отличается от S-штаммов и *M. mycoides* var. *mycoides*. Вторая группа, кроме гомологичных антигенов, содержит компоненты, общие с *M. laidlawii*. Последующее изучение микоплазм рогатого скота (Leach,

1967), выделенных в разных странах Европы, США и Австралии, показало возможность их подразделения на 8 серологических групп: 1) *M. mycoides* var. *mycoides* — возбудитель контагиозной плевропневмонии; 2) *M. bovis-genitalium*, выделенная в Англии; ассоциируется с маститами коров; 3) *M. laidlawii*, выделенная из гениталий и носоглотки животных; 4) микоплазмы, постоянно выделявшиеся в Англии, Голландии и США при пневмоэнтеритах, пневмониях и других респираторных заболеваниях рогатого скота, отличающиеся от *M. mycoides*, не вызывающих в эксперименте заболевания, за исключением заражения в вымя; 5) микоплазмы — этиологические агенты мастита коров (выделены в США); 6) штаммы, выделенные в США при пневмоэнтеритах коров; 7) штаммы, известные как этиологические агенты маститов и артритов коров, выделенные от больных животных в Австралии; 8) один штамм, отличающийся от перечисленных 7 групп, выделенный из носовой полости здорового животного.

Все вновь выделенные серологически отличающиеся группы микоплазм в 1967 г. в то время не получили видового обозначения.

Помимо описанных 8 серологических групп, из соскобов влагалища, уретры и стенки мочевого пузыря были выделены штаммы микоплазм, которые по культуральным, ферментативным (рост при pH 7,0, потребление мочевины, отсутствие ферментации аргинина и глюкозы) и серологическим признакам были отнесены к Т-группе (Taylor-Robinson, 1969). Т-штаммы встречаются также в легких телят, больных пневмонией (Gourlay, 1968).

Серологическая характеристика микоплазмы — возбудителя агалактии коз (*M. agalactiae*) была дана Edward (1953). Детально изучен и другой возбудитель — *M. mycoides* var. *capri*, являющийся этиологическим агентом контагиозной плевропневмонии коз (Longley, 1940).

В подробном обзоре Hudson с соавторами (1967) микоплазм — возбудителей коз и овец — показано, что все эти микоплазмы представляют гетерогенную группу микроорганизмов, дифференцирующуюся по ряду признаков: 1) ферментации углеводов; 2) содержанию термостабильного полисахаридного комплементсвязывающего антигена и другого термолабильного антигена, а также серологическим реакциям (РСК и РА); 3) естественной восприимчивости разных хозяев к заражению.

Соответственно этим критериям все микоплазмы, выделенные от коз и овец, классифицируются следующим образом:

1. Микоплазмы, содержащие термолабильный комплементсвязывающий антиген, не содержащие термостабильного полисахарида, ферментирующие углеводы. К этой группе авторы относят *M. agalactiae* — возбудителя агалактии коз и овец, а также козий штамм Н (Cottew, Lloyd, 1965), серологически полностью соответствующий *M. agalactiae*, но отличающийся по характеру патологической реакции, вызываемой им у коз и овец.

2. Микоплазмы, содержащие термостабильный полисахаридный комплементсвязывающий антиген и не ферментирующие углеводы. В эту группу включают: 1) микоплазмы, серологически родственные *M. mycoides* var. *mycoides*, — штаммы У, Р, О (все они выделены от больных коз). Штамм У содержит дополнительный комплементсвязывающий термолабильный антиген, он непатогенен для коров. Штаммы Р и О не содержат дополнительного термолабильного антигена. Из них штамм О патогенен для коров; 2) микоплазмы, серологически отличающиеся от *M. mycoides*. Это большая группа микоплазм, в число которых входят разные подвиды: а) *M. mycoides* var. *capri* — возбудитель контагиозной плевропневмонии коз; б) возбудитель так называемой болезни Спарта (Debonera, 1937). Этот штамм занимает серологически промежуточное место между *M. mycoides* var.

capri и *M. agalactiae*; в) микоплазма, выделенная Dhanda и соавторами (1959) при маститах и артритах коз, имеющая общие серологические антигены с *M. agalactiae* и *M. mycoides* var. capri; г) микоплазма Hanks, Otterlin (1955); д) микоплазма, выделенная Cordi с соавторами (см. Hudson, 1967), ферментативно активная, но серологически отличающаяся от всех козьих микоплазм.

В ряде работ (Nasri, 1967; Watson et al., 1968; Cottew et al., 1968) приводятся данные о серологической дифференциации микоплазм, выделенных при контагиозной плевропневмонии коз, агалактии коз и овец в Африке (Судан, Нигерия) и Турции. Была выявлена значительная серологическая гетерогенность группы *M. mycoides* var. capri и *M. agalactiae*. Последнюю подразделяют на 3 серологических типа — А, N и С, которые отличаются друг от друга и по патогенным потенциам. Большая часть известных в настоящее время штаммов — возбудителей заболеваний коз и овец — не получила пока таксономического названия и известна под разными условными обозначениями.

Аналогичная картина наблюдается при классификации микоплазм, выделявшихся и от других видов млекопитающих и птиц (Sabin, 1941; Edward, 1954; Klieneberger-Nobel, 1962). Так, выделенные Shoetensack (1934) микоплазмы собак, известные ранее под названием *Asterococcus canis* I тип и II тип, оказались серологически близкими штаммам, полученным Edward (1954), которые подразделялись на 3 серологических типа α , β , γ . Соответствуют ли эти штаммы ныне известным видам *M. canis*, *M. spumans* и *M. maculosum* (Skalka, Krejeir, 1968), выделяемым из наружных половых органов и носоглотки собак, неизвестно.

Изучение микоплазм, выделенных от свиней, выявило их серологическую гетерогенность.

Серологические исследования *M. hyorhinis*, патогенные потенции которых будут рассмотрены ниже, свидетельствуют о неоднородности этой группы и о серологических вариациях, которые встречаются у разных штаммов этого вида, выделявшихся от больных и здоровых свиней, людей, культур клеток (Switzer, 1967).

Другой вид микоплазм свиней — *M. granularum* — имеет ряд биологических и серологических признаков, полностью отличающих этот вид от *M. hyorhinis*. Данные, касающиеся серологической характеристики *M. granularum*, фрагментарны; известно всего несколько работ (Ross, Switzer, 1963; Dinter et al., 1965; Purcell et al., 1969; Switzer, 1969). Однако они подтверждают серологическую обособленность этого вида и отсутствие взаимосвязи между ним и *M. hyorhinis* и *M. hyarthrinosa*. Вместе с тем наряду с отличиями найдено частичное сходство некоторых антигенов *M. granularum* и *M. laidlawii*. Серологическая характеристика микоплазмы, ассоциирующейся с пневмонией свиней *M. hyorhynchiae*, и ее серологические связи с другим возбудителем, также обнаруженным при пневмонии свиней — *M. suisrhyonchiae*, в настоящее время исследованы Whittlestone (1967) и Switzer (1967). Серологическая характеристика *M. hyogenitalium* и *M. hyoarthrinosa* мало изучена. *M. hyogenitalium* вызывает метриты и маститы, *M. hyoarthrinosa* несколько сходна с *M. granularum*, но является самостоятельным видом (Switzer, 1967). Отмечено, что в отличие от *M. hyorhynchiae* *M. hyoarthrinosa* частично содержит общие антигенные компоненты с *M. hyorhinis* и *M. hyogenitalium*, менее гетерогенна и серологически отличается от *M. granularum* (Switzer, 1969).

Недавно Cole и соавторы (1967) выделили штаммы микоплазм из слюны здоровых кошек (В₁, В₂, С и SIA) и слизистой оболочки глаза кошки, больной конъюнктивитом (СО), относящиеся к двум группам. Штаммы

группы I (CO, B1, B2) редуцируют метиленовый синий, обладают липазной активностью в отношении яичного желтка, не разлагают аргинин и гемолизуют эритроциты барана, морской свинки и курицы. Штаммы группы II (SIA и CS) не редуцируют метиленовый синий, не обладают липазной активностью, вызывают слабый гемолиз эритроцитов морской свинки и барана, разлагают аргинин до аммиака. Обе группы различаются серологически (в РСК, РПГ и РИР), имеют специфические, присущие лишь им одним антигены. Микоплазмы группы II имеют общие антигенные компоненты, преимущественно с микоплазмами человека (*M. salivarium*, *M. hominis* 1, *M. orale* 1 и 2), а также *M. arthritidis*. Обе группы получили наименование *M. felis* и *M. gateae*.

Микоплазмы крыс и мышей характеризуются серологической специфичностью, которая используется для их идентификации. По существующей серологической классификации известны 3 вида микоплазм грызунов: *M. neurolyticum* — возбудитель хореи мышей (Sabin, 1938, 1941), соответствующий типу А и L5 (Klieneberger-Nobel, 1962); *M. arthritidis*, соответствующий L4-штамму крыс и типу В, связан с полиартритом мышей (Sabin, 1941); *M. pulmonis* (Sabin, 1941), соответствующий L3-штамму крыс (Klieneberger-Nobel, 1962), вызывает инфекционный катар дыхательных путей у мышей (Edward, 1947, 1954; Tully, 1965). Этот штамм серологически близок микоплазме, выделенной Deeb и Kenney (1967a, b) из респираторного тракта кроликов. Ранее был описан еще один вид — *M. hystopicus*, обычно выделявшаяся от здоровых мышей, серологически дифференцирующаяся на типы С, D, E (Klieneberger-Nobel, 1962). Кроме того, из легкого крысы при бронхопневмонии была выделена микоплазма, растущая на среде без сыворотки и серологически идентифицированная как *M. laidlawii* (Tully, Razin, 1968).

Два штамма микоплазм выделены из носоглотки новозеландских кроликов (Kenney, 1966). Они росли как в аэробных, так и в анаэробных условиях, давали β-гемолиз эритроцитов морской свинки, ферментировали глюкозу и содержали липидный антигенный компонент, родственный *M. pneumoniae*, но отличались от последней по РИР.

Как известно, микоплазмы птиц подразделяются на несколько видов: *M. gallinarum*, *M. gallisepticum* и *M. iners*.

Наиболее полную видовую серологическую классификацию микоплазм птиц приводит Fabrikant (1969). Согласно ей, микоплазмы птиц подразделяются следующим образом:

1. *M. gallisepticum* — этиологический агент хронического респираторного заболевания кур и индеек. Синонимы: Pg-31, серотип S, серотип А.

2. *M. gallinarum* — непатогенный вид. Синонимы: Pg-16, К 18В, серотип В.

3. *M. iners* — не патогенный для птиц вид; при заражении куриных эмбрионов вызывает поражения суставов. Синонимы: Pg-30, Z-тип, серотип G.

4. *M. laidlawii* var. *inosium* — непатогенный вид, первоначально выделен из синуса кур и назван *M. inosium*, впоследствии серологически идентифицирован как *M. laidlawii*.

5. *M. anatis* — непатогенный вид, выделен при синусите утки, инфицированной вирусом гриппа А.

6. *M. synoviae* — возбудитель инфекционного синовита кур и индеек. Синоним — серотип S.

7. *M. melleagridis* — патогенность исследуется. Синонимы: N-тип серотип Н.

8. Птичья микоплазма — серотип С.

9. Птичья микоплазма — серотип D соответствует R39A.
10. Птичья микоплазма — серотип F соответствует A и SA.
11. Птичья микоплазма — серотип I; впервые описана как Vowa-695.
12. Птичья микоплазма — серотип Y.
13. Птичья микоплазма — серотип K.
14. Птичья микоплазма — серотип L.
15. Птичья микоплазма — серотип M, впервые описан как h49, обозначена так же, как M-серотип.
16. Птичья микоплазма — серотип N.
17. Птичья микоплазма — серотип O. Синонимы: TC5, Texas TC₅.
18. Птичья микоплазма — серотип P, синоним Texas C₃.
19. Птичья микоплазма — серотип Q.
20. Птичья микоплазма — серотип R.

Специфическое ингибиторное действие иммунных антисывороток послужило основанием для первичной разработки соответствующей серологической классификации микоплазм человеческого происхождения (Huisman-Evers, Ruys, 1958). Согласно этой классификации, микоплазмы человека по антигенному строению первоначально подразделялись на следующие 3 вида: 1) *M. hominis*, 2) *M. salivarium* и 3) *M. fermentans*.

M. hominis встречается обычно при небактериальных уретритах и во влагалищном секрете при отсутствии в последнем лактобацилл и, как было установлено позже, — в респираторном тракте человека. *M. salivarium*, имеющая общие антигенные компоненты с *M. hominis*, обнаруживается в ротовой полости человека. *M. fermentans* выделяют из влагалища.

Несколько позже число видов микоплазм, выделенных из организма человека, увеличилось. Были обнаружены *M. hominis* 2 (серологически идентичная *M. arthritidis*), микоплазмы штамма «Patt» и *M. pharyngis*, названные позднее *M. orale* 1, *M. orale* 2, и патогенный вид *M. pneumoniae*, известный ранее как агент Итона (Crawford, 1967).

Перекрестное исследование *M. hominis* 1 и 2, *M. salivarium*, *M. fermentans*, *M. pneumoniae*, микоплазма штамма «Patt», выделенного из глотки здорового человека, а также *M. laidlawii* A и B с помощью гетеро- и гомологичных сывороток позволило установить их видовую специфичность, так как ингибирование роста наблюдалось только при действии гомологичных сывороток. Сыворотки *M. laidlawii* A и B давали перекрестное ингибирование роста, т. е. имели сходный набор антител (Clyde, 1964).

Edward и Freundt (1969a, b, 1970) дали классификацию микоплазм человека, согласно которой микоплазмы человека подразделяются на следующие виды:

1. *M. pneumoniae* (ATCC 5331) — возбудитель первичной атипичной пневмонии человека.
2. *M. hominis* 1 (Pg-21) — наиболее вероятный патогенный для человека вид.
3. *M. hominis* 2 («Camp») — первоначально описан как вид микоплазмы человека (Edward, Freundt, 1956), в настоящее время из классификации микоплазм человека изъят (получены серологические доказательства идентичности *M. hominis* и *M. arthritidis*, подтвержденные гомологией нуклеиновых кислот, ферментативным анализом и электрофоретическим исследованием белков клеточных мембран).
4. *M. salivarium* (Pg-20; H 110) — известна как комменсал ротовой полости человека; описано 4 разных штамма.
5. *M. orale* 1 (CH 20 247) — комменсал, выделенный из носоглотки человека; соответствует *M. pharyngis* (штамм «Patt», ATCC 15 544).

6. *M. orale* 2 (СН 20 247) — комменсал, выделенный из носоглотки человека.

7. *M. orale* (DC-333) — комменсал, выделенный из носоглотки человека.

8. *M. fermentans* (P_G-18) — комменсал, выделенный из мочеполового тракта человека; описано 3 штамма.

9. *M. lipophilum* — пока известен единственный штамм, выделенный от человека.

10. Микоплазмы Т-группы; серологически мало изучены.

Серологические данные, позволившие классифицировать отдельные виды микоплазм животных, птиц и человека, показывают весьма интересные особенности микоплазм — наличие у них общих межвидовых антигенных компонентов и вместе с тем существование внутривидовых антигенных различий.

Использование всевозможных серологических методов позволило установить серологическую классификацию семейства *Mycoplasmataceae* и выявить перекрестные антигенные связи у микоплазм разного видового происхождения. Антигенное родство разных видов проявляется дифференцированно при использовании разных серологических методов, что, вероятно, связано с химической природой антигенных компонентов, реагирующих в тех или иных серологических реакциях. Так, например, Villemot и Provost (1959, 1962), используя РПГА, РП и РИР, установили общие антигенные компоненты у *M. hominis* и *M. mycoides* var. *mycoides* и var. *capri*, *M. bovigenitalium*, *M. laidlawii*. При анализе этих материалов не исключалась, однако, возможность перекрестных реакций за счет антител, вырабатываемых к компонентам среды культивирования. Специальное исследование микоплазм, выделенных от человека, проведено Taylor-Robinson с соавторами (1963), использовавшими для выявления антигенных различий *M. hominis* 1, *M. hominis* 2, *M. salivarium*, *M. fermentans* и *M. pneumoniae* РСК, РПГ, РИФ. Для исключения неспецифических перекрестных реакций кроликов и морских свинок иммунизировали первыми 4 видами микоплазм, выросшими на бульоне из кроличьего мяса или мяса морских свинок, с добавлением сыворотки данных видов животных. Для получения антисыворотки к *M. pneumoniae* проводилась иммунизация суспензией легких куриных эмбрионов, зараженных *M. pneumoniae*. Установлено, что *M. pneumoniae* отличается по антигенному составу от других видов микоплазм человеческого происхождения, хотя нельзя исключить возможности существования общих антигенных компонентов, не выявляемых из-за слабости антигена этого вида микоплазм. Остальные 4 вида микоплазм, несмотря на видовые серологические различия, содержали и общие антигенные компоненты, четко видимые в РГД.

Антигенная специфичность *M. pneumoniae* и вместе с тем наличие у этого вида общих антигенных компонентов с *M. salivarium* были обнаружены в РГД и иммуноэлектрофорезе (Milazzo et al., 1968).

При серологической дифференциации 82 культур микоплазм человека, млекопитающих, птиц из культур ткани и сточных вод Lemcke (1964a, b) с помощью РСК идентифицировала 17 серологических видов: 5 — от людей, 1 — из клеток млекопитающих, 4 — от крыс и мышей, 4 — от рогатого скота и коз, 2 — от птиц и 1 — от сапрофита. Большинство серотипов соответствовали известным ранее видам микоплазм.

Обнаруженные антигенные связи у микоплазм различного происхождения, например *M. hominis* 1 и некоторых микоплазм из тканевых культур *M. hominis* 2 и *M. arthritidis* (красиный), подтвердились гомологией нуклеиновых кислот данных видов (Somerson et al., 1967).

В результате изучения антигенных особенностей микоплазм человеческого происхождения *M. hominis* 1, *M. hominis* 2 («Самро» и 0,7), *M. fermentans*, *M. salivarium*, *M. pneumoniae* и *M. laidlawii* А и В с помощью иммунофлуоресценции выявлены общие антигенные компоненты у *M. salivarium* с *M. fermentans*, *M. hominis* 2 и *M. laidlawii*.

Интересно отметить, что *M. laidlawii*, выделенная из сточных вод и известная в литературе как сапрофитирующий вид микоплазм, имеет, как уже указывалось, общие антигенные компоненты с *M. pneumoniae* (Clyde, 1964) и *M. salivarium* (Tully, 1963).

В 1961 г. Adler с соавторами (1961) выделили штамм микоплазм из инфраорбитальных синусов цыплят, больных коризой. Этот штамм отличался от птичьих микоплазм серологически и биохимически, рос при комнатной температуре, не нуждался в присутствии сыворотки в среде культивирования и был назван *M. inosuum*. В последующей работе (1964) выяснилось, что антисыворотка *M. laidlawii* агглютинирует в разведении 1 : 320 *M. inosuum*, которая не агглютинировалась антисыворотками микоплазм других видов (*M. mycoides* var. *mycoides* и var. *capri*, *M. agalactiae* и др.). Антисыворотка *M. inosuum* агглютинировала *M. laidlawii* в разведении 1 : 160. Ввиду различий в метаболизме и источниках происхождения, но четкой серологической общности *M. laidlawii* и *M. inosuum* последняя рассматривается как вариант *M. laidlawii*. Она получила название *M. laidlawii* var. *inosuum*.

При серологической идентификации микоплазм, выделенных от человека, животных и птиц, необходимо проводить сравнительное исследование с другими микоплазмами, обычно не выделяемыми от данных видов. Taylor-Robinson и Dinter (1968) обнаружили при серологической идентификации 4 штаммов, выделенных ими от свиней, не свойственные последним серологические виды *M. gallinarum* и *M. iners* — птичьи микоплазмы и *M. laidlawii*.

Многочисленные данные (Lynn, 1967a, b; Crawford, 1967; Lemcke et al., 1969; Purcell et al., 1967, 1969; Lemcke, 1969) свидетельствуют о сложной антигенной структуре микоплазм, дифференцируемой по видовому и типовому составу антигенов в разных серологических реакциях. Показатели этих реакций не всегда коррелируют друг с другом и часто выявляют общие антигенные компоненты у разных, иногда очень далеких, видов микоплазм, что весьма осложняет серологическую идентификацию микоплазм в любом материале, в том числе и в культурах ткани (табл. 16).

Далеко не полные данные, приведенные в табл. 16, демонстрируют значительную серологическую гетерогенность семейства *Mycoplasmataceae*.

Весьма интересные данные об антигенном родстве микоплазм разного происхождения получены Lemcke (1964) с помощью гель-диффузии. Наряду с разнообразными общими антигенными компонентами были выявлены антигенные фракции, специфические для каждого данного вида (табл. 17).

Совпадающие данные получены у нас в лаборатории В. Н. Петросовой и др. при сравнительном изучении серологической характеристики 7 штаммов микоплазм (*M. laidlawii*, *M. fermentans*, *M. hominis* 1 и 2, *M. mycoides*, *M. gallisepticum* и *M. pulmonis*) в РАГ, РСК и РИР (табл. 18).

Выводы о видовых серологических различиях и межвидовой серологической общности были сделаны на основании результатов параллельных опытов РАГ, РСК и РИР гомо- и гетерологично реагировавших систем.

При взаимодействии антисывороток со всеми испытанными видами микоплазм в РАГ выявлялись как видоспецифические, так и общие анти-

ТАБЛИЦА 16. ОБЩНОСТЬ АНТИГЕННЫХ КОМПОНЕНТОВ У РАЗНЫХ ВИДОВ МИКОПЛАЗМ

| Вид | Общие антигены с другими видами | Серологическая реакция | Источник |
|-----------------------------------|---|------------------------|--|
| M. hominis 1 | M. mycoides v. mycoides, v. capri; M. bovisgenitalium, M. laidlawii | РСК, РПГА РП, РИР | Villemot, Provost, 1962 |
| | M.—контаминант культуры клеток | РСК | Lemcke, 1964 |
| | M. hominis 2, M. salivarium, M. fermentans | РСК, РИФ РГД | Taylor-Robinson et al., 1965 |
| M. hominis 2 | M. salivarium, M. fermentans | РИФ | Tully, 1963 |
| | M. laidlawii | | |
| | M. arthritis | РСК | Lemcke, 1964, 1967 |
| Т-штаммы | Птичий штамм микоплазм 95 | РСК | Klieneberger-Nobel, 1962 |
| M. pneumoniae | M. laidlawii B, M. mycoides v. mycoides | РИР РСК | Clyde, 1962 Lemcke et al., 1965 |
| M. mycoides v. mycoides | M. pneumoniae | РСК | |
| | Стрептококки группы К, пневмококки XIV | РСК РИР | Lemcke et al., 1967 Shifrine, Gourlay, 1967 |
| M. laidlawii | M. pneumoniae | | Clyde, 1964 |
| | M. salivarium | РПГА | Tully, 1963 |
| M. контаминанты клеточных культур | M. hominis 1 | РИР | Collier, 1957 |
| | M. ratt (из глотки здорового человека) | РСК | Coriell, 1960 |
| | M. hominis 2 | | Bailey et al., 1961 |
| | M. granularum | | Clyde, 1964 |
| | M. gallisepticum | | Lemcke, 1964 |
| | M. laidlawii | | Bailey et al., 1961 |
| | | | Clarck et al., 1963 |
| | | | Lemcke, 1965 |
| | | | И. В. Раковская, 1966 |

генные компоненты. В отличие от реакции в гомологичных системах, где специфичность действия антисывороток подтверждали относительно высокие титры (от 1 : 120 до 1 : 1400), в гетерологичных системах реакция наблюдалась только в низких разведениях. Так, антисыворотки M. fermentans, M. mycoides, M. gallisepticum и M. laidlawii содержали гетерологичные антитела в отношении всех 8 испытанных видов микоплазм в титрах от 1 : 8 до 1 : 32, что, бесспорно, свидетельствовало о наличии у данных видов микоплазм общих антигенных компонентов.

Обращал на себя внимание серологический анализ двух гетерологичных систем.

Первая система: антисыворотка M. hominis 1 + антиген M. hominis 2 и антисыворотка M. hominis 2 + антиген M. hominis 1. В первом случае титр агглютинации (1 : 28) почти не отличался от титра реакции в гомологичной системе (антисыворотка M. hominis 1 + антиген M. hominis 1). Во втором случае реакция была положительной лишь в разведении 1 : 16, тогда как в гомологичной системе выявлялся высокий титр (1 : 332) антисыворотки M. hominis 2. Эти многократно подтвержденные результаты свидетельствовали, по-видимому, о том, что M. hominis 1 имеет общий с M. hominis 2 антиген, способный при иммунизации вызывать формирование антител к данному гетерологичному виду, тогда как M. hominis 2 содержит, вероятно, общий с M. hominis 1 антиген типа гаптена — агглютинируется антисывороткой M. hominis 1 в высоких титрах, но при иммунизации не вызывает высокого титра антител к M. hominis 1.

ТАБЛИЦА 17. ЧИСЛО ЛИНИЙ ПРЕЦИПИТАТА В ГОМО- И ГЕТЕРОЛОГИЧНЫХ РЕАКЦИЯХ ГЕЛЬ-ДИФфуЗИИ (ПО ЛЕМСКЕ, 1964)

| Антигены | Антисыворотки | | | | | | | | | | | | | | | |
|--------------------------------|---------------------|----------------------|-----------------|----------------------|-------|-----------------------------|--------------------|------------------------|--------------------------|--------------------------------|-----------------------------|----|----------------------|--------------------|-------------------------|---------------------|
| | <i>M. hominis 1</i> | <i>M. salivarium</i> | <i>M. orale</i> | <i>M. fermentans</i> | Navel | <i>M. hominis 2 «Campo»</i> | <i>M. pulmonis</i> | <i>M. neurolyticum</i> | <i>M. bovigentialium</i> | <i>M. mycoides v. mycoides</i> | <i>M. mycoides v. capri</i> | AS | <i>M. gallinarum</i> | Непатогенные птицы | <i>M. gallisepticum</i> | <i>M. laidlawii</i> |
| <i>M. hominis 1</i> | 6 | 2 | 2 | 2 | — | 2 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| <i>M. salivarium</i> | 2 | 4—5 | 2 | 1 | — | 2 | — | — | — | 1 | — | — | — | — | — | — |
| <i>M. orale</i> | 1 | 2 | 6—7 | 1 | — | 1 | — | — | — | 1 | — | — | — | — | — | — |
| <i>M. fermentans</i> | 1 | 2 | 2 | 5—7 | — | 2 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| Navel | 1 | 1 | 2 | 3 | 3 | 1 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| <i>M. hominis 2 «Campo»</i> | 2 | 1 | 2 | 2 | — | 5—6 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| <i>M. pulmonis</i> | — | — | 1 | — | — | — | 3 | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| <i>M. neurolyticum</i> | — | — | 1 | 1 | — | — | 1 | 5—6 | — | — | — | — | — | — | — | — |
| <i>M. bovigentialium</i> | — | — | 2 | 2 | — | — | — | — | 4 | — | — | — | — | — | — | — |
| <i>M. mycoides v. mycoides</i> | — | — | — | — | — | — | — | — | 1 | 4—5 | — | — | — | — | — | — |
| <i>M. mycoides v. capri</i> | — | — | 2 | — | — | — | 1 | — | 1 | 3 | 3 | — | — | — | — | — |
| AS | — | — | 3 | 3 | — | — | 1 | — | — | — | — | 4 | — | — | — | — |
| <i>M. gallinarum</i> | 2 | 1 | 2 | 3 | — | 1 | — | — | 1 | — | — | — | 4 | — | — | — |
| Непатогенные птицы | — | — | 2—3 | 1 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | 4—5 | — | — |
| <i>M. gallisepticum</i> | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | 3 | + |
| <i>M. laidlawii A</i> | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | 3—4 |

ТАБЛИЦА 18. РЕЗУЛЬТАТЫ ИЗУЧЕНИЯ АНТИГЕННЫХ СВОЙСТВ МИКОПЛАЗМ (ПО В. Н. ПЕТРОСОВОЙ И ДР., 1969)

| Антисыворотка | Антигены | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------------|---------------------|-------|-----|---------------------|-------|------|--------------------|-------|-----|----------------------|------|-------|--------------------|-------|------|-------------------------|------|--------|---------------------|------|-------|
| | <i>M. hominis 1</i> | | | <i>M. hominis 2</i> | | | <i>M. pulmonis</i> | | | <i>M. fermentans</i> | | | <i>M. mycoides</i> | | | <i>M. gallisepticum</i> | | | <i>M. laidlawii</i> | | |
| | I | II | III | I | II | III | I | II | III | I | II | III | I | II | III | I | II | III | I | II | III |
| <i>M. hominis 1</i> | 1:150 | — | — | 1:128 | — | — | 1:64 | — | — | 1:32 | — | — | 1:8 | — | — | 1:64 | — | — | 1:10 | — | — |
| <i>M. hominis 2</i> | 1:16 | 1:160 | — | 1:332 | 1:160 | — | 1:180 | 1:20 | — | 1:16 | — | — | 1:8 | — | — | 1:16 | — | — | 1:24 | 1:20 | — |
| | | | | | 1:320 | | | 1:240 | | | | | | | | | | | | | |
| <i>M. pulmonis</i> | 1:16 | 1:10 | — | 1:160 | | | 1:170 | 1:50 | — | 1:8 | — | — | 1:10 | 1:20 | — | 1:64 | 1:10 | — | 1:16 | — | — |
| <i>M. fermentans</i> | 1:16 | — | — | 1:32 | | 1:10 | 1:64 | 1:10 | — | 1:332 | 1:40 | 1:240 | 1:32 | 1:10 | — | 1:32 | 1:10 | — | 1:10 | — | — |
| <i>M. mycoides</i> | 1:16 | 1:10 | — | 1:32 | | | 1:16 | — | — | 1:8 | — | — | 1:120 | 1:160 | — | 1:32 | | | 1:40 | — | — |
| <i>M. gallisepticum</i> | 1:32 | 1:20 | — | 1:32 | | 1:10 | 1:84 | 1:10 | — | 1:24 | — | — | 1:32 | 1:10 | 1:20 | 1:400 | 1:80 | 1:2560 | 1:32 | — | — |
| <i>M. laidlawii</i> | 1:16 | — | — | 1:20 | 1:10 | 1:16 | 1:10 | — | — | 1:24 | — | — | 1:16 | 1:10 | — | 1:32 | 1:10 | — | 1:160 | 1:80 | 1:180 |

Условные обозначения: I—реакция агглютинации; II—реакция связывания комплемента; III—реакция ингибирования роста; — отрицательная реакция.

Вторая система: антисыворотка *M. hominis* 2 + *M. pulmonis* и антисыворотка *M. pulmonis* + *M. hominis* 2. В данном случае оба вида содержали, по-видимому, идентичные антигены, способные в одинаковой степени вызывать образование гетерологичных антител в высоких титрах и на одном уровне с титром антител, выявляемым в гомологичных системах. Оба вида микоплазм проявляли высокую агглютинабельность при взаимодействии как с гомо-, так и с гетерологичной антисывороткой.

Специфическая комплементсвязывающая активность изучавшихся антисывороток в реакции с гомологичными антигенами варьировала в титрах от 1 : 40 до 1 : 320. В отношении гетерологичных антигенов испытуемые антисыворотки были инертны или реагировали очень слабо в разведениях 1 : 10—1 : 20.

Интересно отметить, что в РСК выявлены те же серологические взаимоотношения между *M. hominis* 1 и *M. hominis* 2, которые установлены в РАГ этих систем. Так, комплементсвязывающая активность антисыворотки *M. hominis* 1 с антигеном *M. hominis* 2 обнаруживалась в разведении 1 : 160 (как и в гомологичной системе антисыворотка *M. hominis* 1 + антиген *M. hominis* 1) и, наоборот, антисыворотка *M. hominis* 2 совершенно не реагировала с антигеном *M. hominis* 1, тогда как комплементсвязывающая активность антисыворотки *M. hominis* 2 с гомологичным штаммом была довольно высокая (титр 1 : 320). В отличие от РАГ антисыворотка *M. hominis* 2 в РСК не взаимодействовала с *M. pulmonis*. В то же время антисыворотка *M. pulmonis* обладала выраженной комплементсвязывающей активностью в реакции с *M. hominis* 2, такой же, как с гомологичным штаммом (титр 1 : 320), что было установлено и в РАГ.

Аналогичные наблюдения были сделаны Lemske с соавторами (1967) при изучении систем, включавших антисыворотку *M. pneumoniae* + антиген *M. mycoides* и антисыворотку *M. mycoides* + антиген *M. pneumoniae*. По-видимому, это явление связано с дефектностью межвидового комплементсвязывающего антигена.

Обнаружение гетерогенных серологических связей в РАГ, возможно, обусловлено наличием общих антигенных компонентов, идентичных по химической природе и структурно связанных с поверхностью цитоплазматической мембраны у разных видов микоплазм, легко вступающих во взаимодействие с гетерологичными антителами. В РСК выявляются более дифференцированные антигенные компоненты, ответственные за видовую специфичность микоплазм.

Несоответствие показаний разных серологических реакций связано с участием в них антигенов разной химической природы.

ИММУНОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МИКОПЛАЗМ

Изучение иммунохимии микоплазм ограничено несколькими видами. Первые исследования в этой области связаны с *M. mycoides*. Фактически первый полисахаридный антиген этого вида был получен Т. И. Курочкиным в 1937 г. осаждением бульонной культуры *M. mycoides* этанолом. Антиген обнаруживался в старых бульонных культурах и крови инфицированных животных. Полисахаридный антиген реагировал в РСК и РП в высоких разведениях (Т. И. Курочкин, Т. Банардский, 1938). При осаждении *M. mycoides* ледяной уксусной кислотой получен антиген, названный авторами нуклеопротеином, оказавшийся менее активным в РСК и РП.

В 1957 г. были экстрагированы и охарактеризованы 2 антигенных компонента *M. mycoides*. Это так называемые фракции А и В (Dafaalla, 1957).

Первая близка полисахариду Курочкина, нерастворима в этаноле, термостабильна, активна в РП и неактивна в РСК. Вторая фракция В в отличие от фракции А не обнаруживалась в свободном виде ни в среде культивирования, ни в организме. Она осаждалась ацетоном из этанолрастворимого экстракта *M. mucedinis*, вероятно, содержала липиды, реагировала в РП и РСК. Эта фракция, по-видимому, сходна с комплексом клеточных липидов Yoshida (1961), который рассматривался автором как комплементсвязывающий антиген *M. mucedinis*. Из 3 фракций (углеводной, белковой и липидной) только липид, экстрагированный в ацетоне или эфире, был активен в РСК.

Уже эти наиболее ранние работы свидетельствовали о сложности антигенной структуры *M. mucedinis*, состоящей из термостабильной легко освобождающейся из клеток антигенной фракции, ответственной за РП и, возможно, за РА, и фракции, тесно связанной с клетками, вероятнее всего липидной природы, ответственной за РСК. Последующее изучение антигенов *M. mucedinis*, экстрагированных метанол-хлороформом и ответственных за РСК (Lemcke et al., 1967, 1968; Lemcke, 1969), показало, что они состоят не менее чем из 2 (если не более) комплементсвязывающих компонентов, из которых только 1 является липидом.

Тепловая экстракция *M. mucedinis* водным фенолом позволила получить липополисахаридный компонент — галактан, содержащий 4% связанного триглицерида. В составе галактана найдены пальмитиновая и стеариновые кислоты. В неочищенном виде он отличался свойствами сложного гаптена, обладал пирогенностью, преципитировался специфической антисывороткой и оказался способным сенсибилизировать эритроциты барана и давать РПГА. Очищенный препарат был не пирогенен для кроликов, нетоксичен, содержал меньше сахара, фосфора и азота, чем липополисахариды грамотрицательных бактерий, что, видимо, обусловлено отсутствием у микоплазм клеточной стенки (Plackett, 1959, 1961; Plackett, Buttery, 1958, 1963; Villemot et al., 1962).

Специфичность очищенного галактана вероятнее всего определяется олигосахаридами с 6-О-β-D-галактофуранозными связями.

В отличие от *M. mucedinis*, содержащей галактан, у двух других микоплазм, выделенных при артрите коров и серологически не идентифицированных, найден другой полисахарид — глюкан, содержащий глюкозу и характеризующийся наличием 2-О-β-D-глюкопиранозных единиц. Оба полисахарида (галактан и глюкан) имеют необычные связи, что, по мнению Plackett и соавторами (1963) и Lemcke (1969), обуславливает резистентность подобных полисахаридов к действию ферментов хозяина и способствует выживанию данных микоплазм в организме.

Изучение антигенной структуры *M. pulmonis* выявило отсутствие специфических липидных гаптенных. Большая часть комплементсвязывающих и преципитирующих антигенов оказалась специфичной для отдельных изучавшихся штаммов. Эти антигены термостабильны и скорее всего представляют собой белковые комплексы. Кроме того, получены доказательства существования термолабильных родственных у отдельных штаммов *M. pulmonis* комплементсвязывающих антигенов, а также общего полисахаридного проназастабильного, периодатлабильного преципитирующего антигена. Антиген, извлекающий антитела, подавляющие рост *M. pulmonis*, относится к группе термолабильных антигенов (Deeb, Kenney, 1967).

Изучение антигенных особенностей полисахаридных, белковых и липидных фракций *M. hominis* (штамм «Сапро» и 0,7), *M. fermentans*, *M. salivarium*, *M. pneumoniae* и *M. laidlawii* позволило выявить их различия.

Полисахаридные и липидные антигены не сенсибилизируют эритроциты человека, а белковая фракция адсорбируется на эритроцитах и хорошо выявляется в РПГА (Tully, 1963). Для дифференциации антигенов микоплазм человека использовалось изучение их термостабильности (Bartholomew, 1967; Bartholomew et al., 1968). Была установлена термостабильность антигенов *M. pneumoniae*, обуславливающих РСК и РП и термолабильность (полная инактивация при 100°) антигена, ответственного за РИФ. Антигены *M. salivarium*, *M. orale* и *M. arthritidis* инактивируются при 50—100°, а антигены *M. hominis* термостабильны и выдерживают эти температуры. При изучении серологической активности липидов микоплазм человека и отчасти животных было обнаружено (Kenny, 1967, 1969), что только *M. fermentans* содержит специфический термостабильный комплементсвязывающий антиген, экстрагированный смесью хлороформ-метанол (2 : 1). Липидные экстракты *M. hominis* 1, *M. orale* 1 и 2, *M. salivarium*, *M. pulmonis* и *M. arthritidis* специфичностью не обладали, давали перекрестную РСК с антисыворотками гетерологичных видов, что может быть обусловлено экстракцией липидов среды культивирования.

M. pneumoniae является, пожалуй, единственным наиболее изученным в антигенном отношении видом микоплазм человека.

Выделены липидные, полисахаридные и белковые фракции *M. pneumoniae*, установлена высокая серологическая активность липидных и более низкая активность белковых фракций. Активность последних зависела от содержания примесей липидов. Так, наиболее высокоактивная фракция белка содержала до 15% липидов, наименее активная — 2%. В липидной фракции с помощью тонкослойной хроматографии выявлено 9 подфракций, однако серологическая активность была связана с первыми тремя (Prescott et al., 1966, 1967). Комплементсвязывающая активность *M. pneumoniae* связана с липидной фракцией, преципитирующая — с полисахаридным компонентом. Липопротеиновые комплексы высокоиммуногенны и вызывают образование комплементсвязывающих антител, антител, агглютинирующих в РПГА, и антител, ингибирующих рост и метаболизм микоплазм в высоких титрах (Sobeslawsky et al., 1966, 1967; Beckman, Kenny, 1967, 1968; Conant et al., 1968).

Все комплементсвязывающие липидные компоненты извлекаются экстрагированием в растворителях липидов — хлороформ-метаноле или ацетоне (Kenny, Grayston, 1965; Sobeslawsky et al., 1966, 1967; Lemcke et al., 1967; Lemcke, 1969).

При фракционировании липидов *M. pneumoniae* на колонках с силикатным гелем были выделены 2 серологически активные глицерофосфолипидные фракции В и D. Обе фракции обладали комплементсвязывающей активностью, а первая, помимо РСК, была связана с РП и РИМ. Обе фракции являются гаптенами и не обладают иммуногенными свойствами.

Пока еще нет единого мнения относительно структуры липидных гаптепов *M. pneumoniae*, что, вероятно, связано с разными методами их экстрагирования и фракционирования. Некоторые липидные компоненты, использованные как антигены в РСК, нуждаются в дополнении «вспомогательных» липидов подобно лецитину. Липидные фракции, не содержащие лецитина, не активны в РСК и дают высокие титры лишь при его добавлении (Plackett, Shaw, 1967; Lemcke et al., 1967; Plackett et al., 1969; Lemcke, 1969).

Серологически активные липиды, по-видимому, связаны с клеточными белками. Липидная часть липопротеинового комплекса *M. pneumoniae* не отличается по степени серологической активности от всего комплекса, тогда как белковая часть активна только в связанном с липидом состоянии.

Как мы уже указывали, липопротеиновые комплексы в отличие от липидов иммуногенны. Белковая часть придает иммуногенность липидному гаптену и сообщает ему способность сенсibilizироваться на обработанных танином эритроцитах для РПГА. Серологическая активность и специфичность связаны с липидным компонентом, антигенная активность — с белковым.

При обработке ацетоном клеточных остатков после экстракции липидов были получены полисахаридные фракции *M. pneumoniae*, активные в РГД и РП (Sobeslawsky et al., 1966). Получены 2 фракции, но они пока химически не охарактеризованы, одна экстрагированная водным фенолом, другая осажденная ацетоном из этаноластворимого экстракта (Marmion et al., 1967).

Приведенные данные с несомненностью свидетельствуют о том, что серологическая гетерогенность семейства *Mycoplasmataceae* и внутривидовая гетерогенность связаны с природой их антигенов, которые иногда могут быть различными даже в пределах одного и того же вида, а в ряде случаев оказываются общими не только у весьма отдаленных видов микоплазм, но и у других микроорганизмов. В этом отношении интересные данные получены при изучении серологически активного гликолипида *M. laidlawii* В (Plackett, Shaw, 1967; Plackett et al., 1969). Активность этого гликолипида связана с дигликозилдиглицеридом — компонентом, аналогичным по структуре дигликозилдиглицериду (*Streptococcus* Mg.). Оба гликолипида дают перекрестную РСК с антисыворотками *M. laidlawii* и *Streptococcus* Mg. В то же время дигликозилдиглицерид *Streptococcus* Mg. реагирует в РСК с антисывороткой *M. pneumoniae*. Полисахаридные антигены *M. mycoides* var. *mycoides* оказались серологически родственны антигенам некоторых видов бактерий *Corynebacterium xerosis*, *Aeromonas hydrophila* и *E. coli*, как было показано в РСК и РГД (Shifrine, Gourlay, 1967). Установлено, что стрептококки группы К перекрестно реагируют в РСК с антисывороткой *M. mycoides*, а антисыворотка *Pneumococcus* XIV реагирует в РСК с полисахаридным антигеном *M. mycoides*. У коров, сенсibilizированных *M. mycoides*, отмечается аллергическая кожная реакция на антиген стрептококка группы С.

Серологическая активность разных видов микоплазм нередко связана с антигенами разной химической природы, например наиболее серологически активными компонентами у *M. mycoides* являются полисахариды, у *M. pneumoniae* и, вероятно, у *M. fermentans* — липиды, а у *M. pulmonis* — белковый комплекс, причем серологическая активность в зависимости от химической природы антигена проявляется в разных серологических реакциях. Хотя сведения о природе антигенов микоплазм весьма ограничены, уже сейчас можно сказать, что их особенности, видимо, обусловлены отсутствием ригидной клеточной стенки. В настоящее время изучение антигенной структуры микоплазм вступило в новую весьма важную фазу — поисков путей дифференциального анализа антигенных компонентов цитоплазменной мембраны и цитоплазмы микоплазм. Это позволит впоследствии выяснить многие недоуменные вопросы о внутривидовой дифференциации и межвидовой общности антигенов у микоплазм. С этих позиций весьма интересна первая попытка использования антигенного анализа растворимых белков и белков мембран микоплазм с целью их видовой идентификации (Argman, Razin, 1969). В опыт были взяты *M. laidlawii* (разные штаммы), микоплазмы рогастого скота (коз), близкие *M. mycoides* var. *mycoides* и var. *capri*, и микоплазмы птиц. Все испытанные штаммы дифференцировались в РА на соответствующие группы; перекрестные реакции отсутствовали.

Группа птичьих микоплазм оказалась серологически гетерогенной. Все штаммы *M. laidlawii* (B, OR, выделенная из полости рта человека) взаимодействовали с антисывороткой *M. laidlawii* A. Методом иммуноэлектрофореза установлено, что все антигены микоплазм мигрируют к аноду, за исключением некоторых антигенов *M. mycoides* var. *capri*, перемещающихся к катоду. Растворимые белки всех штаммов разделялись на ацетатной бумаге на 8 фракций. Мембраны растворялись с помощью додецилсульфата натрия, но сохраняли антигены, характерные для цельных клеток и растворимых белков. Додецилсульфат натрия не разрушает антигенную активность белков мембран, что выявляется в реакции иммунофлуоресценции. Серологическая групповая специфичность связана с растворимыми белками. Она выявляется в РП, отличается небольшим числом линий преципитата. В РП принимают также участие липиды либо самостоятельно, либо вместе с белками, что обнаруживается с помощью окраски после преципитации суданом.

Липиды мембран *M. laidlawii*, полученные путем экстракции в хлороформ-метаноловой смеси, в отличие от белков не обладали антигенной специфичностью. Фракция гидрофобных белков *M. laidlawii* вызывала образование антител у кроликов не только против гидрофобных белков, но и цельных мембран, а также растворимых белков. Антитела, полученные при иммунизации цельными клетками, взаимодействуют как с мембранными, так и с растворимыми белками.

Hollingdale и Lemcke (1969) изучали локализацию антигенов у *M. hominis* путем серологического анализа гомологичных и гетерологичных систем цельных клеток и цитоплазматической мембраны. Антисыворотка корпускулярного антигена реагировала в РПГА с гомологичным антигеном — фракцией цитоплазматической мембраны и не реагировала с фракцией цитоплазмы. Антисыворотка к цитоплазматической мембране реагировала с гомологичным и корпускулярным антигенами. При анализе 3 фракций цитоплазматической мембраны установлена активность фракции белков в РП, РГД и РПГА и отсутствие серологической активности полисахаридной и липидной фракций. Это отличает *M. hominis* от других изучавшихся видов микоплазм.

Данные об антигенной структуре микоплазм весьма противоречивы. Серологические тесты, используемые для относительной идентификации выделяемых культур, не в состоянии дать полного представления об особенностях антигенной структуры микоплазм, уже не говоря об иммуногенезе, сопровождающем естественную микоплазма-инфекцию или вакцинный процесс.

Особенности структурной организации, химизма и метаболизма у микоплазм находят свое отражение в особенностях их антигенной структуры. Существование этой обширной группы микроорганизмов, лишенных ригидной клеточной стенки (в ней, как известно, сосредоточиваются все наиболее изученные антигенные компоненты, ответственные у бактерий за иммуногенез и антигенную специфичность), ставит перед современной иммунологией совершенно новый и весьма важный вопрос о роли антигенов цитоплазматических мембран и цитоплазмы в иммуногенезе, о проблеме антигенной специфичности и гетерогенности микоплазм и, если говорить шире, о проблемах иммунологии возбудителей, лишенных ригидной клеточной стенки.

* * *

Колонии микоплазм отличаются врастающим в среду центром и подразделяются по внешнему виду поверхности на зернистые и сосочкообразные. Размеры колоний варьируют у разных видов, и этот признак исполь-

зуют для относительной таксономической классификации. Вместе с тем внешний вид колоний микоплазм не зависит от их видовой принадлежности.

В жидких и полужидких средах рост микоплазм варьирует от выраженного помутнения до едва видимой опалесценции.

Отдельные клетки микоплазм характеризуются резким полиморфизмом, состоят из «зрелых» (400—1400 мкм) и «элементарных» (250—100 мкм) тел, имеют принципиальную общность морфологии независимо от их видовой принадлежности. Преобладание в культурах микоплазм тех или иных микроструктур зависит от штамма, среды культивирования и фазы роста. В условиях жидких сред в молодых культурах микоплазм больше нитевидных структур, размножающихся по мицелиальному типу, в старых культурах, как правило, отмечается дезинтеграция цепочечных форм. В условиях плотных сред в молодых культурах доминируют сферические формы, размножающиеся делением и почкованием, в старых культурах размножение чаще происходит путем образования элементарных тел. В пределах одной и той же популяции микоплазм могут одновременно встречаться сферические тела разной оптической плотности и разных размеров (ветвистые, нитевидные структуры, цепочечные формы и элементарные тела, не видимые в световом микроскопе).

«Зрелым» клеткам присущи множественные пути размножения (бинарное деление, почкование, ветвление с последующей сегментацией и почкованием ветвистых структур, дезинтеграция цепочечных форм и образование элементарных тел).

Наиболее точные данные о морфологии микоплазм, их жизненном цикле и характере репродукции получены в результате наблюдения живых объектов в микроскопе методом фазового контраста в динамике при центрифферной киносъемке или серийной микрофотосъемке. Все клетки микоплазм лишены ригидной клеточной стенки и покрыты трехслойной цитоплазматической мембраной толщиной 75—100 Å. У некоторых видов (*M. mycoides* var. *mycoides*, T-штаммы) иногда обнаруживаются образования типа липидной, полисахаридной или липополисахаридной капсулы. Микоплазмы, по-видимому, можно также дифференцировать по симметрии мембраны.

В цитоплазме микоплазм имеются рибосомы, отличающиеся у некоторых видов по форме, числу и упаковке. Микоплазмы содержат двухспиральную ДНК (5×10^9 дальтон), репродуцирующуюся полуконсервативным путем. Небольшие размеры, малый объем ДНК и меньшее число макромолекул на 1 КОЕ позволяют рассматривать микоплазмы как наиболее простые самовоспроизводящиеся, свободно живущие организмы. Вместе с тем нет убедительных данных о репродуктивном цикле чистой фракции элементарных (от 400 до 100 мкм) тел в бесклеточных средах.

Структура микоплазм, химический состав, особенности метаболизма обуславливают их пищевые потребности, условия культивирования, чувствительность к разным физическим и химическим воздействиям, в том числе к антибиотикам, и ферментативную активность. Многие из этих признаков (чувствительность к веществам, действующим на цитоплазматическую мембрану, отсутствие клеточной стенки, способность гемадсорбции и гемагглютинации) сближают микоплазмы и вирусы. Является ли это сходство чисто внешним или в основе его лежат какие-то более глубокие явления и процессы, покажет будущее.

Липопротеиновая мембрана микоплазм состоит из липопротеиновых единиц. Липиды микоплазм в значительной мере определяют стабильность и эластичность их мембраны. Белковая фракция выполняет струк-

турную и энзиматические функции. Видовая дифференциация белков микоплазм в полиакриламидном геле используется для их таксономической классификации. Последовательность нуклеотидных оснований ДНК и молекулярная гибридизация также используются для видовой дифференциации микоплазм.

Для культивирования микоплазм применяют огромный набор разнообразных питательных сред, основой которых являются триптические перевары сердечной мышцы, мозга и их сочетания, дрожжевой гидролизат и нормальная сыворотка лошади, различные аминокислоты, углеводы, нуклеиновые кислоты или их предшественники — дополнительные компоненты сред. В настоящее время имеются синтетические и полусинтетические среды.

По способности ферментировать углеводы микоплазмы дифференцируются на: 1) ферментативно активные стериннезависимые; 2) ферментативно активные стеринзависимые, 3) ферментативно инертные стеринзависимые. В зависимости от способности ферментировать аргинин их можно подразделять: на 1) аргининдегидролазоактивные и 2) лишенные аргининдегидролазной системы ферментов.

В настоящее время обнаружены уреазоактивные микоплазмы, расщепляющие мочевину; накапливаются данные о ферментативной активности некоторых видов микоплазм в отношении нуклеиновых кислот и нуклеотидов, а также о липолитической активности микоплазм. Все эти сведения крайне необходимы для совершенствования и уточнения таксономической классификации микоплазм.

Серологическое исследование микоплазм позволило дифференцировать их на определенные виды и типы в пределах вида, однако существует и межвидовое родство, обусловленное общностью антигенов одинаковой химической структуры. Способность продуцировать антитела, ингибирующие рост и метаболизм микоплазм, не коррелирующая с другими видами антител, имеет определенные черты сходства как с реакцией нейтрализации у вирусов, так и с реакцией бактериолиза у бактерий.

Особенности структуры микоплазм, отсутствие клеточной стенки (места локализации у бактерий наиболее активных антигенных компонентов, обуславливающих вирулентность, специфичность и иммуногенность) ставят микоплазмы в исключительное положение. В данном случае мы сталкиваемся с группой микроорганизмов, у которых патогенные, иммуногенные и антигенные потенции связаны с цитоплазматической мембраной, а, возможно, в какой-то мере и с цитоплазмой, что, по-видимому, определяет их межвидовую, а иногда и внутривидовую серологическую гетерогенность.

Данные об антигенных особенностях микоплазм и их противоречивость наглядно иллюстрируют положение, что успешно используемые в классической иммунологии подходы для изучения бактерий и бактериальных инфекций не могут быть эффективными применительно к микоплазмам и микоплазма-инфекциям. Необходимы поиски оригинальных принципов серологических исследований микоплазм.

Глава шестая • Филогения и таксономия класса Mollicutes

КЛАССИФИКАЦИЯ КЛАССА MOLLICUTES

Попытки классифицировать микоплазмы известны еще с 1929 г., когда Nowak впервые предложил новое родовое наименование — *Mycoplasma* для плевропневмониеподобных организмов (PPLO). Это наименование, подчеркивающее пластичность данных микроорганизмов, сохранилось до наших дней.

По предложению Sabin, группу PPLO следовало подразделить на 2 семейства: Parasitaceae, или Anulomycetaceae, и Saprophytaceae, или Sapro-mycetaceae, однако наиболее правильным было признано объединение всех микоплазм в одно семейство, названное Mycoplasmataceae (Edward, Freundt, 1956). Это семейство было включено в один порядок. Наименования этого порядка менялись:

- 1) Borellomycetales (Turner, 1935);
- 2) Paramycetales (Sabin, 1941);
- 3) Anulomycetales (Sabin, 1941);
4. Pleuropneumoniales (Tulasne, Brisou, 1956);
- 5) Mycoplasmatales (Freundt, 1955b);
- 6) Mollicutes (Edward, 1955).

Edward и Freundt (1956) указывают, что, исходя из правил номенклатуры, наименование всех таксономических групп выше ранга семейства следует предпочтительно выбирать на основании комбинации признаков или одного наиболее важного характерного для природы группы (таксона). Наименование отряда или порядка можно также обосновать наименованием входящего в него семейства.

До самого последнего времени общепринятой была классификация, предложенная в 1956 г. Edward и Freundt, согласно которой микоплазмы выделялись в обособленную таксономическую группу. Уже в 7-м издании Bergey (1957) Mycoplasmatales отнесены к X отряду II класса — шизомицетов, что предусматривало их принадлежность к бактериям. В составе Mycoplasmatales одно семейство Mycoplasmataceae с одним родом *Mycoplasma*.

В 1966 г. Подкомитет по таксономии, исходя из анализа признаков микоплазм, рекомендовал выделить их в отдельный класс, названный позже Mollicutes (Edward, Freundt, 1967). Рекомендации Подкомитета основывались на следующих отличиях микоплазм от бактерий: 1) отсутствии ригидной клеточной стенки и ее биохимических предшественников; 2) потребности в стеринах; 3) отсутствии генетического родства с бактериями по данным молекулярной гибридизации.

Таксономическая классификация микоплазм все время меняется и совершенствуется по мере накопления новых фактов, однако она все еще далека от завершения. К классу Mollicutes отнесен отряд Mycoplasmatales, или

Mollicutales (Muce — гриб, plasma — плазма; mollia — гибкий, cutes — кожа). Оба названия соответствуют правилам номенклатуры, отражают необычайную пластичность этих микроорганизмов, лишенных клеточной стенки; общепринятое наименование порядка — Mucoplasmataceae (Edward, Freundt, 1967, 1969a, b). До настоящего времени порядок Mucoplasmatales содержал лишь одно семейство Mucoplasmataceae и один род Mucoplasma.

Незавершенность существующей классификации микоплазм, ее изменения, совершенствование и даже ревизия обусловлены накоплением все новых и новых фактов, не укладывающихся в рамки выдвинутых классификационных принципов. Приведем несколько примеров. Как мы уже указывали, одним из критериев дифференциации микоплазм от бактерий является потребность в стеринах. Первоначально был известен лишь один вид микоплазм — *M. laidlawii*, не нуждающийся в стеринах и рассматривавшийся как известное исключение из общего правила. Однако затем, когда были выделены многие штаммы *M. laidlawii*, а вслед за ними и два других вида микоплазм, не нуждающихся в стеринах, все микоплазмы подразделили на стеринзависимые и стериннезависимые. В 1969 и 1970 гг. Edward и Freundt (1969, 1970) сформулировали новое дополнение к классификации микоплазм, предложив выделить все стериннезависимые виды микоплазм в новое семейство в составе порядка Mucoplasmatales. Это семейство названо Acholeplasmataceae (стериннезависимое), родовое наименование отдельных видов этого семейства Acholeplasma.

В настоящее время в составе семейства Acholeplasmataceae известны 3 вида: *Acholeplasma laidlawii*, *Acholeplasma granularum* и новый вид — *Acholeplasma axantum* (Tully, Razin, 1970). Выделение нового семейства Acholeplasmataceae свидетельствует о том, что в составе порядка Mucoplasmatales, возможно, имеются и другие, пока не изученные семейства. Вместе с тем выделение этого семейства показывает условность признака потребности в стеринах как критерия дифференциации микоплазм от бактерий.

Весьма вероятно, что порядок Mucoplasmatales может пополниться еще одним семейством — группой T-штаммов, отличающейся от других микоплазм минимальными размерами колоний и клеток, диапазоном pH среды культивирования, быстротой роста и активным расщеплением мочевины.

До 1966 г. род Mucoplasma состоял из 15 видов, однако в последующие годы был накоплен обширный материал о свойствах повсеместно выделявшихся микоплазм, и в настоящее время известно более 35 видов микоплазм человека, животных и птиц. В связи с этим пересматривается классификация ряда хорошо изученных микоплазм. Так, преобладание у *M. gallisepticum* коккобациллярных телец, большие размеры минимальных жизнеспособных элементов (Klieneberger-Nobel, 1962), наличие в поверхностных структурах так называемых шипов (spikes), сходных с аналогичными структурами у миксовирусов, особая группировка рибосом (Chu, Horne, 1967) и более высокая резистентность к осмотическому лизису по сравнению с другими микоплазмами (Razin, 1964) дали основание Edward и Freundt (1969b) выделить *M. gallisepticum* в самостоятельный род.

В 1968 г. Furness с соавторами (1968a, b), изучив репродукцию *M. pneumoniae* в синхронных культурах, показали, что они размножаются двойным делением. Это дало основание авторам выделить *M. pneumoniae* в другой род под названием *Schizoplasma pneumoniae*. Однако Edward и Freundt (1969b) считают, что пока нет оснований для пересмотра родового

наименования *M. pneumoniae*. Необходима проверка репродукции других видов микоплазм методом Furness с соавторами (1968a, b) и, если обнаружатся различия в механизмах воспроизведения, то тогда встанет вопрос о выделении самостоятельных родов или еще более крупных таксонов. Современная классификация микоплазм в идеале должна строиться на полном совпадении фенотипических признаков и данных о молекулярной структуре нуклеиновых кислот. К сожалению, в микоплазматологии этот подход пока еще не может полностью использоваться.

На основании подробного анализа признаки микоплазм можно подразделить на 2 категории: 1) признаки, общие для всех микоплазм, и 2) видовые признаки.

К первым относятся морфология и размеры колоний и отдельных микроструктур, а также субструктурная организация, ко вторым — биохимические, генетические и серологические признаки.

Вид колоний в принципе одинаков у разных видов микоплазм. Вместе с тем *M. pneumoniae*, *M. pulmonis* и особенно Т-штаммы несколько отличаются по форме, консистенции и размерам.

Морфология микроструктур у микоплазм тоже одинакова. Субструктурная организация у разных видов микоплазм также отличается поразительным сходством. Тем не менее недавно были обнаружены различия, которые могут иметь значение для таксономической классификации. К этим признакам следует отнести дифференциацию микоплазм по симметрии и асимметрии структуры лимитирующей мембраны, обнаружение поверхностных шипов у *M. gallisepticum*, *M. pulmonis* и Т-штаммов, особое строение рибосомального аппарата у *M. gallisepticum*.

Для оценки биохимических методов дифференциации микоплазм существенное значение имеет стандартизация методов их культивирования и исследования. Edward и Freundt (1969b) отмечают перспективность использования для этих целей метода Bürger с соавторами (1967), которые готовят промытые взвеси микроорганизмов с различными субстратами определенного химического состава. Специфичность тест-системы увеличивается инаktivацией путем прогрева компонентов сыворотки и дрожжевого экстракта среды культивирования. Этот метод оказался эффективным для выявления эстераз, фосфатаз и пептидаз, по наличию или отсутствию которых можно дифференцировать некоторые микоплазмы. Для дифференциации микоплазм используют и такие признаки, как потребность в специфических факторах питания, физические условия культивирования (температура, рН, осмотическое давление, условия аэро-анаэробноза), потребность в стеринах, нуклеиновых кислотах и их предшественниках и так называемый липолитический критерий (Edward, 1954). Видовая липолитическая активность микоплазм хорошо выявляется на средах, содержащих яичный желток.

Протеолитическую активность микоплазм также используют для идентификации некоторых видов микоплазм. Так, *M. mycoides* var. *capri* интенсивно и быстро разжижает свернутую сыворотку, *M. mycoides* var. *mycoides* — медленно и непостоянно, *M. laidlawii* разжижает денатурированную формалином желатину (Edward, Freundt, 1969a, b).

Для таксономических целей используют недавно выявленную уреазающую активность Т-штаммов (Shepard, Lanceford, 1967) и аргиназную активность *M. hominis*, а также дифференциацию микоплазм по активности метаболизма углеводов и гемолитической способности.

Серологические методы применяют для таксономической классификации микоплазм на уровне отдельных видов и для установления антигенного родства между ними.

КЛАССИФИКАЦИЯ РОДА MYCOPLASMA
(ПО EDWARD, FREUNDT, 1969b)

В составе рода *Mycoplasma* было описано 33 вида (*M. laidlawii* и *M. granularum* исключены из этого рода и перенесены в другой).

1. *Mycoplasma mycoides* (Borrel et al., 1910) — возбудитель плевропневмонии рогатого скота.

Подвид: *M. mycoides* var. *mycoides* (Pg-1).

Подвид: *M. mycoides* var. *capri* (Pg-3).

Предполагается, что последний будет определен как самостоятельный вид — *M. capri* — возбудитель контактной пневмонии и других заболеваний у коз (Hudson et al., 1967);

2. *Mycoplasma agalactiae* (Wroblewski, 1931; Edward, 1954; Pg-2) — возбудитель контактной агалактии;

3. *Mycoplasma bovigenitalium* (Freundt, 1955a, b; Pg-11) — генитальный штамм коров;

4. *Mycoplasma spumans* (α -штамм, Edward, Fitzgerald, 1951a; Pg-13) — штамм собак;

5. *Mycoplasma canis* (β -штамм, Edward, Fitzgerald, 1951a; Pg-14) — штамм собак;

6. *Mycoplasma maculosum* (γ -штамм, Edward, Fitzgerald, 1951a; Pg-15) — штамм собак;

7. *Mycoplasma pulmonis* (L_3 , Klieneberger, 1938; Pg-34) — возбудитель инфекционного катара мышей; выделена также из респираторного тракта у кроликов (Deeb, Kenny, 1967);

8. *Mycoplasma arthritidis* (L_4 — крысиный «Preston», Sabin, 1941; Pg-6); выделена от крыс;

9. *Mycoplasma neurolyticum* (Sabin, 1941, тип А; L_5 -штаммы мышей; Pg-28) — возбудитель хорей мышей;

10. *Mycoplasma gallinarum* (Freundt, 1955; Pg-16); выделена от птиц (Edward, 1954);

11. *Mycoplasma hominis* (Edward, 1955; Pg-21); выделена от человека (Nicol, Edward, 1953);

12. *Mycoplasma fermentans* (Edward, 1955; Pg-18); выделена от человека (Nicol, Edward, 1953);

13. *Mycoplasma salivarium* (Edward, 1955; Pg-20); выделена от человека (Nicol, Edward, 1953);

14. *Mycoplasma hyorhinis* (Switzer, 1953, 1955; Pg-29 и соответственно BTS 7; ATCCN 17981); патогенна, выделена от свиней (Switzer, 1953);

15. *M. histotropicum* (Sabin, 1941; штаммы С Sabin идентичны *M. pulmonis*, Razin, 1968);

16. *Mycoplasma gallisepticum* (Edward, Kanarek, 1960; Pg-31); патогенна, выделена от кур и индеек;

17. *Mycoplasma iners* (Edward, Kanarek, 1960; Pg-30) — комменсал птиц;

18. *Mycoplasma pneumoniae* (Chanock, Hayflick, Barile, 1962; FH) — возбудитель первичной атипичной пневмонии человека;

19. *Mycoplasma pharyngis* (Clyde, 1964), затем переименована в штамм «Patt» и *Mycoplasma orale* 1 (Taylor-Robinson et al., 1964) — комменсал из носоглотки человека;

Подвид (?) *Mycoplasma orale* 2 (Taylor-Robinson et al., 1965; CH20247) — комменсал из носоглотки человека.

Подвид (?) *Mycoplasma orale* 3 (Fox et al., 1969; Дс-333) — комменсал из носоглотки человека;

20. *Mycoplasma anatis* (Roberts, 1964, 1340); выделена от уток;
21. *Mycoplasma synoviae* (Olson et al., 1964; WVU 1853); вызывает синовиты у цыплят;
22. *Mycoplasma meleagridis* (Yamamoto et al., 1965; 17529 — птичий штамм N); патогенна для индеек;
23. *Mycoplasma hyopneumoniae* (Mare, Switzer, 1965; WMRI-11) — этиологический агент энзоотической пневмонии свиней.
- Mycoplasma suisneumoniae* близка *M. hyopneumoniae* (Goodwin et al., 1967);
24. *Mycoplasma bovirhinis* (Leach, 1967, Pg-43); выделена из респираторного тракта коров;
25. *Mycoplasma agalactiae* var. *bovis* (Hale et al., 1962; штамм «Donetta») — этиологический агент мастита коров;
26. *Mycoplasma hyoarthrinosa* (Moore et al., 1965); выделена от свиней;
27. *Mycoplasma hyogenitalium* (Moore et al., 1965); выделена от свиней;
28. *Mycoplasma felis* (Cole et al., 1967); выделена от кошек;
29. *Mycoplasma gateae* (Cole et al., 1967); выделена от кошек;
30. *Mycoplasma foliminutum* (Heyward et al., 1968, Ben); выделена от кошек;
31. *Mycoplasma leonis* (Heyward et al., 1968); выделена от льва;
32. *Mycoplasma arginini* (Barile et al., 1968; G-230); выделена от овец, коз и тканевых культур;
33. *Mycoplasma lipophilium*; выделена от человека.

Выделенные ранее 2 штамма: *M. inosium* (Adler et al., 1961) — от птиц, позже названа *M. laidlawii* var. *inosium*, и *M. mergenhagen* (Grace et al., 1965) — из клеточных культур, инфицированных материалом из костного мозга больных лейкозом, позже идентифицирована как *M. pulmonis* (Leach, Butler, 1966)*.

Вторым семейством порядка *Mycoplasmatales* является семейство *Acholeplasmataceae*, в составе которого имеется один род *Acholeplasma*. В настоящее время известны 3 вида:

1. *Acholeplasma laidlawii*, ранее известная под названием *M. laidlawii* (Sabin, 1941; Pg-8); выделена из сточных вод (Laidlaw, Elford, 1936);
2. *Acholeplasma granularum*, ранее известная как *M. granularum* (Switzer, 1965; BT-39); выделена от свиней;
3. *Acholeplasma axantum* (Tully, Razin, 1970); выделена из линий лейкемических клеток мышей.

Приведенный перечень видов далеко не полный, так как мы не включили микоплазмы, выделенные в настоящее время от насекомых и растений.

Современная классификация позволяет дифференцировать микоплазмы от других микроорганизмов. Вместе с тем вопрос о критериях полной дифференциации микоплазм от стабильных L-форм нельзя считать решенным.

Наиболее действенным критерием является способность L-форм в отличие от микоплазм реверсировать в бактерии, однако такая реверсия у стабильных L-форм наблюдается чрезвычайно редко.

Таким образом, выделение класса *Mollicutes* как самостоятельного из класса *Schisomycetes*, несмотря на практическую ценность, не сняло с повестки дня вопросов о критериях дифференциации стабильных L-форм от микоплазм и филогенетическом происхождении последних.

* В настоящей главе не нашли отражения данные, полученные после написания книги об идентификации микоплазм, выделенных от обезьян в отдельный вид, названный *M. primateum*.

ФИЛОГЕНИЯ МИКОПЛАЗМ, ИХ СХОДСТВО И РАЗЛИЧИЯ С L-ФОРМАМИ БАКТЕРИЙ

Несмотря на выяснение систематического положения микоплазм, филогенетическое их происхождение остается нерешенной проблемой. Существуют разные точки зрения по этому вопросу.

Первая, высказанная Edward и Freundt (1969b), исходит из самостоятельного систематического положения класса Mollicutes. Она предполагает отсутствие родства между микоплазмами и бактериями, ставя под сомнение бактериальное происхождение микоплазм (L-формы бактерий не рассматриваются как возможный этап филогенетического происхождения микоплазм). Основанием этой концепции служат отсутствие у микоплазм реверсии, отсутствие у них предшественников клеточной стенки (имеющейся у отдельных видов L-форм), наличие у всех стеринзависимых микоплазм холестерина, включенного в мембрану; отсутствие генетического родства микоплазм и их возможных бактериальных предков (опыты по гибридизации ДНК—ДНК), а также различные, по мнению авторов этой гипотезы, способы репродукции микоплазм и L-форм.

Другая гипотеза (М. А. Пешков, 1969) рассматривает возможную филогению микоплазм с позиций «прогрессивной» эволюции. Согласно этой точке зрения, филогенетическая древность просто организованных прокариотов и более простая организация микоплазм по сравнению с бактериями (отсутствие клеточной стенки и наличие мельчайших жизнеспособных клеток около 200 мкм, способных к самостоятельному метаболизму и размножению в природе) позволяют высказать предположение, что именно микоплазмы явились предками прокариотов, в том числе и бактерий. Автор считает, что интерпретация «железобактерий» — *Gallionella* и накопителей марганца — *Metallogenium* как микоплазм может служить подтверждением высказанной им гипотезы. Способность биосинтеза клеточной стенки у бактерий является следствием серии мутации, а индукция L-форм, по его мнению, — это «своеобразное проявление атавизма, в ходе которого бактерии, лишаясь клеточной стенки, вспоминают свое прошлое и превращаются на время или навсегда в свое первобытное состояние — филогенетически более древних микоплазм»¹.

Рассматривая гипотезу М. А. Пешкова, мы считаем необходимым отметить, что независимо от признания того или иного гипотетического пути эволюции («регрессивного»: бактерия → микоплазма или «прогрессивного»: микоплазма → бактерия) автор признает несомненное родство микоплазм и бактерий.

Результаты наших многолетних сравнительных исследований биологии L-форм бактерий и микоплазм позволили нам еще в 1961 г. высказать гипотезу о бактериальном происхождении последних и значении L-форм бактерий как этапа в филогенезе этой самостоятельной группы микроорганизмов (В. Д. Тимаков, Г. Я. Каган, 1961, 1967).

Противоречит ли наша точка зрения о филогенетическом происхождении микоплазм из бактерий изложенной выше концепции о самостоятельном месте микоплазм в систематике микроорганизмов и существующей таксономической классификации? По нашему мнению, нет.

Принятые в последние годы принципы классификации микоплазм полностью оправданы. Однако поиск места микоплазм среди прокариотов, на наш взгляд, далеко не завершен. В связи с этим полное исключение

¹ М. А. Пешков. Микробиология, 1969, т. XXXVIII, в. 4, стр. 740.

возможности филогенетического происхождения микоплазм из бактерий нам кажется преждевременным.

Причины возникновения обособленной группы микроорганизмов — микоплазм до настоящего времени не ясны, поэтому следует продолжать сравнительное изучение микоплазм и их возможных родственных форм (среди них особое место по-прежнему занимают стабильные L-формы бактерий). Такие исследования представляются нам необходимыми не только для выяснения филогенетического происхождения микоплазм, но и для получения точных критериев дифференциации микоплазм от стабильных L-форм бактерий, которая не всегда возможна и вместе с тем крайне нужна для лабораторной диагностики этих микроорганизмов при их выделении из патологического материала.

L-формы бактерий и микоплазмы — единственные прокариоты, у которых отсутствует клеточная стенка. Эта важная особенность определяет общность их морфологических и физиологических признаков.

К морфологическим признакам, подлежащим сопоставлению, можно отнести: 1) вид, структуру и размеры колоний; 2) морфологию отдельных микроструктурных элементов, составляющих колонии, их размеры и характер изменений в процессе жизнедеятельности; 3) особенности субструктурной организации.

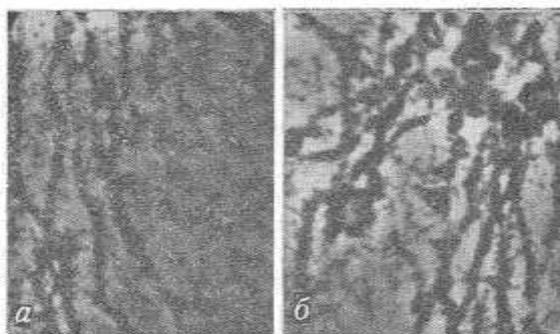
По форме и структуре колоний микоплазмы близки L-формам бактерий. Они имеют лишь более зернистую поверхность и несколько меньшие размеры. Однако L-колонии типа А по форме, структуре и размерам могут приближаться к микоплазмам и практически трудно отличимы.

В оценке особенностей морфологии видимых в световом микроскопе микроструктур и их роли в воспроизводстве L-форм бактерий и микоплазм мы не можем согласиться с точкой зрения Edward и Freundt (1969b). По мнению этих авторов, у микоплазм преобладают мицелиальные формы и множественные механизмы репродукции (разветвление и дезинтеграция волокон, деление и почкование увеличенных элементарных тел и т. д.). L-формы некоторых видов бактерий образуют волокнистые структуры, но у них в отличие от микоплазм не наблюдается правильного дихотомически разветвленного мицелия, а размножение идет по типу двойного деления, свойственного бактериям. Из-за отсутствия клеточных стенок деление у L-форм менее организовано, они могут делиться на фрагменты разных размеров; некоторые из них могут не содержать генома, а следовательно, не будут жизнеспособными.

В отличие от этой точки зрения Dienes и Bullivant (1968) подчеркивают соответствие микоплазм по морфологии, структуре и типу размножения L-формам типа А. Авторы рассматривают 2 типа размножения: 1) образование крупных неправильной формы масс и ветвистых образований, которые делятся путем беспорядочной сегментации (L-формы протей и некоторые виды микоплазм); 2) рост и развитие элементарных телец в виде коротких цепочек и фрагментация нитей, а также отщипывание элементарных телец от бесформенных масс.

Сравнительное исследование динамики морфологических изменений микроструктурных элементов некоторых видов микоплазм (*M. laidlawii*, *M. sp. HeLa*, *M. hominis*) и некоторых видов L-форм бактерий (*S. typhi*, *Streptococcus haemolyticus*) методом фазово-контрастной микроскопии и документирование с помощью цейтрафферной киносъемки убедили нас в значительном сходстве их морфологии и репродукции. Зернистые, не ограниченные клеточной стенкой структуры микоплазм и характер их преобразования в сферические тела очень сходны с соответствующими микроструктурами L-форм у бактерий и характером их преобразования.

Рис. 37. Ветвистые структуры. Ув. $\times 1350$.
а — L-формы *S. typhi*; б — *M. laidlawii*.



Наличие шаровидных тел разных размеров и разной оптической плотности, их преобразование в ходе жизнедеятельности, размножение бинарным делением и почкованием также принципиально одинаково у L-форм бактерий и у микоплазм. У L-форм нередко встречаются нитевидные, ветвящиеся формы (рис. 37, а), похожие на аналогичные структурные элементы, характерные для микоплазм (рис. 37, б), однако мицелиальный тип размножения у L-форм в отличие от микоплазм не наблюдался (рис. 37). Надо также подчеркнуть, что ни нам, ни другим исследователям (за исключением указанной выше единственной работы Dienes и Bullivant, 1968) пока не удалось при изучении L-форм многих видов бактерий обнаружить «цепочечные» формы и их размножение путем дезинтеграции, свойственное микоплазмам.

Отсутствие клеточной стенки и наличие трехслойной, почти идентичной по структуре цитоплазматической мембраны у микоплазмы и L-форм, обуславливающей их пластичность и полиморфизм, безоговорочно признают все исследователи. Имеет ли это сходство таксономическое значение, не ясно.

Edward и Freundt (1969), ссылаясь на данные Revel и Ito, отмечают, что сходство строения мембраны у различных микроорганизмов еще не является показателем идентичности макромолекулярной организации мембран. Вместе с тем авторы подчеркивают необходимость изучения макромолекулярной организации мембраны у микоплазм и стабильных L-форм бактерий.

Отдельные штаммы L-форм некоторых видов бактерий могут сохранять способность синтезировать предшественники этих важных компонентов клеточной стенки, тогда как у микоплазм подобное свойство не обнаружено.

Относительно недавно Edward и Freundt (1969b) обнаружили у L-формы *Proteus mirabilis* фермент аланин-рацемазу, превращающий L-аланин в D-аланин, являющийся важным компонентом мукополимера клеточной стенки. Этот мукополимер обнаруживается у нестабильной L-формы и отсутствует у стабильной. Аланин-рацемазы не найдена у *M. laidlawii* и *M. neurolyticum*. Таким образом, наличие или отсутствие аланин-рацемазы может служить критерием дифференциации L-форм и микоплазм. Однако данных, подтверждающих эти результаты, пока нет.

Элементарные тела микоплазм и L-форм бактерий, их размеры и роль в клеточном цикле микоплазм и L-форм бактерий изучались с помощью электронного микроскопа и ультрафильтрации. Большинство авторов считают, что размер минимальных репродуктивных структур у микоплазм приблизительно равен 1500–2000 Å, а у L-форм бактерий — 4000 Å и более.

Исходя из расчетной величины генома, размеры минимальных колониеобразующих единиц у микоплазм не могут быть меньше 1300 Å (Morowitz, 1966), у L-форм гемолитических стрептококков — 2400 Å (Coussons, Cole, 1967). Различия пока отмечены лишь у ограниченного числа изучавшихся видов L-форм и микоплазм.

Наличие полного генома в элементарных телах микоплазм и L-форм бактерий, вероятно, не обязательно, если допустить возможность слияния «неполноценных» (не имеющих полного генома) элементарных тел в структуры, могущие быть колониеобразующими единицами. Слияние более крупных форм наблюдалось нами в световом микроскопе у L-форм *S. typhi*, *Streptococcus haemolyticus* и *M. laidlawii*.

Современная систематика микроорганизмов не может строиться лишь на одних морфологических признаках. Весьма важным условием построения филогенетической систематики является познание биохимической эволюции (А. Н. Белозерский, 1969).

Сравнительный анализ физиологии и биохимии микоплазм и L-форм бактерий наиболее полно представлен в работах Smith (1964, 1967), Edward и Freundt (1969), направленных на выяснение не только биохимических основ филогенетического родства этих групп микроорганизмов, но и биохимических критериев их дифференциации.

В сравнительном анализе результатов исследования физиологии L-форм бактерий и микоплазм существенную роль сыграли работы, позволившие дифференцировать L-формы в зависимости от степени их осмотической хрупкости на солезависимые и солenezависимые. Сопоставление физиологической и биохимической характеристики микоплазм и указанных типов L-форм выявило значительное физиологическое сходство солenezависимых L-форм и микоплазм.

Попытку дифференцировать микоплазмы и L-формы по их потребности в стеринах предприняли Edward и Fitzgerald (1951b). Было обнаружено существование стеринезависимой группы микоплазм и способность некоторых штаммов стабильных L-форм (L₁-форма *Streptobacillus moniliformis*, L-варианты некоторых дифтероидов и ряда штаммов β-гемолитических стрептококков, стафилококков и протеев) культивироваться на средах без добавления стерина (Smith, 1964, 1967).

Сравнительное изучение липидного обмена у некоторых видов микоплазм, L-форм и интактных бактерий позволило установить, что способность адсорбировать большие количества стерина является общим специфическим свойством микоплазм. Все изучавшиеся виды микоплазм, включая *M. laidlawii*, обладали одинаковой способностью потреблять холестерин. Стабильная солenezависимая L-форма протеев была близка микоплазмам, хотя общее потребление холестерина оказалось у нее несколько меньшим. Вместе с тем солезависимая L-форма стрептококка отличалась пониженной способностью к адсорбции холестерина, приближаясь в этом смысле к бактериям (Smith, Rothblat, 1963; Smith, 1964).

Изучение способности некоторых видов микоплазм и L-форм синтезировать неомыляемые липиды из меченных C¹⁴ предшественников показало, что паразитические микоплазмы и некоторые L-варианты (L₁-форма и солезависимый штамм L-форм дифтероида) не способны их синтезировать, тогда как L-формы стрептококков и протеев использовали меченый предшественник для синтеза неомыляемого липида. Таким образом, оказалось невозможным провести четкую дифференциацию микоплазм и стабильных L-форм на основании их липидного обмена. Однако Smith (1964) утверждает, что «L-варианты микроорганизмов в отличие от паразитиче-

ских микоплазм способны синтезировать липиды, хотя они могут обойтись и без этого, используя экзогенные липиды из внешней среды».

Потребность паразитических видов микоплазм в холестерине и родственных ему стеринах, которые они не способны синтезировать, отражает их жизненную потребность в этих веществах, необходимых для сохранения структурной целостности их мембраны. Сравнительное изучение состава липидов микоплазм и L-форм (Smith, Rothblat, 1962) показало, что микоплазмы содержат максимальное количество общих и неомыляемых липидов, в среднем 8—15 и 4—8% от сухого веса клеток соответственно, самая низкая концентрация обнаружена в клетках *M. laidlawii*.

Содержание липидов у L-форм менее постоянно. L-форма *Streptobacillus moniliformis* по содержанию общих и неомыляемых липидов оказалась близкой паразитическим штаммам микоплазм, а 2 штамма солезависимых штаммов L-форм протей — близкими *M. laidlawii*. Солезависимые штаммы L-форм по содержанию общих и неомыляемых липидов занимают как бы промежуточное место между микоплазмами и бактериями.

По данным Krembel с соавторами (1961), содержание липидов в культуре L-форм протей на среде с нормальной концентрацией солей было 6—7%, а в культуре на гипертонической среде — 10—12%.

Общее содержание липидов и неомыляемых липидов зависит от вида и штамма микроорганизмов. Наиболее высокие концентрации их найдены у холестеринзависимых микоплазм и L-форм *Streptobacillus moniliformis*. Меньшие количества обнаружены в культурах не нуждающихся в холестерине микоплазм, некоторых штаммов стабильных L-форм протей и солезависимых L-форм. Не нуждающиеся в стерине микоплазмы способны синтезировать неомыляемые липиды, стеринзависимые не обладают такой способностью. Большое количество неомыляемых липидов было преимущественно в клеточных мембранах микоплазм и L-форм бактерий.

Присутствие в среде культивирования стерина отражается на качественном составе липидов испытуемых штаммов микоплазм и L-форм. Первым доказательством того, что не нуждающиеся в стеринах штаммы микоплазм содержат липиды, отличающиеся от стеринах среды, явилось обнаружение у двух штаммов *M. laidlawii* растворимых в спирте пигментов (Rothblatt, Smith, 1961). Один из них был идентифицирован как нейроспорин, два других — как каротиноид и каротинилгликозид. При последующем тщательном анализе 4 других видов микоплазм (Smith, 1963), не нуждающихся в стеринах, оказалось, что в каждом из них содержались 3 пигмента: нейроспорин, гидроксированный каротиноид и каротинилгликозид. Всем микоплазмам, за исключением *M. laidlawii*, необходимы окисленные политерпены, которые синтезируются *M. laidlawii*. Очень мало имеется сведений относительно содержания и состава других нейтральных липидов, фосфолипидов и глюколипидов у микоплазм и L-форм бактерий.

В связи с тем что в части работ, посвященных липидному составу L-форм и микоплазм, авторы пользовались клеточными массами, выращенными на неочищенных средах, содержащих липиды, липидные фракции испытывавшихся микроорганизмов могли отражать состав липидов питательных сред. Одним их вероятных показателей загрязнения липидами среды является обнаружение сфингомиелина, не встречающегося обычно у микроорганизмов, выращенных на синтетических средах.

Исследование коллекции L-форм и микоплазм (Longefeld, Smith, 1963) выявило, что содержание липидного фосфора в липидах микоплазм колеблется в пределах 0,12—0,44 мг на 100 мг сухого веса, у солезависимых L-форм — от 0,24 до 0,62 мг, а у солезависимых — от 0,01 до 0,09 мг.

Таким образом, можно прийти к заключению, что содержание липидов у микоплазм и солenezависимых L-форм приблизительно одинаково. Солenezависимые L-формы содержат очень малые количества липидов, в частности фосфолипидов. Эти данные послужили основанием для выдвинутой Smith и Rothblat (1962) гипотезы, согласно которой высокая потребность в солях у некоторых видов L-форм отражает стабилизацию отдельных слоев мембраны, состоящих из отдельных липидов с длинными цепями. Стабилизация является следствием конденсации и уплотнения с помощью ионов металлов. Имеющихся в литературе данных пока недостаточно для точного определения «истинного» липидного состава L-форм бактерий и микоплазм.

По предложению Smith (1964), основная разгадка сходства и различий L-форм и микоплазм может заключаться в природе цитоплазматической мембраны, которая, по мнению этого автора, у L-форм и микоплазм состоит из липопротеинов со сходной молекулярной структурой. Отдельные виды различаются по количеству липидов и их свойствам, что обуславливает относительную стабильность различных видов и штаммов. Данная гипотеза не лишена оснований, и в этой связи особое значение имеют работы, посвященные изучению состава и структуры мембран L-форм бактерий и микоплазм.

Имеющиеся данные свидетельствуют о более высоком содержании липидов и особенно неомыляющейся фракции, включая холестерин, у микоплазм и L-форм по сравнению с интактными бактериями, у которых обнаруживаются лишь следы стерина. Можно полагать, что у L-форм и микоплазм существуют и определенные различия в структурной функции стерина, что явствует из различий их реакции на действие дигитонина. Smith и Rothblat (1960) продемонстрировали высокую чувствительность микоплазм (*M. hominis*, птичий штамм и *M. laidlawii*) к дигитонину; даже стеринезависимый вид *M. laidlawii* при выращивании на среде с холестерином лизировался дигитонином. В отличие от этих штаммов микоплазм солenezависимая культура L-форм стрептококка не лизировалась дигитонином, а L-форма протей лизировалась лишь в незначительной степени. L₁-форма *S. moniliformis* не лизировалась, а агглютинировалась. Последующие наблюдения Razin и Argman (1963) подтвердили эти данные (опыты с *M. laidlawii* A, *M. mycoides* var. *capri*, *M. hominis* 1 и L₁-формой *Streptobacillus moniliformis*).

Отмеченные различия в чувствительности к дигитонину, вероятно, отражают разные механизмы включения или адсорбции стерина. Чувствительность микоплазм к дигитонину, по-видимому, обусловлена «включением холестерина в мембрану» (Razin, Argman, 1963), тогда как у L-форм он, возможно, лишь адсорбируется на мембране.

Микоплазмы и L-формы отличаются по чувствительности к цианидам и другим дыхательным ядам, что является результатом различий в терминальных этапах дыхания. Было показано, что цитохромные системы обнаружены у некоторых видов L-форм и отсутствуют у ферментативно активных микоплазм (Smith, 1964). Тем не менее позднее цитохромы и цианидчувствительная цитохромоксидаза были найдены у ферментативно инертного штамма микоплазм (Marmion, 1967; Edward, Freundt, 1969b).

Smith (1964) на основании результатов сравнительных исследований метаболизма микоплазм и L-форм пришел к выводу, что имеющиеся различия в большей мере отражают различия между разными видами и штаммами, чем между этими 2 группами микробов.

Исследования нуклеотидного состава L-форм бактерий и микоплазм, как известно, выявили большую гетерогенность среди изучавшихся от-

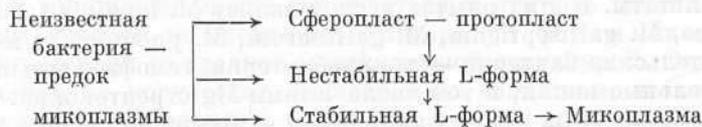
дельных видов и штаммов этих микроорганизмов. Значительно более успешным оказалось использование метода гомологии нуклеиновых кислот для выявления генетического родства отдельных видов микоплазм в пределах семейства *Mycoplasmataceae*, генетического родства L-форм и их родительских бактериальных культур и, наконец, микоплазм и их возможных бактериальных предков (Somerson et al., 1966, 1967; Somerson, Weissman, 1969; McGee et al., 1967; Neimark, 1967, и др.). Так, например, McGee с соавторами (1967) показали, что ДНК *Pr. mirabilis* и его L-форма не отличимы в тесте гибридизации ДНК — ДНК на агаровых колонках. Не обнаружено также генетических различий между стрептококком *GL₈* и его стабильной L-формой по гомологии ДНК — ДНК. Последующее изучение генетической идентичности L-форм и микоплазм дало отрицательные результаты. В этих опытах исследовались *M. hominis* 1, *M. hominis* 2 «Сапро», *M. gallisepticum*, *M. gallinarum*, *M. pneumoniae* и их возможные родительские бактерии — коринебактерии, гемофильные палочки, грамположительные кокки, в том числе штамм *Mg* стрептококка. Подбор возможных родственных пар микоплазмы — бактерии осуществлялся на основании ранее полученных данных о реверсии микоплазм в коринебактерии или кокки, данных о возможном родстве *M. pneumoniae* штамму *Mg* стрептококка или *M. gallisepticum* и *M. gallinarum* с *H. gallinarum*. Определение соотношения пар Г + Ц, а также гибридизации ДНК — ДНК не выявило генетического родства между *M. hominis* 2 «Сапро» и дифтероидом, предполагаемым ревертантом этой микоплазмы, L-формой этого дифтероида и L-формой, полученной из культуры «Сапро». Безуспешными оказались также попытки выявить генетическое родство между *M. gallisepticum* и *M. gallinarum* с *H. gallinarum* (McGee et al, 1967). Совпадающие данные получены Somerson с соавторами (1967), Somerson (1969), не обнаружившими родства между 8 штаммами *M. hominis* и коринебактерией — предполагаемой родительской формой *M. hominis*. Изучение родства *M. pneumoniae* и штамма *Mg* стрептококка методом гибридизации ДНК — ДНК и ДНК — РНК также дало отрицательные результаты.

Эти данные послужили основанием для отрицания родства микоплазм и бактерий. Однако оно, на наш взгляд, не исключает возможного филогенетического происхождения микоплазм из бактерий. При оценке результатов этих экспериментов следует обратить внимание на произвольный подбор так называемых родственных пар (бактерия — ревертант или возможный предок и микоплазма, например коринебактерии и *M. hominis* и т. д.), которые в действительности могли быть не родственными. Подбор родственных пар основывался на результатах ранее описанных опытов реверсии бактерий из микоплазм (Smith et al., 1957; Smith, Rothblat, 1966; Pease, 1962; Pease, Laughton, 1962). Однако эти факты в настоящее время ставятся под сомнение. Метод гомологии нуклеиновых кислот, безусловно, дает наиболее точное представление о генетическом родстве испытуемых микроорганизмов, однако сам подход к подбору генетически родственных пар в данном случае может совершенно не соответствовать истинному положению вещей.

Данные о генетическом родстве L-форм и их родительских культур получены на ограниченном числе видов и без учета степени стабилизации испытывавшихся L-форм. Наряду с этим совершенно не известно, зависит ли сохранение генетической идентичности от степени стабилизации L-формы и сохраняется ли генетическая идентичность у бактерий, реверсировавших из относительно стабильных L-форм, с родительскими бактериями данной L-формы. Вместе с тем анализ фенотипических признаков бактерий ревертантов L-форм и родительских бактерий (см. главу III)

свидетельствует об их значительных различиях. Только дальнейшие генетические исследования нестабильных и стабильных L-форм, их родительских культур и культур-ревертантов смогут выявить наиболее правильные условия выбора возможных родственных пар микоплазма — бактерия.

Говоря о некоторых других биохимических характеристиках микоплазм и L-форм бактерий, которые могут помочь в решении вопроса о родстве этих микроорганизмов, следует подчеркнуть, что полное отсутствие предшественников клеточной стенки у микоплазм и частичное обнаружение их у некоторых протопластов и L-форм бактерий могут позволить построить гипотетическую цепочку исчезновения клеточной стенки у бактерий в процессе эволюции микоплазм. Такая гипотетическая цепочка может представляться следующим образом:



Таким образом, можно предполагать, что отсутствие клеточной стенки у микоплазм является результатом серии мутаций и селекции стабильных L-форм, а образование последних — следствием селекции мутантов, утративших способность синтезировать клеточную стенку, но сохранивших некоторых ее предшественников. Это положение, несомненно, также следует учитывать при подборе объектов для изучения генетической идентичности микоплазм и их возможных предков (бактерия → стабильная L-форма → микоплазма).

* * *

Самостоятельная группа прокариотических клеток, лишенных клеточной стенки и содержащих минимальные свободно живущие организмы, объединяется в современной систематике микроорганизмов в класс Mollicutes.

В этом классе имеется один порядок Mycoplasmatales, в составе которого известны два семейства: Mycoplasmataceae и Acholeplasmataceae. Дифференциация порядка Mycoplasmatales на 2 семейства обусловлена потребностью в стеринах: 1) стеринзависимые микоплазмы объединены в семейство Mycoplasmataceae, в составе которого имеется один род Mycoplasma и в настоящее время известно 33 вида микоплазм человека и животных; 2) стериннезависимые микоплазмы объединены в семейство Acholeplasmataceae, который состоит из одного рода Acholeplasma и в настоящее время в него входит 3 вида.

Отсутствие клеточной стенки и ее предшественников является единственным критерием объединения подобных микроорганизмов в класс Mollicutes. Несмотря на определение самостоятельного места микоплазм в систематике микроорганизмов, вопрос об их филогенетическом происхождении остается открытым. Сравнительный анализ биологической характеристики L-форм бактерий и микоплазм, на наш взгляд, достаточно обоснованно аргументирует гипотезу о бактериальном происхождении микоплазм. Стабильные L-формы бактерий, по нашему мнению, являются этапом филогенеза микоплазм. Утрата клеточной стенки и ее предшественников, обуславливающая неспособность к реверсии, и естественный отбор в ходе дальнейшей эволюции стабильных L-форм, по всей вероятности, способствовали возникновению новой таксономической группы прокариотических организмов, сходных по многим указанным выше признакам со стабильными L-формами.

Отрицательные результаты опытов молекулярной гибридизации, на наш взгляд, не дают оснований для отрицания бактериального происхождения микоплазм в силу чрезвычайной условности подбора родственных пар микоплазма — бактерия. Микоплазмы не реверсируют в бактерии; достоверные данные об их реверсии получены лишь в единичных опытах. Бактерии-ревертанты мало изучены и судить об их полной адекватности с предполагаемыми «родительскими» бактериями, из которых могли происходить данные микоплазмы, не представляется возможным. Между тем именно подобные условно родственные пары микоплазмы и их возможные ревертанты-родители явились объектом генетических исследований предполагаемого родства. Изучение соотношения пар Г + Ц, использование молекулярной гибридизации ДНК — ДНК и ДНК — РНК не выявило генетического родства испытывавшихся микоплазм и бактерий, и в то же время было установлено родство между бывшими в этих опытах L-формами и их родительскими культурами.

Вопрос о филогенетическом происхождении микоплазм и критериях их дифференциации от стабильных L-форм бактерий в настоящее время не решен, хотя этот вопрос имеет не только чисто академический интерес — он очень важен для практических целей лабораторной диагностики, а также для дифференциации микоплазм и стабильных L-форм бактерий в патологическом материале.

Глава седьмая • Инфекционный процесс, вызванный микоплазмами в клеточных культурах

В 1955—1956 гг. Hayflick и Stinebring, Hayflick с соавторами описали внутриклеточное размножение некоторых штаммов микоплазм в культурах клеток при их искусственном заражении. Почти одновременно с этими данными появилось сообщение Robinson и соавторов (1956), наблюдавших латентную микоплазма-инфекцию клеточных культур. Уже эти первые публикации стимулировали последующее изучение ряда принципиальных теоретических проблем: 1) поведение микоплазм в культурах клеток; 2) характер взаимодействия микоплазм и клеток; 3) взаимоотношение микоплазм и вирусов при смешанной инфекции клеточных культур, а также вопросов прикладного характера: изучение источников контаминации микоплазмами клеточных культур, методов выявления микоплазма-инфекции в клеточных культурах и принципов и методов деконтаминации последних.

ПОВЕДЕНИЕ МИКОПЛАЗМ В КУЛЬТУРАХ КЛЕТОК

Микоплазма-инфекция клеточных культур может иметь разные проявления. Во-первых, она может протекать по типу латентной инфекции и, несмотря на активное размножение микоплазм, не выявляться при макро- и микроскопическом наблюдении. В этом случае зараженные клетки не отстают в росте от стерильных; метаболизм и внешний вид их почти или вовсе не изменяются. Во-вторых, скрытая микоплазма-инфекция, не вызывая выраженных цитопатических изменений в клетках, может изменять их, тормозить прикрепление к стеклу, обуславливать замедленный рост и понижать конечный выход клеток. В-третьих, микоплазма-инфекция может иметь активный характер, вызывая цитопатический эффект в клеточной культуре. В этом случае возникает острая микоплазма-инфекция клеточной культуры. В-четвертых, микоплазма-инфекция клеточных культур, несмотря на скрытый характер, может давать пролиферирующий и трансформирующий эффект.

ЛАТЕНТНАЯ МИКОПЛАЗМА-ИНФЕКЦИЯ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР

Период 1956—1966 гг. отличался значительным числом публикаций, характеризующих скрытую или латентную микоплазма-инфекцию клеточных культур, которая чаще всего описывалась под названием контаминации микоплазмами перевиваемых линий клеток, первичных клеточных культур, штаммов диплоидных клеток и вирусных материалов. Большая часть этих работ свидетельствовала о скрытом характере микоплазма-инфекции без каких-либо макро- или микроскопических изменений клеток (Hearn et al., 1959; Hayflick, 1960; Rothblat, 1960).

Наряду с этими сообщениями накапливались данные о некоторых, хотя и резко выраженных изменениях, вызванных латентной микоплазма-инфекцией. Так, Rothblat и Morton (1959) отметили, что латентная микоплазма-инфекция, не меняя морфологии клеток и прозрачности среды, тормозит их прикрепление к стеклу. Pollock с соавторами (1963) описали замедленный рост зараженных культур по сравнению со стерильными культурами. Конечный выход зараженных клеток был несколько меньше, чем стерильных клеток. Зараженные микоплазмами клетки чаще всего отличались от стерильных гранулярностью цитоплазмы и отсутствием способности образовывать сплошной монослой. Ядра в зараженных культурах имели нормальную форму (Carter, Grieg, 1963).

Сравнительное изучение зараженных и стерильных культур показало, что зараженные культуры росли медленнее; рост культур обычно прекращался на 4-й день, тогда как контрольные культуры росли 6—8 дней. При пересеве клеток через каждые 2 дня зараженные линии росли с такой же интенсивностью, как контрольные. Это явление могло быть обусловлено лишь разведением ингибитора, продуцируемого микоплазмами, либо восстановлением питательных ингредиентов среды, используемых микоплазмами в процессе метаболизма (Kenny, Pollock, 1963).

Размножение разных видов микоплазм в культуре клеток, сопровождающееся незначительными цитопатическими изменениями или отсутствием таковых, отмечено рядом исследователей (Wittler et al., 1956; Chanock et al., 1960; Shepard et al., 1964; В. В. Неустроева, 1969).

Воздействие латентной микоплазма-инфекции проявляется в подавлении митотической активности, размножения и жизнеспособности клеток. В опытах В. В. Неустроевой (1969) было показано, что клетки СПЭВ (почка эмбриона свиньи), свободные от микоплазм, были мельче, чем инфицированные, образовывали более ровный и плотный монослой, отличались более высоким митотическим индексом (55—50‰), чем инфицированная культура (38‰) (рис. 38). Интенсивность размножения клеток, свободных от микоплазм, была значительно выше (600 тыс/мл с одной пробирки на 4-е сутки культивирования), чем зараженных (300—350 тыс/мл) в тех же условиях (рис. 39). Клетки, свободные от микоплазм,

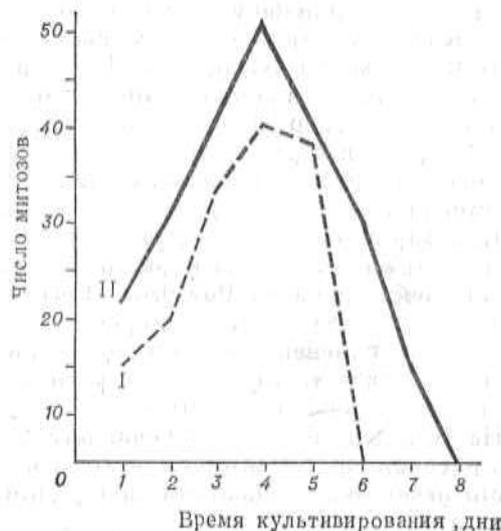


Рис. 38. Митотическая активность перевиваемой линии СПЭВ, контаминированной микоплазмами (I) и свободной от микоплазм (II) (по В. В. Неустроевой, 1969).



Рис. 39. Динамика размножения перевиваемой линии клеток СПЭВ, загрязненной микоплазмами (I) и свободной от микоплазм (II) (по В. В. Неустровой, 1969).

оказались жизнеспособнее; они сохранялись в течение 14 дней без смены среды и 25 дней со сменой среды, загрязненные — соответственно 8 и 14 дней. Обычно при латентной инфекции микоплазмы размножаются в культуре клеток и высеваются на искусственных бесклеточных средах. Вместе с тем в ряде случаев микоплазмы, активно размножающиеся в клеточной культуре, неспособны расти в бесклеточных средах.

ОСТРАЯ МИКОПЛАЗМА-ИНФЕКЦИЯ КУЛЬТУР КЛЕТОК

Острая микоплазма-инфекция с деструктивными изменениями разного характера и разной интенсивности, вызванная различными видами микоплазм во многих первичных и перевиваемых культурах, описана довольно подробно.

Характер деструктивных изменений разнообразен. Мы ограничимся лишь некоторыми примерами. Так, клетки HeLa оказались чувствительными к T-штаммам, которые вызывали в этой культуре быстро развивающиеся деструктивные изменения, заканчивающиеся через 72 часа полной гибелью монослоя. Первые цитопатические изменения появлялись уже через 48 часов и выражались в разрушении цитоплазматической мембраны и некротических изменениях в ядре. Массу микроорганизмов можно было видеть в непосредственной близости от дегенерирующих клеток и клеточных обрывков. Через 72—96 часов на остатках клеточного пласта были видны отдельные колонии микоплазм (Shepard, 1958). В культурах синовиальных клеток человека 5 штаммов микоплазм, выделенных из гениталий человека, вызывали цитопатические изменения, начиная с 3-го дня, с последующим усилением в течение 5—8 дней; изменения сопровождались появлением внутриклеточных включений (Hayflick, Stinebring, 1960).

При заражении культуры HeLa *M. pulmonis* на 6—8-й день после заражения клетки становились похожими на сухой порошок; наблюдалось значительное разрушение монослоя. На 12—15-й день после 4-й или 5-й смены среды наступала полная дегенерация культуры. Иногда на стенке оставались группы некротических клеток, но чаще все клетки сползали со стекла (Nelson, 1960).

При заражении двух линий клеток фибробластов мыши и первичной культуры клеток сердца куриного эмбриона микоплазмами, выделенными от цыпленка и овцы, Powelson (1961) наблюдала довольно значительное токсическое влияние этих микроорганизмов. При обновлении среды цитопатические изменения были менее резкими. Характер влияния микоплазм на клетки зависел от штамма и вида микоплазм, а также от типа клеток, но не от количества первых.

На 10-й день после заражения вторичной культуры из почки обезьяны *M. pneumoniae* появляются незначительные цитопатические изменения, часто нечеткие, выражающиеся в удлинении клеток и их отслаивании от стекла (Clyde, 1961).

В амниотических клетках человека при их заражении *M. pneumoniae* изменения развиваются постепенно: сначала дегенерируют и отслаиваются от стекла стареющие клетки, образуя пустоты в монослое, затем наступает дегенерация остальных клеток. Эти изменения появляются через 1—3 недели после заражения, тогда как контрольные культуры в течение недель выглядят нормальными. Культуральная среда в зараженных сосудах закисляется, субкультивирование таких культур не удается. Через 7—10 дней после заражения в культурах видны внутри- и внеклеточные гранулы микоплазм, окрашивающиеся по Гимзе. Аналогичные цитопатические изменения отмечены и в ткани легкого эмбриона человека (Paton et al., 1965).

Rovozzo с соавторами в 1963 г. изолировали микоплазму из секрета молочной железы коровы с острым маститом. Эта микоплазма вызывала значительные цитопатические изменения в ткани почки 6-месячного теленка. Резкий ЦПЭ описан также Carmichael с соавторами (1964) при заражении культуры клеток из почки щенка микоплазмой — возбудителем смертельной септицемии щенков. Цитопатические изменения выражались в округлении клеток, отслаивании их от стекла и образовании в монослое пустых зон, окруженных дегенерирующими клетками. В ядрах зараженных клеток отмечены явления кариорексиса и пикноза. Максимальный титр микоплазм на 4—5-й день после заражения составлял 10^5 колониеобразующих единиц на 0,1 мл.

Girardi с авторами (1965a) изучили поведение цитопатического агента, оказавшегося микоплазмой, в культурах диплоидных клеток человека (штамм WI-26), в первичной культуре клеток почки африканской зеленой мартышки и в первичной культуре клеток куриных эмбрионов (ККЭ). В последних двух культурах клетки становились зернистыми, сморщенными, сильно преломляли свет и при небольшом встряхивании легко отслаивались от стекла. В стационарных культурах ЦПЭ начинался в центре пласта, а во вращающихся пробирках ЦПЭ наблюдали по всему монослою. И в том, и в другом случае ЦПЭ сохранялся в пассажах и завершался полным разрушением монослоя. В культурах диплоидных клеток микоплазмы вызывали появление диффузной зернистости, более быстрого старения клеток и их постепенную гибель. Отличительной особенностью инфицированных культур диплоидных клеток было появление «леопардовых ядер». Эти ядра легко отличались от нормальных в профазе. Зараженные клетки не удавалось культивировать после 27—28-го пассажа. Избирательный ЦПЭ микоплазм в разных клеточных культурах отмечен Butler и Leach (1964), обнаруживших в клетках НЕР-2 зернистость цитоплазмы, возникновение веретенovidных и фибробластоподобных клеток. В некоторых местах монослоя появлялись целые клубки зернистых клеток, постепенно отслаивающихся от стекла. Полная дегенерация монослоя происходила через 7—10 дней и сопровождалась резким закислением среды. При смене среды через каждые 3—4 дня после появления первых признаков дегенерации дальнейшего развития цитопатических изменений и кислотообразования не наблюдалось. Агент, вызывающий эти изменения, оказался микоплазмой (GDL). При искусственном заражении клеток HeLa этой микоплазмой отмечались такие же цитопатические изменения. В ткани почки обезьяны ЦПЭ был незначительным; кислотообразования не наблюдалось. В культурах почки кролика в ответ на заражение появлялись зернистые и фибробластоподобные клетки; монослой постепенно разрушался. Вместе с тем титрование микоплазм из разных культур клеток показало одинаковую интенсивность размножения микроорганизмов во всех испытанных клеточных системах.

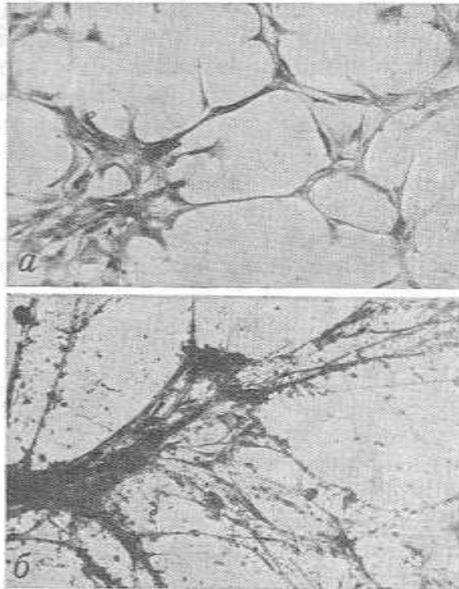


Рис. 40. Цитопатический эффект *M. laidlawii* в культуре клеток куриного эмбриона. Ув. $\times 106$ (препарат И. В. Раковской, 1966).
а — через 2 суток; б — через 3 суток.

mentans, *M. salivarium*, *M. gallisepticum*) и микоплазм, выделенных из контаминированных клеточных линий, в разных клеточных системах. Каждый опыт имел одновременно 2 контроля: 1) незараженную одноименную клеточную культуру; 2) культуру клеток, в которую вносили среду, использованную для выращивания микоплазм, для исключения токсического действия среды культивирования. Регистрировали: 1) интенсивность и характер цитопатических изменений; 2) скорость появления ЦПЭ; 3) изменение pH среды. Обобщенные результаты первой серии этих опытов свидетельствуют об избирательном ЦПЭ всех изученных видов и штаммов микоплазм в разных клеточных системах. Из большого набора культур клеток наиболее чувствительной оказалась культура клеток куриного эмбриона (ККЭ), а из изученных штаммов микоплазм наиболее резкий ЦПЭ отмечен у *M. laidlawii*. ЦПЭ, вызванный этим штаммом, появлялся уже в первые сутки после заражения и выражался в сильном разрежении монослоя и в значительной вакуолизации клеток (рис. 40, а). На вторые сутки степень разрежения усиливалась, в большом количестве появлялся клеточный детрит, монослой состоял преимущественно из клеток с длинными отростками. На 3-и сутки на стекле оставались лишь отдельные клеточные узлы и длинные отростки — тяжи, покрытые клеточным детритом (рис. 40, б). В культурах клеток почки эмбриона коровы диплоидных клеток легкого и клеток кожно-мышечной ткани эмбриона человека *M. laidlawii* вызвала лишь незначительное разрежение монослоя, не сопровождающееся закислением среды. В последней культуре эти изменения появлялись в поздние сроки (7–10-е сутки). Эти опыты наглядно показывают зависимость ЦПЭ от чувствительности испытуемой культуры клеток. Избирательность ЦПЭ *M. laidlawii* в зависимости от чувствительности клеточных культур отме-

Из клеточных культур, инокулированных материалом из костного мозга и крови больных лейкозом и других опухолей человека, были выделены цитопатические агенты, идентифицированные как микоплазмы, вызывающие резкий ЦПЭ в разных культурах клеток (Negroni et al., 1964; Grist, Fallon, 1964; Armstrong et al., 1965; Hummeler et al., 1965; Murphy et al., 1967, и др.).

При изучении 58 штаммов микоплазм, выделенных от свиней, обнаружено 23 штамма, обладавших резким ЦПЭ в культуре клеток почек теленка, в том числе 9 — *M. hyorhinae* и 2 — *M. granularum* (Switzer, 1969).

В серии опытов, выполненных нами и нашими сотрудниками (Г. Я. Каган, И. В. Раковская, 1964, 1968; И. В. Раковская, 1966; В. В. Неустроева, 1969; В. В. Неустроева, Г. М. Гребенев, 1970), последовательно изучалось поведение некоторых общеизвестных видов микоплазм (*M. laidlawii*, *M. agalactiae*, *M. hominis* 1, *M. hominis* 2, *M. fer-*

чали также другие исследователи. Так, Castrejon-Diez с соавторами (1963) не наблюдали ЦПЭ и размножения *M. laidlawii* в амниотических клетках FL, а Stanbridge и соавторы (1969) отметили высокий ЦПЭ отдельных штаммов *M. laidlawii* в культуре диплоидных клеток человека WI-38.

M. agalactiae вызывала небольшое разрыхление монослоя и сильную вакуолизацию в культурах фибробластов куриного эмбриона на 4—6-е сутки (рис. 41) и в культуре кожно-мышечных клеток эмбриона человека на 7—10-е сутки после заражения, не сопровождавшиеся закислением среды.



Рис. 41. Цитопатический эффект *M. agalactiae* в культуре клеток куриного эмбриона на 4-е сутки. Ув. $\times 106$ (препарат И. В. Раковской, 1966).

Все остальные испытанные микоплазмы не вызывали цитопатических изменений в культурах клеток при заражении выросшего монослоя 0,5 млрд. микробной взвесью (максимальная концентрация материала). При заражении ККЭ и почки эмбриона коровы *M. hominis* 1 и *M. salivarium* в момент посева клеток сплошной монослой, как правило, не формировался и зараженная культура значительно отставала в росте от стерильной. *M. laidlawii* и *M. agalactiae* обуславливали в серийных пассажах такие же цитопатические изменения, как и в первом пассаже. Микоплазма-контаминанты клеточных линий, *M. hominis* 1 и *M. salivarium*, при длительном пассировании в этих клетках цитопатических изменений не вызывали.

Во второй серии опытов (В. В. Неустроева с соавторами, 1970) было изучено поведение 6 штаммов микоплазм, выделенных от птиц, и обнаружен дифференцированный ЦПЭ в разных клеточных культурах. Все испытуемые штаммы в зависимости от их поведения в культурах клеток можно было подразделить на 3 группы.

К группе 1 отнесена лишь *M. gallisepticum* S₆, которая оказывала ЦПЭ во всех 5 изученных культурах в течение 1—5 дней. В первичных культурах ЦПЭ появлялся раньше (1—2-е сутки), в перевиваемых линиях клеток — позднее (4—5-е сутки). ЦПЭ сопровождался резким закислением среды. Время появления ЦПЭ не зависело от величины заражающей дозы, которая тем не менее влияла на интенсивность цитопатических изменений. ЦПЭ не изменялся в пассажах; выделение микоплазм из культуральной жидкости пассажного материала свидетельствовало об их размножении.

К группе 2 можно отнести *M. iners*, 2 неидентифицированных штамма *M. sp.* 198 и *M. sp.* БР-7, выделенных от цыплят.

Цитопатические изменения, обусловленные этими штаммами, появлялись на 3—4-е сутки и только в первичных культурах ЦПЭ в перевиваемых линиях клеток не обнаружен. ЦПЭ, вызываемый *M. iners*, сопровождался подкислением среды, два других штамма, несмотря на ЦПЭ, не подкисляли среду.

К группе 3 микоплазм можно отнести *M. gallinarum* (штамм Tu серотип С) и *M. sp.* 190, неидентифицированный штамм, выделенный от цыпленка. Эти микоплазмы не оказывали ЦПЭ ни в одной из изученных культур клеток. Вместе с тем *M. gallinarum* вызывала резкое подкисление среды во всех культурах.

Микоплазмы, контаминирующие культуры клеток, по характеру их поведения в разных культурах клеток также можно было разделить на 2 группы. В первую группу вошло 15 штаммов. Выделенные из разных

клеточных линий, они не оказывали ЦПЭ в испытуемых культурах клеток, не меняли pH среды, но активно размножались. Вторая группа — 20 штаммов (серологически не идентифицированные антисыворотками *M. laidlawii*, *M. hominis* 1, *M. hominis* 2, *M. salivarium*, *M. pulmonis*, *M. gallisepticum*, *M. mycoides*) вызывали ЦПЭ в культурах клеток куриного эмбриона (ККЭ), фибробластов мышечных эмбрионов (ФМЭ), СПЭВ и НЕР-2, изменяли pH среды в сторону кислой реакции и активно размножались, однако характер и степень цитопатических изменений в разных культурах клеток были различными. Наиболее резко и рано (2-е сутки) ЦПЭ отмечался в ФМЭ и СПЭВ (рис. 42, а, б). Уже на 2-е сутки появлялось большое количество зернистых клеток, скопление клубков гранул, началось отслаивание от стекла, образование «окон», окруженных дегенерировавшими клетками. На 5—7-е сутки наступала полная дегенерация, сопровождавшаяся изменением pH среды до 5,0; в контрольных пробах pH был 7,0. В культурах ККЭ и НЕР-2 цитопатические изменения были менее выражены, развивались медленнее и заканчивались частичной дегенерацией клеток. ЦПЭ не появлялся, если одновременно с заражением клеточных культур микоплазмами вводили линкомицин (10 мкг/мл) или олететрин (25 мкг/мл), к которым микоплазмы были высокочувствительны.

Было отмечено снижение цитопатогенных потенций микоплазм в процессе пассирования на бесклеточных средах. Так, 8 штаммов микоплазм данной группы после длительного пассирования утрачивали способность вызывать цитопатические изменения во всех 4 использовавшихся клеточных культурах. Сходные данные получены Somerson и Cook (1965) и MacPherson (1966), отметившими утрату цитопатических свойств у *M. orale* в культуре ККЭ после пассирования на искусственной питательной среде.

Эти данные показывают, что острая микоплазма-инфекция клеточных культур характеризуется такими же деструктивными изменениями монослоя (равномерная зернистая и очаговая деструкция клеток, скопление округлившихся, слущивающихся со стекла клеток и др.), как и вирусная, и по характеру деструктивных изменений не представляется возможным дифференцировать вирусы и микоплазмы. Вместе с тем совершенно очевидно, что острая микоплазма-инфекция клеточных культур выражается в деструктивных процессах разной интенсивности ЦПЭ, не всегда сопровождается закислением pH; в то же время некоторые штаммы микоплазм, не вызывая ЦПЭ, изменяют pH среды.

В специальной серии опытов И. В. Раковской (1966) была изучена зависимость характера поведения микоплазм в культуре клеток от величины заражающей дозы, интенсивности и динамики размножения микоплазм. С этой целью культуру ККЭ заражали разными взвесями микоплазм (от 10^1 до 10^7 КОЕ в 1 мл среды). При заражении этой культуры клеток *M. laidlawii* ЦПЭ наблюдался даже при минимальных дозировках уже на 1—3-е сутки после заражения и сопровождался резким закислением среды.

Максимальное содержание *M. laidlawii* в культуре ККЭ (10^8 в 1 мл среды) оказалось на 2-е сутки. В это время наблюдался резкий ЦПЭ. Спустя 2—4 дня количество колониеобразующих единиц постепенно уменьшалось, и в ряде опытов через 25, а некоторых опытах через 54 суток микоплазма не высевалась из культуральной среды. Интенсивность размножения этого вида не зависела от величины исходной инфицирующей дозы. При длительном пассировании *M. laidlawii* в серийных пассажах характер поведения данного вида не изменялся.

Другой вид микоплазм — *M. agalactiae* вызывала ЦПЭ лишь при величине заражающей дозы не менее 10^4 — 10^9 КОЕ в 1 мл среды; меньшие дозировки к цитопатическим изменениям в культуре не приводили. Эта мико-

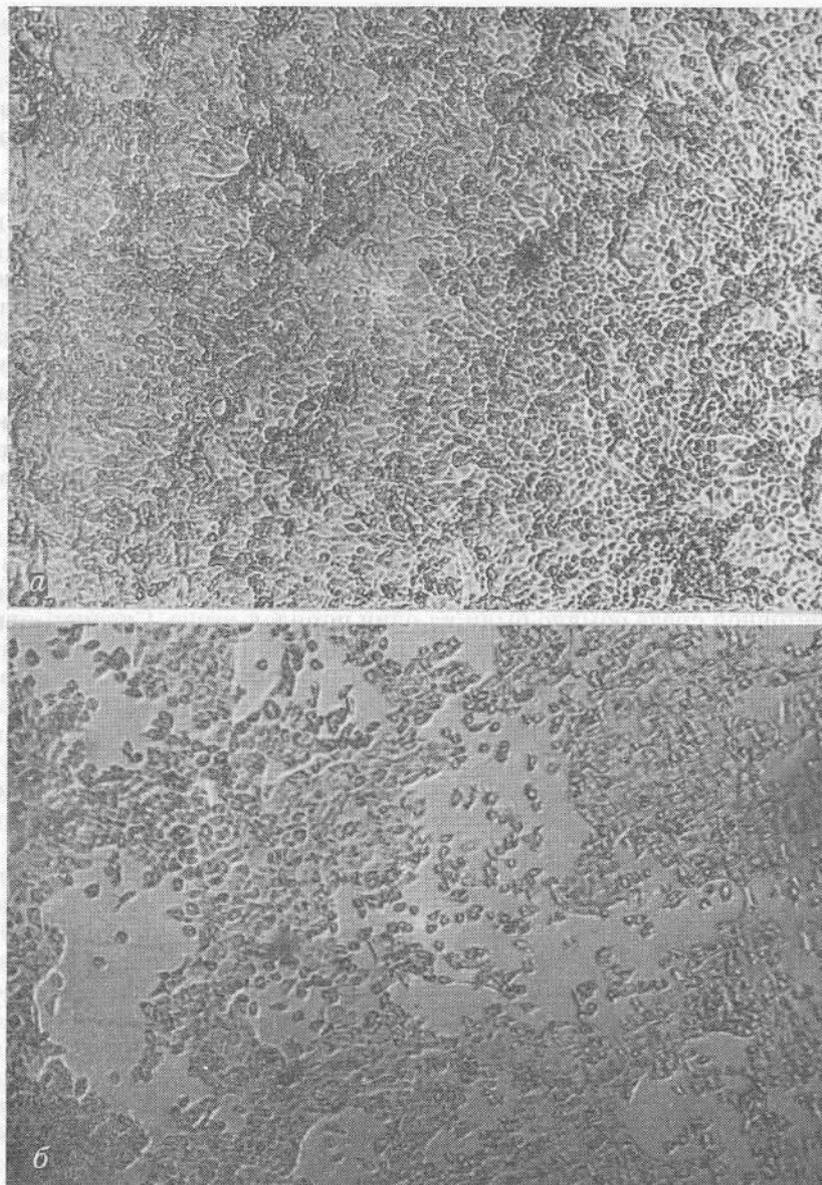


Рис. 42. Цитопатический эффект *M. sp.* в культуре клеток СПЭВ. Ув. $\times 70$ (препараты В. В. Неустроевой, 1969).

a — клетки СПЭВ, свободные от микоплазм; *b* — клетки СПЭВ, инфицированные микоплазмой.

плазма размножалась в культуре ККЭ медленно, достигая максимального уровня лишь на 6—8-е сутки. Интенсивность и динамика размножения зависели от концентрации внесенного материала.

Аналогичные данные получены Afshar (1967), отметившим зависимость сроков появления и интенсивности ЦПЭ, оказываемого в первичной культуре почки телят *M. bovis genitalium*, от величины ее инфицирующей дозы и множественности инфекции на клетку.

Сходство ЦПЭ, индуцированных микоплазмами и вирусами (Fogh et al., 1965; MacPherson, 1966; MacPherson, Russell, 1966; И. В. Раковская, 1966; Г. Я. Каган, И. В. Раковская, 1968), послужило основанием для изучения способности микоплазм вызывать феномен бляшкообразования (Г. Я. Каган и др., 1967; Т. Д. Смирнова, 1970). В опытах использовали разные виды микоплазм (*M. laidlawii*, *M. sp. HeLa*, *M. hominis 2*, *M. salivarium* и *M. gallisepticum*), отличающиеся по характеру поведения в культуре ККЭ. Феномен бляшкообразования был обнаружен у цитопатогенных микоплазм (*M. laidlawii*, *M. sp. HeLa*, *M. gallisepticum*.) В зависимости от инфицирующей дозы наблюдали бляшки разных размеров. Инфицирование клеток взвесью, содержащей 10^5 — 10^8 КОЕ в 1 мл, сопровождалось появлением на 5—6-й день многочисленных бляшек размером менее 0,5 мм, имеющих вид булавочных уколов. При инфицировании менее густой взвесью (10^2 — 10^4 КОЕ в 1 мл) на 6—7-й день образовывались бляшки другого вида: более прозрачные, округлой формы и более крупные, диаметром 1—2,5 мм. *M. hominis 2* и *M. salivarium*, размножающиеся в культуре ККЭ без выраженного ЦПЭ, феномена бляшкообразования не давали.

Результаты сравнительного титрования *M. laidlawii* методом бляшек в культуре клеток фибробластов куриного эмбриона и методом КОЕ в 1 мл среды в полужидком агаре оказались весьма близкими; титры микоплазм в бесклеточной среде обычно были на один порядок выше. Следует, однако, отметить, что использованные штаммы микоплазм не были предварительно адаптированы к данной культуре клеток. Феномен бляшкообразования у данных микоплазм полностью подавлялся тилозином, а также гомологичными антисыворотками. Результаты наших опытов совпали с данными Rovozzo и соавторов (1963) и Kawamura с соавторами (1964), обнаруживших бляшкообразующий эффект у микоплазмы — возбудителя мастита коров и *M. gallisepticum* в культурах почек теленка и цыпленка соответственно.

В другой серии опытов (Т. Д. Смирнова, 1970) для изучения бляшкообразующего эффекта использовалась культура клеток СПЭВ, которую инфицировали *M. laidlawii*. Этот вид микоплазмы в культуре СПЭВ не давал ЦПЭ. Вместе с тем через 3—4 дня после инфицирования появлялись очень крупные (диаметром 0,5 см) бляшки неправильной формы. В отличие от первичной клеточной культуры ККЭ в перевиваемой линии СПЭВ способность микоплазм вызывать феномен бляшкообразования не коррелировала с их цитопатическими свойствами.

Таким образом, способность микоплазм индуцировать образование бляшек в клеточных культурах зависит как от вида и штамма микоплазм, так и от типа используемых клеток.

ПРОЛИФЕРАТИВНО-ТРАНСФОРМИРУЮЩИЙ ЭФФЕКТ, ВЫЗВАННЫЙ МИКОПЛАЗМАМИ

Этот тип микоплазма-инфекции клеточных культур проявляется в виде пролиферирующего или трансформирующего эффекта.

Способность микоплазм вызывать пролиферативно-деструктивные изменения в клетках была продемонстрирована в работах В. И. Гаврилова с соавторами (1969) и И. В. Раковской с соавторами (1969). С помощью метода парабактериальных культур удалось выделить из двухкомпонентной системы, состоящей из диплоидных клеток легких эмбриона человека (ДКЛЧ-6) и пунктатов печени, взятых от 2 детей в острой стадии инфекционной желтухи, два идентичных по своему действию цитопатических

агента (ДКЛЧ-6-СГ и ДКЛЧ-6-ВЧ). Цитопатический эффект, индуцированный этими агентами (наблюдение над первым агентом велось 150 дней в течение 23 пассажей и 180 дней в течение 50 пассажей над вторым), выражался в чередовании усиленных цитодеструктивных явлений (фаза дегенерации) и резкого увеличения клеточной пролиферации (фаза репопуляции). Из двух хронически инфицированных систем были выделены два штамма микоплазм, которые идентифицировались как *M. hominis* 2. Контрольная культура нормальных диплоидных клеток была свободна от микоплазм, цитопатических изменений в течение всего периода наблюдения в ней не было.

Выделенные культуры *M. hominis* 2 (обозначенные СГ и ВЧ) после 36 пассажей на искусственной питательной среде в течение года были инокулированы в культуру ДКЛЧ, свободную от микоплазм. Инокуляция данных штаммов микоплазм вызывала чередование фаз деструктивных и пролиферативных изменений в инфицированной клеточной культуре; ЦПЭ был идентичен первичному ЦПЭ. Однако выделить микоплазму удалось лишь однократно из одной инфицированной клеточной культуры (микоплазма СГ). Для выявления «маскированных» — не выделявшихся микоплазм был использован упомянутый выше и применяемый в вирусологии прием совместного культивирования трансформированных клеток с чувствительными индикаторными клеточными системами, способствующий переходу искомого вируса в инфекционную форму (в данном случае «маскированной» микоплазмы в форму, способную расти на искусственной среде). Через 24 часа из такой парабактериальной культуры клеток выделена на бесклеточной среде микоплазма. Интенсивные цитопатические изменения, характерные для данной микоплазмы, отмечались на 4-й день инкубации.

О трансформирующих потенциях микоплазм впервые сообщили MacPherson и Russell (1966), которые наблюдали трансформацию клеток почки хомячка ВНК-21 под влиянием *M. hominis* 1 и 2, *M. orale* 1 и 2 и *M. fermentans*. Эти изменения были сходны с изменениями, вызываемыми вирусом полиомы и саркомы Рауса. Они выражались в появлении гигантских многоядерных, круглых и веретенообразных клеток, растущих в беспорядке, и передавались по наследству. Клетки в последующих пассажах сохраняли измененную морфологию, но микоплазмы переставали высеваться. Онкогенные потенции клеток ВНК-21, зараженных *M. fermentans* и *M. orale*, при их введении сирийским хомячкам усиливались по сравнению с неизмененными неинфицированными клетками.

Последующее изучение этого феномена (Russell et al., 1968) показало, что изменения в клетках, обусловленные микоплазмами, в отличие от вирусов не сопровождаются появлением каких-либо новых антигенов. Гистологическое изучение опухолей хомячков, индуцированных введением суспензии клеток ВНК-21, трансформированных микоплазмами, и введением нормальных клеток не выявило различий между ними. Эти опухоли были отнесены к саркоматозному типу. Полученные данные позволили прийти к заключению, что феномен, вызванный микоплазмами, отличается от обычного типа неопластической трансформации, индуцированной онкогенными вирусами. Вместе с тем не исключена возможность селекции микоплазмами неопластических или потенциально неопластических клеток в популяции.

Таким образом, одна и та же микоплазма в разных клеточных культурах может вызывать различный по своему проявлению инфекционный процесс: 1) латентную ничем не проявляемую инфекцию или незначительные изменения жизнедеятельности клеток, которые могут активизироваться разнообразными факторами; 2) изменения митотической активности

и размножения клеток вплоть до пролиферирующего или трансформирующего эффекта; 3) острую инфекцию с разной степенью ЦПЭ.

При анализе ЦПЭ, индуцированного микоплазмами, особый интерес представляют факты, свидетельствующие о том, что этот инфекционный процесс так же, как процесс, индуцированный вирусом, развивается в цитоплазме и ядре клетки.

В ядрах клеток могут обнаруживаться гранулярные включения, явления пикноза и кариорексиса, нередко наблюдаемые также при вирусных инфекциях. ЦПЭ, вызванный микоплазмами, иногда сопровождается бляшкообразованием в чувствительных тканях. Феномен бляшкообразования микоплазм весьма сходен с феноменом бляшкообразования при вирусных инфекциях.

ПРОЦЕСС ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МИКОПЛАЗМ И КЛЕТОК

Микоплазмы можно отнести к типичным факультативным внутриклеточным паразитам, так как они способны размножаться внутриклеточно в организме животных и человека, внутриклеточно или в тесной связи с клетками в клеточных культурах и вместе с тем в бесклеточных искусственных питательных средах.

Пути и механизмы воздействия микоплазм на клеточные системы могут быть весьма разнообразны. Во-первых, микоплазмы влияют на метаболизм клеток. Основой интерференции метаболизма микоплазм и клеток в ряде случаев является конкуренция за аргинин, нуклеиновые кислоты и другие пищевые субстраты. Во-вторых, продукты метаболизма микоплазм могут оказывать токсическое воздействие на чувствительные клетки вплоть до полного их лизиса. В-третьих, микоплазма-инфекция клеточных культур может сопровождаться изменением поверхности клеточных мембран. Зараженные клетки могут приобретать способность гемадсорбции; антигенная характеристика клеток может изменяться. В-четвертых, микоплазмы могут локализоваться внутри клеток и вызывать острую инфекцию. В-пятых, микоплазма-инфекция может приводить к изменениям в хромосомном аппарате клеток в виде уменьшения числа хромосом, увеличения хромосомных aberrаций и возникновения новых вариантов хромосом.

ПЕРВАЯ ФАЗА ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МИКОПЛАЗМ И КЛЕТОК

Первой фазой взаимодействия микоплазм и чувствительных клеток является адсорбция. Изучение этого феномена начато недавно, причем подходы почти полностью заимствованы из вирусологии. Известно, что в первой фазе взаимодействия вирусов и клеток основную роль играют клеточные рецепторы, на которых адсорбируются соответствующие вирусы.

Открытие рецепторных механизмов адсорбции как первой фазы взаимодействия микоплазм и клеток предшествовало обнаружению, казалось бы на первый взгляд, двух совершенно разных феноменов: прикрепления *M. pneumoniae* к поверхности стекла или пластика (Taylor-Robinson, 1963, 1967; Sommerson et al., 1963, 1967) и способности гемагглютинации, обнаруженной у *M. pneumoniae* (van Herik, Eaton, 1945) и у *M. gallisepticum*, и особенно гемадсорбции (Del Giudice, Pavia, 1964) — прилипания эритроцитов к поверхности колоний *M. pneumoniae*.

Первоначально были подробно изучены гемагглютинация и гемадсорбция. Последняя наблюдалась у колоний микоплазм, выросших на агаре и в виде слоя на поверхности стекла. Этой способностью обладают неко-

торые микоплазмы животных и птиц; недавно способность гемадсорбции была обнаружена также у *M. pneumoniae* (Manchee, Taylor-Robinson, 1968; Manchee, Taylor-Robinson, 1968, 1969). Адсорбируются эритроциты человека, цыплят, мышей, свиней, морских свинок, кроликов и обезьян.

Эти работы подготовили почву для исследования адсорбции других клеток на колониях микоплазм. Была обнаружена спермадсорбция на колониях микоплазм птичьего и животного происхождения и избирательная способность сперматозоидов адсорбироваться на колониях *M. pneumoniae* и T-штаммов. Была исследована адсорбционная способность клеток некоторых малигнизированных культур, диплоидных клеток и первичных культур (табл. 19). Все использованные клетки адсорбировались на поверхности колоний *M. pneumoniae*, клетки HeLa в отличие от других адсорбировались, помимо колоний *M. pneumoniae*, и на колониях других видов микоплазм (*M. gallisepticum*, *M. hominis*, *M. salivarium*, *M. orale*). Иногда адсорбция клеток была более интенсивной на слое микоплазм, выросшем на поверхности стекла, и менее интенсивной на колониях, выросших на агаре. Обращает на себя внимание пока еще не объяснимый факт существования обратной зависимости интенсивности адсорбции и роста микоплазм. Адсорбция проходит значительно интенсивнее при меньшем количестве колоний на чашке.

Первоначальное предположение о неспецифичности адсорбции микоплазм, основанное на их способности адсорбироваться на стекле, пластике и частицах латекса, было впоследствии опровергнуто рядом работ (Taylor-Robinson, Manchee, 1967 a, 1967 b; Sobeslavsky et al., 1968), показавших значение клеточных рецепторов в адсорбционном процессе.

Реакция гемагглютинации эритроцитов индюка *M. gallisepticum* подавлялась обработкой эритроцитов нейраминидазой или добавлением в реагирующую смесь субстратов, богатых мукопротеинами, что могло свидетельствовать о наличии на поверхности эритроцитов рецепторов, содержащих N-ацетилнейраминовою кислоту, ответственную за агглютинацию *M. gallisepticum* (Gesner, Thomas, 1963). В последующих опытах было показано, что адсорбция эритроцитов, сперматозоидов человека и клеток HeLa на колониях *M. pneumoniae* также обусловлена N-ацетилнейраминовокислыми рецепторами мукопротеидного компонента поверхности этих клеток (Taylor-Robinson, Manchee, 1967 a, 1967 b; Sobeslavsky, 1968). Адсорбция подавлялась нейраминидазой, вирусом гриппа свиней и другими реагентами. Обработанные этими реагентами клетки HeLa, неспособные адсорбироваться *M. pneumoniae*, адсорбировались на поверхности колоний *M. hominis* 1 и *M. salivarium*. Это свидетельствовало об иной природе клеточных рецепторов, ответственных за адсорбцию на колониях этих видов микоплазм. Обработка клеток HeLa протеолитическими ферментами подавляла их адсорбцию на *M. hominis* 1 и *M. salivarium*, что позволило предположить белковую природу рецепторов клеток HeLa.

Изучение влияния значительного числа разных реагентов (рецептороразрушающий энзим *Vibrio cholerae* — RDE, вирус гриппа В, нейраминидаза, КЮ₄, вирус парагриппа типа 3, трипсин, прогревание 30 минут при температуре 56°) на адсорбцию эритроцитов морской свинки и трахеальных клеток на поверхности колоний *M. pneumoniae* показало, что рецепторы указанных клеток к данной микоплазме той же природы, что и к вирусу гриппа, т. е. мукопротеины.

Изучение влияния RDE и нейраминидазы, внесенных в разные реагирующие системы эритроцитов животных и клеток и микоплазм, выявило их различное действие. Адсорбция на культурах *M. pneumoniae* и *M. galli-*

septicum предотвращалась, вместе с тем эти ферменты не влияли на адсорбцию на культуре *M. pulmonis*. Воздействие RDE на эритроциты цыпленка не только не ингибировало их адсорбцию на культурах *M. orale* 1 и 2, но даже усиливало ее, что свидетельствовало о разном спектре рецепторов у эритроцитов цыпленка к *M. pneumoniae*, *M. gallisepticum*, *M. pulmonis*, *M. orale* 1 и 2.

Для изучения адсорбционных участков мембраны *M. pneumoniae* использовали ряд ингибиторов: формальдегид, мертиолат, трипсин, KJO_4 , RDE, N-ацетилнейраминовую кислоту, актиномицин D, прогрев при температуре 56° , воздействие ультрафиолетовыми лучами. Было установлено, что формальдегид, мертиолат и актиномицин D не только подавляли способность культуры *M. pneumoniae* адсорбировать на себе эритроциты или клетки, но и вызывали гибель поверхностного слоя клеток микоплазм, которые не перевивались после обработки. Соответствующие концентрации KJO_4 , трипсина, пурамицина и прогрев не убивали микоплазмы, но подавляли их адсорбционную способность. RDE не оказывал ингибирующего действия на адсорбцию. Дальнейшие иммунохимические исследования *M. pneumoniae* показали, что рецепторными участками этой микоплазмы, ответственными за адсорбцию, являются липопротеиновая и глицерофосфолипидная фракции.

Адсорбционные участки мембраны самих микоплазм и механизмы адсорбционного процесса пока недостаточно изучены. Однако имеющиеся данные позволяют предполагать сходство этого процесса с процессом адсорбции вирусов.

Первая фаза адсорбции у микоплазм, как и у вирусов, неспецифична, вторая фаза специфична и обусловлена взаимодействием определенных рецепторов микоплазм и мембраны клеток, причем разные виды микоплазм используют различные рецепторы у разных клеток.

Механизм внедрения микоплазм в клетку крайне мало исследован, имеются лишь единичные сведения о проникновении микоплазм в клетку путем пиноцитоза (Edwards, Fogh, 1960; MacPherson et al., 1966), однако ни о роли лизосомальных ферментов в дальнейшей судьбе микоплазм, ничего неизвестно ни о механизмах формирования пиноцитозной вакуоли.

О пути проникновения микоплазм в клетки можно судить лишь косвенно, на основании нескольких работ. Edwards и Fogh (1960), используя электронную микроскопию ультратонких срезов клеток FL, инфицированных микоплазмой, обнаружили клеточные выросты в мембране инфицированных клеток. Микоплазмы прикреплялись к концам и вдоль этих выростов, а также к клеточной мембране и ее углублениям. Связь мембраны клеток и микоплазм была настолько прочной, что создавалось впечатление об их полной спаянности; была высказана гипотеза о возможном фагоцитозе микоплазм с помощью выростов, образуемых выпячиваниями плазматической мембраны клеток. Близкие данные были получены Zucker-Franklin с соавторами (1966 a, b), исследовавшими взаимодействие нескольких видов микоплазм (*M. gallisepticum*, *M. pneumoniae*, *M. neurolyticum*, *M. sp.* HeLa из клеток HeLa) с клетками HeLa и форменными элементами крови (нейтрофилы, эозинофилы и лимфоциты).

В клетках HeLa, инфицированных *M. pneumoniae* и *M. gallisepticum*, отмечено появление многочисленных выростов. Наблюдалось тесное соприкосновение мембраны клеток с мембраной микоплазм. Часто поверхность мембраны инфицированных клеток как бы исчезала. Она была настолько тесно связана с мембраной микоплазм, что их нельзя было дифференцировать. В вакуолях, образуемых путем инвагинации мембран,

можно было выявить микоплазмы, иногда они обнаруживались в вакуолях, локализирующихся под клеточной мембраной.

Авторы не склонны рассматривать клеточные выросты и внутривакуольную локализацию микоплазм как процесс их активного фагоцитоза клетками HeLa. Они полагают, что выросты являются компенсаторными образованиями, формируемыми клеткой в ответ на потерю части ее поверхности, занятой микоплазмами. Это предположение кажется нам мало убедительным, так как обращает на себя внимание значительное сходство мембран изучавшихся систем — микоплазмы + клетки. Можно предположить возможность использования микоплазмами структурных компонентов клеточной мембраны (белков, стерина, липидов) для синтеза собственных мембранных структур. Разрушение клеточных мембран ведет к последующему ЦПЭ.

При инкубировании *M. pneumoniae*, *M. neurolyticum* и *M. gallisepticum* с клетками белой крови обнаруживался их фагоцитоз нейтрофилами и эозинофилами. Микоплазмы выявлялись в фагоцитарной вакуоли и клеточных лизосомах, переваривание микоплазм, вероятно, осуществлялось по типу переваривания бактерий. Вместе с тем реакция клеток на микоплазмы существенно отличается от их реакции на бактерии. Микоплазмы фагоцитируются эозинофилами; в отличие от бактерий микоплазмы окружают клетки со всех сторон, осуществляется стойкая связь поверхностных мембран клеток и микоплазм; последние почти не наблюдаются свободными в окружающей среде. Вследствие сродства мембран клеток и микоплазм адсорбция и фагоцитоз микоплазм протекают значительно быстрее, чем бактерий. Фагоцитоз завершается в течение часа, и отсутствие микоплазм в окружающей среде Zucker-Franklin с соавторами (1966 а, б) объясняют возможным разрушением их лизосомальными ферментами. Фагоцитарные вакуоли в эозинофилах имеют важную особенность, заключающуюся в том, что эозинофильные гранулы остаются без изменений, что может указывать на отсутствие участия осмиофильной субстанции в реакции фагоцитоза микоплазм эозинофилами.

При контакте микоплазм с лимфоцитами крысы и человека выявлено, что почти 50% мононуклеарных клеток периферической крови содержали микоплазмы внутри вакуолей; иногда на срезах можно было видеть, что вакуоли являются криптами цитоплазматической мембраны, заполненными микоплазмами. Мононуклеары лимфы в отличие от мононуклеаров периферической крови поглощают лишь 65% микоплазм. В этом случае, однако, была затруднена идентификация клеток как лимфоцитов.

Эти данные представляют значительный интерес с точки зрения реакции иммунокомпетентных клеток на микоплазмы как антиген. В течение 3 часов контакта микоплазм и клеток лимфоидной ткани не наблюдалось никаких признаков возможного синтеза антител, не отмечено ни увеличения рибосом, ни развития грубого эндоплазматического ретикулума. В лимфоцитах, поглотивших микоплазмы, не обнаружены осмиофильные тела, которые обычно появляются вслед за фагоцитозом. В лимфоцитарных вакуолях морфология микоплазм не изменялась. Образование фаголизосом не было отмечено. Малочисленность лизосом в лимфоцитах может служить показателем отсутствия раннего внутриклеточного переваривания микоплазм. Последние могут длительное время находиться в лимфоцитах, не подвергаясь воздействию лизосомальных ферментов.

Не менее интересные данные получены при изучении микоплазмы 880, выделенной от больного лейкозом (Anderson, Manaker, 1966). Клеточные мембраны этой микоплазмы также способны плотно связываться с поверх-

ностями клеток ряда клеточных линий. Можно было отметить внутриклеточное проникновение микоплазм и их локализацию в вакуолях, при этом не наблюдалось внутриклеточного переваривания и способности к внутриклеточному размножению.

Механизм проникновения микоплазм в клетки выяснен пока мало. Весьма вероятно, что их проникновение осуществляется по типу пиноцитоза. Судьба микоплазм: последующее переваривание или отсутствие такового, возможное внутриклеточное размножение зависят от чувствительности или естественной резистентности клеток, вида микоплазм, их родства с клетками и дозировки. Все эти весьма важные вопросы должны явиться предметом последующих исследований.

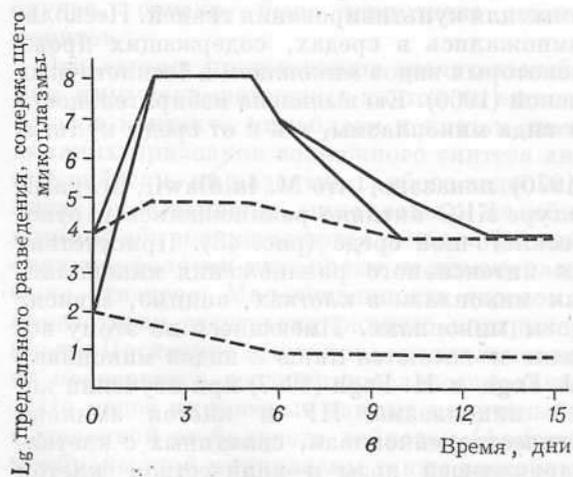
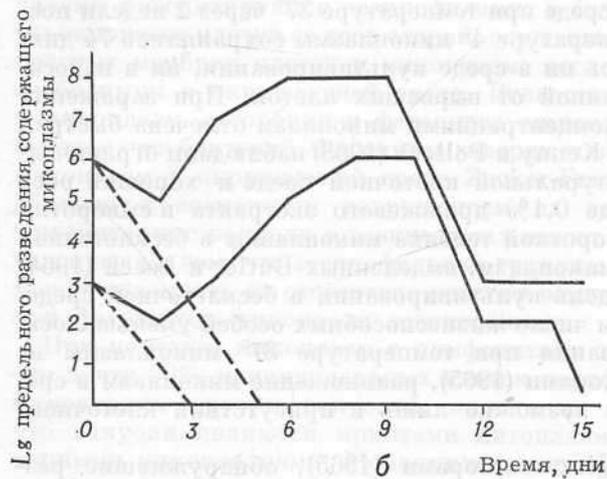
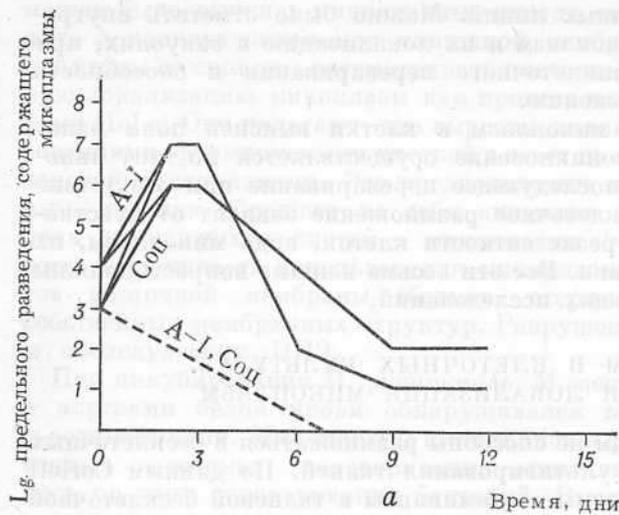
РАЗМНОЖЕНИЕ МИКОПЛАЗМ В КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУРАХ. ВНУТРИ- И ВНЕКЛЕТОЧНАЯ ЛОКАЛИЗАЦИЯ МИКОПЛАЗМ

Большинство видов микоплазм не способны размножаться в бесклеточных средах, используемых для культивирования тканей. По данным Coriell с соавторами (1958), микоплазмы-контаминанты в тканевой бесклеточной среде сохранялись только 2—3 суток. Powelson (1961) наблюдала гибель микоплазм в культуральной среде при температуре 37° через 2 недели после удаления клеток; при температуре 4° микоплазмы сохранялись 74 дня. Микоплазмы не размножались ни в среде культивирования, ни в надосадочной жидкости, изолированной от выросших клеток. При заражении клеточной среды большими концентрациями микоплазм отмечена быстрая потеря их жизнеспособности. Kenney и Pollock (1963) наблюдали ограниченный рост микоплазм в культуральной клеточной среде и хороший рост при добавлении к этой среде 0,1% дрожжевого экстракта и сыворотки человека. При замене ее сывороткой телянка микоплазмы в бесклеточной среде не росли. Количество микоплазм, выделенных Butler и Leach (1964) из клеток НЕР-2 в первый день культивирования в бесклеточной среде, увеличивалось в 10 раз, затем число жизнеспособных особей уменьшалось. Через 14 дней культивирования при температуре 37° микоплазмы не высевались. По Larin с соавторами (1965), размножение микоплазм в среде 199 весьма ограничено и возможно лишь в присутствии клеточного экстракта.

Иные данные получили Fogh с соавторами (1965), обнаружившие размножение некоторых штаммов микоплазм в двух свежеприготовленных бесклеточных средах, используемых для культивирования тканей. Несколько лучше эти микоплазмы размножались в средах, содержащих дрожжевой экстракт. Размножение некоторых видов микоплазм в бесклеточных средах установлено И. В. Раковской (1966). Ею выявлена избирательность размножения, зависящая как от вида микоплазмы, так и от среды культивирования.

В опытах Т. Д. Смирновой (1970) показано, что *M. laidlawii*, *M. gallisepticum* и *M. hominis* 1 в культуре ККЭ активно размножались и относительно быстро погибали в бесклеточной среде (рис. 43). Присутствие клеток обычно необходимо для интенсивного размножения микоплазм.

Проникновение и локализация микоплазм в клетках, видимо, зависят от величины инфицирующей дозы микоплазм. Имеющиеся по этому вопросу данные весьма ограничены и касаются лишь 2 видов микоплазм и 2 клеточных культур. Так, J. Fogh и H. Fogh (1967) при изучении количественных взаимоотношений микоплазмы HF и клеток амниона человека FL выявили, что количество микоплазм, связанных с клетками, обусловлено величиной заражающей дозы и количеством клеток



в культуре. Степень связи микоплазм с клетками в любом периоде наблюдения увеличивается с уменьшением количества клеток. При минимальном количестве клеток в культуре микоплазмы находили уже через 2 часа внутри клеток (заражающая доза микоплазм 3×10^5 КОЕ/мл). При большом количестве клеток в посевном материале обнаружена прямая зависимость между числом клеток, связанных с микоплазмами, и их титром в культуральной жидкости. Не менее интересные наблюдения сделаны Larin с соавторами (1969) при изучении количественных взаимоотношений *M. pneumoniae* и диплоидных клеток легкого эмбриона человека. Установлено, что количество и время появления внеклеточных и связанных с клетками микоплазм также обусловлены величиной заражающей дозы последних. При высокой множественности инфекции число микоплазм, связанных с клетками и локализующихся вне клеток, было одинаковым. С понижением множественности инфекции появляется отчетливый скрытый период, когда микоплазмы не обнаруживаются ни внеклеточно, ни в связи с клетками. Вслед за скрытым периодом выявляются

Рис. 43. Кривые размножения *M. laidlawii* (а); *M. gallisepticum* (б) и *M. hominis* (в) в культуре ККЭ (по Т. Д. Смирновой).

Условные обозначения: пунктирная линия—бесклеточная среда, сплошная—культура ККЭ.

микоплазмы, связанные с клетками; экстрацеллюлярно расположенных микоплазм в этот момент не находят. При минимальной множественности скрытый период длится от 2 до 5 дней. Причины скрытого периода, отмеченного в клетках с низкой множественностью микоплазма-инфекции, пока не изучены. Предполагают (Larin et al., 1969) две возможности: либо взаимодействие микоплазм с клеточными рецепторами или их нахождение в пиноцитозной вакуоли ведет к потере способности роста на бесклеточной среде, либо скрытый период является проявлением стадии жизненного цикла микоплазм, связанной с живой клеткой.

Внеклеточное нахождение микоплазм, согласно гипотезе Larin с соавторами (1969), обусловлено освобождением микоплазм, размножившихся в цитоплазме клетки после разрушения последней. Эта гипотеза не лишена оснований, однако окончательный вывод может быть сделан только при последовательном изучении разных систем микоплазма — клетка с параллельным исследованием культуральной жидкости. Вполне вероятно, что на самых ранних этапах контакта микоплазм с клетками и на самых поздних этапах количество микоплазм, которые могут обнаруживаться в культуральной жидкости, будет одинаково большим, однако происхождение их будет различным. Вначале могут высеваться микоплазмы, которые еще не успели адсорбироваться и проникнуть в клетку, а в поздних фазах — микоплазмы, появившиеся в культуральной среде вследствие разрушения мембраны клеток или разрушения их цитоплазмы.

Внутриклеточную локализацию микоплазм впервые описали в 1955 г. Hayflick и Stinebring. Они установили цикл внутриклеточного развития птичьего штамма микоплазмы J в первичной культуре клеток сердца куриного эмбриона. На ранних этапах заражения обнаруживались мелкие (0,3 мк) сферические тельца, увеличивающиеся в размерах и выявляющиеся на 4—5-й день вне клеток в виде крупных тел размером до 0,9 мк. В культуре клеток HeLa, зараженной этим же штаммом, включения не найдены. Hayflick и Stinebring (1956) обнаружили цитопатические изменения и включения в линии синовиальных клеток человека, инфицированных микоплазмами из урогенитального тракта человека.

Далее Shepard (1958, 1960) описал внутриклеточное размножение микоплазм при заражении клеток HeLa T-штаммом микоплазм. В цитоплазме были обнаружены округлые базофильные тела диаметром приблизительно 330 мк. Чаще всего они лежали по одному, иногда по два, иногда короткими цепочками. Удлиненные, бациллярные или риккетсиоподобные формы наблюдались редко. Классические нитевидные и кольцевидные формы не встречались вообще. Внутриклеточные частицы, наблюдаемые в зараженных клетках HeLa, не отличались от элементарных телец-включений, видимых в окрашенных эпителиальных соскобах от больных, у которых был первоначально выделен T-штамм. В клетках хорион-аллантоисных оболочек эмбриона курицы после 2—4 слепых пассажей этот штамм вызывал образование мелких базофильных включений. Hayflick и Stinebring (1960) наблюдали образование включений в фибробластах куриного эмбриона и в синовиальных клетках человека при заражении их штаммами микоплазмы птиц и штаммами из гениталий человека. MacPherson и Alner (1960) считают, что при внутриклеточной локализации микоплазм они не обнаруживаются в культуральной среде. Внутриклеточные и внеклеточные структуры описал Nelson (1960) при заражении клеток HeLa M. pulmonis. Carski, Shepard (1961), Eaton с соавторами (1962), Barile (1962) и другие авторы применили метод флуоресцирующих антител для выявления локализации микоплазм в культурах клеток. По данным Carski и Shepard (1961), микоплазмы находятся внутриклеточно, в межклеточ-

ных пространствах и на поверхности клеток. Varile с соавторами (1962) установили, что приблизительно у 80% клеток монослоя на поверхности или в цитоплазме обнаруживаются микоплазмы. Внутри клеток микоплазмы локализируются вдоль цитоплазматической и ядерной мембран. В результате применения этого метода к аналогичному заключению пришел Eaton с соавторами (1961).

Интересные наблюдения сделали Edwards и Fogh (1960) при сравнительном изучении ультратонких срезов амниотических клеток человека, инфицированных микоплазмой, и агаровой культуры того же штамма. Зрелая колония содержала хорошо сформированные организмы в различных стадиях деления и роста, плотные гранулы между ними и внутри них, аморфные нити, непрерывную мембранную сеть на периферии колоний, внутри которой наблюдались структуры, ограниченные мембранами.

В культуре клеток отдельные микроорганизмы находились на поверхности клеток и внутри цитоплазмы; размер их составлял 450—310 мкм, длина некоторых из них достигала 800 мкм. Микоплазмы обычно располагались внутри ограниченных мембраной вакуолей, возникающих из пузырьков эндоплазматического ретикулума или при инвагинации цитоплазматической мембраны. Три испытанных штамма микоплазм не различались по морфологии внутриклеточных структур. Во всех случаях реакция клетки на микоплазма-инфекцию заключалась в образовании микроскопических выпячиваний, направленных в сторону расположенных рядом микроорганизмов, в увеличении вакуолизации и разбухании эндоплазматического ретикулума, в образовании больших вакуолей, в появлении в цитоплазме плотных гранул и некротических зон, в распаде клетки. Электрономикроскопические исследования Trung Pham Hui с соавторами (1968), изучивших локализацию *M. orale* в культуре фибробластов мыши и *M. salivarium* в культуре фибробластов человека, установили существование 2 типов элементов микоплазм; бактериоподобные (диаметром 1 мкм) и вирусоподобные (0,1—0,3 мкм) приблизительно одинаковой структуры; последние отличались тесной связью с мембраной клетки. Оба типа встречаются как внутри, так и вне клеток. Наиболее важные изменения отмечены в цитоплазматической мембране клеток, которая образует микроворсинки, покрытые вирусоподобными частицами микоплазм. Тесная связь микоплазм с мембранами клеток характеризует их сходство с миксовирусами и некоторыми онкогенными вирусами в клеточных культурах.

Hayflick и Koprowski (1965) считают, что микоплазмы не являются облигатными паразитами, а располагаются в основном внеклеточно. Об этом, по мнению автора, свидетельствуют факты освобождения тканевых культур от микоплазм при использовании иммунной сыворотки. Clyde (1961), изучавший размножение *M. pneumoniae* в почечной ткани обезьян *M. rhesus* с помощью метода флуоресцирующих антител и окраски фиксированных препаратов по Гимзе, обнаружил специфически окрашенные частицы, но определить, были эти частицы внутри клеток или на их поверхности, не представлялось возможным. Автор полагает, что размножение микоплазм происходит в основном вне клеток, но в тесной связи с ними. Такого же мнения придерживаются Butler и Leach (1964), изучавшие цитопатогенную микоплазму, контаминировавшую клетки HEP-2. Появление в культуре выраженных признаков дегенерации сопровождалось обнаружением многочисленных слабо окрашенных по Гимзе частиц, лежащих вне и на поверхности клеток. Carmichael с соавторами (1965) описали цитоплазматическую и ядерную локализацию микоплазмы в культуре клеток почки щенка. Микроколонии микоплазм в ядре напоминали вирусные включения.

Изучение локализации микоплазм в культурах клеток было проведено нашими сотрудниками И. В. Раковской (1966) и В. В. Неустроевой (1969). При изучении поведения *M. laidlawii* в культуре клеток куриного эмбриона И. В. Раковская (1966) выявила в препаратах, окрашенных гематоксилином + азури II-эозином, локализацию микоплазм в межклеточных пространствах, на поверхности клеток и в их цитоплазме (рис. 44, а, б).

А. В. Гуткина и В. В. Неустроева (1968), В. В. Неустроева (1969) использовали разнообразные гистохимические методы. Основываясь на содержании в микоплазмах ДНК и РНК и изменении их соотношения в разных фазах роста, они применили люминесцентный вариант реакции Фельгена с использованием акрифлавина, окраски орсеином с последующей фазово-контрастной микроскопией и метода автордиографии с целью

выявления локализации микоплазм в зараженных культурах. В опыт были взяты клеточные культуры, свободные от микоплазм, и культуры, инфицированные микоплазмами. При использовании люминесцентного варианта реакции Фельгена микоплазмы обнаруживались в цитоплазме инфицированных клеток и вне их. Аналогичные результаты были получены при окраске орсеином; в цитоплазме клеток, межклеточных пространствах, а иногда и вне клеток выявлялись микоплазмы в виде скопления темных гранул (рис. 45).

П. В. Глаз и В. В. Неустроева (1968) для обнаружения латентной микоплазма-инфекции клеточных культур применили метод радиоавтографии. Авторы исходили из результатов работ, установивших, что при введении в среду H^3 -тимидина часть клеток в популяции, находящихся в периоде синтеза ДНК, включает в ядро изотоп и оказывается меченой; цитоплазма не включает тимидина и остается немеченой. Nardone с соавторами (1965) сообщили, что клетки, инфицированные микоплазмами, утрачивали способность включать в ядро тимидин и включали изотоп в цитоплазму.

Использование этого метода позволило выявить цитоплазматическую локализацию микоплазм в инфицированных культурах клеток. В препаратах, приготовленных из свободных от микоплазм клеточных культур, при кратковременном введении H^3 -тимидина 10—20% клеток оказались мечеными; зерна серебра располагались строго над ядром, а над цитоплазмой и ядром встречались лишь единичные зерна, обусловленные фоном фотоэмульсии (рис. 46). Радиоавтограмма инфицированных микоплазмами клеток оказалась совершенно иной: почти 90—95% содержали тимидиновую метку; зерна серебра располагались не только над ядром, но и над цитоплазмой. Результаты этих опытов позволили прийти к за-

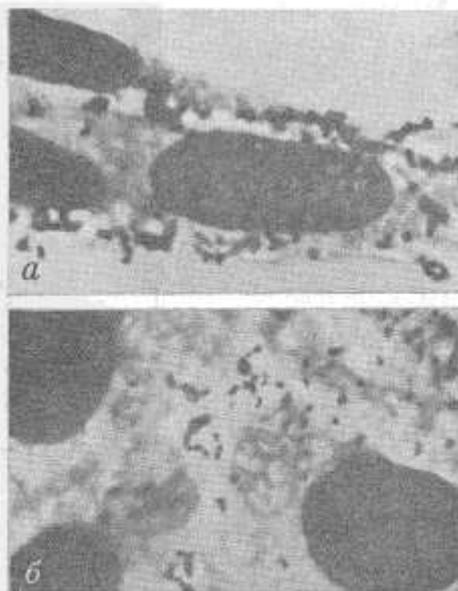


Рис. 44. *M. laidlawii* в культуре клеток куриного эмбриона. Окраска азури II-эозином. Ув. $\times 2000$ (препарат И. В. Раковской, 1966).

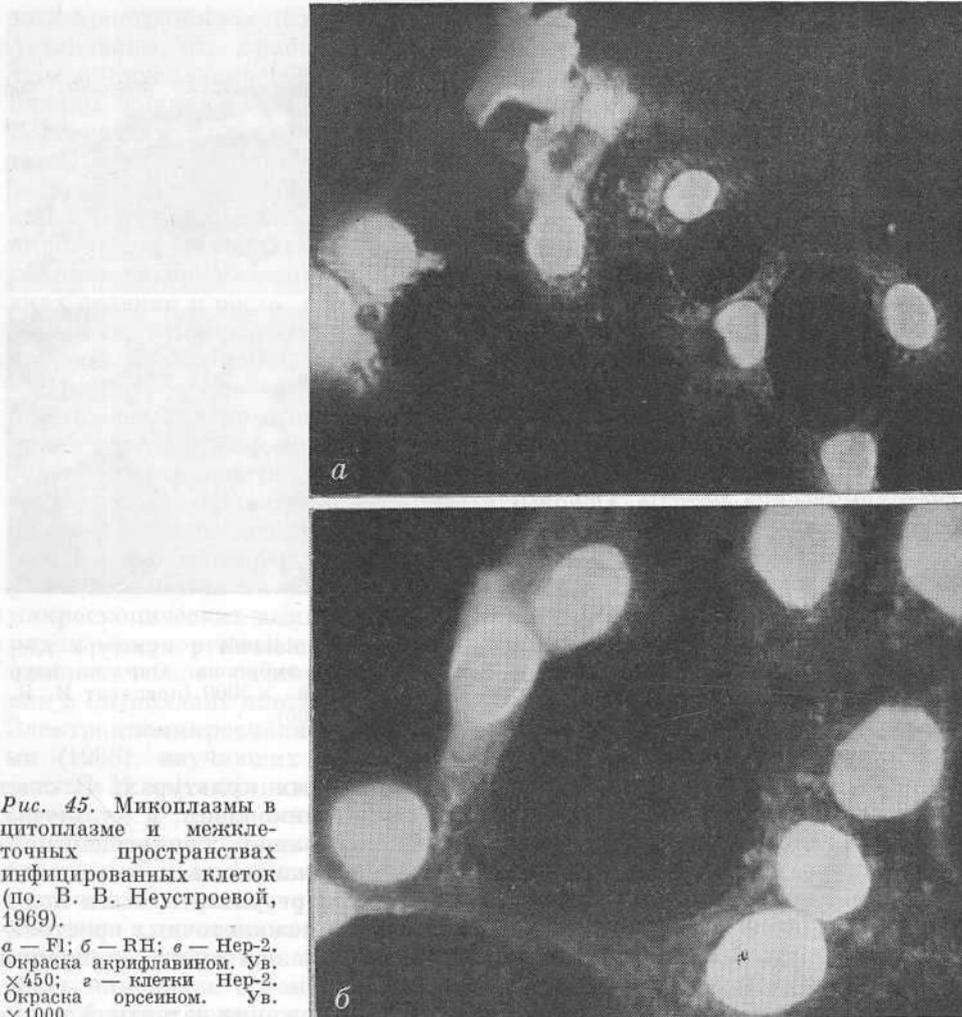


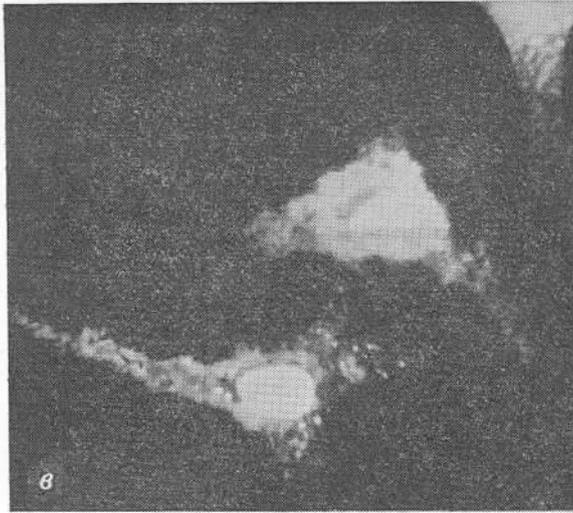
Рис. 45. Микоплазмы в цитоплазме и межклеточных пространствах инфицированных клеток (по В. В. Неустроевой, 1969).

а — F1; б — RH; в — Her-2. Окраска акрифлавином. Ув. $\times 450$; г — клетки Her-2. Окраска орсеином. Ув. $\times 1000$.

ключению, что радиоавтограф инфицированных клеток обусловлен включением тимидина в ДНК микоплазм, локализующихся в цитоплазме клеток и вне ее.

Контрольные высевы инфицированных клеток (культуральная жидкость и гомогенаты клеток) на бесклеточные среды сопровождались ростом микоплазм. Из контрольных, неинфицированных культур микоплазмы не высевались.

В настоящее время имеются интересные наблюдения, касающиеся избирательности внутриклеточной локализации микоплазм, в зависимости от вида микоплазмы и типа клеток, существования определенной зависимости ЦПЭ и размножения микоплазм от их локализации. Например, известно, что разные штаммы микоплазм (выделенный из гемангиомы F₂ и *M. pulmonis*, выделенная из костного мозга больного лейкемией), вызывающие ЦПЭ в одной и той же культуре клеток, в одном случае располагались экстрацеллюлярно (штамм F₂), в другом (*M. pulmonis*) — в цитоплазме клеток и цитоплазматических вакуолях (Hummler, Armstrong, 1967).



M. hyorhinis штамм GDL, контаминировавший диплоидные клетки легкого эмбриона человека, в этой клеточной культуре локализовался внеклеточно. В то же время в клетках почки обезьяны эта микоплазма располагалась интрацеллюлярно.

Динамика развития ЦПЭ в зависимости от локализации микоплазм прослежена на *M. hyorhinis* в культурах почки и яичка телят.

В начале контакта микоплазм и клеток, когда микоплазмы располагались внеклеточно, цитопатические изменения были незначительны и проявлялись лишь в небольшой гранулярности цитоплазмы. После проникновения микоплазм в клетки последние округлялись, нарушалось строение ядра, наблюдались пикноз ядра, некролизация и лизис клеток. Иногда при внутриклеточной локализации микоплазмы размножались более интенсивно, чем при экстрацеллюлярной локализации (J. Fogh, H. Fogh, 1967).

При пассировании микоплазм в культурах клеток, а также при пролиферирующем или трансформирующем эффекте микоплазмы иногда не выделяются на бесклеточных средах. Выявление микоплазм внутри клеток и в

культуральной жидкости также не всегда сопровождается положительными результатами посева на соответствующие питательные среды.

Отрицательные результаты могут быть обусловлены скрытым периодом внутриклеточного развития микоплазм при низкой множественности инфекции (Larin et al., 1969), однако иногда это может быть обусловлено микоплазмацидным действием тканей, которое проявляется исключительно в условиях бесклеточной среды *in vitro*. Так, было обнаружено микоплазмацидное действие экстрактов полиморфноядерных

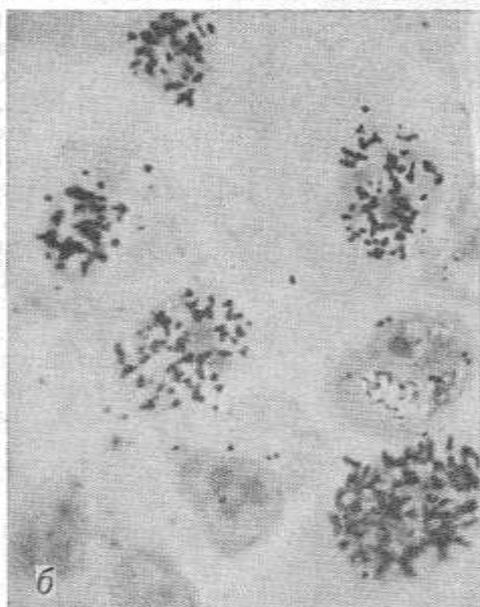
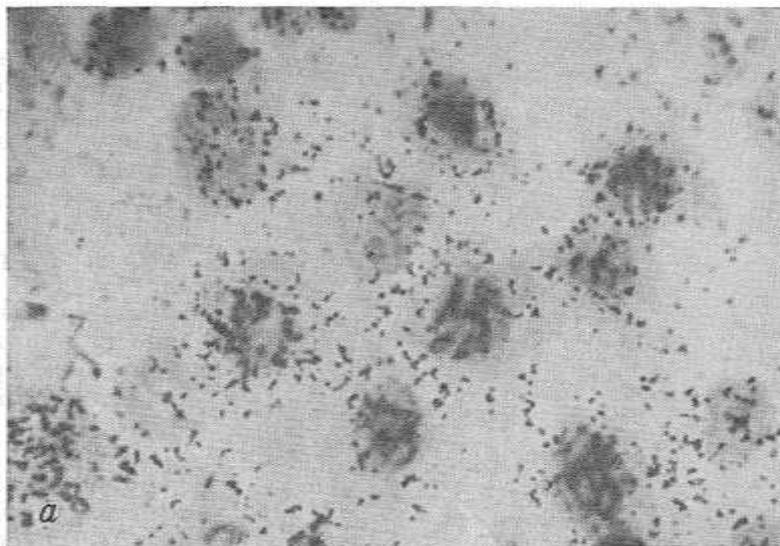


Рис. 46. Клетки СПЭВ.
 а — инфицированные микроплазмой; б — те же клетки, свободные от микроплазм. Авторадиография. Ув. $\times 600$ по В. В. Неустрсовой, 1969).

лейкоцитов человека и кролика *in vitro* в отношении *M. salivarium*, *M. pulmonis* и *M. fermentans*. Активным фактором был термостабильный белок, наиболее выраженное действие которого отмечалось в условиях кислой среды (Dayani, Adnan, Ayoub, Elia, 1969). Аналогичные результаты были получены Kaklemanis с соавторами (1969), обнаружившими микоплазмацидное действие *in vitro* экстрактов почек, печени, синовиальной ткани, клеток HeLa и L на *M. arthritidis*, обусловленное присутствием литического фактора, который предположительно является лизоцицином.

Паразитическое существование микоплазм в клетках может сопровождаться потерей ряда ферментов, необходимых для роста на бесклеточной среде.

НЕКОТОРЫЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МИКОПЛАЗМ И КЛЕТОК

К биохимическим аспектам взаимодействия микоплазм и клеток можно отнести действие микоплазм на метаболизм клеток, обусловленное их конкуренцией за пищевые субстраты (аминокислоты, нуклеиновые кислоты и др.), и токсическое действие продуктов метаболизма микоплазм вплоть до полного лизиса клеток.

О резких цитопатических изменениях клеток, вызванных токсическими веществами разных видов микоплазм, сообщили Краемер с соавторами (1963). Особый интерес представляют данные Краемер с соавторами (1963), Краемер (1964). Из суспензий вирусов полиомы и Коксаки были выделены микоплазмы, оказывающие литическое действие на мышинные лимфоматозные клетки 5178у, культивируемые во взвешенном состоянии.

Начальная фаза лизиса проявлялась в возникновении легкой агглютинации клеток и прекращении метаболизма. При оптимальных концентрациях клеток и микоплазм отмечались полный лизис клеток и просветление культуральной жидкости. Ни разу не удалось наблюдать появления устойчивых к инфекции клеток. Авторы неоднократно обнаруживали микоплазмы, обладавшие такими же литическими свойствами в культурах диплоидных клеток и клеток HeLa. В последнем случае наблюдали смешанную инфекцию литическими и нелитическими штаммами микоплазм. При заражении литическими микоплазмами монослойных культур почки эмбриона свиньи, мыши, клеточной линии L и HeLa цитопатические изменения отсутствовали. Литический эффект под влиянием микоплазм отмечен в клетках P388D, также выделенных из мышинной лимфомы, тем не менее введение этих штаммов микоплазм мышам с лимфомой не приводило к онколизису. Отсутствие онколизиса не было связано с продукцией автител, так как сыворотки, полученные от этих мышей, не подавляли роста микоплазм.

При испытании действия штаммов микоплазм T-5 (Shepard, 1964), *M. hominis* и *M. pneumoniae* на мышинные лимфоматозные клетки 5178у и P388D литического эффекта не обнаружено. Таким образом, было установлено, что способность вызывать лизис данных клеточных культур — специфическое свойство видов и штаммов микоплазм, выделенных Краемер (1964).

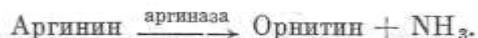
Последующие работы показали, что литическое действие вызывается высокомолекулярными веществами, устойчивыми к нагреванию (Краемер, 1964).

Микоплазма-инфекция клеточных культур меняет аминокислотный и углеводный метаболизм клеток и метаболизм нуклеиновых кислот, ведет к повышению лабильности ДНК, ингибирует проникновение нуклеозидов, меченных по тритию, и способствует расщеплению тимидина на тимин и дезоксирибозу.

Smith (1955, 1960, 1964, 1967) показал, что микоплазмы нуждаются в глутамине, глутаминовой кислоте и аргинине. Последний утилизируется микоплазмами с помощью трехэззимной дегидролазной системы (Schimke, Barile, 1963; Hayflick, Korrowski, 1965). Указанные аминокислоты крайне необходимы для многих штаммов клеточных культур, а аргинин вообще является незаменимой аминокислотой.

В настоящее время можно считать окончательно установленным, что разложение аргинина с накоплением орнитина в культурах клеток, свободных от микоплазма-инфекции, является минимальным (по данным Schimke и Barile, 1963). Клетки HeLa разлагают 11,4% аргинина с накоп-

лением 2,6% мочевины и 2,9% орнитина, что происходит следующим путем:



В присутствии микоплазм осуществляется интенсивное и быстрое разложение аргинина с накоплением орнитина и цитруллина (инфицированные микоплазмой клетки HeLa разлагают 98,3% аргинина с накоплением 1,7% мочевины, 83% орнитина и 13% цитруллина). Зараженные микоплазмами культуры обладали аргининдезаминазной, орнитинтранскарбамилазной и карбамилфосфокиназной активностью. Незараженные культуры обладали только аргиназной активностью. На основании определения аргининдезаминазы Barile и Schimke (1963) предложили быстрый химический метод обнаружения микоплазм в клеточных системах.

Авторы, изучавшие аминокислотный обмен у микоплазм, полагают, что разложение аргинина сопровождается выделением необходимой для микоплазм энергии. При повышении содержания аргинина в среде количество микроорганизмов увеличивается в 2—3 раза (Schimke, Barile, 1963). Наблюдения такого рода дают основание предполагать, что потребление аргинина лежит в основе интерференции метаболизма микоплазм с метаболизмом клеток.

Это предположение подтвердилось в работах ряда авторов. Pollak с соавторами (1963) удалось предотвратить некоторые морфологические изменения и отставание в росте культур, зараженных микоплазмами, путем добавления избыточного количества аргинина в культуральную среду. Аналогичные результаты получили Rouse, Bonifas и Schlesinger (1963).

Однако последующие работы ряда исследователей (Kraemer, 1964; Fogh et al., 1965) показали, что далеко не все штаммы являются ауксотрофами по аргинину. Краемер (1964) при изучении влияния микоплазм на лимфоматозные клетки мыши обнаружил аргининзависимые штаммы микоплазм, обладающие системой ферментов, вызывающих лизис лимфоматозных клеток L5 178y, и аргининнезависимые микоплазмы, которые не продуцировали этих ферментов и не лизировали указанные клетки. Причина повышенной чувствительности лимфоматозных клеток мыши к ферментам микоплазм окончательно не выяснена. Возможно, это явление связано с тем, что лимфоматозные клетки L5 178y не могут использовать цитруллин вместо аргинина, даже если концентрация цитруллина превышает количество аргинина в 10 раз.

Fogh с соавторами (1965), изучавшие поведение разных штаммов микоплазм в амниотических клетках человека F1, не наблюдали уменьшения цитопатического влияния микоплазм при избыточном содержании в среде L-аргинина. Этот факт свидетельствует о том, что не только конкуренция за аргинин может явиться основой интерференции метаболизма микоплазм и клеток.

Данные, полученные Краемер (1964) и Fogh с соавторами (1965), явились основанием для детального изучения потребностей микоплазм в аргинине и далее Barile с соавторами (1966) определили наличие аргининдегидролазной системы у 61 штамма микоплазм, представляющих 18 видов, изолированных из 9 различных источников. В опытах с различными штаммами микоплазм одного и того же вида были получены одинаковые результаты: 10 видов микоплазм обладали аргининдегидролазной активностью, у остальных видов этих ферментов не было. В последнем случае причина ЦПЭ, индуцированного микоплазмами, не связана с конкуренцией микоплазм и клеток за аргинин.

Доказательства изменения метаболизма других аминокислот в клеточных культурах под влиянием микоплазма-инфекции представила Powelson (1960). Микоплазма-инфекция вела к уменьшению содержания глутамина в зараженной культуре. Вместе с тем уменьшение содержания глутамина не вызывает значительных изменений в росте некоторых клеточных культур.

Fu-Chuou-Chao с соавторами (1967) проанализировали уровень свободных аминокислот в нормальной культуре эмбриональных клеток хомячка, в 2 линиях трансформированных фибробластов хомячка (1 трансформированная вирусом полиомы, 2 — спонтанно; обе культуры были контаминированы микоплазмой), и в опухолях, полученных при имплантации 2 линий трансформированных клеток хомячка. Оба типа трансформированных клеток и их соответствующие опухоли имели очень низкую концентрацию аргинина и высокую концентрацию цитруллина по сравнению с уровнем этих аминокислот в нормальных эмбриональных клетках. Наличие микоплазм в вирустрасформированных культурах позволило предположить, что именно микоплазмы, находясь в малигнизированных клетках, могут обуславливать поглощение и вследствие этого низкий уровень глутамина и аргинина и повышение количества цитруллина.

Структурные изменения в гистонах могут в дальнейшем вызывать функциональные нарушения синтеза РНК, зависящей от ДНК, и последующий синтез белка. Орнитинный цикл нарушается в клетках, трансформированных вирусами полиомы, папилломы Шопа и микоплазмами.

Особенности аминокислотного метаболизма микоплазм связаны не только с их стимулирующим влиянием на трансформацию клеток (Russel et al., 1968), но и с их антимиотическим действием. Так, Barile и Levental (1968) отметили избирательную способность 3 аргининзависимых видов микоплазм (*M. hominis*, *M. arthritidis* и *M. orale*) подавлять митоз и трансформацию лимфоцитов, индуцированных фитогемагглютинином. Этот ингибиторный эффект был, по-видимому, связан с использованием аргинина, необходимого для роста лимфоцитов. Вместе с тем 3 декстрозоферментирующих штамма микоплазм (*M. pneumoniae*, *M. canis*, *M. bovis genitalium*) не подавляли трансформации лимфоцитов, а *M. pneumoniae* даже стимулировала митозы и их трансформацию.

Первые наблюдения изменений метаболизма нуклеиновых кислот в клетках, зараженных микоплазмами, были сделаны Nakala с соавторами (1963), отметившими более интенсивное разложение в них тимидина.

Специальное изучение *M. sp. HeLa* и других штаммов микоплазм показало, что все они способны расщеплять тимидин до тимина и дезоксирибозы. Аналогичные наблюдения сделаны House и Waddell (1967), Holland с соавторами (1963, 1967), Nogoczewicz и Grace (1964), отметивших, что расщепление тимидина обусловлено нуклеозидфосфорилазной активностью микоплазм, инфицирующих клеточные культуры.

Randell с соавторами (1965) обнаружили нестабильность ДНК в клетках *HeLa*, зараженных микоплазмой. Радиоактивные соединения, включившиеся в ДНК незараженных клеток, при микоплазма-инфекции появлялись в культуральной среде. При заражении данной микоплазмой (*M. sp. HeLa*) культуры клеток, свободных от микоплазм, можно было вновь воспроизвести этот феномен. Nardone с соавторами (1965) обнаружили, что микоплазма-инфекция клеточных культур L подавляет включение меченого по тритию тимидина и уридина. После обработки клеток канамицином восстанавливалось нормальное включение нуклеозидов. Особого внимания заслуживают данные Russel (1966), изучавшего активность 3 ферментов, участвующих в метаболизме нуклеиновых кислот (тимидин-

киназы, ДНК-азы и РНК-азы). Свободные от микоплазм клетки ВНК-21-13 заражали *M. fermentans* и *M. orale* 2, вызывающих скрытую инфекцию клеток, а также *M. pulmonis*, дающей небольшой ЦПЭ. Все 3 микоплазмы обуславливали повышение активности указанных выше ферментов, особенно *M. pulmonis*, которая индуцировала 50-кратный подъем тимидинкиназы. Уже через 48 часов после заражения инфекция *M. fermentans* и *M. orale* вызвала повышение активности этого фермента в 2^{1/2} и 4 раза соответственно. Повышение активности тимидинкиназы под влиянием микоплазма-инфекции обращает на себя особое внимание, так как этот фермент необходим для регуляции транспорта предшественников синтеза ДНК и играет важную роль в контроле митотической активности клеток. Незараженные клетки отличались низкой ДНК-азной активностью, которая обнаруживалась лишь в экстрактах клеток за счет разрушения лизосом. ДНК-азная активность клеток, зараженных *M. fermentans*, была в 20 раз выше, чем у незараженных; еще более высокий и длительный подъем ДНК-азной активности отмечен при инфекции клеток *M. pulmonis*. ДНК-азная активность зараженных клеток в отличие от незараженных не связана с лизосомальной активностью и не обусловлена активацией лизосомальных ферментов. Идентичные результаты были получены при изучении ДНК-азной активности L-клеток, инфицированных *M. hominis* (Stock, Gentry, 1969).

Микоплазма-инфекция клеточных культур сопровождается значительными изменениями в синтезе РНК. Отмечен подъем РНК-азной активности клеток, зараженных микоплазмами, степень и длительность которого варьировали в зависимости от инфицирующего вида микоплазм (Russel, 1966).

Резкое снижение синтеза РНК зафиксировано как при спонтанной микоплазма-инфекции *M. hyorhinis*, так и в ходе экспериментальной инфекции, вызванной разными видами микоплазм (*M. hyorhinis*, *M. pulmonis*, *M. neurolyticum*, *M. arthritidis*, *M. fermentans*, *M. hominis*, *M. orale* 1, 2, *M. pneumoniae*).

В инфицированных культурах меченый уридин не включался в рибосомальные предшественники РНК, а абсолютное количество рибосомальной РНК уменьшалось на 50%. Кроме того, в инфицированных клетках появлялись новые типы РНК и ДНК, происходящие из самих микоплазм и отличающиеся по физико-химической характеристике от нуклеиновых кислот клеток (Levine et al., 1968; Markov et al., 1969). Измененный метаболизм нуклеиновых кислот при микоплазма-инфекции клеточных культур может быть обусловлен разными причинами: 1) поглощением предшественников нуклеиновых кислот клетки для собственного синтеза; 2) повышением активности ряда ферментов (нуклеозидфосфатазы, тимидинкиназы, РНК-азы и ДНК-азы), богатым источником которых являются сами микоплазмы; 3) внесением в клетку новых нуклеиновых кислот, происходящих из самих микоплазм.

НЕКОТОРЫЕ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МИКОПЛАЗМ И КЛЕТОК

Цитогенетические исследования клеточных культур, инфицированных микоплазмами, начались с 1964 г., и уже в настоящее время имеется значительное число фактов, свидетельствующих о влиянии микоплазм на хромосомный аппарат инфицированных клеточных культур.

Данные о нарушении митозов и сегрегации ядерных компонентов в клетках, инфицированных микоплазмами, дополнились впоследствии

фактами о непосредственном действии микоплазм на хромосомы инфицированных клеток. Уже в 1965 г. J. Fogh и H. Fogh обнаружили в подобных культурах уменьшение числа хромосом, увеличение хромосомных aberrаций и возникновение 3 новых вариантов хромосом: 1) больших телоцентрических (до 28,5%); 2) метацентрических (редко); 3) больших субтелоцентрических (до 20%). Эти изменения были близки изменениям, индуцированным некоторыми вирусами (SV₄₀, herpes simplex и аденовирусом типа 12) в культурах диплоидных клеток человека.

Последующие цитогенетические исследования разных клеточных культур, преимущественно диплоидных линий, инфицированных разными видами микоплазм, выявили избирательную способность последних вызывать хромосомные нарушения. Так, Paton и Perkins (1969) обнаружили значительные изменения в хромосомном аппарате диплоидных клеток эмбриона человека (WI-38), инфицированных *M. orale*, близкие изменениям, описанным J. Fogh и H. Fogh (1965). Степень изменений нарастала с увеличением продолжительности инфекции. Заражение клеток WI-38 *M. fermentans* и *M. hominis* сопровождалось аналогичными изменениями, но выраженными в меньшей степени, чем при инфицировании *M. orale*. Аналогичные наблюдения сделаны Stanbridge с соавторами (1968), изучавшими действие *M. orale* 1, *M. pulmonis*, *M. hyorhinis* (GDL) и *M. laidlawii* на диплоидные клетки WI-38 и отметившими преимущественное влияние *M. orale* на хромосомный аппарат и митозы данной клеточной линии. Анализ характера изменений в хромосомах диплоидных клеток человека WI-38, вызванных *M. hominis*, и сопоставление этих изменений с изменениями, индуцированными некоторыми вирусами, позволили Allison (1966) высказать предположение, что при изучении этиологии болезни Дауна следует обратить внимание исследователей и на микоплазмы, особенно на те виды и штаммы, которые как комменсалы живут в урогенитальном тракте человека. Это положение, на наш взгляд, заслуживает несомненного внимания, так как уже сейчас имеются факты, свидетельствующие о необратимости хромосомных изменений, индуцированных микоплазмами, даже при ликвидации самой микоплазма-инфекции. Так, в опытах J. Fogh и H. Fogh (1967) на примере микоплазма-инфекции амниотических клеток человека была показана необратимость хромосомных изменений после удаления микоплазм с помощью ауреомицина.

Хромосомные изменения в зараженных клетках могут быть обусловлены непосредственным воздействием микоплазм на клетки, токсическим действием продуктов метаболизма микоплазм и использованием последними метаболитов, необходимых для нормальной жизни самих клеток. Попытки изучения некоторых механизмов влияния микоплазм на хромосомный аппарат клеток на разных системах микоплазма—клетки сделаны Stanbridge с соавторами (1968), Barile и Levental (1968), Aula и Nichols (1967), выявившими значение изменений метаболизма аргинина в подавлении митозов и в хромосомных нарушениях.

В 1967 г. появилось сообщение Schidler и Harris о появлении хромосомных aberrаций в культуре лейкоцитов, индуцированных агентом Negroni — микоплазмой из костного мозга больного лейкозом. В том же году Aula и Nichols (1967) проанализировали действия 3 видов микоплазм (*M. salivarium*, *M. hominis* 2 и *M. fermentans*) в культуре лейкоцитов человека. Все три вида микоплазм вызывали подавление митозов в дозе 10⁶ КОЕ на 1 мл среды; наименее активной была *M. fermentans*. При использовании меньшей инфицирующей дозы (10³ КОЕ в 1 мл) одна *M. salivarium* вызывала хромосомные изменения. Действие этой микоплазмы было обусловлено истощением аргинина в среде культивирования. Его добавление в среду

предохраняло инфицированные лейкоциты от возникновения соответствующих изменений. Вместе с тем изменения были получены в неинфицированных культурах в среде с недостатком аргинина. Последний является одним из компонентов гистонов, обуславливающих нормальную функцию хромосом. Авторы установили, что для расщепления аргинина в среде культивирования не требуется активной репродукции микоплазм. Убитые микоплазмы сохраняли способность подавлять митозы в культуре лимфоцитов (Cooperman, Morton, 1966).

Изменения хромосомного аппарата клеток, индуцированные микоплазмами, как правило, стабильны и не исчезают при освобождении клеток от микоплазма-инфекции.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ МИКОПЛАЗМ И ВИРУСОВ ПРИ СМЕШАННОЙ ИНФЕКЦИИ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР

Особенности поведения микоплазм в клеточных культурах и механизмы взаимодействия микоплазм и клеток выдвинули перед современными исследователями новую проблему — проблему взаимоотношений микоплазм и вирусов при смешанной инфекции.

Имеющиеся уже в настоящее время факты свидетельствуют о том, что взаимодействие микоплазм и вирусов может проявляться по-разному. Во-первых, возможно взаимное либо одностороннее подавление цитопатического действия и размножения партнеров, во-вторых, — взаимная либо односторонняя активация инфекции. Эффект взаимодействия микоплазм и вирусов зависит от вида партнеров и чувствительности клеточных культур.

Необходимость изучения взаимодействия микоплазм и вирусов при смешанной инфекции клеточных культур возникла в результате обнаружения латентной микоплазма-инфекции, известной под названием контаминации клеточных культур, оказывающей существенное влияние на ЦПЭ и репродукцию разных вирусов. Уже в 1961 г. Brownstein и Gracham (1961) обнаружили значительное снижение продукции вируса менингоэнцефалита в клеточной линии L, контаминированной микоплазмой. Изменение чувствительности нескольких клеточных линий к вирусам кори, вакцины и поливирусу типа I отметили Gori и Lee (1964). Изменение чувствительности находилось в прямой связи с интенсивностью контаминации культур микоплазмами; продукция вирусов увеличивалась после освобождения культур от микоплазм.

Отмечено заметное подавление бляшкообразования аденовирусами в инфицированной клеточной линии KB (Rouse et al., 1963) и размножения вируса кори в линии HEP-2, контаминированной микоплазмой (Butler, Leach, 1964). Сходные данные получены при изучении микоплазма-вирусной инфекции, вызванной микоплазмами Г-11 и Г-12, выделенными из доброкачественных опухолей человека, и вирусом везикулярного стоматита (VSV). Размножение микоплазм значительно подавляло продукцию вируса (Armstrong et al., 1965). Ингибиторное действие оказывала *M. orale* на вирус саркомы Рауса (RSV) и вирус, ассоциированный с саркомой Рауса (RAV). При введении клеток, зараженных вирусами RSV и RAV и *M. orale*, цыплятам опухоли не развивались. *M. orale* при инфицировании ею и вирусом саркомы первичной культуры клеток куриного эмбриона снижала титр вируса на 1—3 lg и подавляла образование фокусов трансформации. Наряду с избирательным ингибиторным действием *M. orale* на RSV и RAV было также отмечено отсутствие подобного действия на вирус гриппа В.

Ponten (1965) и MacPherson (1966) также обнаружили микоплазмаподобный агент, ингибирующий репродукцию вируса саркомы Рауса. В специальной серии опытов выявлено подавление *M. hominis* 1 фокусов трансформации, индуцированных вирусом саркомы Рауса в культуре ККЭ. Эффект ингибирования очагов трансформации, полученный этими авторами при использовании *M. hominis* 1, не сопровождался, однако, подавлением продукции инфекционного вируса.

Смешанная инфекция клеточных культур *M. bovis genitalium* и вирусом ринотрахеита коров сопровождается пониженной продукцией вируса, задержкой ЦПЭ; отмечается снижение внутриклеточных включений, образуемых вирусом, или полное их отсутствие (Afshar, 1967).

Микоплазмы птиц (*M. gallisepticum*, *M. gallinarum*, *M. iners*) ингибируют репродукцию вирусов ЕСНО и вируса вакцины в первичной культуре ККЭ, титры вирусов при смешанной микоплазма-вирусной инфекции на 1,5—2 lg ниже титров при вирусной моноинфекции (Тодоров, 1968).

Изучение взаимодействия микоплазм и вирусов при смешанной инфекции разных клеточных культур было начато у нас в лаборатории еще в 1963 г. В первой серии опытов было исследовано влияние нескольких видов микоплазм (*M. laidlawii*, *M. agalactiae*, *M. hominis* 1, *M. gallisepticum*, *M. salivarium*, *M. sp. HeLa*, НЕР-2, CAS, А-1) на репродукцию РНК-содержащих вирусов, восточноамериканского энцефаломиелита лошадей (ЕЕЕ) и венесуэльского энцефаломиелита лошадей (ВЕЕ), а также вируса болезни Ньюкасла (NDV) в первичной культуре ККЭ (Г. Я. Каган и др., 1967). В результате этих опытов было установлено избирательное ингибиторное действие микоплазм на репродукцию вирусов. Цитопатогенный для культуры ККЭ штамм *M. laidlawii* подавляет репродукцию всех трех испытанных вирусов. *M. agalactiae*, вызывающая незначительный ЦПЭ, мало отличается от *M. laidlawii* по степени ингибиторного действия на продукцию всех трех вирусов. *M. hominis* 1 и *M. gallisepticum*, не оказывающие ЦПЭ, но активно размножающиеся в культуре ККЭ, характеризуются избирательным и слабым ингибиторным действием. *M. salivarium* и 4 штамма микоплазм, контаминирующих разные клеточные линии, не подавляют репродукции испытывавшихся вирусов, и лишь одна микоплазма из культуры НЕР-2 (*M. sp. НЕР-2*) оказывает слабое ингибирующее действие на репродукцию вирусов ЕЕЕ и NDV.

В другой серии опытов (Г. П. Флеер и др., 1969) изучено влияние микоплазм (*M. laidlawii*, *M. hominis* 1, *M. gallisepticum* и *M. НЕР-2*) на формирование бляшек вирусом малайской лихорадки Лангат (штамм ТР-21) в первичной культуре ККЭ. Было показано, что все 4 вида микоплазм подавляли образование бляшек вирусом Лангат. Однако наиболее выраженный ингибиторный эффект был обнаружен у *M. laidlawii*. *M. gallisepticum* по своей ингибирующей способности, как и по ЦПЭ в культуре ККЭ, занимала промежуточное место между *M. laidlawii* и *M. hominis* 1. Обнаружена прямая зависимость ингибирующего действия микоплазм на бляшкообразование вирусом Лангат от величины заражающей дозы микоплазм и продолжительности их размножения в культуре клеток.

Ингибиторное действие микоплазм на образование вирусных бляшек подавлялось или предотвращалось при одновременной или предварительной обработке культуры клеток тилозином или канамицином, к которым микоплазмы чувствительны.

Т. Д. Смирнова (1970) изучила влияние вируса Лангат на размножение *M. laidlawii*, интенсивность и скорость появления цитопатических изменений, индуцируемых этой микоплазмой в культуре ККЭ.

ЦПЭ, индуцированный *M. laidlawii*, в присутствии вируса появляется на 1—2 суток раньше, чем при микоплазма-моноинфекции. В то же время вирусная инфекция стимулировала размножение *M. laidlawii* в том случае, если микоплазму вносили в культуру через час после адсорбции вируса и особенно при инокуляции *M. laidlawii* через 24 часа после вируса. Различия в титрах *M. laidlawii* при инфекции микоплазма-вирус по сравнению с микоплазма-моноинфекцией были наиболее резко выражены при низкой множественности заражения *M. laidlawii* (0,0025—0,00025 КОЕ на клетку). Результаты этих опытов представляются, на наш взгляд, весьма интересными, так как совершенно четко устанавливают возможность активации микоплазма-инфекции под влиянием вируса в опытах *in vitro*. Аналогичные результаты активации *M. pneumoniae* в культуре клеток хорион-аллантоисной мембраны вирусом гриппа и *M. orale* в культуре клеток PS вирусом японского энцефалита получены Nacamura и Sacamoto (1969). Почти одновременно с результатами этих опытов появилась публикация Singer с соавторами (1969), обнаруживших заметное повышение титров вирусов VSV и леса Семлики в культуре фибробластов эмбрионов хомячка, инфицированных *M. arginini* и *M. hyorhinis*. Данные Т. Д. Смирновой, Nacamura и Sacamoto и Singer с соавторами согласуются с высказанным нами положением о возможной активации как микоплазмы, так и вирусов при смешанной инфекции, причем взаимный или односторонний эффект зависит от вида микоплазмы, типа вируса и клеток.

Действие микоплазм на вирусы может быть непрямым, прямым и смешанным. Непрямое действие обусловлено воздействием микоплазмы на клеточную культуру (ЦПЭ, размножение и изменение метаболизма, возможное интерферогенное действие и т. д.), прямое действие, вероятно, обусловлено непосредственным влиянием микоплазмы на вирус, смешанное — непрямым и прямым воздействием одновременно. В. В. Неустроева (1969) обнаружила влияние латентной микоплазма-инфекции на ЦПЭ, гемагглютинирующую способность и репродукцию большой группы вирусов. В качестве объекта исследования были взяты микоплазма (*M. sp.* клеток СПЭВ) и большой набор вирусов: вирус вакцины, аденовирус типа 6, Коксаки В₃, арбовирусы группы А (WEE, EEE, Синдбис, Чикунгунья, леса Семлики), арбовирусы группы В (клещевого энцефалита — штамм Софьян, омской геморрагической лихорадки — ОГЛ, Западного Нила, Сан-Луи, японского энцефалита (штамм Я-47, вирус Нтайя и вирус Буньямера). В опытах использовали перевиваемую линию клеток почек эмбриона свиньи (СПЭВ). Из этой культуры был выделен штамм микоплазмы (*M. sp.* СПЭВ), вызывающий цитопатическое действие в культуре клеток ККЭ и мышей (ККМ), а также в перевиваемой линии клеток НЕР-2. Титр микоплазм на 4—7-е сутки в агаровой среде достигал 5,5 КОЕ/мл, в культуре НЕР-2 — 6,75 ТЦД₅₀/мл.

Наряду с линией клеток, инфицированной данным штаммом микоплазм, использовали ту же линию клеток, освобожденную от микоплазм с помощью тетрациклина. Соответствующие вирусы инокулировали одновременно в культуру клеток, содержащую микоплазму и ту же культуру, свободную от микоплазм. Перед постановкой основных опытов была изучена динамика размножения обеих культур и продолжительность их жизнеспособности.

Характер влияния микоплазма-инфекции на указанные вирусы учитывался по следующим показателям: ЦПЭ, репликации вируса (в ТЦД₅₀ в 1 мл по Риду и Менчу) и образованию гемагглютининов.

Результаты изучения динамики размножения перевиваемой линии клеток СПЭВ свидетельствовали о том, что латентная микоплазма-инфекция,

не сопровождавшаяся видимыми изменениями клеток, подавляла интенсивность их размножения и жизнеспособность, что выражалось в быстром старении и гибели инфицированной культуры (8-й день) по сравнению с культурой, свободной от микоплазм (размножение интенсивнее, урожай больше в 2 раза, гибель на 14-й день и позже).

Микоплазма-инфекция оказывала определенное влияние на ЦПЭ и гемагглютинирующую способность арбовирусов и вируса вакцины. Полная дегенерация культуры, свободной от микоплазм, при инфицировании арбовирусами наступала позднее, чем инфицированной микоплазмой, — чаще всего на одни сутки; в случае вирусов ОГЛ — на трое суток, Западного Нила — на двое. Исключение составляли вирусы Синдбис, Буньямвера и Нтайя, к которым данная культура клеток оказалась нечувствительной. В отличие от арбовирусов, вирус вакцины оказывал одинаковый ЦПЭ в обеих культурах.

Латентная микоплазма-инфекция влияла на гемагглютинирующую способность вирусов в большей степени, чем на ЦПЭ. Это действие микоплазм несколько варьировало у разных групп арбовирусов. Так, например, в группе В все испытуемые вирусы в инфицированной культуре были либо практически лишены гемагглютинирующей способности (вирусы японского энцефалита, ОГЛ), либо гемагглютинины определялись в титре не более чем 1 : 2 (вирусы клещевого энцефалита и Западного Нила). В культуре, свободной от микоплазм, гемагглютинины выявились в значительно более высоких титрах (1 : 8—1 : 128).

В группе А гемагглютинины у вирусов Чикунгунья и леса Семлики в инфицированной культуре либо не обнаруживались, либо выявлялись в титре 1 : 2.

В культуре, свободной от микоплазм, титры гемагглютининов варьировали от 1 : 16 до 1 : 128. Соответственно титры гемагглютининов у вирусов VEE и EEE составляли 1 : 8—1 : 16; 1 : 64—1 : 128.

Гемагглютинирующая способность вируса вакцины также зависела от наличия латентной микоплазма-инфекции в культуре ткани. В этом случае титры гемагглютининов в инфицированной микоплазмой культуре колебались от 0 до 1 : 2; в культуре, свободной от микоплазм, 1 : 16—1 : 32.

При изучении влияния латентной микоплазма-инфекции на репликацию некоторых вирусов было обнаружено следующее.

Из испытанных 5 вирусов (вакцины, аденовируса типа 6, EEE, клещевого энцефалита, Коксаки В₃) значительные различия в титрах наблюдались лишь у аденовируса типа 6 (2,5 ТЦД₅₀/мл в инфицированной культуре и 4,5 ТЦД₅₀/мл в культуре, свободной от микоплазм), что свидетельствовало об ингибиторном действии микоплазма-инфекции на репродукцию данного вируса. Вместе с тем надо отметить, что время наступления и интенсивность ЦПЭ не всегда коррелировали с титром вируса, так как, несмотря на резко выраженный ингибиторный эффект микоплазм на репликацию аденовируса типа 6, время появления и интенсивность цитопатических изменений в этом случае не зависели от микоплазма-инфекции. С другой стороны, при отсутствии разницы в титрах вирусов EEE, клещевого энцефалита и Коксаки В₃ ЦПЭ в культуре, свободной от микоплазм, либо наступал на сутки позже, либо отличался по интенсивности. Взятая в опыт микоплазма не давала видимого ЦПЭ, но активно размножалась в клетках и вызывала латентную инфекцию, меняла метаболизм клеток, подавляла их размножение и выход, сокращала сроки жизнедеятельности, оказывая тем самым не прямое, но весьма существенное влияние на поведение вирусов в данной клеточной системе.

«Более ранний ЦПЭ в контаминированных микоплазмой культурах при их заражении арбовирусами мог быть связан с пониженной жизнеспособностью контаминированной культуры. Наряду с этим нельзя исключить и прямое усиление ЦПЭ вирусов микоплазмой.

Независимо от интенсивности воздействия микоплазм на ЦПЭ вируса или его репликацию микоплазма оказывала значительный ингибиторный эффект на гемагглютинирующую способность вирусов. Этот факт был установлен почти на всех изучавшихся вирусах, хотя можно было отметить и некоторую избирательность — случаи, когда независимость подавления гемагглютинирующих способностей от ЦПЭ вируса вакцины и интенсивность репликации в инфицированной и свободной от микоплазм культуре клеток были приблизительно одинаковыми. В то же время гемагглютинирующая активность резко отличалась в контаминированной культуре клеток, гемагглютинины либо не выявлялись, либо присутствовали в титрах 1 : 2. В клетках, свободных от микоплазм, титры гемагглютининов составляли 1 : 16 или 1 : 32.

ЦПЭ вирусов клещевого энцефалита и ЕЕЕ в контаминированной микоплазмами культуре проявлялся на сутки позже, чем в деконтаминированной, однако это несколько не влияло на их репликацию, так как титры в обеих системах были одинаковыми. В то же время гемагглютинирующая способность была резко изменена, ибо в первой культуре титры гемагглютининов соответственно варьировали в пределах 0—1 : 2 и 1 : 8—1 : 16, во второй — в пределах 1 : 32—1 : 128.

Характер взаимоотношений микоплазм и вирусов не исчерпывается подавлением репродукции вирусов микоплазмами. Могут наблюдаться и другие взаимоотношения — подавление размножения и ЦПЭ микоплазм под влиянием вирусной инфекции. Данных по этому вопросу почти нет, и лишь в 1965 г. была опубликована работа Murphy с соавторами, отметивших снижение ЦПЭ микоплазм, выделенных из костного мозга больных лейкозом, не идентифицированным вирусным агентом.

К непрямым механизмам ингибиторного действия микоплазм на вирусы следует отнести ЦПЭ микоплазм и закисление среды, приводящее к быстрой инаktivации вируса. Подавление репродукции трех РНК-содержащих вирусов *M. laidlawii* в наших опытах объяснялось, по-видимому, резким ЦПЭ этой микоплазмы и закислением среды. Ингибиторный эффект может быть вызван также накоплением в культуральной среде продуктов метаболизма микоплазм, подавляющих репродукцию вирусов. Выше упоминалось, что одним из продуктов метаболизма микоплазм является аммиак (Schimke, Barile, 1963), который подавляет репродукцию ряда вирусов (Eaton, Scala, 1961; Jensen et al., 1961; Jensen, Lin, 1961).

Другой причиной ингибирующего действия микоплазм может быть конкуренция между микоплазмами и вирусами за отдельные компоненты среды (аминокислоты, нуклеотиды, факторы роста), необходимые как для развития микоплазм, так и для полноценной репродукции вирусов. Rouse, Bonifas, Schlesinger (1963), Romans и Brancato (1970) показали, что в клеточных культурах, загрязненных микоплазмами, репродукция вирусов находилась в прямой зависимости от количества аргинина.

Одним из возможных механизмов ингибиторного действия микоплазм на вирус при смешанной инфекции может, вероятно, быть стимуляция продукции вирус-индуцированного интерферона, который в свою очередь подавляет репродукцию вируса. Возможность повышения продукции интерферона была показана Cantall и Paucker (1963).

Результаты опытов показали, что испытанные ими штаммы микоплазм практически не индуцируют продукцию интерферона. В то же время

при заражении клеток вирусом ЕЕЕ отмечается его образование. В процессе старения культуры наблюдается некоторое снижение интерферогенной активности вируса ЕЕЕ. Предварительная обработка клеток микоплазмами усиливала продукцию интерферона, повышая ее приблизительно в 4 раза. Подобный стимулирующий эффект был особенно нагляден при внесении микоплазм за 24 часа до заражения клеток. Увеличение времени контакта клеток с микоплазмами закономерно приводило к постепенному падению титров интерферона, что могло быть связано как со старением культуры, так и с цитопатическим действием микоплазм. Это особенно выражено в отношении *M. laidlawii*, которая вызывает почти полную деструкцию клеток через 72 часа после ее внесения.

Иные данные были получены Armstrong и Raucher (1966), изучавшими действие *M. hominis* 1, *M. pneumoniae* и микоплазмы Negroni на продукцию интерферона в клетках L, инфицированных вирусом NDV, и в клетках почки эмбриона человека, инфицированных вирусом Синдбис. Авторы установили, что размножение всех указанных видов микоплазм не сопровождалось продукцией интерферона, не препятствовало заражению клеток вирусом везикулярного стоматита, не подавляло его размножения и не влияло на вирусный интерферонез.

В опытах Т. Д. Смирновой, проведенных в нашей лаборатории (1970), исследовалось влияние микоплазм (*M. laidlawii*, *M. gallisepticum*, *M. hominis* 1 и *M. sp.* СПЭВ) на продукцию интерферона, индуцированную вирусом Лангат в культуре ККЭ. Было показано, что ни один из использованных штаммов микоплазм не обладает способностью индуцировать образование интерферона в данной культуре клеток. При смешанной микоплазма-вирусной инфекции продукция индуцированного вирусом Лангат интерферона была значительно снижена по сравнению с индукцией интерферона при вирусной моноинфекции в контрольной культуре. Степень ингибирования не зависела от вида использованной микоплазмы, но находилась в прямой зависимости от величины инфицирующей дозы и продолжительности размножения микоплазмы в данной культуре клеток. Обработка культуры клеток тилозином практически полностью снимала ингибиторное действие микоплазм на продукцию вирус-индуцированного интерферона.

Из представленных данных ясно, что процесс взаимодействия микоплазм и вирусов в клеточных культурах имеет различный характер. В одних случаях подавляется размножение вируса, снижаются его гемагглютинирующие свойства, в других повышается его активность. Особенности этих процессов обуславливаются видовыми качествами вируса, микоплазмы и клеточной культуры.

* * *

Поведение микоплазм в клеточных культурах проявляется в виде инфекционного процесса, который может носить латентный и острый характер. Наиболее простыми проявлениями влияния латентной микоплазма-инфекции на биологию клеток является понижение их жизнеспособности, изменение сроков формирования монослоя, сокращение срока жизни, торможение размножения. Латентная микоплазма-инфекция может вести и к более серьезным нарушениям биологии клеток: изменению их метаболизма, антигенной структуры, митотической активности, хромосомного аппарата. Иногда она сопровождается размножением микоплазм в клеточной культуре без выраженного ЦПЭ, однако под влиянием разнообразных стресс-факторов возможны активация и переход в острый

инфекционный процесс, сопровождающийся не только размножением микоплазм, но и острой деструкцией клеток.

В некоторых случаях латентная микоплазма-инфекция клеток может вести к пролиферативному эффекту.

В инфекционном процессе, индуцированном микоплазмами, участвует цитоплазма и ядро, в которой нередко обнаруживаются гранулярные включения, наблюдаются явления пикноза и кариорексиса.

Ультраструктурные изменения в клетках, индуцированные микоплазмами, как при латентной, так и при острой микоплазма-инфекции сходны с соответствующими изменениями, вызываемыми вирусами. Микоплазмы, так же как вирусы, вызывают феномен бляшкообразования. При электронной микроскопии частицы микоплазм, расположенные внутри клеток, трудно отличить от вирусных частиц.

Характер взаимодействия микоплазм и клеток также имеет некоторые черты сходства с взаимодействием вируса и клеток.

Первой фазой взаимодействия микоплазм и клеток является адсорбция. Некоторые виды микоплазм аналогично миксовирусам фиксируются на мукопротеидных рецепторах клеток, концевой протетической группой которых является N-ацетилнейраминаовая кислота. Известны виды микоплазм, фиксирующиеся на рецепторах другой природы. Предполагают, что путь проникновения микоплазм в клетку обусловлен пиноцитозом (процессом, сходным с виropексисом), однако сведений о формировании пиноцитозной вакуоли и действии лизосомальных ферментов почти нет.

Микоплазмы обнаруживаются на клеточных мембранах, причем они образуют с последними настолько крепкую связь, что невозможно провести дифференциацию между мембраной клетки и мембраной микоплазм. Их обнаруживают в межклеточных пространствах и в цитоплазме; в последней они чаще всего локализируются под мембраной. Имеются единичные сведения о внутриядерной локализации микоплазм.

Локализация микоплазм в клеточных культурах и некоторые механизмы их ЦПЭ определяются видом микоплазм, множественностью инфекций, типом клеточной культуры, ее посевной дозой и чувствительностью, а также фазой инфекционного процесса. Вполне вероятно, что в первых фазах взаимодействия микоплазм и клеток они будут обнаруживаться как вне клетки, так и внутриклеточно. В промежуточных фазах, по-видимому, должно возрасть количество связанных с клетками или внутриклеточно локализованных микоплазм. В конечной фазе при деструкции клеток микоплазмы в большом количестве могут обнаруживаться вне клеток. Отрицательные результаты выделения микоплазм могут быть обусловлены скрытым периодом их внутриклеточного размножения или микоплазмоцидностью разных тканей.

Микоплазмы оказывают действие на аминокислотный и углеводный метаболизм клеток, влияют на синтез нуклеиновых кислот и их предшественников.

Ассоциативные взаимоотношения микоплазм и вирусов могут проявляться в усилении или подавлении патогенного эффекта и размножения микоплазм и вирусов.

Глава восьмая • Семейство Mycoplasmataceae В ПАТОЛОГИИ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

Существует два принципа классификации микоплазм. В основу первого из них положен источник выделения, т. е. естественный хозяин. Согласно этой классификации, все микоплазмы можно подразделить на 6 больших групп: 1) микоплазмы человека; 2) микоплазмы млекопитающих; 3) микоплазмы птиц; 4) микоплазмы насекомых; 5) микоплазмы растений; 6) стеринезависимые микоплазмы (*Acholeplasma*)*.

Каждая из групп объединяет, вероятно, как патогенные, так и непатогенные виды. Принцип этой классификации не всегда соблюдается, так как нередко один и тот же вид микоплазм встречается при различных патологических процессах у разных хозяев, например *M. arthritidis* грызунов оказалась генетически идентичной *M. hominis* 2 человека, *M. pulmonis* выделяется не только от мышей, но и от кроликов, а *M. hyorhinis* является возбудителем сложного воспалительного синдрома свиней и в то же время выделяется от людей, больных лейкозом и ревматоидным артритом.

В 1961 г. нами (В. Д. Тимаков, Г. Я. Каган, 1961) был предложен другой принцип классификации — этиологический, основанный на тропизме микоплазм к одинаковым органам и тканям разных хозяев. Последующее накопление все новых и новых фактов позволило дополнить и расширить классификацию микоплазм по этиологическому принципу независимо от видовой принадлежности хозяина (Г. Я. Каган, 1963; В. Д. Тимаков, Г. Я. Каган, 1967; Г. Я. Каган, И. В. Раковская, 1968). Согласно нашей классификации, микоплазмы подразделяются в зависимости от локализации патологических процессов на следующие группы:

1. Микоплазмы — возбудители респираторных заболеваний человека, животных и птиц.

2. Микоплазмы, обнаруживающиеся при заболеваниях мочеполового тракта человека и животных.

3. Микоплазмы, связанные с патологическими процессами в виде сложных воспалительных синдромов человека, животных и птиц.

4. Микоплазмы, связанные с заболеваниями суставов и сердца человека, животных и птиц.

5. Микоплазмы, обуславливающие заболевания нервной системы (описаны пока только у грызунов).

6. Микоплазмы, обнаруживаемые при лейкозе и некоторых других опухолях у человека и животных.

7. Микоплазмы — условные комменсалы человека, животных и птиц, а также сапрофитирующие в почве, сточных водах и т. д.

В пределах каждой из этих групп микоплазмы объединяются в подгруппы соответствующего естественного хозяина.

* Встречается у разных хозяев.

I. Микоплазмы — возбудители респираторных болезней

Микоплазмы человека.

1. *M. pneumoniae* (агент Итона) — возбудитель небактериальных пневмоний человека, известных под названием «первичные атипичные пневмонии» (ПАП). *M. pneumoniae* вызывает также бронхиты, бронхиолиты и гнойные или геморрагические воспаления среднего уха, описанные как *meningitis bullosa*.

2. *M. hominis* 1 — возбудитель воспалительных процессов верхних дыхательных путей, фарингитов, ангин, шейной аденопатии.

Микоплазмы млекопитающих.

1. *M. mycoides* var. *mycoides* — возбудитель контагиозной плевропневмонии рогатого скота.

2. *M. mycoides* var. *capri* — возбудитель контагиозной плевропневмонии коз и овец.

3. *M. hyopneumoniae* — возбудитель хронической пневмонии свиней, распространенной в США, и *M. suis* — возбудитель пневмонии свиней, выделенный в Англии. Оба вида оказались идентичными и были ранее известны под названием агента энзоотической пневмонии свиней.

4. *M. pulmonis* — возбудитель инфекционного катара верхних дыхательных путей у мышей и бронхоэктатической болезни и бронхопневмонии крыс.

Микоплазмы птиц.

1. *M. gallisepticum* — возбудитель хронического респираторного заболевания кур и индеек.

2. *M. meleagridis* — наиболее вероятный возбудитель воспалительных синдромов респираторного тракта индеек.

3. Микоплазмы типов I, J, K, N, Q и R ассоциируются с аэросаккулитами эмбрионов индеек и индюшат.

II. Микоплазмы, ассоциирующиеся с заболеваниями мочеполового тракта

Микоплазмы человека.

1. *M. hominis* 1 и реже *M. hominis* 2, ассоциирующиеся с небактериальными уретритами. Этиология этих уретритов полностью не выяснена, однако есть основания считать, что в этой полиэтиологической группе заболеваний могут встречаться уретриты, обусловленные микоплазма-инфекцией. *M. hominis* 1 нередко выделяется при разнообразных гинекологических заболеваниях воспалительного характера.

2. Микоплазмы Т-группы, связанные с негонорейными уретритами и другими заболеваниями мочеполовой сферы.

Микоплазмы млекопитающих.

1. *M. bovis genitalium* — возбудитель воспалительных процессов мочеполовой сферы коров и маститов.

2. *M. agalactiae* var. *bovis* (штамм «Donatta») — возбудитель воспалительных процессов мочеполовой сферы коров и маститов.

3. *M. hyogenitalium*, вызывающая при экспериментальном заражении свиней метриты и маститы.

III. Микоплазмы, ассоциирующиеся со сложными воспалительными синдромами

Микоплазмы человека.

1. *M. hominis* 1 (упомянутая выше) и *M. hominis* 2 встречаются в отделяемом уретры при сложном воспалительном синдроме, известном под названием уретро-синовиально-конъюнктивальный синдром, или болезнь Рейтера.

Микоплазмы млекопитающих.

1. *M. agalactiae* — возбудитель агалактии коз, и некоторые близкие *M. agalactiae* штаммы, выделенные от коз, ассоциирующиеся со сложными воспалительными синдромами у этих животных.

2. *M. hyorhinis* — возбудитель полисерозитов у свиней (артриты, перикардиты, плевриты).

IV. Микоплазмы, связанные с заболеваниями суставов и сердца

Микоплазмы человека.

1. *M. hominis* 2 — *M. arthritidis* обнаружена в синовиальной жидкости пораженных суставов при ревматоидном артрите.

2. *M. hyorhinis* обнаружена в синовиальной жидкости пораженных суставов при ревматоидном артрите.

Микоплазмы млекопитающих.

1. *M. arthritidis* — возбудитель ревматического заболевания крыс.

2. *M. granularum*, часто присутствующая в носовой полости свиней, ассоциирующаяся с острым ревматоидным заболеванием, выделена из синовиальной жидкости пораженных суставов.

3. *M. hyoarthrinosa*, вызывающая воспалительный процесс в суставах свиней.

Микоплазмы птиц.

M. synoviae — возбудитель ревматоидного артрита, осложняющегося поражениями сердца.

V. Микоплазмы, связанные с поражениями нервной системы

К этой группе практически относится лишь один хорошо изученный вид *M. neurolyticum* — возбудитель хорейческого синдрома мышей (rolling disease).

VI. Микоплазмы, обнаруженные при лейкозе и других опухолях

Микоплазмы человека. Из костного мозга и крови больных острым лейкозом, а также у больных некоторыми опухолями выделены *M. pulmonis*, *M. hyorhinis*, *M. laidlawii*, *M. orale*, *M. fermentans* и серологически неидентифицированные штаммы.

Микоплазмы млекопитающих. *M. neurolyticum* и *M. pulmonis* выделены от больных лейкозом мышей.

VII. Микоплазмы — условные комменсалы

Микоплазмы человека.

1. *M. salivarium* выделены из ротовой полости.
2. *M. orale 1*
3. *M. orale 2*
4. *M. orale 3*
5. *M. fermentans* выделены из мочеполового тракта.

Микоплазмы млекопитающих. К этой группе можно отнести некоторые виды микоплазм крупного и мелкого рогатого скота, кошек, собак, обезьян и др., патогенность которых пока не изучена.

Микоплазмы птиц.

1. *M. gallinarum*.
2. *M. iners*, проявляющая в определенных условиях эксперимента патогенность.

Общезвестный вид микоплазмы *M. laidlawii*, первоначально выделенный из сточных вод, включает разные штаммы, например *M. laidlawii* var. *inosium*, выделенный от больных птиц, *M. laidlawii*, выделенный от людей и т. д. Патогенность разных штаммов стериннезависимой группы *M. laidlawii* также изучается.

Классификация микоплазм по этиологическому принципу далеко не завершена, хотя она весьма удобна для систематизации данных, характеризующих роль микоплазм в патологии. Однако ее принцип не всегда выдержан, так как иногда один и тот же вид микоплазм у одного и того же хозяина проявляет тропизм к разным органам и тканям (например, *M. hominis 1* у человека или *M. gallisepticum* у птиц). Кроме того, один и тот же вид микоплазм у разных хозяев может вызывать совершенно разные по локализации и патологическим проявлениям процессы.

В настоящей главе мы, исходя из этиологического принципа классификации микоплазм, подвергнем анализу клинко-микробиологические, клинко-иммунологические, эпидемиологические, эпизоотологические и экспериментальные данные, характеризующие микоплазма-инфекции человека, животных и птиц. Экспериментальные исследования патогенности микоплазм включают анализ отдельных признаков патогенности и реакции разных видов животных на инфицирование, в том числе воспроизведение экспериментальных моделей соответствующих патологических процессов.

Материалы излагаются не в хронологической последовательности, а в соответствии с предложенной классификацией.

ГРУППА РЕСПИРАТОРНЫХ МИКОПЛАЗМА-ИНФЕКЦИЙ

НЕБАКТЕРИАЛЬНЫЕ ПНЕВМОНИИ И ДРУГИЕ РЕСПИРАТОРНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ ЧЕЛОВЕКА, ЭТИОЛОГИЧЕСКИ ОБУСЛОВЛЕННЫЕ *M. PNEUMONIAE* И *M. HOMINIS 1*

Респираторные заболевания являются одной из наиболее актуальных и сложных проблем инфекционной патологии человека. Сложность этой проблемы обусловлена значительным распространением в разных странах мира так называемых небактериальных пневмоний, известных уже около трех десятилетий под общим клиническим диагнозом «первичная атипичная пневмония» — ПАП.

История этого заболевания началась в 40-х годах, когда в США стало регистрироваться значительное количество подобного рода пневмоний.

Этиология их в то время не была выяснена, но были даны описания клинического синдрома, которые впоследствии дополнялись и уточнялись по мере расширения клинико-эпидемиологических исследований ПАП. Позже стало известно, что ПАП — полиэтиологический синдром, ассоциирующийся с тремя группами вирусов (миксовирусами, аденовирусами и пикорнавирусами, в том числе ЕСНО, Коксаки, рино- и полиовирусами) и представителем семейства *Mycoplasmataceae*—*M. pneumoniae*, ранее описанным под названием фильтрующийся агент Итона (Eaton et al., 1944, 1945).

Биологическая характеристика M. pneumoniae.
Методы лабораторной диагностики

В настоящее время имеется значительное число работ, позволивших определить основные таксономические признаки *M. pneumoniae* (Chanock, Hayflick, Barile, 1962; Chanock, James, Fox, Turner, Mufson, Hayflick, 1962; Chanock, Mufson, James, Fox, Bloom, Forsyth, 1962; Somerson et al., 1962; Vaernstein, Quilligen, 1963; Hayflick, Chanock, 1965).

Согласно существующим таксономическим критериям *M. pneumoniae* растет в виде равномерно зернистых выпуклых, частично вырастающих в агар колоний, отличающихся от других микоплазм. Колонии, вырастающие впервые, обнаруживаются на 6—12-й день инкубации при температуре 35—37°. После 5—10 пассажей на искусственной среде они вырастают быстрее — через 3—6 дней. Основная пропись питательной среды: 7 частей агара PPLO фирмы «Дифко», 2 части нагретой нормальной лошадиной сыворотки и 1 часть 25% свежего дрожжевого экстракта, 1000 ЕД/мл пенициллина и ацетат таллия в конечном разведении 1 : 2000. Мы используем вместо агара PPLO фирмы «Дифко» 1,3% агар, приготовленный на триптическом переваре сердечной мышцы быка. Пересев осуществляют переносом агарового блока, содержащего колонии, и втиранием их в агар; рост колоний учитывают под микроскопом при увеличении в 100—150 раз. Большое значение для культивирования *M. pneumoniae* имеет качество дрожжевого экстракта и нормальной лошадиной сыворотки; на сыворотках других видов животных роста нет. Штаммы, адаптированные к искусственным питательным средам, могут расти в присутствии кроличьей сыворотки с добавлением 0,03% холестерина или 0,002% твина-80. Морфология колоний *M. pneumoniae* характерна для данного вида. Тем не менее появляются сообщения о возможных штаммовых различиях. Так, Vaernstein и Quilligen (1963) выделили от детей с респираторными заболеваниями 11 штаммов *M. pneumoniae*, в том числе штамм, отличающийся формой колоний (имеет вид «глазуньи») и биохимическими признаками. *M. pneumoniae* при культивировании на бульоне отличается от других видов микоплазм более медленным ростом, максимальное количество микоплазм вырастает на 9—16-й день. Морфологически *M. pneumoniae* сходна с другими видами данного семейства, она полиморфна, состоит из мелких гранул, в том числе фильтрующихся, размером 180—250 мкм, кокковидных телец, мелких вакуолей и тоненьких нитей.

Оптимальный рост *M. pneumoniae* наблюдается в присутствии дрожжевого экстракта, но отдельные штаммы могут вырастать на среде без него (Hayflick, Chanock, 1965).

Аэробные условия культивирования ускоряют рост *M. pneumoniae*, непрерывное встряхивание посева в бульоне сопровождается максимальным выходом биомассы уже на 2—4-е сутки; без аэрации приблизительно те же титры можно получить лишь через 2—3 недели. Добавление 1% декстрозы и поддержание pH 8,0 способствуют более интенсивному росту.

M. pneumoniae хорошо растет на поверхности стекла или пластика под тонким слоем бульона (Somerson et al., 1967; Taylor-Robinson, Manchee, 1967a; Bredt, 1968).

Для культивирования этого вида используются также заражение куриных эмбрионов в амнион и культуры клеток.

M. pneumoniae в отличие от других видов микоплазм, выделенных от человека (*M. hominis* 1 и 2, *M. salivarium*, *M. orale*), за исключением *M. fermentans*, ферментативно активна. Она ферментирует глюкозу, ксилозу, маннозу, мальтозу, декстрин и крахмал, а также вызывает редукцию солей тетразолия (Chanock et al., 1963; Somerson et al., 1963; Jensen, 1963, и др.). Характерной особенностью *M. pneumoniae* является способность вызывать β -гемолиз эритроцитов человека, лошади и морской свинки в течение 24—48 часов (Somerson, Taylor-Robinson, Chanock, 1963). Остальные виды микоплазм человека дают более медленный α -гемолиз тех же видов эритроцитов. Эту особенность *M. pneumoniae* используют для дифференциальной диагностики данного вида. Подсчет бляшек β -гемолиза на чашках применяют также для учета интенсивности роста.

Гемолизин *M. pneumoniae* — экзотоксин, так же как и гемолизин *M. laidlawii*, отличается от бактериальных гемолизинов. Его активность ингибируется каталазой и пероксидазой. Он является одним из факторов патогенности *M. pneumoniae* и вероятной причиной образования холодных агглютининов у лиц, переболевших ПАП (Somerson et al., 1963, 1965; Clyde, 1963a, b; Low, Eaton, Proctor, 1968; Sobeslavsky, Chanock, 1968; Cohen, Somerson, 1967, 1969).

Отличительными признаками *M. pneumoniae* (Chanock et al., 1963; Nayflick, Chanock, 1965, и др.) являются следующие:

1. Рост на бесклеточной среде в виде характерных колоний.
2. Размеры фильтрующихся элементов 180—250 мкм.
3. Потребность в свежем дрожжевом экстракте.
4. Ферментация глюкозы, мальтозы, ксилозы, маннозы, декстрина и крахмала; редукция солей тетразолия.
5. Образование растворимого гемолизина для эритроцитов человека, морской свинки и лошади.
6. Рост в бронхиальном эпителии куриного эмбриона, в тканевых культурах куриного эмбриона, морской свинки, обезьяны и человека.
7. Воспроизведение экспериментальных пневмоний у хомячков и хлопковых крыс.
8. Чувствительность к стрептомицину, аууреомичину, декломицину, так же как к другим тетрациклинам.
9. Чувствительность к действию препаратов солей золота *in vivo* и *in vitro*.
10. Серологическая идентификация специфическими гипериммунными сыворотками.

Для серологической идентификации колоний *M. pneumoniae* наиболее часто используются: 1) разные модификации реакций ингибирования роста или метаболизма (Jensen, 1963; Kraybill, Crawford, 1965; Taylor-Robinson, Purcell, Wong, Chanock, 1966; Seuterfit, Jensen, 1966, 1967); 2) реакция иммунофлуоресценции, чаще всего в модификациях Clark, Baily с соавторами (1963) и Del Guidice, Nobillard, Carski (1967), позволяющих идентифицировать колонии *M. pneumoniae* непосредственно на поверхности питательного агара.

Выделение *M. pneumoniae* является одним из наиболее точных и ранних методов диагностики микоплазма-пневмоний и других респираторных заболеваний, этиологически связанных с этим возбудителем. Максималь-

ное выделение *M. pneumoniae* отмечено на 4—7-й день после начала заболевания (Parcell, Chanock, 1967; Parcell, Chanock, Taylor-Robinson, 1969).

Серологические показатели, характерные для микоплазма-пневмоний, позволяющие отличить их от других небактериальных пневмоний и вирусных респираторных заболеваний, можно подразделить на неспецифические и специфические. К первым следует отнести наличие холодových агглютининов к эритроцитам 0-группы и агглютининов к стрептококку Mg, ко вторым — наличие специфических антител, выявляемых в реакциях непрямой иммунофлуоресценции, связывания комплемента и нейтрализации или ингибирования роста.

В 1943 г. две группы исследователей Turner (1943), Turner с сотрудниками (1943) и Peterson, Ham, Finland (1943) независимо друг от друга сообщили о том, что сыворотки больных ПАП агглютинируют на холоду человеческие эритроциты 0-группы. По данным этих авторов, процент положительных реакций колебался от 20 до 90 и находился в прямой зависимости от тяжести заболевания. Максимальные титры (1 : 160—1 : 320 и больше) обычно обнаруживались в фазе реконвалесценции. Холодовые агглютинины рассматриваются как аутоантитела. Обычно они обнаруживаются при таких заболеваниях, как лив, гипертрофический цирроз печени, пернициозная анемия, лейкемия. При пароксизмальной гемоглобинурии и трипаносомиазе аутоагглютинацию гемологичных эритроцитов используют как диагностический тест. Развитие аутоагглютининов в течение инфекции *M. pneumoniae* может явиться результатом аутоиммунного ответа на изменения антигенов собственных эритроцитов под влиянием гемолитина (Somerson, Taylor-Robinson, Chanock, 1963).

Изучению динамики нарастания холодových агглютининов при ПАП, обусловленных *M. pneumoniae*, посвящено значительное число работ (Peterson, Ham, Finland, 1943; Turner, 1944; Jordan, 1949; Liu et al., 1959; Cook et al., 1960; Chanock et al., 1961; Mufson et al., 1962, 1963), выявили динамику иммунологических показателей (4-кратное увеличение титров в периоде реконвалесценции по сравнению с острой фазой), зависимость величины титров от тяжести заболевания, длительности его течения и степени рентгенологически выявляемых поражений. Титры холодových агглютининов колеблются, по данным разных авторов, в пределах от 45 до 90% у больных *M. pneumoniae*-пневмониями. Высокие показатели холодových агглютининов коррелируют в известной мере с показателями агглютининов к стрептококку Mg и специфических антител.

При обследовании мокроты 108 больных ПАП у 42% был выделен α -гемолитический стрептококк — Mg 344 и впервые были обнаружены агглютинины к этому микробу (Turner et al., 1945). Далее было установлено, что агглютинины к стрептококку Mg обнаруживаются у больных ПАП, этиологически связанной с агентом Итона в 20—75% случаев. Выявлена зависимость реакции агглютинации от тяжести заболевания, но определенной корреляции с носительством стрептококка Mg отмечено не было. Последующее изучение эффективности использования реакции холодовой агглютинации и агглютинации стрептококка Mg позволило прийти к заключению, что первая из них в лучшем случае выявляется у 50% больных *M. pneumoniae*-пневмониями и у 15% при небактериальных пневмониях, вызванных другими агентами (Chanock, 1965; Couch, 1969). Агглютинация стрептококка Mg наблюдается лишь у 30% больных и, как правило, сопровождает реакцию холодовой агглютинации; оба теста диагностируются в поздние сроки — обычно на 3-й неделе заболевания (Clyde, Denny, Dingle, 1961; Couch, 1969).

Специфическая серологическая диагностика *M. pneumoniae*-инфекции первоначально была в основном построена на показателях реакции иммунофлуоресценции (Liu, 1957; Chanock et al., 1961; Kingston et al., 1961; Mufson et al., 1961; Hers, 1963, и др.). Затем по мере совершенствования методов накопления биомассы *M. pneumoniae*, используемой в качестве антигена, весьма распространенной стала реакция связывания компонента.

Впервые Chanock с соавторами (1962b) получили обработанный фенолом антиген *M. pneumoniae*, обладавший высокой специфичностью и низкой антикомплемментарностью. Разные модификации этого антигена используются для серодиагностики *M. pneumoniae*-инфекции в РСК (Janson et al., 1964; Kenny, 1967; Kenny, Grayston, 1965; Low, Eaton, 1965; М. С. Захарова, Н. М. Порубиновская, 1966; Н. М. Порубиновская, 1966, 1969; В. И. Васильева и др., 1969). Представляют определенный интерес попытки модифицировать РСК для конструирования чувствительного и специфического метода ранней серодиагностики *M. pneumoniae*-инфекции (Eng, 1967, 1969).

Несколько более ограниченное применение имеют реакции прямой и непрямой гемагглютинации (Dowdle, Robinson, 1964; John et al., 1966, 1969; Neimark, 1968; Lind, 1968), модифицированная реакция агглютинации (Kerr et al., 1964; Morton, 1966; Feldman, Suhs, 1966; Kendl, 1969) и гель-диффузии (Taylor-Robinson et al., 1963, 1965; Conant et al., 1968).

Реакция ингибирования роста, разные модификации реакции ингибирования метаболизма также используются для серодиагностики *M. pneumoniae*-инфекции. Реакция ингибирования метаболизма наряду с РСК является в настоящее время наиболее распространенным методом серодиагностики (Purcell et al., 1969).

Клиника и терапия

M. pneumoniae является возбудителем различных заболеваний респираторного тракта, которые можно подразделить на 2 группы: 1) афебрильные и фебрильные заболевания верхних дыхательных путей и 2) первичные атипичные пневмонии ПАП, которые названы *M. pneumoniae*-пневмониями.

Клиническая дифференциация заболеваний верхних дыхательных путей, а также *M. pneumoniae*-пневмоний от соответствующих заболеваний другой этиологии представляет определенные трудности из-за общности симптоматики.

Заболевания верхних дыхательных путей, вызванные *M. pneumoniae*, протекают по типу острых респираторных заболеваний (ринит, фарингит, бронхит, реже бронхолит и круп), с головной болью, общим недомоганием. Фебрильные формы сопровождаются подъемом температуры до 38—39° в течение нескольких дней. Инкубационный период 4—10 дней.

Длительные эпидемиологические наблюдения армейских контингентов (Grayston et al., 1967, 1969) и изучение семейных вспышек (Johnson et al., 1960; Grayston et al., 1967, 1969) позволили определить продолжительность инкубационного периода *M. pneumoniae*-пневмоний от 7 до 21 дня с момента начала контакта до момента появления первых симптомов. У взрослых пневмонии нередко характеризуются постепенным развитием симптомов, когда их возникновение маскируется общими симптомами острого респираторного заболевания (В. И. Покровский, Н. В. Хрустлова, 1969; Grayston et al., 1969; Couch, 1969), вместе с тем имеются данные (Mufson et al., 1964), свидетельствующие о внезапном остром начале болез-

ни, относительно коротком периоде лихорадки (около 7, а иногда 14 дней) и затяжном течении.

На 2—3-й день появляется кашель, преимущественно сухой, несколько позже и реже со скудной слизисто-гнойной мокротой. Нередко развиваются ночные приступы кашля, который может продолжаться до 1—2 месяцев. По Mufson с соавторами (1969), в первые 5 дней отмечаются общие симптомы. К концу этого периода кашель и хрипы появляются у 54% больных; рентгенологически определяются односторонние очаговые поражения нижних долей легких; у 19% больных отмечены двусторонние поражения. Они исчезали между 7-м и 12-м днем, а у 22% больных сохранялись в более поздние сроки, даже через 4 недели после начала заболевания, и медленно исчезали лишь через 6 недель. Повторяемость пневмоний отмечается приблизительно у 25% больных.

M. pneumoniae-пневмонии у взрослых протекают в виде очаговых пневмоний. Перкуссия редко обнаруживает притупление, что, вероятно, связано с центральным расположением очагов. Аускультация также нередко дает отрицательные результаты, и лишь в последней фазе заболевания прослушиваются крепитирующие хрипы.

Рентгенологические находки описаны немногими исследователями (Grayston et al., 1969) в виде очаговых сегментарных и субдолевых пневмоний с отчетливой прикорневой реакцией. Очаги рассасываются к 4-й неделе и позднее. Локализация их в верхних долях крайне редка.

РОЭ и лейкоцитоз обычно ниже, чем при бактериальных пневмониях; изменений со стороны эритроцитов, как правило, не наблюдается, тем не менее встречаются гемолитические анемии с положительной реакцией Кумбса.

Интересный случай ПАП особой тяжести был описан Mufson, Sanders, Wood и Chanock (1963). Этот случай характеризовался длительными изменениями в легких и плевре, обнаруживаемыми в течение года. Диагноз был установлен микробиологически (выделение культуры *M. pneumoniae*) и серологически (титры специфических антител повысились в 16 раз). Авторы подчеркивают возможную этиологическую роль *M. pneumoniae* при хронических респираторных заболеваниях человека.

Значительный интерес представляет вопрос о возможности существования хронических форм *M. pneumoniae*-инфекций. В литературе встречаются лишь единичные описания. Так, Mufson с соавторами (1963) наблюдали случай *M. pneumoniae*-пневмонии, длившийся целый год, сопровождавшийся выделением возбудителя и 16-кратным нарастанием специфических антител. В течение всего этого времени сохранялись изменения в легких. Coriell с соавторами (1964) указывают, что *M. pneumoniae*-инфекция встречается у 9% больных с обострением хронического бронхита. Sobeslavsky с соавторами (1965) отметили, что в 63% случаев *M. pneumoniae*-инфекций в анамнезе имеются повторные случаи респираторных заболеваний.

Интересные наблюдения были также сделаны Berkowich с соавторами (1970), установившими существование определенной связи *M. pneumoniae*-инфекции с рецидивами астмы. Почти у $\frac{1}{3}$ из 84 больных детей определялось 4-кратное нарастание титров антител к *M. pneumoniae* в период астматических приступов. В указанных работах подчеркивается возможная этиологическая роль *M. pneumoniae* при хронических респираторных инфекциях.

Смерть от *M. pneumoniae*-пневмоний — крайне редкое явление. Eaton с соавторами (1944) выделили свой агент от 2 больных, погибших от пневмонии. Единичные случаи смерти были описаны Grayston с соавторами

(1969). Это были 78-летняя женщина, погибшая от *M. pneumoniae*-пневмонии, осложнившейся гемолизом и тромбозом сосудов, и 17-летний юноша, у которого *M. pneumoniae* выделена непосредственно из легкого; 2 летальных случая, серологически подтвержденных, *M. pneumoniae* респираторного заболевания описаны в ГДР В. Витцлеб и Г. Витцлеб (1969). Единичные случаи смерти свидетельствуют о низкой летальности при заболеваниях, вызванных *M. pneumoniae*.

Наиболее часто встречающиеся осложнения — это воспаления наружного и среднего уха и тимпанит. По данным Mufson с соавторами (1962), осложнения в виде тимпанита наблюдались у 4 человек из 50. У одного больного развился тяжелый энцефалит, сопровождавшийся нарушением психики, плеоцитозом ликвора; нормализация наступила лишь к концу 5-й недели. Нередки осложнения в виде воспалений среднего уха, которые, однако, могут встречаться и в виде первичного поражения (Chanock et al., 1963; Sobeslavsky et al., 1965). Воспаления среднего уха, связанные с *M. pneumoniae*, в острой и хронической форме чаще встречаются у детей (Purcell, Chanock, 1967; Jensen et al., 1967).

В обзоре Grayston с соавторами (1969) и Couch (1969) обобщены данные об осложнениях, вызванных инфекцией *M. pneumoniae*, в виде интерстициальных эмфизем, серозных менингитов, менингоэнцефалитов, перикардитов, кожных поражений (уртикария, макулезно-папулезные высыпания, множественная эритема), синдрома Стивенсона — Джонсона и др.

Обращает на себя внимание то, что некоторые из этих патологических процессов не связаны с патологией респираторного тракта и могут появляться не в виде осложнений. Их связь с *M. pneumoniae* устанавливалась микробиологически (реже) и серологически (чаще). Так, известны миокардиты, обусловленные инфекцией *M. pneumoniae*. Ludlaw с соавторами (1964) отметили статистически достоверное нарастание титров антител к *M. pneumoniae* у 5 больных с синдромом Стивенсона — Джонсона. Серологическое подтверждение *M. pneumoniae*-инфекций у больных инфекционным мононуклеозом, энцефалитом, экссудативной множественной эритемой, тромбоцитопенической пурпурой, кератитом и др. отмечено В. Витцлеб и Г. Витцлеб (1969). Следует обратить внимание на данные Н. А. Пискаревой с соавторами (1969), отметивших при серологическом обследовании 58 детей с различными формами поражения центральной нервной системы статистически достоверное нарастание титров антител к *M. pneumoniae* у 25%. Интерпретация этих данных затруднительна, однако установление роли *M. pneumoniae* при нереспираторных заболеваниях безусловно необходимо.

Клинические особенности *M. pneumoniae*-инфекции и биологическая характеристика возбудителя позволили наиболее рационально разработать методы специфической терапии. Еще в 1950 г. Eaton показал высокую эффективность ауреомидина и незначительный эффект применения хлоромидетина при лечении экспериментальной инфекции хлопковых крыс и куриных эмбрионов. Последующие работы (Marmion, Goodburn, 1961; Kingston, Chanock, Mufson, 1961, и др.) доказали высокую терапевтическую эффективность органических солей золота и диметилхлортетрациклина, которые действуют так же, как другие производные тетрациклина, на *M. pneumoniae*. В настоящее время разработаны схемы лечения (Kingston et al., 1961; Chanock et al., 1963), которые купируют процесс, ускоряют рассасывание легочных инфильтратов, предупреждают осложнения.

Наиболее благоприятные результаты получены при использовании двух антибиотиков — тетрациклина и эритромицина, способных элиминировать *M. pneumoniae* из респираторного тракта. Препараты исполь-

зуют в дозе 1 г в течение 7 дней. В некоторых случаях в зависимости от тяжести и длительности заболевания рекомендуется усиленный и пролонгированный курс (по 2 г в течение 2—3 недель). Лечение в принципе одинаковое у взрослых и детей.

Клинико-микробиологические, клинико-серологические и экспериментальные доказательства этиологической роли M. pneumoniae при заболеваниях респираторного тракта

Этиологическая роль *M. pneumoniae* при пневмониях была доказана разносторонними клинико-лабораторными, экспериментальными и серологическими исследованиями.

В 1944 г. Eaton с соавторами, заразив куриные эмбрионы фильтратом мокроты больных ПАП с высокими титрами «холодовых гемагглютининов к эритроцитам 0-группы», наблюдали размножение в амнионе фильтрующегося агента без ЦПЭ. Выявить этот агент удалось лишь при интраназальном заражении хлопковых крыс и сирийских хомяков материалом от куриного эмбриона. Суспензии легких, трахеи и амниона III и XV пассажа вызывали легочные повреждения преимущественно в виде локализованных и диффузных очагов уплотнения с перибронхиальной и периваскулярной инфильтрацией с преобладанием лимфоцитов, тромбозом мелких артериол и венул при отсутствии или незначительной альвеолярной реакции. Морфологические изменения мало отличались от изменений при вирусных и риккетсиозных пневмониях. Пневмонийные очаги возникали у 30% зараженных животных. По мере пассирования в куриных эмбрионах вирулентность фильтрующегося агента для хомяков и хлопковых крыс усиливалась. О специфическом действии фильтрующегося агента и его этиологической роли свидетельствовали данные о нейтрализующем действии сывороток больных ПАП, вызванных данным агентом. Введение эмбрионального материала высокой вирулентности вместе с сывороткой подобных больных исключало развитие соответствующих легочных повреждений. При обследовании 69 больных ПАП нейтрализующие агент антитела выявлены у 42; титры нейтрализующих антител в период реконвалесценции возрастали в 4—64 раза (Eaton, van Herick, Meiklejohn, 1945). У 50% больных с высокими титрами нейтрализующих агент антител выявлены холодовые агглютинины к эритроцитам 0-группы и агглютинины к стрептококку Mg. Этот фильтрующийся агент предполагаемой вирусной природы получил в то время название агента Итона (Eaton).

Важнейшие серологические доказательства присутствия этого агента в зараженных тканях были получены Liu с соавторами (1956, 1957), успешно использовавшими для этой цели метод непрямой иммунофлуоресценции. Donald и Liu (1959) при электронномикроскопическом исследовании бронхов куриных эмбрионов на 5—6-й день после их инфицирования агентом Итона обнаружили в цитоплазме клеток, нереснитчатых клетках тельца-включения, которые давали положительную реакцию иммунофлуоресценции. Размеры телец-включений варьировали от 150 до 250 мкм. Примерно половина телец была окружена тонкой мембраной, увеличивающей их диаметр до 350—500 мкм. Тельца-включения обнаруживались только у зараженных эмбрионов; у контрольных — неинфицированных — эмбрионов их не было. Впоследствии была доказана возможность культивирования агента Итона в эндодермальных клетках 4-дневных куриных эмбрионов. Штамм FH, выделенный Liu с соавторами в 1956 г. из инфицированных легких и трахеи куриных эмбрионов, успешно размножался в этих культурах, достигая на VI—X пассаже титра 10^{11} (Gordon, Quan, Cook, Chanock, 1960). Chanock, Fox, James, Bloom и Mufson (1960) выяви-

ли размножение агента Итона в культурах ткани из желточного мешка эмбриона, в почках куриных эмбрионов и обезьяны и линии НЕР-2. Используя ткань почек обезьяны, удалось выделить 14 штаммов агента Итона от 17 больных. В этой ткани обнаружены развитие интрацеллюлярных включений и специфический нейтрализующий эффект антисывороток больных в период реконвалесценции. В серии последующих работ (Marrion, Goodburn, 1961; Clyde, 1961) агент Итона неоднократно находили в цитоплазме бронхиального эпителия куриных эмбрионов при их заражении материалом, содержащим этот агент, в виде коккобациллярных телец, располагающихся чаще экстрацеллюлярно. Эти тельца не обнаруживались у контрольных эмбрионов, их локализация соответствовала локализации антигена, выявляемого с помощью флуоресцирующих антител.

Наблюдениями Eaton, Farham, Levinthal и Scala (1962) установлено развитие агента в амниотических клетках эмбриона человека в виде внутриклеточно расположенных включений. Аналогичные конгломераты были хорошо видны в цитоплазме, что позволило предположить наличие внутриклеточного цикла развития у возбудителя. Этими же исследователями было также показано, что в отличие от вируса в реакции нейтрализации агента Итона, помимо специфического действия иммунной сыворотки, большое значение имеет лабильный к нагреванию фактор нормальной сыворотки. Для получения полного нейтрализующего эффекта иммунной сыворотки присутствие нормальной сыворотки совершенно обязательно. Именно эти наблюдения поколебали ранее общепринятую точку зрения, согласно которой агент Итона был отнесен к фильтрующимся вирусам. Размеры этого агента (180—250 мкм), его высокая устойчивость к антибиотикам и сульфаниламидам, чувствительность к хлортетрациклину, стрептомицину и органическим гелям золота, стабильность, способность локализоваться в культурах ткани в виде коккобациллярных телец позволили Marrion и Goodborn (1961) высказать предположение, что агент Итона принадлежит к семейству Mycoplasmataceae. Вид включений агента Итона и характер их локализации в тканях также оказались сходными с другими микоплазмами (Edwards, Fogh, 1960; Hayflick, Stinebring, 1960; Carski, Shepard, 1961, и др.).

Идентификация агента Итона как представителя семейства Mycoplasmataceae является заслугой Chanock, Hayflick и Barile (1962), которым впервые удалось получить рост этого возбудителя на искусственной питательной среде и тем самым определить его принадлежность к данному семейству. В 1963 г. вместо прежнего названия — агент Итона — возбудитель первичных атипичных пневмоний был назван *M. pneumoniae*.

Выделение *M. pneumoniae* от больных первичными атипичными пневмониями и заболеваниями верхних дыхательных путей, а также высокая степень корреляции между выделением культур от больных и нарастанием титра специфических антител, определяемых в РСК или реакции ингибирования метаболизма, установлена значительным числом работ (Chanock, Mufson, Bloom, 1962; Baernstein, Quilligan, 1963; Grayston et al., 1965; Griffin, Crawford, 1965; Lind, 1966; Н. М. Порубиновская, Г. А. Цибина, 1966; Г. А. Цибина, 1966; Г. А. Цибина и др., 1967; С. В. Прозоровский и др., 1967; Hayflick, Stanbridge, 1967; Stewart, Chowdray, 1967; Haas et al., 1968, и др.). Вместе с тем следует отметить, что выделение возбудителя наблюдается значительно реже, чем положительный серологический ответ на инфекцию, и диагноз *M. pneumoniae*-инфекции нередко ставится на основании положительных результатов серологического исследования.

По данным Cook, Chanock, Fox, Huebner, Buescher и Johnson (1960), при изучении парных сывороток от 26 больных ПАП было обнаружено

повышение специфических флуоресцирующих антител у 22 больных, у 18 из них отмечен рост холодовых агглютининов, у 13 — подъем антител к стрептококку Mg. Увеличение титра антител к стрептококку Mg наблюдалось у 4 больных с высоким уровнем специфических антител, но не содержащих холодовых агглютининов. У 5 больных с высокими титрами специфических антител и холодовых агглютининов не было агглютининов к стрептококку Mg. Авторы в течение 1947—1959 гг. провели серологическое изучение парных сывороток взрослого населения в возрасте от 17 лет до 31 года с диагнозом ПАП в разных географических зонах США (Нью-Йорк, Вашингтон, Кливленд, области Колумбии, Оклахома, Кентукки, Нью-Джерси, Виргиния, Южная Каролина и др.) и выявили около 85% больных ПАП с высокими показателями холодовых агглютининов и агглютининов к стрептококку Mg, дающих положительную реакцию иммунофлуоресценции с агентом Итона. Корреляция этих антител отмечена в течение всех 12 лет и во всех обследуемых географических зонах. Chanock, Hayflick и Barile (1962) отмечают, что специфический серологический ответ к агенту Итона встречался в 90% случаев ПАП, при которых в периоде реконвалесценции обнаруживались холодовые агглютинины.

Значительному прогрессу в изучении ПАП способствовал метод непрямой иммунофлуоресценции, разработанный в 1957 г. Liu. Этот метод позволил идентифицировать культуры, выделяемые от больных, установить их антигенную общность и расширить специфическую серологическую диагностику этого заболевания. В последующих работах (Liu, Eaton, Heil, 1959; Liu, 1961; Clyde, Denny, Dingle, 1961; Chanock et al., 1961, и др.) было показано, что специфические антитела, определяемые методом иммунофлуоресценции, появляются на 2—3-й неделе заболевания, нарастают в периоде реконвалесценции и могут сохраняться в течение года и дольше. Эти специфические антитела не связаны в антигенном отношении с холодовыми агглютинидами и агглютинидами к стрептококку Mg. Они сохраняются значительно дольше, чем последние. Их различия также выявляются в опытах адсорбции. Они обнаруживаются приблизительно в 2 раза чаще, чем холодовые агглютинины и агглютинины к стрептококку Mg. Рост флуоресцирующих антител идет параллельно нарастанию нейтрализующего действия антисывороток. В нормальной сыворотке человека и морских свинок содержится фактор, повышающий эффект специфической иммунофлуоресценции и нейтрализации. Этот фактор сходен с комплементом. Он лабилен по отношению к нагреву, удаляется с помощью специфической иммунной преципитации, его активность зависит от присутствия ионов Ca^{++} и Mg^{++} ; он не связан с пропердином, так как сыворотка, лишенная пропердина, сохраняет способность усиления иммунофлуоресценции. Тест иммунофлуоресценции и нейтрализующий эффект сыворотки колеблются в пределах 67—90% у больных ПАП (Cook et al., 1960). По Chanock с соавторами (1961), при обследовании 238 больных ПАП увеличение титров в периоде реконвалесценции регистрировалось у 168 человек. Последующие иммунологические исследования выявили нарастание специфических к *M. pneumoniae* комплемент-связывающих и нейтрализующих антител в течение заболевания и явились еще одним звеном в цепи доказательств этиологического значения этого возбудителя при ПАП.

Возможность экспериментального воспроизведения соответствующего заболевания при искусственном заражении *M. pneumoniae* или материалом, содержащим данный агент, была продемонстрирована в опытах на животных (сирийские хомяки и хлопковые крысы) и на добровольцах. В ряде работ (Eaton et al., 1944; Goodburn, Marmion, 1962; Dajani,

Clyde, Denny, 1965; Organick, Lutsky, 1968; Clyde, 1969, и др.) показано, что интраназальное введение культур *M. pneumoniae* с искусственных сред, куриных эмбрионов, культур клеток, смывов носоглотки и мокроты больных 6—10-недельным сирийским хомякам или 6—8-недельным хлопковым крысам ведет к появлению пневмоний.

Первые клинические симптомы у хлопковых крыс появляются на 4—8-й день после инфицирования. У животных начинается одышка, взъерошивается шерсть. Эти явления нарастают к 7—14-му дню; гибели обычно не отмечается. Макроскопические изменения регистрируются нечасто в виде сероватых или серовато-красных очаговых изменений легочной ткани вблизи корней легких размером от 1 до 10 мм. Гистологически, как правило, обнаруживаются очаги перибронхиальной и периваскулярной инфильтрации с преобладанием лимфоцитов по Eaton с соавторами (1944) и мононуклеаров по Dajani, Clyde и Denny (1965). Антиген *M. pneumoniae* (опыты иммунофлуоресценции) локализуется преимущественно на поверхности бронхиального эпителия и не обнаруживается ни в мышечном слое бронхов, ни в легочной ткани. Количество гранул антигена на поверхности эпителиальных клеток по мере развития инфекции увеличивается, в связи с этим было высказано предположение о том, что *M. pneumoniae*, локализуясь на внутренней стенке трахеи и бронхов, размножается, продуцирует экзотоксин-гемолизин, вызывающий соответствующие изменения в легочной ткани.

Экспериментальное воспроизведение микопlasма-инфекции достигается лишь у части инфицированных животных; пассирование инфекции от животного к животному не удается, естественного заражения при непосредственном контакте больных и здоровых животных также не отмечено.

Непосредственные положительные результаты воспроизведения *M. pneumoniae*-инфекции обусловлены, вероятно, резистентностью большинства видов животных к этому возбудителю, естественным хозяином которого является человек.

Первые опыты заражения добровольцев смывами из носоглотки и мокротой больных ПАП проведены в 1944 г. Комиссией по респираторным заболеваниям (1945). В результате отмечено развитие малых респираторных заболеваний и ПАП, сопровождавшихся в большинстве случаев повышением титров холодовых агглютининов и реже — агглютининов к стрептококку Mg.

При ретроспективном изучении сывороток переболевших добровольцев через 6 лет (Clyde, Denny, Dingle, 1961) выявлен 4-кратный и более подъем антител у 65% обследованных. Результаты последующего заражения добровольцев приводятся в ряде работ (Chanock, Rifkind, Kravetz, Knight, Johnson, 1961; Rifkind, Chanock, Kravetz, Johnson, Knight, 1962; Chanock, Mufson, Somerson, Couch, 1963; Chanock, 1963; Материалы WHO, 1962).

Аэрозольное заражение 27 добровольцев с отрицательными серологическими показателями и 25 человек с титрами специфических антител (1 : 10—1 : 80) дало разные результаты. В последней группе лиц с положительными серологическими показателями пневмоний не было; у 1 развилось воспаление среднего уха, у 6 человек — воспалительные явления, диагностируемые как легкое респираторное заболевание без температуры. 4-кратное нарастание титров антител наблюдалось у 17 человек из данной группы, включая 7 переболевших.

В первой группе с отрицательными серологическими показателями, состоящей из 27 человек, у 3 развилась пневмония, осложнившаяся вос-

палением среднего уха у 1, у 6 — слабые респираторные заболевания, в том числе у 2 с повышением температуры. В этой группе установлен рост специфических антител у всех 27 человек, холодových агглютининов — у 12 и агглютининов к стрептококку Mg — у 3. Интересно, что рост титра холодových агглютининов отмечен у заболевших пневмонией и у 7 человек с воспалением среднего уха, а агглютининов к стрептококку Mg — у одного больного пневмонией и у 2 — воспалением среднего уха (табл. 20). У 21 человека из 27 зараженных этой группы выделен

ТАБЛИЦА 20. РЕЗУЛЬТАТЫ ЗАРАЖЕНИЯ ДОБРОВОЛЬЦЕВ АГЕНТОМ ИТОНА (ПО RIFKIND, CHANOCK, KRAWETZ ET AL., 1962)

| Первичные титры антител к агенту Итона | Характер заболевания | Число заболевших | Подъем титров антител (4-кратный) на 23—24-й день | | | Выделение <i>M. pneumoniae</i> | |
|--|---|------------------|---|-------------------------|--------------------------------|--------------------------------|---------------------------------------|
| | | | к агенту Итона | холодových агглютининов | агглютининов к стрептококку Mg | число обследованных | число лиц с положительным результатом |
| < 1 : 10 | Пневмония | 3 | 3 | 3 | 1 | 3 | 3 |
| | Воспаление среднего уха | 11 | 11 | 7 | 2 | 11 | 10 |
| | Воспаление верхних дыхательных путей с подъемом температуры | 2 | 2 | 1 | 0 | 2 | 2 |
| | Воспаление верхних дыхательных путей без температуры | 4 | 4 | 1 | 0 | 4 | 4 |
| | Не заболело | 7 | 7 | 0 | 0 | 4 | 2 |
| Общее число . . . | | 27 | 27 | 12 | 3 | 24 | 21 |
| > 1 : 10 | Воспаление среднего уха | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| | Воспаление верхних дыхательных путей без температуры | 6 | 4 | 0 | 0 | 3 | 2 |
| | Не заболело | 18 | 12 | 0 | 0 | 8 | 5 |
| Общее число . . . | | 25 | 17 | 0 | 0 | 12 | 8 |

возбудитель *M. pneumoniae*. Инкубационный период искусственно вызванной пневмонии длился 9—12 дней, продромальный период составлял 1—3 дня. Кашель вначале был сухим, затем стал влажным. Рентгенологические изменения в легких фиксировались в течение 4 дней, хрипы — на протяжении 10 дней, температура — 5 дней. Возбудитель выделен у всех 3 больных.

Воспаление среднего уха развилось у 13 добровольцев (12 человек с отрицательными серологическими показателями). Инкубационный период длился 6—9 дней, развитию заболевания предшествовало воспаление верхних дыхательных путей. Поражения были билатеральными, продолжались от 3 до 13 дней, у 4 человек они осложнялись лимфаденитом, у 5 больных процесс сопровождался тяжелым воспалением и геморрагическим отеком барабанных перепонок.

Слабые заболевания верхних дыхательных путей отмечены у 27 добровольцев. Инкубационный период составлял у них 3—11 дней, заболевание длилось 1—9 дней. Процесс характеризовался недомоганием, головной болью, слабым экссудативным фарингитом, насморком и сухим кашлем.

Этиологическое значение агента Итона — *M. pneumoniae* доказано постоянным выделением этой микоплазмы при небактериальных пневмониях и некоторых других респираторных заболеваниях, отсутствием данного возбудителя при респираторных заболеваниях вирусной природы, увеличением титров соответствующих неспецифических и специфических антител, результатами экспериментального заражения восприимчивых животных и добровольцев. Последующее изучение эпидемиологии микоплазма-пневмоний и других респираторных заболеваний, вызванных *M. pneumoniae*, также продемонстрировало этиологическую роль данного возбудителя при указанных заболеваниях.

Эпидемиология респираторных заболеваний, вызванных M. pneumoniae

Основными эпидемиологическими аспектами исследования респираторных заболеваний, вызванных *M. pneumoniae*, можно считать следующие: 1) распространение *M. pneumoniae*-инфекции в разных странах (роль в этиологической структуре небактериальных и невирусных респираторных инфекций); 2) характер инфекции (эндемический или эпидемический), который в свою очередь определяется: а) временем первичной инфекции (возраст), б) легкостью распространения возбудителя от человека к человеку, в) степенью рассеивания возбудителя среди данной группы населения и длительностью его циркуляции, г) степенью, частотой и продолжительностью контакта с инфицированными лицами; 3) форма инфекции (острая, хроническая, инapparantная и др.).

Большое значение придается также частоте заболеваний и возможности реинфекции. Распространение инфекта от человека к человеку в свою очередь зависит от количества вирулентного возбудителя, выделяемого инфицированными лицами, продолжительности его выделения, путей выделения, продолжительности сохранения во внешней среде и в организме микоплазманоносителя. О легкости передачи инфекта можно судить по анализу возрастных особенностей его носительства, движения инфекции среди изолированных или полуизолированных групп населения при длительном их наблюдении. Помимо инфекционности возбудителя, учету подлежат степень контакта и иммунологические особенности данной группы населения. К эпидемиологическим аспектам исследования следует также отнести проблему специфической вакцинопрофилактики *M. pneumoniae*-инфекций.

Успехи, достигнутые в области культивирования агента, изучения его биологии, а также разработка методов серологической диагностики данной микоплазма-инфекции послужили фундаментом для изучения роли *M. pneumoniae* в эпидемиологии различных респираторных заболеваний человека, вызываемых этим возбудителем в ряде стран (США, Англия, Швеция, Франция, Чехословакия, ГДР, СССР и др.).

Географическое распространение *M. pneumoniae*-инфекции изучалось преимущественно с помощью серологических методов, результаты которых позволили выявить ее широкое распространение. Инфекция *M. pneumoniae* описана в Англии (Goodburn et al., 1963; Feizi et al., 1967; Watson, 1967; Lambert, 1968), Голландии (Marmion, Hers, 1963; van der Veen, van Nunen, 1963), Швеции (Biberfeld et al., 1965, 1968), Дании (Hornsleth, 1967), ГДР (W. Witzleb, G. Witzleb, 1969), Франции (Thivolet et al., 1963).

Финляндии (Jansson et al., 1964), Швейцарии (Reinhart, 1966), Чехословакии (Sobeslavsky et al., 1963, 1965), США (Chanock, 1965; Hauflick, Chanock, 1965; Grayston et al., 1969), Австралии (Wannan, 1967), СССР (Н. М. Порубиновская и др., 1965; Э. М. Вихнович и др., 1966; Р. С. Дрейзин и др., 1967; С. В. Прозоровский и др., 1967; В. И. Васильева и др., 1969; О. В. Бароян и др., 1969; Г. Я. Каган и др., 1969; И. И. Рыбакова и др., 1969, и др.).

При изучении этиологической структуры ПАП у детей (110 человек) в течение 1957—1958 гг. в Вашингтоне с помощью реакции иммунофлуоресценции выявлено полное отсутствие антител к вирусным антигенам гриппа А, В, С, парагриппа 1, 2, 3, аденовируса RS. У 18 человек (16%) отмечался 4-кратный подъем антител к *M. pneumoniae* (Chanock, Cook, 1960).

Изучение этиологической структуры бронхитов у детей в США показало, что около $\frac{2}{3}$ общего числа случаев заболеваний связаны с RS-вирусом, парагриппозными вирусами 1, 2, 3, вирусом гриппа А и В, аденовирусами и *M. pneumoniae*.

При бронхолитах преобладающим этиологическим агентом являлся RS-вирус; меньшее значение имели парагриппозный вирус типа 3, вирусы гриппа А и В, аденовирусы и *M. pneumoniae*. Около 10% случаев бронхопневмоний, 12—22% случаев фарингитов и бронхитов и 6—10% случаев бронхолитов у детей младшего возраста в США были этиологически обусловлены *M. pneumoniae* (Chanock, 1963; Chanock, Cook, Parrot, Huebner, 1960; Parrot, 1963).

Изучение удельного веса инфекции *M. pneumoniae* в этиологической структуре пневмоний у взрослых, проведенное среди 238 больных моряков, новобранцев морских тренировочных отрядов (Южная Каролина, США), выявило *M. pneumoniae*-инфекцию у 68%; у 22% обследованных встречались разные респираторные вирусы, у 10% — смешанные микоплазма-вирусные инфекции (Kingston et al., 1964). В ГДР, в Тюрингии, В. Витцлеб и Г. Витцлеб (1969) получили серологические доказательства смешанной микоплазма-вирусной инфекции (аденовирусы, вирусы кори, гриппа и орнитоза) у 18 из 86 больных, инфицированных *M. pneumoniae*.

В нашей лаборатории изучение *M. pneumoniae*-инфекции было начато в 1963 г. С 1963 по 1967 г. изучение этиологической роли *M. pneumoniae* и ее ассоциативных взаимоотношений с некоторыми респираторными вирусами мы проводили совместно с лабораторией этиологии и патогенеза респираторных вирусных инфекций (заведующий — проф. Р. С. Дрейзин) Института вирусологии имени Д. И. Иванова АМН СССР. С 1966 по 1971 г. изучение этиологической роли *M. pneumoniae* и выявление некоторых эпидемиологических закономерностей распространения инфекции проводились нами в комплексе с группой эпидемиологии микоплазма-инфекций человека (старший научный сотрудник В. И. Васильева) отдела общей эпидемиологии (заведующий — академик АМН СССР проф. О. В. Бароян) Института эпидемиологии и микробиологии имени Н. Ф. Гамалеи.

Мы пользуемся случаем принести искреннюю благодарность коллективам ряда клиник и институтов, которые также принимали участие в этих исследованиях¹.

¹ Клиника инфекционных болезней (зав. — проф. В. И. Покровский) Стomatологического института (Москва); клиника инфекционных болезней (зав. — проф. Е. С. Кетгладзе) Института вирусологии имени Д. И. Иванова (Москва); клиника инфекционных болезней (зав. — проф. В. С. Матковский) Военно-медицинской академии имени С. М. Кирова (Ленинград); лаборатория вирусологии (зав. — проф. Н. А. Пискарева) Института детских инфекций (Ленинград), инфекционное отделение (зав. отделением — канд. мед. наук М. А. Фурман) гарнизонного госпиталя (Москва); Сухумская городская клиническая больница (канд. мед. наук Э. И. Миресашвили).

ТАБЛИЦА 21. УДЕЛЬНЫЙ ВЕС *M. PNEUMONIAE* СРЕДИ СЕРОЛОГИЧЕСКИ РАСШИФРОВАННЫХ СЛУЧАЕВ ПНЕВМОНИЙ (ПО С. В. ПРОЗОРОВСКОМУ, 1970)

| Больные пневмонией | Число обследованных | В том числе серологически расшифрованных | | Из числа серологически расшифрованных, % | | | | | |
|-------------------------------|---------------------|--|----------|--|----------|-----------|------------|------------------------|---------------|
| | | абс. | % | <i>M. pneumoniae</i> | грипп | парагрипп | аденовирус | смешанная инфекция | |
| | | | | | | | | <i>M. pneumoniae</i> + | вирус + вирус |
| Дети (0—14 лет) | 460 | 263 | 57,2±2,2 | 1,9 | 20,2 | 26,6 | 14,8 | 12,2 | 24,3 |
| Взрослые (14—50 лет и старше) | 972 | 466 | 47,9±1,6 | 18,7 | 22,7 | 18,5 | 5,3 | 16,3 | 18,5 |
| Всего | 1432 | 729 | 50,9±1,4 | 12,8±0,9 | 21,6±1,0 | 21,4±1,0 | 8,8±0,7 | 14,8±0,9 | 20,6±1,0 |

Различные этапы исследований *M. pneumoniae*-инфекции в СССР нашли отражение в диссертациях — кандидатских (Э. М. Вихнович, 1968; И. И. Рыбаковой, 1968; Э. И. Миресашвили, 1968) и докторских (С. В. Прозоровский, 1970; В. И. Васильева, 1971), выполненных в процессе этих совместных исследований, а также в многочисленных публикациях. Эти данные, любезно предоставленные авторами в наше распоряжение, мы использовали при дальнейшем изложении материала.

Удельный вес инфекции *M. pneumoniae* в этиологической структуре пневмоний в СССР достаточно высок. Материалы пятилетних наблюдений (1964—1969) С. В. Прозоровского (1970) свидетельствуют о том, что среди серологически расшифрованных случаев пневмоний (729 из 1432) моноинфекция *M. pneumoniae* встречалась в 12,8% случаев, в 14,8% отмечена смешанная инфекция *M. pneumoniae* + респираторные вирусы (табл. 21). Следует при этом отметить, что у детей моноинфекция *M. pneumoniae* встречалась крайне редко (у 1,9%), в то же время у взрослых этот показатель был весьма значителен — 18,7%. Эти различия были стерты при смешанной микопlasма-вирусной инфекции, которая встречалась у 16,3% взрослых и только у 12,2% детей. В связи с низким процентом пневмоний, обусловленных моноинфекцией *M. pneumoniae*, можно с большей вероятностью предполагать, что в детском возрасте доминирующая роль при смешанной микопlasма-вирусной инфекции должна быть отведена вирусной инфекции, которая может активизироваться *M. pneumoniae*.

Результаты пятилетних наблюдений роли *M. pneumoniae* в этиологической структуре острых респираторных заболеваний (табл. 22) свидетельствуют о том, что моноинфекция *M. pneumoniae* является этиологическим агентом в 7,5% случаев; в 9,6% случаев эти заболевания обусловлены смешанной микопlasма-вирусной инфекцией. Таким образом, было выявлено преобладающее значение *M. pneumoniae* в этиологической структуре пневмоний по сравнению с острыми респираторными заболеваниями. При острых респираторных заболеваниях, как и при пневмониях, *M. pneumoniae*-моноинфекция чаще бывает у взрослых (9,9%) чем у детей (6%). Эти различия еще более резко выступают при анализе данных, характеризующих смешанную микопlasма-вирусную инфекцию,

ТАБЛИЦА 22. УДЕЛЬНЫЙ ВЕС *M. PNEUMONIAE* СРЕДИ СЕРОЛОГИЧЕСКИ РАСШИФРОВАННЫХ СЛУЧАЕВ ОСТРЫХ РЕСПИРАТОРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ (ПО С. В. ПРОЗОРОВСКОМУ, 1969)

| Больные острыми респираторными заболеваниями | Число обследованных | В том числе серологически расшифрованных | | Из числа серологически расшифрованных | | | | | |
|--|---------------------|--|----------|---------------------------------------|----------|-----------|------------|------------------------------|---------------|
| | | абс. | % | <i>M. pneumoniae</i> | грипп | парагрипп | аденовирус | Смешанная инфекция | |
| | | | | | | | | <i>M. pneumoniae</i> + вирус | вирус + вирус |
| Дети | 905 | 497 | 54,9±2,7 | 6,0 | 21,2 | 25,7 | 15,5 | 6,0 | 25,6 |
| Взрослые | 683 | 292 | 42,7±1,9 | 9,9 | 26,4 | 13,4 | 11,6 | 17,5 | 24,7 |
| Всего | 1588 | 789 | 49,7±1,3 | 7,5±0,6 | 23,2±1,1 | 21,2±1,0 | 13,9±0,9 | 9,6±0,7 | 25,2±1,0 |

которая у взрослых встречалась значительно чаще (17,5%), чем у детей (6%).

Сопоставление этих материалов с приведенными выше наблюдениями американских авторов свидетельствует о том, что в пределах 10 лет, начиная с 1947 г., в отдельных штатах при острых респираторных заболеваниях и пневмониях преобладающее этиологическое значение имела пневмония, вызванная *M. pneumoniae*, по сравнению с респираторными вирусами. В то же время материалы 1964—1969 гг., хотя и выявляют существенную роль *M. pneumoniae*-инфекции в этиологической структуре острых респираторных заболеваний и пневмоний у нас в стране, однако значительно уступают по величине показателям, характеризующим роль респираторных вирусов в этиологии этих заболеваний (табл. 23).

ТАБЛИЦА 23. УДЕЛЬНЫЙ ВЕС МОНО- И СМЕШАННЫХ *M. PNEUMONIAE*-ВИРУСНЫХ РЕСПИРАТОРНЫХ ИНФЕКЦИЙ В ОБЩЕМ ЧИСЛЕ СЕРОЛОГИЧЕСКИ РАСШИФРОВАННЫХ СЛУЧАЕВ ОСТРЫХ РЕСПИРАТОРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ И ПНЕВМОНИЙ (ПО С. В. ПРОЗОРОВСКОМУ, 1970)

| Число обследованных | Этиологически расшифрованные | | Вирусная моноинфекция | | Смешанная вирусная инфекция | | <i>M. pneumoniae</i> -моноинфекция | | Смешанная микоплазма-вирусная инфекция | |
|---------------------|------------------------------|-----|-----------------------|------|-----------------------------|------|------------------------------------|------|--|------|
| | абс. | % | абс. | % | абс. | % | абс. | % | абс. | % |
| 3020 | 1518 | 400 | 838 | 55,2 | 349 | 22,9 | 152 | 10,0 | 179 | 11,9 |

Небезынтересно сопоставить материалы, характеризующие взаимоотношения *M. pneumoniae* и респираторных вирусов при смешанной инфекции. Анализ этих взаимоотношений, проведенный в отношении 240 больных, позволил их подразделить на следующие группы (Г. Я. Каган и др., 1966; О. В. Бароян и др., 1969).

1. Лица, у которых иммунологический ответ на вирусную инфекцию развивался либо в момент снижения титров антител к *M. pneumoniae*, либо на фоне неизменяемых титров. В этом случае, вероятно, имела место латентная микоплазма-инфекция или недавно перенесенная микоплазма-инфекция, которая могла быть предрасполагающим фактором для последующей вирусной инфекции.

2. Лица, у которых иммунологический ответ на *M. pneumoniae*-инфекцию развивался либо на фоне не изменяющихся, либо снижающихся титров к респираторным вирусам. В таком случае вполне вероятно предрасполагающая роль вирусной инфекции для последующего развития микоплазма-инфекции.

3. Лица, у которых иммунологический ответ развивался одновременно к *M. pneumoniae* и респираторным вирусам (обе инфекции сопутствовали друг другу).

Изучению распространенности *M. pneumoniae*-инфекций способствовали данные Eaton и Herick (1947), впервые установивших, что *M. pneumoniae* может явиться возбудителем пневмоний у 62% взрослых.

Последующие наблюдения подтвердили распространенность *M. pneumoniae*-инфекции в разных странах мира.

Систематические обследования в течение ряда лет разных групп детей в США (табл. 24) показали, что *M. pneumoniae*-инфекция имела среди них широкое распространение и обуславливала острые респираторные заболевания и пневмонии. Наряду с эпидемическими подъемами *M. pneumoniae*-инфекций среди детей (Chanock et al., 1960) наблюдались спады, когда инфекция носила спорадический характер (Hayflick, Chanock, 1965). При эпидемических подъемах респираторных заболеваний у детей, вызванных *M. pneumoniae*, инфекция обнаруживалась часто, по данным Grauston с соавторами (1965, 1966), у 35%. Этот показатель резко возрастал при вспышках (80%) и снижался до 27% при субклинических и инapparантных формах, сопровождавших эпидемический подъем (Dowdle et al., 1967). Обследование, проведенное во время вспышки *M. pneumoniae*-инфекции в одной из палат больницы для умственно отсталых детей в Калифорнии, куда были госпитализированы дети с болезнью Дауна (Baernstein et al., 1965), выявило у 3 из 8 детей статистически достоверные показатели нарастания титров реакции связывания комплемента *M. pneumoniae*. Был зарегистрирован один случай острого респираторного заболевания, осложнившегося бронхопневмонией. Авторы предположили, что в данном случае основной формой проявления микоплазма-инфекции была бессимптомная инфекция, а клинически выраженное заболевание представляло исключение.

Весьма интересны многолетние наблюдения распространения *M. pneumoniae*-инфекции среди разных групп взрослого населения США. Можно выделить 2 периода этих наблюдений среди контингентов военных, находившихся в различных тренировочных лагерях и на базах (табл. 25). Первый период охватывает 12 лет (1947—1959). Хотя диагностика *M. pneumoniae*-инфекции тогда была мало усовершенствована, наблюдения свидетельствуют об очень высоком удельном весе лиц (85%), у которых первичная атипичная пневмония ассоциировалась с агентом Итона (Cook et al., 1960). Второй период характеризуется длительными (7 лет) наблюдениями пневмоний и острых респираторных заболеваний (1959—1965) на военноморских базах в штате Южная Каролина (Chanock et al., 1960, 1961, 1962, 1967; Kingston et al., 1961, и др.) в период, когда диагностика *M. pneumoniae*-инфекции совершенствовалась бурными темпами. Результаты этих наблюдений показывают, что из 1369 случаев пневмоний, зарегистрированных в течение 7 лет, 38% были обусловлены *M. pneumoniae*. Наблюдалась выраженная тенденция снижения заболеваемости пневмонией, вызванной *M. pneumoniae*. В течение 1959—1960 гг. инфекция *M. pneumoniae* обуславливала более половины всех случаев пневмоний. С 1961 по 1963 г. отмечено резкое снижение заболеваемости *M. pneumoniae*-пневмониями с постепенным небольшим подъемом в 1964—1965 гг.

Тем не менее число микоплазма-пневмоний в 1965 г. в 2—3 раза меньше, чем в период эпидемического подъема в 1959—1960 гг. Кривая эпидемических подъемов и спадов пневмоний, вызванных *M. pneumoniae*, в основном повторяет, но на более низком уровне, кривую заболеваемости пневмониями вообще.

ТАБЛИЦА 24. РАСПРОСТРАНЕНИЕ *M. PNEUMONIAE*-ИНФЕКЦИИ СРЕДИ РАЗНЫХ ГРУПП ДЕТЕЙ В США

| Место наблюдения | Группа | Годы наблюдения | Диагноз | Число обследованных | Серологически или микробиологически установленная <i>M. pneumoniae</i> -инфекция, % | Авторы |
|----------------------------|--------------------------|------------------------|--|---------------------|---|-----------------------------|
| Вашингтон США | Грудные и маленькие дети | 1957—1959 | Бронхопневмония Бронхиты Бронхиолиты Общее число | 110 | 17,2 22,2 10,5 10 | Chanock et al., 1960 |
| Вашингтон, США | Дети | 1962—1963 | Респираторные заболевания | 355 | 1 | Hayflick, Chanock, 1965 |
| США | Дети | 1962 | Бронхопневмония Бронхиты и фарингиты Бронхиолиты | | 10 12 6 | Parrot, 1963 |
| США | Дети | | Пневмонии | | 2 | Saliba, Glezen, Chin, 1967 |
| Ситл, США | Дети, подростки | 1962—1963 | Острые респираторные заболевания | | 35 | Grayston et al., 1965, 1966 |
| Пасторные группы детей США | Дети | 1960—1965 1964—1965 | Вспышка инфекции <i>M. pneumoniae</i> Острые респираторные заболевания и пневмонии Субклинические, инapparантные формы | | 80 73 27 | Dowdle et al., 1967 |

В военных лагерях других районов США *M. pneumoniae*-инфекция при пневмониях встречалась у 8—20% обследованных, обуславливая в отдельных случаях вспышки заболеваний.

Анализ распространенности *M. pneumoniae* при респираторных заболеваниях среди полуизолированных и изолированных групп взрослого гражданского населения также свидетельствует о значительной роли

ТАБЛИЦА 25. РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ M. PNEUMONIAE-ИНФЕКЦИИ СРЕДИ ВЗРОСЛОГО НАСЕЛЕНИЯ США

| Место наблюдения | Группа населения | Годы | Диагноз | Число обследованных | Серологически или микробиологически установленная M. pneumoniae-инфекция, % | Авторы |
|-------------------|--|-----------|---|---------------------|---|--|
| США и Европа | Взрослые военные | 1947—1959 | ПАП с высокими титрами холодовых агглютининов и агглютинами к стрептококку Mg Без нарастания титров неспецифических тел | 28 | 85 | Cook et al., 1960 |
| Южная Каролина | Моряки-новобранцы | 1958—1961 | ПАП и бронхиты | 69 | 26 | Mufson et al., 1961 |
| Южная Каролина | То же | 1959—1961 | ПАП | 294 796 | 82 51 (в том числе у 16 человек выделен возбудитель) | Chanock et al., 1961 |
| | | | Острые респираторные заболевания | 144 | 28 | |
| | | | а) фебрильные формы: | | 8 | |
| | | | б) нефебрильные, здоровые | | 6 | |
| Южная Каролина | » » | 1959— | ПАП и бронхиты | 163 | 20 | Kingston et al., 1961 |
| Южная Каролина | » » | 1961 | } ПАП и бронхиты | | 67 | Chanock et al., 1961, 1965, 1967 |
| | | 1959 | | | 35 | |
| | | 1960 | | | 45 | |
| | | 1961 | | | 12 | |
| Самр, Lejeune | Военнослужащие | 1963 | Вспышка ПАП | | 7 | Forsyth, Bloom, Johnson, Chanock, 1965 |
| Северная Каролина | | 1959—1962 | | | 20 | |
| Great Lakes | Военнослужащие | 1958— | ПАП | | 8 | Chanock et al., 1963 |
| Штат Иллинойс | | 1961 | ПАП | | 17 | Griffin, Grawford, 1965 |
| Восточные штаты | Федеральные заключенные в возрасте 21—35 лет | 1963 | ПАП и бронхиты | 196 | 87 | Mufson et al., 1961 |
| | | 1958—1961 | | | | |
| Штат Массачусетс | Студенты высшей школы | 1952—1956 | ПАП | 68 | 79 | Liu et al., 1959 |
| Штат Висконсин | Студенты колледжа | 1953—1960 | ПАП | 119 | 24 | Evans и Brobst, 1961 |

M. pneumoniae-инфекции в отдельных учреждениях и штатах в период с 1952 по 1961 г. Высокий удельный вес (87%) серологически расшифрованной *M. pneumoniae*-инфекции среди заболевших пневмонией и другими респираторными заболеваниями (196) федеральных заключенных иллюстрирует, на наш взгляд, вспышку этой инфекции в полностью изолированном коллективе, где степень контакта была наиболее высокой.

Распространение *M. pneumoniae*-инфекций среди разных групп населения в некоторых странах Европы начало изучаться с 60-х годов (табл. 26). Результаты этих наблюдений неодинаковы в разных странах и в разные годы. В одних странах процент заболевших разными формами *M. pneumoniae*-инфекции достаточно высок (Голландия, 1961—1962 гг. — 40%, Фран-

ТАБЛИЦА 26. РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ *M. PNEUMONIAE*-ИНФЕКЦИИ СРЕДИ РАЗНЫХ ГРУПП НАСЕЛЕНИЯ В НЕКОТОРЫХ СТРАНАХ ЕВРОПЫ

| Страна | Продолжительность наблюдения | Группы обследованных | Процент случаев, этиологически обусловленных <i>M. pneumoniae</i> | Авторы |
|--------------|------------------------------|--|---|---|
| Голландия | 18 месяцев 1961—1962 | Дети и взрослое гражданское население (130 человек) | 40 | Van Nunen, van der Veen, 1963 |
| Голландия | 1961—1962 | Моряки-новобранцы (100 человек) | 9 | Van der Veen, van Nunen, 1963 |
| Англия | 1962—1963 | Взрослые | 11 | Goodborn, Marmion, Kendall, 1963 |
| Франция | 1962—1963 | | 35 | Thivolet, Sohier, 1963 |
| Финляндия | 1964 | Взрослые, дети | 13 20 | Janson, Wagner Stenstöm, 1964 |
| Швеция | 1964, февраль—июнь | Больные пневмонией Больные острыми респираторными заболеваниями | 35 1,5 | Biberfeld, Johnson, 1965 Johnson, 1965 |
| Югославия | 1965 | Госпитализированные больные Амбулаторные | 61 15 | Морелл, Богданович, Турок-Дрбанович, 1966 |
| ГДР | 1964 | Больные острыми респираторными заболеваниями Больные пневмонией Всего 674 человека | 8,9 9,5 | Witzleb et al., 1967 |
| ГДР | 1964—1967 | Больные острыми респираторными заболеваниями В том числе пневмонией 1225 | 6,9 | В. Витцлеб, Г. Витцлеб, 1969 |
| Чехословакия | 1962—1964 | 614 больных разного возраста с заболеваниями дыхательных путей: 0—1 года 2—6 лет 7—15 » | 11 2 12,5 23 | Sobeslavsky, Syruček et al., 1965 |

ТАБЛИЦА 27. ЧАСТОТА М. PNEUMONIAE-ИНФЕКЦИИ В РАЗЛИЧНЫХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУППАХ ДЕТЕЙ И ВЗРОСЛЫХ С ДИАГНОЗОМ ПНЕВМОНИИ (ПО С. В. ПРОЗОРОВСКОМУ, 1970)

| Больные | Возраст (в годах) | Число обследованных | Число серологически расшифрованных случаев | М. pneumoniae-инфекция | | |
|-------------|-------------------|---------------------|--|------------------------|-------------------------------|--|
| | | | | число случаев | процент к числу обследованных | процент к числу серологически расшифрованных случаев |
| Дети | 0—1 | 150 | 83 | 8 | 5,3±1,7 | 9,6±3,1 |
| | 2—3 | 167 | 88 | 10 | 5,9±1,8 | 11,4±3,3 |
| | 4—7 | 77 | 46 | 12 | 15,6±4,0 | 26,1±6,3 |
| | 8—14 | 66 | 46 | 7 | 10,6±3,8 | 15,2±6,1 |
| Общее число | | 460 | 263 | 37 | 0,8 | 1,9 |
| Взрослые | 15—30 | 484 | 295 | 118 | 24,2±2,0 | 40,0±2,8 |
| | 31—50 | 280 | 100 | 30 | 10,7±1,8 | 30,0±4,4 |
| | 51 и старше | 208 | 71 | 16 | 7,6±1,9 | 22,5±5,2 |
| Общее число | | 972 | 466 | 164 | 16 | 35 |
| Всего | | 1432 | 729 | 201 | 14,4±0,9 | 27,6±1,6 |

ТАБЛИЦА 28. ЧАСТОТА М. PNEUMONIAE-ИНФЕКЦИИ В РАЗЛИЧНЫХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУППАХ БОЛЬНЫХ С ДИАГНОЗОМ ОСТРОГО РЕСПИРАТОРНОГО ЗАБОЛЕВАНИЯ (ПО С. В. ПРОЗОРОВСКОМУ, 1970)

| Больные | Возраст (в годах) | Число обследованных | Число серологически расшифрованных случаев | М. pneumoniae-инфекция | | |
|-------------|-------------------|---------------------|--|------------------------|-------------------------------|--|
| | | | | число случаев | процент к числу обследованных | процент к числу серологически расшифрованных случаев |
| Дети | 0—1 | 269 | 134 | 12 | 4,5±1,2 | 8,9±2,5 |
| | 2—3 | 260 | 145 | 24 | 9,2±1,5 | 16,5±3,0 |
| | 4—7 | 200 | 129 | 15 | 7,5±1,8 | 11,6±2,8 |
| | 8—14 | 176 | 89 | 9 | 5,1±2,7 | 10,1±3,1 |
| Общее число | | 905 | 497 | 60 | 6,6 | 12 |
| Взрослые | 15—30 | 515 | 219 | 58 | 11,3±1,4 | 26,5±2,9 |
| | 31—50 | 114 | 45 | 8 | 7,0±2,4 | 17,7±5,9 |
| | 50 и старше | 54 | 28 | 4 | 7,4±3,7 | 14,3±6,3 |
| Общее число | | 683 | 292 | 70 | 10,3 | 24 |
| Всего | | 1588 | 789 | 130 | 8,2±0,7 | 16,5±1,3 |

ция, 1961—1962 гг.—35%, Швеция, 1964 г.—35%, Югославия, 1965 г.—61%). В других странах (ГДР, Чехословакия, Англия) этот показатель значительно ниже. Обращают на себя внимание различия в заболеваемости, наблюдавшиеся в одно и то же время. Наряду с высоким показателем *M. pneumoniae*-инфекции у гражданского населения (40%) отмечалось относительно небольшое распространение этой инфекции в изолированной группе моряков-новобранцев.

В одних странах *M. pneumoniae*-инфекция чаще встречалась при пневмониях и реже — при острых респираторных заболеваниях (Швеция, Югославия), в других — была распространена одинаково (ГДР).

Инфекция была более распространена среди взрослого населения и подростков в Чехословакии. Вместе с тем следует отметить преобладание *M. pneumoniae*-инфекции у детей (20%) по сравнению со взрослыми (13%) в Финляндии.

Результаты наблюдений, проведенных нами в СССР, представлены в табл. 27. Из таблицы видно, что *M. pneumoniae* была этиологическим агентом 14,4% обследованных случаев пневмоний (1432) и 27,6% случаев серологически расшифрованных пневмоний. Совершенно четко регистрируются возрастные различия: у детей этот показатель составлял 1,9%, у взрослых — 35% из числа серологически расшифрованных случаев.

M. pneumoniae-инфекция встречается несколько реже при острых респираторных заболеваниях, у 8,2% всех обследованных и у 16,5% обследованных с серологически расшифрованными случаями (табл. 28). Возрастные различия несколько менее выражены, чем у больных с диагнозом пневмонии, так как при острых респираторных заболеваниях *M. pneumoniae*-инфекция чаще встречается у детей (6,6 и 12% из числа обследованных и серологически расшифрованных соответственно), чем при пневмонии (0,8 и 1,9% соответственно). В то же время у взрослых больных острыми респираторными заболеваниями и пневмониями инфекция *M. pneumoniae* встречалась приблизительно с одинаковой частотой (10,3 и 24% у первых, 14,4 и 27,6% у вторых).

Результаты наших наблюдений в известной мере подтверждаются данными других исследователей, также изучавших распространенность *M. pneumoniae*-инфекции среди разных групп взрослого и детского населения, больных пневмонией и острыми респираторными заболеваниями (Н. М. Порубиновская и др., 1965, 1968; Л. Н. Артемкина и др., 1967; А. С. Дромашко и др., 1968; Д. М. Злыдников и др., 1968).

Представленные данные позволяют прийти к заключению, что *M. pneumoniae*-инфекция может иметь эпидемический, спорадический и эндемический характер.

Обращает на себя внимание цикличность с периодическими подъемами и спадами заболеваемости как среди взрослого населения в изолированных и полуизолированных группах (Chanock et al., 1960, 1961, 1963, 1967; Sobeslavsky et al., 1965; Grayston et al., 1969, и др.), так и среди детей (Chanock, 1965).

Длительное наблюдение армейских контингентов и студентов в Новом Орлеане выявило наличие *M. pneumoniae*-инфекции в течение всего года с легкими подъемами к концу лета и эпидемическим пиком летом 1965 г. (George et al., 1966). Наблюдения в течение 12 лет в университете штата Висконсин показали периодические подъемы заболеваемости пневмониями, в том числе *M. pneumoniae*-пневмониями каждые 4—5 лет. Grayston с соавторами (1969) отмечают, что в больших городах заболеваемость *M. pneumoniae*-инфекциями носит эндемический характер, в небольших селениях чаще встречаются эпидемии. Подобные эпидемии были впервые

описаны Breslow (1945) в Миннесоте, а позже (с использованием наиболее совершенных методов диагностики) — Watson (1967) в сельской местности в Англии, Feizi (1967) — в Шотландии, Andrews с соавторами (1967) — в Моргантаун в Западной Виргинии. В течение 44 месяцев (1963—1967) в Ситле (Grayston et al., 1969) было детально изучено 4167 случаев пневмоний (средняя годовая заболеваемость 13,4 на 1000). За это время было выделено 343 культуры *M. pneumoniae*, что составляло 15%, или 1,7 на 1000; серологический диагноз *M. pneumoniae*-инфекции (установленный по 4-кратному нарастанию титров антител) составлял 2,2 на 1000 ежегодно. Самые низкие показатели заболеваемости отмечены в 1964—1965 гг., 2-кратный подъем *M. pneumoniae*-пневмоний отмечен в январе 1966 г. с последующим пиком в январе 1967 г. и снижением до начальных цифр в 1964 г. Кривая подъемов и спадов *M. pneumoniae*-пневмоний коррелировала с кривой заболеваемости пневмониями вообще.

Постоянное выделение возбудителя во все сезоны независимо от пика заболеваемости свидетельствует об эндемичности *M. pneumoniae*-инфекции в этом районе США.

Помимо описанных вспышек и эпидемических подъемов заболеваемости *M. pneumoniae*-инфекции среди изолированных групп военного и гражданского населения (Chanock, 1967), известны вспышки заболеваемости и среди детей. Так, Dowdle с соавторами (1967) описывают вспышку *M. pneumoniae*-инфекции среди воспитанников детского дома в Атланте (США), которая была серологически установлена у 80% детей. Seliba с соавторами (1967) наблюдали вспышку *M. pneumoniae*-инфекции в детском доме. Инфекция была диагностирована у 389 детей, в том числе у 19 с клинически резко выраженными формами заболевания, и продолжалась 2—7 недель, преимущественно у детей младшего возраста вследствие тесного контакта при играх.

Обобщенные данные, характеризующие возрастные особенности *M. pneumoniae*-инфекции, свидетельствуют о том, что она чаще встречается у взрослых до 40 лет и детей школьного возраста (5—14 лет), более редки заболевания детей младшего возраста, особенно до года.

Болеют одинаково часто мужчины и женщины. Инфекция не имеет выраженных сезонных колебаний, пик заболеваемости и отдельные вспышки чаще наблюдались зимой, небольшие подъемы заболеваемости могут регистрироваться и летом.

Первая семейная вспышка *M. pneumoniae*-инфекции была описана в 1945 г. Breslow, затем появились сообщения Jordan (1949), Pijneburg (1963), Jensen с соавторами (1967), Foy с соавторами (1966, 1969), Grayston с соавторами (1969).

Pijneburg описал вспышку *M. pneumoniae*-инфекции в одной из деревень Голландии, 40 детей были госпитализированы. В тот же период времени еще 10 случаев заболеваний были зарегистрированы в соседнем городе и деревнях.

При наблюдении 102 семей в штате Индиана Jensen с соавторами (1967) отметили, что в 21% случаев респираторные заболевания были обусловлены *M. pneumoniae*-инфекцией, чаще заболевали дети, особенно школьники, которые заносили инфекцию в семьи.

Длительные повторные наблюдения 114 семей в Ситле (США) в течение 22 месяцев выявили *M. pneumoniae*-инфекцию в 39% семей (Foy et al., 1969; Grayston et al., 1969).

Эпидемиологические наблюдения семейных вспышек вскрыли высокую внутрисемейную контагиозность, повторяемость заболеваний и значение микоплазмонительства (Johnson et al., 1960; Grayston et al., 1969).

Изучение вспышки острых респираторных заболеваний в изолированном коллективе мужчин на Крайнем Севере СССР (И. И. Рыбакова, 1969; С. В. Прозоровский, 1970) показало, что эпидемический подъем заболеваемости наблюдается уже через 2—3 недели с момента формирования данного коллектива из числа приехавших из разных городов и сельской местности. Подъем заболеваемости начался в начале декабря 1967 г. и достиг своего максимума к концу декабря с последующим снижением. С середины января число заболеваний вновь несколько возросло, а затем снизилось до отдельных спорадических случаев. Из общего числа 889 человек во время декабрьско-январской (1967—1968) вспышки острых респираторных заболеваний, включая пневмонии, переболело 416 человек, т. е. 46,8% всего числа. При изучении парных сывороток от 101 больного моноинфекция *M. pneumoniae* регистрировалась у 30,7% ; у 25% переболевших обнаружена смешанная инфекция *M. pneumoniae* + разные респираторные вирусы и у 44,3% встречались разные респираторные вирусы.

Первостепенную роль в распространении *M. pneumoniae*-инфекции играют микоплазмозительство и бессимптомные формы инфекции. При повторных наблюдениях установлена возможность длительного выделения *M. pneumoniae* от больных, иногда в течение 1—5 месяцев, несмотря на высокие титры антител в крови (Couch et al., 1964; Foy et al., 1969; Grayston et al., 1967, 1969). Исключительный интерес представляют, на наш взгляд, обобщенные данные Grayston с соавторами (1969), изучивших длительность микоплазмозительства в семьях, где регистрировалась *M. pneumoniae*-инфекция. У 465 лиц *M. pneumoniae* выделялась за неделю до возникновения первых симптомов заболевания, у 231 (50%) культура продолжала выделяться через 13 недель после возникновения заболевания. Продолжительное микоплазмозительство отмечено у детей в возрасте 5—14 лет. У детей младшего возраста и взрослых, а также не болевших, но бывших в контакте с больными, *M. pneumoniae* выделяется реже.

По данным О. В. Барояна и В. И. Васильевой и др. (1969), бессимптомное инфицирование может составлять в среднем 8—10%, т. е. 1 случай бессимптомной инфекции на 2 клинически выраженных заболевания. Согласно Чапоск с соавторами (1963, 1967), в период высокой заболеваемости *M. pneumoniae*-инфекций в условиях изолированного коллектива на 20—30 рекрутов, инфицированных *M. pneumoniae*, приходится лишь 1 случай пневмонии.

Распространение бессимптомной инфекции сопровождается ростом антител *M. pneumoniae*. Диагноз бессимптомной инфекции чаще всего устанавливают по серологическим показателям (Mufson et al., 1962; Чапоск et al., 1967; Suchs et al., 1966; С. А. Буров и др., 1967; Kagan et al., 1969). Данные, представленные на рис. 47, отчетливо показывают выраженный иммунологический ответ на бессимптомную *M. pneumoniae*-инфекцию среди изолированных групп взрослых, бывших в контакте в течение 3 месяцев. В момент формирования этих коллективов процент лиц, содержащих антитела к *M. pneumoniae*, был равен 0—17, а после 3 месяцев близкого контакта — 30—57.

Широкое распространение респираторных заболеваний, вызванных *M. pneumoniae*, эпидемический характер этой инфекции среди изолированных групп, вспышки среди молодых людей и детей школьного возраста, возможность существования и взаимного усиления патогенного эффекта при смешанных инфекциях *M. pneumoniae* и некоторыми респираторными вирусами обусловили необходимость разработки проблемы специ-

фической вакцинопрофилактики *M. pneumoniae*-инфекции. Однако уже на первых этапах этих исследований возникли трудности, связанные с ограниченными возможностями получения достаточных количеств биомассы *M. pneumoniae*, необходимой для приготовления живых вакцин, с наличием балластных белков в культуральной среде (лошадиная сыворотка, экстракт бычьего сердца), отсутствием критериев оценки иммуногенности вакцин в эксперименте на животных и со сложностью получения доказательств их эпидемиологической эффективности.

Анализ приведенных выше данных, характеризующих удельный вес *M. pneumoniae*-инфекции в этиологической структуре респираторных

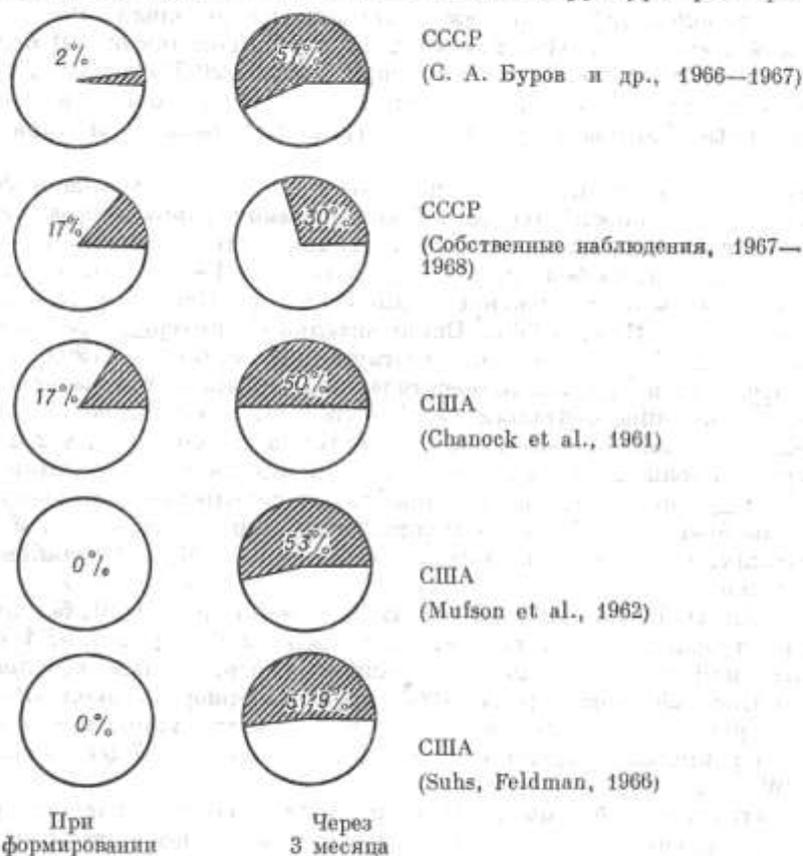


Рис. 47. Динамика иммунологического ответа на *M. pneumoniae*-инфекцию у взрослых здоровых людей в закрытых коллективах в разных странах (материалы Г. Я. Каган, В. И. Васильевой, И. И. Рыбаковой и С. В. Прохоровского).

заболеваний, а также эпидемиологическое значение смешанных микопlasма-вирусных инфекций обуславливают необходимость конструирования ассоциированных вакцин (респираторные вирусы + *M. pneumoniae*). В этой связи особое значение приобретает изучение ассоциативных взаимоотношений разных антигенов в клеточных культурах и *in vivo*.

Вопросы вакцинопрофилактики начали изучаться недавно (1965), создание вакцин ведется в направлении получения эффективных корпускулярных и химических препаратов. Первые в свою очередь подразделяются на убитые и живые аттенуированные вакцины.

Первым этапом этих исследований явилось совершенствование среды культивирования, завершившееся заменой экстракта бычьего сердца и лошадиной сыворотки химическими компонентами культур клеток и хлороформным экстрактом куриного желтка (Jensen et al., 1965). Попытки увеличить выход биомассы *M. pneumoniae* увенчались успешным ее культивированием на поверхности стекла (Somerson et al., 1967). Пристеночный рост *M. pneumoniae* способствует эффективному его отмыву с минимальными потерями биомассы и максимальным удалением балластных веществ среды культивирования. Урожайность составляла 1×10^9 — 1×10^{10} КОЕ на 1 мл взвеси (Somerson et al., 1965).

Исследованиями ряда авторов (Jensen et al., 1965; Senterfit, Jensen, 1967; Smith et al., 1967) была показана возможность получения убитых корпускулярных вакцин *M. pneumoniae*. Инактивацию проводили с помощью формалина; усиление иммуногенности достигалось использованием различных адъювантов. Внутримышечное введение формол-вакцины стимулировало рост ингибирующих антител у 10 из 19 серонегативных добровольцев, при их заражении вирулентным штаммом в дозе 10^6 КОЕ/мл заболел 1. Из 13 серонегативных невакцинированных лиц заболело 10 (Smith et al., 1967). Приблизительно сходные результаты получены при использовании инактивированной вакцины с квасцовым адъювантом. Иммуногенные потенции этих вакцин невелики, однако их первое применение выявило возможность вакциноиндуцированной защиты от вирулентной *M. pneumoniae*-инфекции.

Заслуживают внимания попытки создания и применения живой аттенуированной вакцины, пригодной для аэрозольного введения (Couch et al., 1967; Smith et al., 1967). Аттенуация достигается длительным культивированием в лабораторных условиях (Л. В. Колесников, 1969; С. В. Прозоровский, 1970) и получением термочувствительных мутантов (Steinberg, Horswood, Chanock, 1969), способных размножаться при температуре 32—34° в верхних дыхательных путях, не проникая в легкие, где температура доходит до 36—37°, и не вызывая там процесса. Термочувствительные мутанты *M. pneumoniae*, не способные размножаться при 37°, были получены при обработке культуры N-метил-N'-нитро-N-нитрозогуанидином (NTG) в дозах 25—100 мг/мл при pH 7,2. Удалось получить 14 таких мутантов, 6 были идентичны родительскому штамму и отличались лишь по термочувствительности, не поражали легких при заражении хомяков, тогда как дикий штамм вызывал у 64% животных соответствующие изменения. Все полученные мутанты индуцировали определенную резистентность к вирулентному исходному штамму (Steinberg et al., 1969; Chanock, 1970). Дальнейшие успехи использования терморезистентных мутантов *M. pneumoniae* будут зависеть от их стабильности в условиях организма. По-видимому, поиски таких мутантов в качестве вакцинных штаммов перспективны.

Небезынтересны также поиски путей создания химических вакцин, основанных на получении протективных антигенов. Базой для таких исследований являются результаты иммунохимического изучения антигенов микоплазм (Prescott et al., 1966, 1967, 1969; Sobeslavsky et al., 1966; Marmion et al., 1967; Lemcke et al., 1968; Beckmann, Kenny, 1968, и др.).

Для создания эффективных критериев оценки иммуногенности вакцинных препаратов *M. pneumoniae* необходимы точные показатели патогенности, с одной стороны, и показатели протективного иммунитета — с другой. Показатели патогенности *M. pneumoniae* оцениваются по результатам изучения выживаемости *M. pneumoniae* в организме, заражения чувствительных животных и добровольцев с целью получения модели патоло-

ТАБЛИЦА 29. РЕЗУЛЬТАТЫ ВЫСЕВАЕМОСТИ *M. PNEUMONIAE* И ДИНАМИКИ МАКРОСКОПИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В ЛЕГКИХ НОВОРОЖДЕННЫХ ХЛОПКОВЫХ КРЫСЯТ, ЗАРАЖЕННЫХ *M. PNEUMONIAE* (ШТАММ FN) (ПО С. В. ПРОЗОРОВСКОМУ, 1970)

| Тесты | Время после заражения | Число умерщвленных животных | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------------------------|-----------------------|-----------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 |
| Макроскопические изменения Высев | 1-е сутки | +++ | ++ | + | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 2-е сутки | +++ | ++ | ++ | ++ | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Макроскопические изменения Высев | 5-е сутки | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ |
| | 10-е сутки | +++ | +++ | ++ | ++ | ++ | ++ | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Макроскопические изменения Высев | 20-е сутки | - | - | + | + | + | - | + | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 30-е сутки | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Макроскопические изменения Высев | | ++ | ++ | ++ | ++ | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

Условные обозначения: — рост отсутствует; + до 10 КОЕ; ++ до 10—15 КОЕ; +++ до 50—100 КОЕ; ++++ > 100 КОЕ.

гического процесса. Протективные свойства вакцинного препарата могут оцениваться на основании косвенных серологических показателей (РСК), относительно более прямых показателей — титров антител, ингибирующих рост микоплазм, и прямого изучения протективных свойств сывороток иммунизированных людей и животных.

Патогенность *M. pneumoniae* исследовалась у нас в лаборатории на хлопковых крысах С. В. Прозоровским (1970). Результаты этих опытов, приведенные в табл. 29, свидетельствуют об отсутствии четкой корреляции между патологической реакцией в легких, вызванной *M. pneumoniae*, и ее высеваемостью. Вместе с тем отмечено снижение высеваемости с увеличением периода после заражения (10-е, 20-е и 30-е сутки после заражения). Показатели высеваемости зависят от индивидуальной способности штаммов выживать и размножаться в зараженном организме.

Другим, не менее важным, критерием патогенности *M. pneumoniae* является принципиальная возможность создания экспериментальной модели *M. pneumoniae*-инфекции, показанная на 6—8-недельных хлопковых крысах и молодых сирийских хомячках (Eaton et al., 1944).

Для получения более или менее достоверных критериев оценки вирулентности *M. pneumoniae* (С. В. Прозоровский и др., 1967; С. В. Прозоровский, 1970) была изучена возрастная реактивность хлопковых крыс к экспериментальной инфекции *M. pneumoniae* и выявлено резкое снижение естественной резистентности у новорожденных животных. Это обстоятельство и было использовано для модельных опытов. При интраназальном заражении хлопковых крыс разного возраста обнаружены различия в естественной резистентности, в зависимости от которых процесс либо

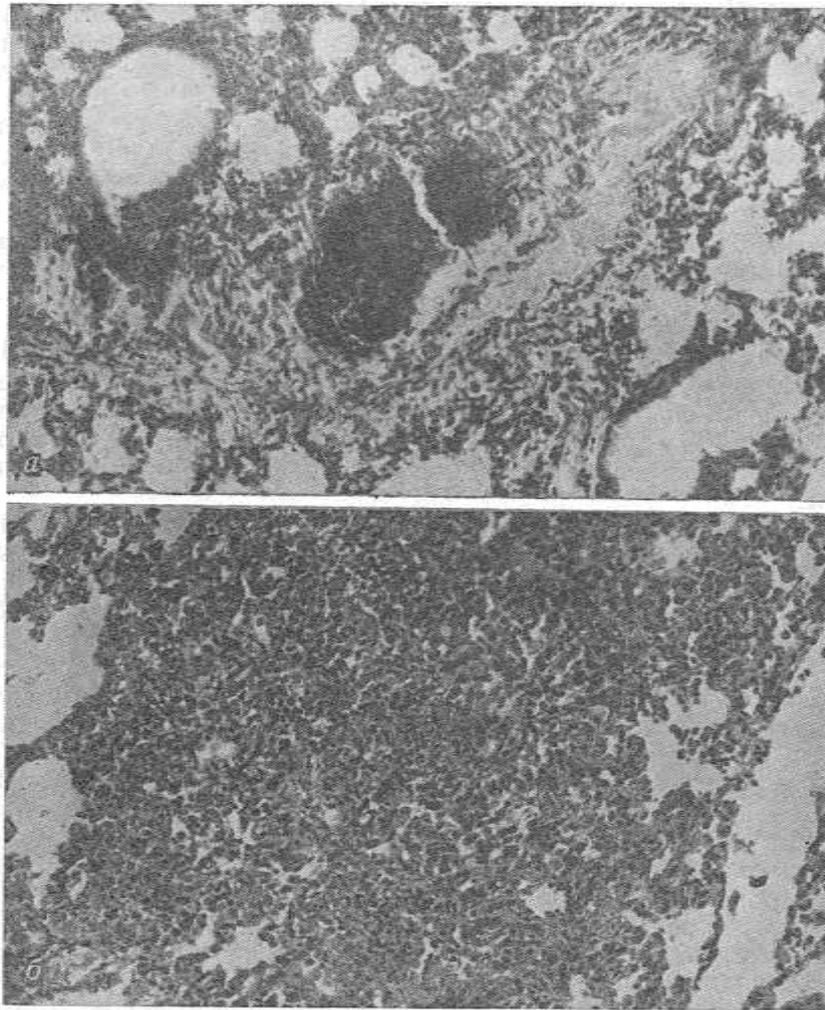


Рис. 48. Интраназальное заражение новорожденных крысят штаммом FN M. pneumoniae.

а — продуктивный перибронхит. Инфильтраты представлены главным образом лимфоидными элементами; б — очаги серозно-десквамативной пневмонии; резко выраженная десквамация клеток альвеолярного эпителия. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 100$ (препараты С. В. Прозоровского).

не воспроизводится, либо воспроизводится в виде характерной модели респираторного заболевания. Это заболевание отличается целой гаммой специфических проявлений в виде продуктивных перибронхитов и васкулитов и интерстициальных и серозно-десквамативных пневмоний с десквамацией альвеолярного эпителия (рис. 48, а, б). С. В. Прозоровский (1970) предлагает следующую градацию патогенности штаммов M. pneumoniae.

1. Способность вызывать интерстициальные и серозно-десквамативные пневмонии с явлениями продуктивных перибронхитов и васкулитов у 6—8-недельных хлопковых крыс (наиболее вирулентные штаммы).

2. Способность вызывать те же патологические явления у более молодых животных с пониженной резистентностью (1—2 недели).

3. Способность вызывать интерстициальные и серозно-десквамативные пневмонии без явлений перибронхитов и васкулитов у хлопковых крысят (1—2 недели). К группам 2 и 3 следует отнести штаммы средней вирулентности.

4. Отсутствие способности вызывать какие-либо изменения в респираторных органах хлопковых крысят в возрасте 1—2 недель. К данной группе, по-видимому, нужно отнести штаммы *M. pneumoniae*, утратившие вирулентность.

Предложенная автором дифференциация штаммов представляет, на наш взгляд, значительный интерес, так как, с одной стороны, она позволяет использовать эту шкалу для выбора аттенуированных штаммов — возможных претендентов для их применения в качестве вакцинных, с другой — пригодна для отбора высоковирулентных штаммов, которые можно испытать в качестве эталона для оценки протективного иммунитета. В качестве дополнительного теста полезно воспользоваться показателями выживаемости *M. pneumoniae* в организме, которые могут применяться при определении как вирулентности, так и степени иммунологической защиты.

M. hominis 1 явилась следующим представителем семейства *Mycoplasmataceae*, значение которого в респираторных заболеваниях человека стало предметом специальных исследований.

Предпосылкой для постановки этих исследований послужила серия наблюдений Mufson с соавторами (1965), свидетельствующих о возможности воспроизвести экссудативный фарингит при экспериментальном инфицировании человека *M. hominis* 1. У 42 из 45 добровольцев, инфицированных в носоглотку пассажной бульонной культурой *M. hominis* 1 (ДС-63), был выделен этот штамм микоплазмы и у 38 отмечено 4-кратное и более нарастание титров антител в реакции непрямой гемагглютинации. Экссудативные бестемпературные фарингиты появились у 21 добровольца, неэкссудативные формы — у 4. Приблизительно у $1/2$ зараженных отмечена шейная аденопатия и у $1/4$ — болезненность в горле. Экссудативные, более тяжелые формы фарингитов наблюдались у добровольцев, не содержащих антитела к *M. hominis* 1.

Результаты этой работы с несомненностью свидетельствуют о том, что *M. hominis* 1 является причиной экспериментально воспроизведенного респираторного заболевания в виде фарингита, однако вопрос об этиологической роли этой микоплазмы в естественно возникающих заболеваниях верхних дыхательных путей все еще остается открытым и интенсивные исследования в этой области продолжаются.

Первой фазой этих исследований является микробиологическое и особенно серо-эпидемиологическое изучение распространенности инфекции *M. hominis* 1 среди населения. Исследование титра антител к *M. hominis* в реакциях связывания комплемента и ингибирования роста, проведенных на 3200 сыворотках Jones и Sequeira (1966) в Англии, выявило зависимость серологического ответа на *M. hominis*-инфекцию от возраста и пола. Был установлен относительно низкий уровень ее распространенности по данным реакции ингибирования роста (лишь у 4,2% при титрах 1:5 и более).

По наблюдениям Purcell с соавторами (1967, 1969), серологические показатели реакции ингибирования метаболизма свидетельствуют о большей распространенности инфекции *M. hominis*, так как положительные результаты этой реакции были отмечены у 39,4% обследованных (титры 1:4 и более). Выявлено преобладание положительных результатов среди женщин; процент положительных находок возрастает с момента половой

зрелости и достигает почти 100 у женщин в возрасте 40—49 лет, заметно снижаясь в последующие годы.

В отличие от женщин у мужчин положительные результаты реакции ингибирования метаболизма с *M. hominis* встречаются реже; показатели повышаются, начиная с возраста наиболее высокой сексуальной активности, и увеличиваются до 60 лет и более, когда процент женщин, содержащих антитела, значительно падает.

Положительные серологические показатели к другим микоплазмам человека (*M. orale* 1, 2, *M. fermentans* и *M. salivarium*) почти не зависят от пола. Антитела к *M. pneumoniae* и *M. fermentans* чаще встречаются в сыворотке молодых людей, достигая максимума в период сексуальной активности и постепенно снижаясь у лиц старших возрастных групп, что является показателем соответствующего распространения этих микоплазма-инфекций. Антитела к *M. salivarium* встречаются одинаково часто у всех возрастных групп. Аналогичные данные получены в отношении *M. hominis* 1, которая встречается в 50—90% случаев у лиц всех возрастов. *M. orale* 1 и *M. salivarium* выделялись в значительном проценте у младенцев и детей младшего возраста, что свидетельствует о том, что эти микоплазма-инфекции могут встречаться уже в самом раннем возрасте.

Сопоставление результатов микробиологических и серологических наблюдений позволяет прийти к заключению об убиквитарности инфекций *M. salivarium* и *M. orale* 1.

* * *

M. pneumoniae является возбудителем различных респираторных заболеваний человека в виде острых заболеваний верхних дыхательных путей и пневмоний. Клиническая дифференциация респираторных заболеваний, вызванных инфекцией *M. pneumoniae*, от заболеваний вирусной этиологии представляет известные трудности.

M. pneumoniae-инфекция верхних дыхательных путей протекает по типу острых респираторных заболеваний, сопровождающихся ринитом, бронхитом, реже бронхолитом и крупом.

M. pneumoniae-пневмонии протекают по типу очаговых, сегментарных, субдолевых пневмоний с отчетливо выраженной прикорневой реакцией. Отмечаются случаи затяжного течения, повторные заболевания и связь инфекции *M. pneumoniae* с приступами астмы у больных детей. Смерть от *M. pneumoniae*-инфекции встречается редко. Наиболее известные осложнения: воспаление среднего уха (острое и хроническое), интерстициальные эмфиземы, серозные менингиты и менингоэнцефалиты, перикардиты, поражения кожи.

Наиболее эффективная терапия основана на использовании антибиотиков — тетрациклина и эритромицина.

Диагноз *M. pneumoniae*-инфекции устанавливают путем выделения возбудителя и нарастания серологических показателей (4-кратное увеличение титров комплементсвязывающих или ингибирующих метаболизм антител).

Биологические признаки, антигенная структура *M. pneumoniae* хорошо изучены, и их таксономическая идентификация не представляет особых затруднений. Наиболее чувствительным видом животных являются молодые и новорожденные хлопковые крысы и хомяки. Основным известным фактором патогенности является экзотоксин — гемолизин. Исследование интимных механизмов взаимодействия *M. pneumoniae* и клеток пока далеко от завершения. Клинико-микробиологические и клинико-иммунологические исследования *M. pneumoniae*-инфекции показали, что ее

удельный вес в группе респираторных заболеваний варьирует в разных странах и в разное время. Наряду с моноинфекцией *M. pneumoniae* встречаются смешанные микопlasма-вирусные инфекции; *M. pneumoniae* чаще наблюдается при пневмониях, чем при заболеваниях верхних дыхательных путей и, как правило, чаще поражает людей в молодом возрасте, чем детей.

M. pneumoniae-инфекция широко распространена в разных странах Европы, США и Австралии.

Многолетние наблюдения *M. pneumoniae*-инфекции в ряде стран показали, что ей присущи эпидемические подъемы, отдельные вспышки заболеваний, эпидемические спады и спорадический характер заболеваемости. Эпидемические вспышки *M. pneumoniae*-инфекции сопровождаются возникновением субклинических и инapparантных форм, которые способствуют повышению иммунологических показателей у соответствующих групп населения и изменению его иммунной структуры.

Эпидемические подъемы заболеваемости *M. pneumoniae*-пневмонии, распространенность смешанных микопlasма-вирусных инфекций, наличие тяжелых осложнений обосновывают необходимость создания эффективных мер специфической вакцинопрофилактики, конструирования эффективных химических, инактивированных или живых аттенуированных вакцин, которые могли бы использоваться в ассоциации с вирусными вакцинами.

МИКОПЛАЗМЫ — ВОЗБУДИТЕЛИ РЕСПИРАТОРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ МЛЕКОПИТАЮЩИХ И ПТИЦ

Наиболее хорошо изученным представителем этой группы микоплазм является возбудитель контагиозной плевропневмонии крупного рогатого скота — *M. mycoides* var. *mycoides*. Впоследствии были детально исследованы возбудители респираторных заболеваний коз и овец — *M. mycoides* var. *capri*, *M. hyopneumoniae* (*M. suis* *pneumoniae*) — возбудители респираторного заболевания свиней, *M. pulmonis* — возбудитель инфекционного катара и пневмоний крыс и мышей и *M. gallisepticum* — возбудитель респираторного микоплазмоза птиц.

Контагиозная плевропневмония крупного рогатого скота

Описания эпизоотий этого заболевания относятся к началу XVIII века. В 1713 г. появились эпизоотии в Германии и Швейцарии, в 1735 г. — в Англии, к концу XVIII века — во Франции и Италии. В 1843 г. контагиозная плевропневмония распространилась из Англии в Австралию, а из Голландии — в Южную Африку. Эпизоотии встречались в разных районах Африки. Особенно неблагоприятными в этом отношении были Судан, Сомали и Эфиопия; инфекция обнаруживалась в Нигерии, Танганьике и Кении. Плевропневмония рогатого скота была описана в странах Ближнего Востока, распространена в отдельных областях Индии и в меньшей мере — в Пакистане. Из Австралии, где плевропневмония рогатого скота весьма распространена, инфекция в 1919 и 1920 гг. была завезена в Шанхай и Гонконг.

В середине XIX века отмечена заболеваемость плевропневмонией в США, но здесь она была вскоре ликвидирована благодаря активным противоэпидемическим мероприятиям.

Подробный эпизоотологический очерк контагиозной плевропневмонии приводит в своей монографии Klieneberger-Nobel (1962). По ее мнению,

Испания является единственной европейской страной, где сейчас имеется контагиозная пневмония крупного рогатого скота, коз и овец (число больных животных невелико и ограничено определенными областями). В обзоре Cottew и Leach (1969) отмечается, что это заболевание регистрируется с 1967 г. во Франции. Эпизоотология плевропневмонии и разработка эффективных мероприятий борьбы с ней являются одной из важнейших государственных проблем Австралии, периодически несшей огромные хозяйственные потери. Большие успехи были достигнуты благодаря предложению Turner и Campbell (1935) реакции связывания комплемента для отбора в полевых условиях пораженных животных и их уничтожения. Следующим важным шагом в организации противоэпизоотических мероприятий было введение стандартной вакцины, состоящей из живых, аттенуированных микроорганизмов *M. mycoides* var. *mycoides*. Плевропневмонией, кроме домашнего крупного рогатого скота, болеют буйволы, яки, бизоны и верблюды. Инкубационный период у них длится от 2 до 16 недель, в экспериментальных условиях — от 20 до 123 дней (Cotten, Leach, 1969). Заболевание протекает в острой, подострой, хронической и бессимптомной форме. Основными симптомами являются повышение температуры, вялость, потеря аппетита и веса, усиленное или ослабленное везикулярное дыхание, прерывистое и затрудненное дыхание, глубокий и влажный кашель, припухлость и гиперемия конъюнктивы. Смерть наступает через 1—3 недели. Полное выздоровление отмечается редко, часто наблюдается переход в хроническую форму.

Классическое описание патологоанатомической картины заболевания было дано еще первыми ее исследователями (Nocard, Roux, 1898, и др.). Главной особенностью является ненормальное растяжение междолевой соединительной ткани серозным экссудатом. Подкожное введение одной капли этого экссудата корове вызывало лихорадку и обширный отек, содержащий серозный экссудат; возбудитель не проникал ни в легочную ткань, ни в плевральную полость, и животное становилось невосприимчивым в последующем заражению.

Естественное инфицирование *M. pneumoniae* var. *mycoides* происходит воздушно-капельным путем. Первичные поражения начинаются со слизистой бронхов и бронхиол, затем инфекция распространяется бронхогенным путем, эндо- и перибронхиально; появляются отеки, в процесс вовлекаются лимфатические и кровеносные сосуды, образуются тромбозы, ведущие вначале к красной и серо-желтой гепатизации легких и последующим некрозам. Возбудитель выделяется из крови, селезенки, почек, печени, лимфатических узлов и суставов на разных стадиях болезни и не всегда. Он обнаруживается также в моче, слизи дыхательных путей, в экссудате воспаленных суставов. Смертность от плевропневмонии варьирует в разных странах, достигая иногда очень высокого уровня: например, в Нигерии 90% и более (Cottew, Leach, 1969).

Возбудитель контагиозной плевропневмонии крупного рогатого скота *M. mycoides* var. *mycoides* (синонимы: *Micromyces peripneumoniae bovis*, *Asterococcus mycoides* и др.) (Nocard et al., 1898). Первоначально возбудитель культивировали в коллодийном мешочке, наполненном бульоном, в перитонеальной полости кролика, затем начали выращивать в бульоне Мартена с сывороткой. В 1900 г. была получена культура в виде типичных PPLO-колоний на плотной питательной среде.

В настоящее время *M. mycoides* var. *mycoides* успешно культивируют на всех средах, пригодных для выращивания микоплазм (экстракт бычьего сердца, триптозный бульон, перевар сердца и печени и др.), с добавлением сыворотки; оптимальный pH 7,4—8,0. Скорость роста зависит от вели-

чины первичного инокулюма. Максимальный выход 10^9 — 10^{10} . Морфология колоний типична для микоплазм. Преобладание в культуре сферических или ветвящихся нитевидных микроструктур в значительной мере зависит от среды культивирования и фазы роста.

M. mycoides var. *mycoides* сохраняется при температуре -70° и в лиофилизированном состоянии. Прогрев при 45° нарушает жизнеспособность даже лиофилизированных культур. Культура лизируется детергентами, разрушается в механическом прессе, ультразвуком и повторным замораживанием и оттаиванием. Отмечена высокая резистентность к пенициллину, ацетату таллия и антигрибному препарату актидионину, которые добавляют в среды для выделения *M. mycoides* (100—1000 ед/мл, 1 : 4000—1 : 8000 и 0,1 мг/мл соответственно). К ингибиторам роста относятся соли ртути, мышьяковистые соли, хлорамфеникол, хлортетрациклины и окситетрациклины и тиллозин. Эти препараты могут также употребляться в качестве терапевтических средств. Для идентификации, как правило, применяют серологические методы (реакция агглютинации и преципитации); биохимические тесты (плазмакоагуляция, ферментация сахаров), гемолиз эритроцитов лошади фильтраатами 6-дневных культур) используют редко.

Этиологическая роль этого возбудителя доказана клинико-лабораторными, эпизоотологическими, иммунологическими и экспериментальными данными. При изучении непосредственного ответа животных на экспериментальное инфицирование *M. mycoides* var. *mycoides* первоначально было установлено полное отсутствие реакций. Мыши, кролики, морские свинки, хомяки и кошки оказались не восприимчивыми к этой инфекции. Даже внутривенная инъекция возбудителя не вызывала у телят патологической реакции и не сопровождалась формированием иммунитета (Edward, 1954). Позже Ross (1961, 1962) и другие исследователи показали, что заражение молодых мышей бульонными культурами *M. mycoides* var. *mycoides* в 1% агаровом геле может вызвать появление местных реакций, сопровождающихся подъемом титров антител. У животных моложе 2 месяцев формирование антител очень слабое. Исследование вирулентности *M. mycoides* для 5 разных инбредных линий мышей выявило различия в развитии патологической реакции в зависимости от степени восприимчивости линий мышей.

Результаты инфицирования естественно восприимчивых животных, например телят, как показали наблюдения Edward и Hyslop (1963), зависят от вводимого материала и способа инфицирования. Так, подкожное и особенно интратрахеальное заражение телят вирулентной лимфой сопровождается развитием тяжелого общего заболевания с поражением легких. Стойкие поражения легких удается также получать при повторных вдыханиях вирулентных культур в виде мелкой пыли или аэрозолей.

По данным Hudson с соавторами (1967), экспериментальное инфицирование удается также у буйволов, коз и овец. Оно характеризуется возникновением отеков и целлюлитов в месте инокуляции с последующим развитием плевропневмонии, осложняющейся артритом и нефритом.

Факторы патогенности *M. mycoides* var. *mycoides* относительно мало изучены, тем не менее в настоящее время уже хорошо известны некоторые токсические вещества, присущие этому возбудителю. Так, еще Borrel, Dujaudin-Beametz, Jeantet и Jouan (1910) отметили, что развитие агента в коллоидных мешочках, вшитых в брюшную полость кроликам, сопровождается токсикозом, обусловленным диффузией токсических веществ в окружающую среду. Впоследствии Lloyd (1966) показал, что *M. mycoides* var. *mycoides* продуцирует диффундирующий в среду токсин, вызывающий

некротическую реакцию у кроликов. Имплантация диффузионных камер, содержащих *M. mycoides* var. *mycoides*, рогатому скоту сопровождается быстрым их инкапсулированием толстым слоем соединительной ткани.

Особое значение имеют работы Plackett, Buttery (1958) и Villemot, Provost (1962), которые, подвергнув горячей фенольной экстракции штамм *M. mycoides* var. *mycoides*, получили галактан липополисахарида. Он обладал свойствами сложного гаптена и был пирогенным для кроликов. Более поздние исследования Villemot с соавторами (1962) выявили некоторые эндотоксические свойства галактана. Введенный внутривенно в больших дозах (1000 мкг) кроликам, он вызывал четкую пирогенную реакцию (повышение температуры на 2,4°). Введение небольших доз (не более 1 мкг) приводило к выраженной лейкоцитарной реакции кроликов. Заражение 11-дневных куриных эмбрионов на хорион-аллантоисную мембрану вызывало их гибель через 48 часов, при этом обнаруживались геморрагические изменения. Авторы подвергли фенольной экстракции другой штамм *M. mycoides* T₃, несколько видоизменив методику (конечное центрифугирование осуществляли при 10 000 g в течение 30 минут; осадок замораживали и оттаивали и хранили при -20°). Эти экстракты не были столь тщательно очищены, содержали большое количество РНК и обладали высокой пирогенностью. Повышение температуры сопровождалось значительной лейкопенией с последующим лейкоцитозом: из гепаринизированной плазмы кроликов осаждался на холоду фибриноген. Экстракт был высокотоксичен для куриных эмбрионов, вызывал также повышение температуры и изменение крови у крупного рогатого скота. Внутривенная инъекция 2000 мкг препарата обуславливала резкое болезненное состояние, сопровождавшееся коллапсом.

Внутривенное введение галактана коровам сопровождается появлением его в крови, а также измененной реакцией животных в ответ на подкожную инъекцию *M. mycoides* var. *mycoides*. Эта реакция выражается в ранней микоплазмемии и последующем развитии повреждений в суставах (Hudson et al., 1967). Галактаны, полученные из вирулентных и неvirulentных штаммов *M. mycoides*, не отличаются по характеру вызываемой ими реакции. В ходе естественно протекающей инфекции галактан и другие антигенные компоненты *M. mycoides* обнаруживаются в крови и очагах поражений.

Вслед за инфицированием животных уже в самых ранних фазах заболевания вплоть до развития острой фазы в крови выявляются агглютинины, преципитины и комплементсвязывающие антитела. Титры первых 2 типов антител в острой фазе быстро снижаются, а комплементсвязывающих антител снижаются медленнее. Наряду с этим уже в самом начале острой фазы и иногда в течение длительного периода можно обнаружить циркулирующий растворимый антиген, выявляемый в разных специфических серологических реакциях. Так, Griffin и Crawford (1965), используя метод гель-диффузии, выявили этот антиген в пораженных легких у 24 животных, больных плевропневмонией. В пораженных легких при других заболеваниях у 27 животных антиген *M. mycoides* var. *mycoides* не обнаруживался. Из 1127 здоровых животных антиген был найден в легких у 3.

Низкий уровень антител, в том числе и комплементсвязывающих, может оставаться в течение нескольких месяцев после острой фазы заболевания. Снижение титров или даже исчезновение этих антител объясняют гипогаммаглобулинемией; нельзя исключить и взаимодействие антигенов с гомологичными антителами *in vivo*. Фаза снижения уровня антител при инфекции *M. mycoides* var. *mycoides* носит название фазы иммуноло-

гического эклипса. Высказывают также предположение, что сохранение антител наблюдается до тех пор, пока сохраняются жизнеспособные микоорганизмы. Вместе с тем имеются данные об отсутствии комплемент-связывающих антител, несмотря на наличие микоплазм в отдельных секвестрированных участках (Cottew, Leach, 1969).

По данным Klieneberger-Nobel (1962), вакцинацию проводят живой вакциной в объеме 0,2 мл в кожу хвоста. Местная реакция возникает на 2—3-й день; лишь на 5—6-й день после инъекции отмечается отечность, которая усиливается на 7—8-й день. Вслед за этим появляются в крови микоплазмы. У молодых вакцинированных животных очень часто развивается полиартрит. Вакцинация дает напряженный и длительный иммунитет — 97% животных становятся невосприимчивыми к аэрозольному заражению.

Относительно недавно, помимо *M. mycoides* var. *mycoides*, из легких телят, больных пневмонией, были выделены микоплазмы, идентифицированные как представители Т-группы. В легких макроскопически обнаруживаются обширные поражения, захватывающие более одной доли. Роль этих микоплазм в этиологии и патогенезе пневмонии телят исследуется (Gourlay, 1968).

Контагиозная плевропневмония коз и овец

Контагиозная плевропневмония коз была обнаружена еще в 1873 г. Однако лишь в 1940 г. Longley показал, что это заболевание, первоначально отнесенное к вирусным, вызывает фильтрующийся агент, способный культивироваться на искусственных питательных средах и по всем таксономическим признакам соответствующий представителям семейства *Mycoplasmataceae*. Контагиозная плевропневмония коз и овец сходна с контагиозной плевропневмонией крупного рогатого скота. Вместе с тем ее возбудитель серологически полностью отличается от *M. mycoides* var. *mycoides* и несколько родствен другим известным козьим видам — *M. agalacticae*.

По современной таксономической номенклатуре этот штамм назван *M. mycoides* var. *capri*. В подробном обзоре Hudson с соавторами (1967) приводятся данные об эпизоотологии этой инфекции. Контагиозная плевропневмония коз встречается в ряде европейских стран. Наиболее она распространена в Турции, Восточной и Западной Африке, Индии и Пакистане. Инфекция передается воздушно-капельным путем при выпасах на пастбищах зараженных и здоровых животных; в естественных условиях описана только у коз.

Заболевание характеризуется острым течением, возникают серозно-фибринозные плевриты и пневмонии, которые быстро развиваются, поражая целые доли; преобладают односторонние поражения.

Экспериментальное заражение удается у овец и коз. Оно характеризуется развитием плевропневмоний, артритов, целлюлитов и отеков в месте инъекции при подкожном и внутримышечном инфицировании. Гибель наступает быстро, иногда в течение 1 недели (Hudson et al., 1967; Jonas, Barber, 1969). *M. mycoides* var. *capri* растет на плотных средах в виде типичных колоний, ферментирует углеводы, содержит термостабильный полисахаридный комплементсвязывающий антиген.

Помимо *M. mycoides* var. *capri*, при плевропневмониях коз было обнаружено еще 2 вида микоплазм: *M. Olds* и Н-штамм (Hudson et al., 1967).

Первый штамм патогенен при экспериментальном заражении для коз, овец и коров, вызывает целлюлиты и отеки в месте введения, плевропнев-

монию и артриты, ферментативно активен, имеет общий антигенные компоненты с *M. mycoides* var. *mycoides*. Второй штамм патогенен при экспериментальном заражении для коз и овец, вызывает некротические поражения в месте инокуляции, пневмонии и локальные артриты, ферментативно инертен, содержит термолабильный комплементсвязывающий антиген.

Сравнительное изучение микоплазм, выделенных при плевропневмонии коз в Судане, Нигерии и Турции (Nasri, 1967), позволило прийти к заключению, что все они являются представителями гетерогенной группы микоплазм, не дифференцирующихся по культуральным и ферментативным свойствам. Они не способны были вызывать патологические изменения при заражении экспериментальных животных, однако вызвали заболевание при естественном или искусственном заражении естественных хозяев.

Энзоотическая пневмония свиней

Энзоотическая пневмония свиней широко распространена во всем мире. Первоначально это заболевание, как и другие респираторные заболевания млекопитающих, были отнесены к вирусным, и наряду с термином «энзоотическая пневмония» использовался термин «вирусная пневмония свиней».

Последующее изучение природы этиологического агента оказалось весьма успешным. Агент удалось выделить при культивировании на бесклеточных средах и установить его принадлежность к семейству *Mycoplasmataceae*. Эти исследования были проведены двумя независимыми группами ученых: в США, где возбудитель получил название *M. hyorhynchopneumoniae* (Moore, Switzer, 1965, 1966), и в Англии (Goodwin, Whittlestone, 1965), где он был назван *M. suis*.

По данным Switzer (1969), энзоотическая микоплазма-пневмония свиней широко распространена во всем мире, ею поражено около 40—50% животных. Помимо клинически выраженных форм, существуют скрытые формы, которые наносят огромный экономический ущерб. В работе Whittlestone (1968) приведены статистические данные о распространенности этого заболевания в разных странах. Так, в США в сельскохозяйственном штате Айова оказались пораженными 35—60% свиней, в Англии — 42—60%, энзоотическая пневмония описана в Канаде, Италии, она широко распространена в Румынии и особенно в Югославии, Японии. В Новой Зеландии она встречается почти у 85% животных, в Кении — у 86%.

Интересны статистические данные о поражении среди продажных свиней. Частота таких поражений колеблется от 5,8 до 68%. Энзоотическая пневмония чаще поражает молодых животных (68%) и реже старых (32%).

Стертые, без выраженных клинических симптомов, формы заболевания резко снижают привесы (на 16—25%), по Goodwin et al. (1969), в Англии каждое такое животное приносит экономический ущерб в 5 долларов.

Энзоотическая пневмония характеризуется появлением макроскопических поражений, локализующихся главным образом в верхушечных долях и в прилегающей к сердцу доле. Эти участки напоминают очаги ателектаза; другие доли поражаются значительно реже. Отмечены изменения в альвеолярной ткани и альвеолярных прокладках, интенсивность которых велика в острых случаях заболевания. Затем развиваются отек, небольшая мононуклеарная инфильтрация. Позднее отек в силу увеличения внеклеточного экссудата усиливается, преобладает лимфоидная инфильтрация бронхов и бронхиол. Лимфоидная гиперплазия может

иметь место и при отсутствии альвеолярной реакции. Нередко наблюдаются очаги облитерации альвеолярной ткани по соседству с эмфизематозными участками. Лимфоидная реакция, характерная для энзоотической пневмонии, сходна с соответствующей реакцией, развивающейся при микоплазма-пневмонии человека.

Картина поражений, свойственных энзоотической пневмонии, позволяет дифференцировать это заболевание от гриппа свиней и пневмонии, вызванной *Bordetella bronchiseptica* и *P. multicooides*. По данным Switzer (1969), *M. hyorheumoniae* прихотлива, плохо растет на жидких средах. Для ее культивирования используют добавление раствора Хенкса, фосфатно-буферного раствора Дюльбекко с 0,5% энзиматическим гидролизатом лактальбумина, 1% + 25% экстракта дрожжей и 20% сыворотки морской свинки или лошади. Выделение *M. hyorheumoniae* затрудняется из-за частого присутствия вторичного агента *M. hyorhinis*, которая легче культивируется на искусственных питательных средах. В среду вносят 10 000 ЕД/мл пенициллина. Рекомендуется также фильтровать испытуемый материал через миллипоры диаметром 0,45 мк и проводить 10 слепых пассажей с 3-дневными интервалами. Как правило, между III и VI пассажем появляется легкое помутнение среды. Небольшое кислотообразованье регистрируется на X пассаже. В это время обычно виден небольшой осадок со спиралевидными нитями. Отрицательный ответ наблюдают только после 10 пассажей.

На агаре *M. hyorheumoniae* вырастает с трудом в виде очень мелких колоний размером $\frac{1}{16}$ колоний *M. hyorhinis*. Они не имеют выраженного центра, не растут на поверхности стекла или пластика. На плотной среде *M. hyorheumoniae* не гемолизует эритроциты лошади, в жидкой среде дает легкий гемолиз, утилизирует глюкозу с легким образованием кислоты. Метиленовый синий в концентрации 1 : 50 000 подавляет рост *M. hyorheumoniae*. Хлортетрациклин и оксициклин также оказывают некоторое ингибирующее действие на рост этой микоплазмы.

M. hyorheumoniae не размножается в куриных эмбрионах, в организме домашних животных (за исключением свиней). При введении свиньям аэрозольной суспензии пораженных легких, а также культур удалось воспроизвести в эксперименте энзоотическую пневмонию (Whitelstone, 1968; Switzer, 1969). В группе экспериментально инфицированных свиней *M. hyorheumoniae* выделялась у 91% животных (Goodwin et al., 1967), тогда как при обследовании многих естественно возникших вспышек эта микоплазма обнаруживалась значительно реже.

Бронхоэктатическая болезнь и бронхопневмонии лабораторных и диких крыс

У лабораторных и диких крыс очень часты поражения легких в виде бронхоэктазий, осложненных бронхопневмониями. Klieneberger и Steabben в 1937 г. впервые показали, что это заболевание вызывается представителем семейства *Mycoplasmataceae*. Этот агент был выделен у 17 из 19 заболевших крыс. Первоначальное его название L_3 , или *Murimycos pulmonis*, современное название *Mycoplasma pulmonis*. Он не обнаруживался у новорожденных крысят, но уже в течение первых недель жизни они заражались от своих матерей и становились носителями этой микоплазмы в носоглотке. У молодых крыс инфекция, как правило, носит латентный характер или ограничивается легкими поражениями носоглотки; тяжелые заболевания встречаются у взрослых и старых животных. Крысы чистых линий болеют в возрасте 6—7 месяцев, остальные —

в возрасте 2 лет. Заболевания молодых крыс встречаются лишь при охлаждении, перенапряжении или хирургическом вмешательстве. Детеныши, извлеченные кесаревым сечением и содержащиеся изолированно, свободны от *M. pulmonis*.

Экспериментальные попытки вызвать бронхопневмонию молодых крыс путем инъекции свежевыведенных культур вначале были безуспешными. Впоследствии было показано, что достаточно наложить лигатуру на бронх молодым крысам, как у них в течение 1—2 недель развивается бронхоэктаз (Klieneberger-Nobel, Chang, 1955). После наложения лигатуры микоплазмы очень быстро проникают в легкие и размножаются там. Через 12 дней развивается абсцесс легкого, содержащий гной, богатый микоплазмами. Последующие работы Lemcke (1961), Klieneberger-Nobel (1962) доказали существование латентной инфекции *M. pulmonis* у крыс и возможность ее искусственной и естественной активации.

Естественное заболевание может протекать в хронической или острой форме, заканчивающейся иногда смертельным исходом. По описанию Klieneberger и Steabben (1937), процесс начинается с интенсивной секреции части эпителия бронхов, что ведет к появлению слизистого экссудата в их просветах. Постепенно секреция увеличивается, начинается пролиферация цилиндрического эпителия, в то же время имеет место тяжелая перибронхиальная лимфатическая инфильтрация. Бронхиолы растягиваются, в них накапливается слизь, под влиянием механического давления и недостатка поступления воздуха наступает ателектатическое расширение альвеол. Наступает миграция лейкоцитов, вначале мононуклеаров, затем полиморфноядерных клеток и наконец формируются абсцессы, наполненные казеозным гноем, и гипертрофия нетронутых долек легкого. При обследовании большого количества лабораторных крыс разного возраста и разных пород было выявлено (Klieneberger-Nobel, 1962), что в возрасте до месяца поражения легких не наблюдаются; выделить микоплазму из легких удалось в одном из 14 случаев. В возрасте 1—4 месяцев поражения легких встречаются у 10% животных, у 36% выделены микоплазмы; в возрасте 4—8 месяцев поражения легких обнаружены у 31%, микоплазмы — у 65% больных крыс. Поражения легких разной интенсивности были обнаружены у 100% обследованных старых крыс, микоплазмы выделены у 77%. Микоплазмы могут выделяться из организма до периода микроскопически видимых поражений легких. Этиологическая роль микоплазм при бронхоэктатической болезни крыс доказана и серологически (Lemcke, 1961; Klieneberger-Nobel, 1962). Естественная или индуцированная микоплазма-инфекция крыс сопровождалась выраженной и специфической иммунологической реакцией, которая проявлялась в динамическом подъеме титров комплементсвязывающих антител в соответствии с усилением патологического процесса и его генерализацией. Реакция была строго специфичной в отношении *M. pulmonis*. Этиологическая роль *M. pulmonis* была доказана клинко-лабораторными наблюдениями и иммунологическими данными при экспериментальном инфицировании.

Инфекционный катар дыхательных путей мышей и крыс

Это заболевание подробно изучено Nelson (1937, 1967), описавшим эпизоотию инфекционного катара в колонии швейцарских мышей. Заболевание начинается с инфекционного насморка, процесс редко локализуется только в носу и обычно осложняется воспалением среднего уха и медленно

прогрессирующей пневмонией, заканчивающейся, как правило, смертельно. Летальность в группе из 75 естественно зараженных мышей составляла 95%; гибель наступала постепенно в течение 11 месяцев. Инкубационный период длится около 10 дней. Заболевание легко воспроизводилось путем введения инфекта интраназально. Инфекция передается также путем прямого контакта. Возбудитель этого заболевания первоначально описан как «коккобациллярный» вариант PPLO катарального типа Нельсона (Nelson, 1937; Edward, 1955). Этот агент затем был определен как *M. pulmonis*.

Инфекционный ринит, вызванный *M. pulmonis*, описан и у крыс. Процесс из носа нередко распространяется на уши, возникает лабиринтит с нарушением двигательных функций. Распространение микоплазм далее через трахею влечет за собой появление пневмоний. Инфекция *M. pulmonis* у мышей и крыс может носить острый, хронический и латентный — бессимптомный характер.

На ранних стадиях заболевания *M. pulmonis* можно выделить из носовой полости и среднего уха крыс и мышей. Диссеминация инфекта происходит при снижении резистентности организма разными стресс-факторами.

Новорожденные мыши, аналогично крысам, свободны от инфекции *M. pulmonis*, инфицирование происходит в первые 2—3 недели их жизни. Как указывает Tully (1969), «микоплазма, однажды попавшая в респираторный тракт, остается здесь или в других тканевых участках в течение всей жизни животного». Это обстоятельство свидетельствует о пожизненной латенции микоплазм.

Ранние исследования экспериментальной инфекции *M. pulmonis* мышей осложнялись предшествовавшей латенцией этой микоплазмы в их организме, и только после выявления чистой линии мышей, лишенной носительства *M. pulmonis*, стало возможным изучить микоплазма-инфекцию *M. pulmonis* и ее эпизоотологию.

Пассируя через носовую полость легочной материал или экссудат среднего уха мышей с катаром дыхательных путей, удалось индуцировать заболевание. У всех мышей ринит осложнялся воспалением среднего уха и пневмонией; *M. pulmonis* регулярно выделялась из пораженных тканей (Nelson, 1958). Последующие наблюдения (Lutsky, Organick, 1966; Organick et al., 1966) на мышах-гнотобионтах, свободных от бактерий и микоплазм, подтвердили результаты более ранних исследований. Авторы воспроизвели в эксперименте типичное заболевание с выделением *M. pulmonis*. Ранние фазы поражения легких выражались в появлении гиперемированных больших очагов с лейкоцитарным экссудатом в альвеолах и бронхах. Затем развивалась гиперплазия бронхиальных клеток с гиперсекрецией мукополисахаридов. Через 2—3 недели очаги легочных поражений становились серыми; отмечалась резкая лимфоцитарная инфильтрация, наиболее выраженная в периваскулярных и перибронхиальных областях.

Электронномикроскопические исследования выявили скопления микоплазм на поверхности бронхиального эпителия, ресничках и микровилли. Проникновения микоплазм в клетки эпителия не обнаружено, тем не менее последние выглядели растянутыми; отмечалось разрушение митохондрий. Небольшие количества микоплазм найдены в альвеолах, где они были активно фагоцитированы полиморфноядерными лейкоцитами. Особое внимание привлекают данные о выявлении в цитоплазме альвеолярных клеток кольцевидных форм размером 500—100 мкм, содержащих более мелкие и плотные, окруженные мембраной элементарные тела размером 50—80 мкм. Авторы рассматривают наличие этих структур в цитоплазме

как показатель внутриклеточного размножения *M. pulmonis* в организме инфицированных ими мышей-гнотобионтов.

При моделировании респираторного заболевания, вызванного *M. pulmonis*, большое значение имеет содержание каталазы в крови. Увеличение концентрации фермента снижает патологическое воздействие *M. pulmonis*, снижение способствует более тяжелому течению заболевания. Каталаза нейтрализует образующуюся перекись водорода, которая продуцируется *M. pulmonis*, и обуславливает ее вирулентность (Brennan, Feinstein, 1969).

Патологический процесс, воспроизводимый экспериментально *M. pulmonis*, зависит от места ее введения. Так, при внутрибрюшинной инъекции самкам возникает тяжелый воспалительный процесс яичников, сопровождающийся выделением *M. pulmonis*.

Респираторный микоплазмоз птиц

Изучение микоплазма-инфекций птиц началось в 30-х годах Nelson (1933, 1936, 1938), выделившим из носового экссудата больных коризой птиц так называемые коккобациллярные тельца Нельсона. Они культивировались в куриных эмбрионах и клеточных культурах куриных эмбрионов. Заражение индюшат носовым экссудатом больных коризой цыплят сопровождалось появлением инфекционного синусита (IS). Несколько позднее стало известно о выделении вирусного агента в куриных эмбрионах, способного вызвать хроническое респираторное заболевание у цыплят (CRD). Успешное культивирование агентов IS и CRD на искусственной питательной среде (Edward, 1947) позволило Markham и Wong (1952) отнести их в группу микоплазм, назвав этого возбудителя *M. gallisepticum*.

M. gallisepticum является типичным представителем семейства Mycoplasmataceae, отличается полиморфизмом. Вместе с тем в культурах могут преобладать шаровидные микроформы. Их максимальные размеры 900—1400 мкм, минимальные 170—190 мкм. Они отличаются от других микоплазм структурой рибосом (Domermuth et al., 1964). *M. gallisepticum* растет на средах с добавкой дрожжевого экстракта (10%) и сыворотки, pH 7,4—8,0. Температурный оптимум 38—40°, более интенсивный рост отмечен при повышенной влажности и в присутствии CO₂. На плотных средах вырастают типичные колонии. *M. gallisepticum* ферментативно активна, обладает способностью вызывать гемагглютинацию, наиболее выраженную у патогенных штаммов, образует гемолизин, лизирующий эритроциты животных и птиц (Adler et al., 1961). Идентификацию *M. gallisepticum* осуществляют серологически.

Хроническая респираторная болезнь (CRD), вызванная *M. gallisepticum*, описана у кур, индеек, цесарок, фазанов, попугаев, голубей, куропаток, перепелок, павлинов. При этой болезни пропадает аппетит, появляются кашель, хрипы, отмечается отставание в развитии. Инкубационный период длится от 4 до 25 дней. Заболевание может протекать в острой, хронической и бессимптомной форме. Последняя нередко активизируется различными стресс-факторами, снижающими резистентность птицы.

У индеек инкубационный период, как правило, короче (до 14 дней). Встречается заболевание у взрослых и молодых птиц, оно чаще начинается с явлений инфекционного синусита; серозно-фибринозный экссудат, сдавливая глазное яблоко, нарушает зрение. Поражение легких и воздухоносных мешков проявляются хрипами, одышкой.

У кур, как правило, преобладают поражения органов дыхания, одышка, хрипы, двусторонний ринит. Наиболее восприимчивы цыплята и молодые куры в возрасте 5—8 месяцев.

На вскрытии обнаруживается гиперемия и отечность слизистых оболочек носовых ходов, катарально-фибринозное воспаление слизистой оболочки носа, подглазничных синусов, гортани, трахеи, скопления слизисто-гнойного и фибринозного секрета. В более поздние сроки отмечаются характерное набухание стенок воздухоносных мешков с наличием серозного, а затем фибринозного экссудата, фибриновые и фибринозно-некротические пневмонии и перикардиты (А. С. Серебряков и др., 1969).

При естественном инфицировании инфект проникает через слизистые оболочки верхних дыхательных путей, размножается в них и проникает в клетки респираторного эпителия и подлежащие ткани. Уже через 7 дней после заражения возникает лимфофолликулярная реакция в трахее, легких и воздушных мешках, отмечается пролиферация мононуклеарных клеток, дистрофия и десквамация клеток респираторного эпителия. Дальнейшие фазы заболевания (13—30 дней после заражения) характеризуются усилением экссудации и пролиферации лимфоидных и плазматических клеток слизистой оболочки верхних дыхательных путей.

В легких выражена пролиферация лимфоидных, плазматических и эпителиальных клеток. Иногда изменения ограничиваются клеточной пролиферацией в слизистой бронхов. В воздухоносных мешках развивается серозное и фибринозное воспаление, отмечена инфильтрация стенок лимфоидными, гистиоцитарными, плазматическими клетками, фибробластами и псевдоэозинофилами.

Определение этиологической роли *M. gallisepticum* при хронической респираторной болезни птиц послужило основанием для рекомендации, принятой на XXIX сессии Международного эпизоотологического бюро в 1961 г., назвать это заболевание птиц респираторным микоплазмозом.

Микоплазмоз птиц — весьма распространенное заболевание, зарегистрированное во многих странах мира, особенно с высокопродуктивным птицеводством (США, Канада, Англия, Голландия, Франция, Италия, Швейцария, Югославия, Болгария, Индия, Израиль, АРЕ, Южная Африка, Австралия).

По данным XIII Международного конгресса по птицеводству, проходившему в Киеве в 1966 г., ежегодный убыток от микоплазмоза составляет 124 млн. долларов. В СССР заболевание завезено в 1959—1960 гг. с цыплятами и птицами, импортированными из США и Канады. Экономический ущерб обусловлен смертностью птиц и эмбрионов, вынужденным убоем птицы, снижением яйценосности, оплодотворяемости, выведения цыплят и задержкой их роста. Смертность цыплят варьирует от 5 до 50%. Этот процент в значительной мере зависит от осложнения микоплазмоза вирусными и бактериальными инфекциями. Гибель эмбрионов от микоплазмоза наступает в 8,5—20% случаев.

Источником инфекции являются больные куры и индейки. Перенос инфекции осуществляется трансвариально, при этом лишь небольшая часть эмбрионов и цыплят гибнет. Цыпленок-микоплазмозоноситель заражает цыплят своего выводка путем контакта или аэрозольным инфицированием. У взрослой птицы инфекция остается хронической, а иногда и бессимптомной, но передается трансвариально из поколения в поколение. Суперинфекция различными вирусными или бактериальными агентами, а также факторы, снижающие резистентность (авитаминозы, охлаждение и др.), активируют микоплазмоз.

Помимо трансвариальной передачи, микоплазмоз может распространяться контактным, воздушно-капельным путем. У птиц с выраженными признаками микоплазмоза возбудитель, как правило, выделяется часто. Тем не менее частота его выделения колеблется. Помимо микробиологических находок, для диагностики микоплазмоза птиц с большой эффективностью используют серологические показатели присутствия микоплазма-инфекции (Fabricant, 1969; В. А. Шубин, 1970.)

Для выявления микоплазма-инфекции в пораженных хозяйствах используют: 1) метод иммунофлуоресценции для непосредственной диагностики микоплазм в препарате; 2) посев соответствующего материала на селективные питательные среды; 3) пассажи в культурах клеток с последующим высевом на бесклеточные среды; 4) систематическое серологическое обследование поголовья на наличие специфических антител к микоплазмам. Антиген, используемый для серологических реакций (агглютинации, связывания комплемента и торможения гемагглютинации), должен представлять собой пул из наиболее распространенных в данной местности серотипов птичьих микоплазм.

Микоплазмоз снижает иммунологическую реактивность птиц, тормозит формирование поствакцинального вирусного иммунитета (Adler, McMartin, 1960; Hubrig, 1963). Вместе с тем клиническое течение микоплазмоза усиливается при вакцинации птиц вирусными вакцинами (Fabricant, 1969).

Для экспериментального инфицирования используются главным образом индейки, реже куры. Микоплазмоз при этом воспроизводится непостоянно в зависимости от вирулентности применяемой культуры и ее дозировки. Большую роль играют разные ослабляющие резистентность птиц стресс-факторы.

О возможности экспериментального заражения птиц культурами микоплазм свидетельствуют работы ряда исследователей. Ose, Barnes и Gosset (1960) доказали возможность заражения цыплят патогенным штаммом при использовании комбинированного метода заражения — внутривенно и в воздухоносный мешок. А. Я. Фомина, Г. А. Грошева и В. С. Осколков (1964) воспроизвели экспериментальное заражение кур внутривенным и внутритрахеальным введением *M. gallisepticum* (штамм S₆ — серологический тип II). Микоплазмы выделялись в различные сроки из трахеи, головного и костного мозга, сердца, печени, яйцеводов, яичников и фекалий. При заражении 8—9-дневных эмбрионов в желточный мешок и хорион-аллантаоисную полость погибало 38—50% эмбрионов, в том числе на 2—3-и сутки после заражения 23—30%, на 4—5-е сутки 8—10% и позже 2—5%. Обнаружены отеки и кровоизлияния в коже, паренхиме печени, под скорлупой и в хорион-аллантаоисной оболочке.

Патогенность микоплазм особенно хорошо выявлялась при аэрозольном методе заражения и заражении в воздухоносный мешок кур и цыплят. Клинические признаки заболевания обнаружены у 7 из 75 птиц в возрасте 1½—2 месяцев на 2—3-й день после заражения, на 17—25-й день погибло 3 птицы. Специфические тормозящие гемагглютинацию антитела выявлены на 5—7-й день после заражения. Максимальный подъем титров отмечался на 16—20-й день, а снижение — через 27—30 дней. Об успешном экспериментальном инфицировании индюшат при их заражении в подглазничные синусы и воздухоносные мешки сообщают М. Т. Прокофьева, Е. М. Гурова, В. В. Кирпич, В. В. Герман (1964), которые воспроизвели насморк и синуситы с последующим поражением воздухоносных мешков на 13—14-й день после заражения. Fabricant (1969), анализируя экспериментальный и естественно возникший респираторный

микоплазмоз кур, отмечает появление осложнений в виде сальпингитов. Кроме того, некоторые штаммы *M. gallisepticum* поражают синовиальные оболочки многих суставов, нередко возникают бурситы, из пораженных очагов выделяется данная микоплазма.

Автор описывает более тяжелое течение респираторного микоплазмоза у индеек, наличие осложнений в виде поражения синовиальных оболочек и суставов, а также необычную форму тяжелого осложнения в виде энцефалита, описанного еще в 1957 г. Cordy и Adler (Fabricant, 1969).

Помимо *M. gallisepticum*, некоторые другие микоплазмы (*M. meleagridis* типы I, J, K, N, Q и R) рассматриваются как возможные возбудители респираторных заболеваний индеек и их эмбрионов (Yamamoto, 1967). Кроме того, известно, что *M. laidlawii* var. *inosum* связана с коризой птиц и была выделена из пораженных инфраорбитальных синусов (Adler, Shifrine, 1964).

* * *

Известны возбудители респираторных заболеваний млекопитающих животных: *M. mycoides* var. *mycoides*, *M. mycoides* var. *capri*, *M. hyorheumoniae* и *M. pulmonis*. Наиболее полно изученным представителем семейства *Mycoplasmataceae*, этиологически связанным с контактной плевропневмонией крупного рогатого скота, является *M. mycoides* var. *mycoides*. Эпидемиология, патогенез, клиническое течение, эпизоотология и вакцинопрофилактика этого заболевания хорошо известны.

Заболевание характеризуется острыми, подострыми, хроническими и латентными формами, сходством естественно возникших заболеваний и экспериментально индуцированных.

M. mycoides var. *capri* — возбудитель контактной плевропневмонии коз и овец, заболевания, сходного с соответствующим заболеванием крупного рогатого скота. В естественных условиях болеют только козы, при искусственном инфицировании болеют также овцы. Заболевание чаще всего протекает остро. При экспериментальном инфицировании встречаются тяжелые осложнения в виде целлюлитов, отеков в месте инъекции и артритов.

M. hyorheumoniae (*M. suisheumoniae*) — возбудитель энзоотической пневмонии свиней, протекающей в виде клинически выраженных и стертых форм заболеваний. Отмечена весьма интересная особенность этого заболевания, заключающаяся в сходстве лимфоидной реакции, характерной для энзоотической пневмонии свиней, с соответствующей реакцией, сопровождающей микоплазма-пневмонию человека.

M. pulmonis — возбудитель инфекционного катара верхних дыхательных путей, бронхопневмонии и бронхоэктатической болезни крыс и мышей. Заболевание, как правило, является результатом активации латентной инфекции *M. pulmonis*, чрезвычайно широко распространенной в колониях грызунов. Сопровождается заболевание осложнениями в виде воспаления среднего уха и бронхопневмонии. Обращает на себя внимание то обстоятельство, что, несмотря на выраженный аффинитет *M. pulmonis* к респираторным органам, внутрибрюшинное введение этой микоплазмы самкам вызывает воспаление яичников.

Изучение эпизоотологии респираторных микоплазма-инфекций млекопитающих свидетельствует о том, что источником инфекции является больное животное или микоплазмоноситель, а путь передачи микоплазма-инфекции — капельно-контактный.

Микоплазмоз птиц этиологически обусловлен *M. gallisepticum*. Это заболевание известно под названием хронической респираторной болезни

птиц, которая распространена во многих странах. Заболевание в естественных и экспериментальных условиях осложняется сальпингитами, синовитами и артритами.

Источником инфекции являются больные птицы; перенос инфекции осуществляется трансвариально или капельно-контактным путем.

ГРУППА МИКОПЛАЗМ, СВЯЗАННЫХ С ЗАБОЛЕВАНИЯМИ МОЧЕПОЛОВОГО ТРАКТА

МИКОПЛАЗМА-ИНФЕКЦИЯ ЧЕЛОВЕКА

Начало изучению роли микоплазм в патологии мочеполовой сферы человека было положено Dienes и Edsall (1937), впервые выделившими этот агент из абсцесса бартолиниевой железы.

Последующее изучение заболеваний урогенитальной сферы, ассоциирующихся с микоплазма-инфекцией, позволило дифференцировать их на хронические и острые формы.

К хроническим заболеваниям, связанным с микоплазма-инфекцией, следует в первую очередь отнести так называемые негонококковые уретриты (НГУ), известные также под названием неспецифических (НСУ), небактериальных и негонорейных. Эта группа объединяет различные по происхождению заболевания, которые, вероятно, монопатогенны по проявлениям и полиэтиологичны по природе. По описанию Harkness и Henderson-Begg (1948), к этой группе можно причислить 14 разных по происхождению уретритов, например, таких, как подострый уретрит типа Welsh, остаточные уретриты после безуспешного лечения гонорей (без выделения гонококка), травматические уретриты, уретроррея, сперматоррея и др. По определению Международного симпозиума в Канаде (1959), к негонококковым уретритам относятся заболевания неясной этиологии с длительным инкубационным периодом (от 10 дней до 4 недель), резистентные к антибиотикотерапии, имеющие тенденцию перехода в латентную форму, дающие частые рецидивы. Первоначально предполагалась вирусная этиология этих уретритов. В соскобах эпителиальных клеток уретры были найдены тельца-включения, однако изолировать вирус путем введения материала в легкие и мозг мышам, в суставы обезьянам бабуинам не удалось.

Негонококковые уретриты в последнее время привлекают внимание исследователей большинства стран мира не только из-за высокой частоты этого заболевания, равной заболеваемости гонореей (Ford, 1969), но и в связи с сопровождающими их тяжелыми осложнениями (поражения слизистых оболочек глаз, кожи и иногда даже сердца).

Помимо НГУ, которые часто встречаются у мужчин, микоплазма-инфекция обнаруживается при хронических воспалительных процессах урогенитальной сферы женщин (циститы, пиелодиститы, вагиниты, сальпингиты, воспаления и абсцессы яичников, сальника, бартолиниевой железы и др.). Доказательства наличия микоплазма-инфекции при данных заболеваниях получены при микробиологических и серологических исследованиях, проведенных в разных странах и континентах. Вместе с тем при обследовании здоровых людей без заболеваний в анамнезе нередко также выделялись микоплазмы, что является показателем существования бессимптомной формы микоплазма-инфекции в виде микоплазм-носительства.

В США Dienes с соавторами (1948) при обследовании 315 больных (уретриты, простатиты, гоноррея, трихомонадный вагинит, цервицит,

абсцесс бартолиниевой железы, сальпингит) и лиц практически здоровых обнаруживали микоплазмы независимо от наличия патологических явлений у 26% женщин и у 8—9% мужчин. Morton с соавторами (1951) находили микоплазмы у 50% женщин и у 19% мужчин, обследовавшихся по поводу уретритов, простатитов, цервицитов, гонореи, циститов и пиурии.

Распространенность микоплазма-инфекции урогенитальной сферы в США отмечают авторы и более поздних сообщений (Shepard, 1967; Ford, 1969, и др.).

В Австралии Beveridge (1943) выделил микоплазмы у 4 больных НГУ мужчин из 24 обследованных. Аналогичные результаты получены Williams (1946) и Beveridge с соавторами (1946), которые высевали микоплазмы у 27% женщин с НГУ, сопровождавшихся эрозией шейки матки и у 20% больных НГУ мужчин; у здоровых мужчин (67 человек) микоплазмы не обнаружены, но выделены у 16% здоровых женщин.

В Англии микоплазма-инфекция урогенитальной сферы выявляется с 1945 г. и до самого последнего времени (Harkness, Henderson-Begg, 1948; Harkness, 1950; Klieneberger-Nobel, 1962; Csonka, Williams, Corse, 1967; Taylor-Robinson et al., 1969, и др.).

Klieneberger-Nobel (1945) выделяла микоплазмы у 40% женщин с венерическими заболеваниями, у 34% больных хроническими гинекологическими заболеваниями и у 14% беременных женщин. Salaman с соавторами (1948) обнаруживали микоплазма-инфекцию в 44% случаев неспецифических цервицитов у женщин, у 6% страдающих НГУ мужчин и у 14% практически здоровых мужчин. Наблюдалась тесная связь гонококковой и микоплазма-инфекции (30—60%). По Taylor-Robinson с соавторами (1969), неидентифицированные виды микоплазм выделены в 19,5% от 2252 больных мужчин и в 17,5% от 839 здоровых мужчин. Они обнаружены в 49% у 346 обследованных больных и в 21% у 886 здоровых женщин.

В Голландии Ruiter и Wentholt (1953) выделяли микоплазмы, обозначенные ими как штаммы UG, у 25% мужчин с НГУ и у 70% женщин с лейкореей.

Микоплазма-инфекция урогенитальной сферы была обнаружена также в Скандинавских странах. Так, Melen и Linors (1952) выявили микоплазмы у 18% мужчин с НГУ и у 17% здоровых. При гонококковых уретритах они были обнаружены в 11%. Корреляции тяжести течения НГУ и наличия микоплазм не отмечено. Melen с соавторами (1951, 1952, 1953) выделяли микоплазмы у 76% женщин с воспалительными процессами тазовых органов и у 19% здоровых. Среди замужних женщин они найдены у 16—23% и не обнаружены у 13 обследованных девственниц. Авторы связывают микоплазмонительство у здоровых женщин с периодичностью менструального цикла.

Определению видового состава микоплазм урогенитальной сферы человека положили начало исследования Nicol и Edward (1953), обследовавших 468 мужчин и женщин с разными заболеваниями (НГУ, цервицит, гонорея, трихомониаз) и идентифицировавших 91 штамм, выделенный ими, и 13 штаммов, полученных из других лабораторий (Англия, Франция, Голландия, США). Все штаммы дифференцировались на 3 типа (1, 2, 3). Тип 1 по классификации Edward и Freundt (1956) соответствовал *M. hominis* 1, тип 2 — *M. hominis* 2 и тип 3 — *M. fermentans*. 95% культур, выделенных в Англии, идентифицировались как *M. hominis* 1; 3 штамма из США и один из Голландии были отнесены соответственно к *M. hominis* 2 и *M. fermentans*.

До 60-х годов преобладало мнение, что при урогенитальных заболеваниях, в том числе уретритах, в Европе (Англия, Франция, Дания и др.)

распространена инфекция *M. hominis* 1. *M. hominis* 2, позднее идентифицированная как *M. arthritidis*, чаще выделялась в США (Dienes, Madoff, 1953). Позже была установлена распространенность *M. hominis* 1 и в этой стране, сообщений об инфекции *M. hominis* 2 при НГУ мы не встречали.

M. fermentans выделялась при баланите и фузоспириллярном вульвовагините. Имеются данные о выделении этой микоплазмы при язвенном повреждении penis (Ruiter, Wenthoff, 1950). Этот вид встречается в пробах урогенитального тракта здоровых людей и его обычно относят к комменсалам. *M. hominis* и *M. fermentans* отнесены к так называемым классическим микоплазмам, дающим на плотных питательных средах колонии диаметром 100—200 мк.

T-штаммы семейства *Mycoplasmataceae* впервые описаны в 1954 г. Shepard (1958), которая их обнаружила в виде мельчайших кокковидных телец в соскобах уретры мужчин. Они растут в виде мельчайших колоний диаметром 20—25 мк и поэтому названы T-формами (от слова tiny — крошечные). T-формы отличаются способностью окрашиваться и характером роста на агаре. Колонии состоят из мельчайших кокковидных частиц, окруженных желатинообразной матрицей, имеющей сродство к пиронину В и акридиновому оранжевому. Зрелые кокковидные частицы внутри желатинообразного окружения состоят из ДНК (Shepard, 1967). Вначале субкультивирование T-штаммов проводят только на жидкой питательной среде, которую они не мутят. Рост регистрируют по появлению микроскопически видимых хлопьев или их агрегатов, состоящих из описанных выше кокковидных структур.

Принципиальное сходство T-штаммов с семейством *Mycoplasmataceae* заключается в отсутствии клеточной стенки, наличии трехслойной цитоплазматической мембраны, сходстве пищевых потребностей (культивирование возможно лишь в присутствии асцитической жидкости или сыворотки млекопитающих), способности ингибироваться гомологичными антисыворотками, резистентности к пенициллину. Основной средой культивирования T-штаммов является, как и для других микоплазм, триптический перевар бычьего сердца или триптиказо-соевый бульон с добавлением дрожжевого гидролизата и нормальной сыворотки млекопитающих. В лаборатории Ford (1969) были разработаны эффективные среды и условия культивирования T-штаммов, отмечено поверхностное разрастание вросших в агар колоний в атмосфере 80% N и 20% CO₂.

T-штаммы обладают уреазной активностью, метаболизируют мочевины до солей аммония, поэтому исходный оптимум pH 6,5 или менее повышается до 8,0 при максимальном размножении микоплазм (Purcell et al., 1966; Shepard, 1966; Shepard, Lunceford, 1967; Ford, McDonald, 1967). Эта особенность T-штаммов используется при их культивировании в среде с феноловым красным, цвет которого при росте микоплазм изменяется, а также в серологическом тесте ингибирования метаболизма (Taylor-Robinson et al., 1969). Высокое содержание мочевины в сыворотке лошади обуславливает более высокую эффективность использования ее для культивирования T-штаммов.

T-штаммы микоплазм отличаются от классических представителей этого семейства более быстрым ростом (10—16 часов), однако достигают более низких максимальных титров. Первоначально T-штаммы выделяли и культивировали при pH 7,6—7,8, затем был установлен оптимум pH 6,0—6,5, отличающийся от оптимума pH для других микоплазм. T-штаммы более чувствительны к эритромицину (Shepard, 1966) и ацетату таллия (Shepard, Lunceford, 1967), чем другие микоплазмы; 5-йодо-2'-дезоксиринидин ингибирует рост T-штаммов в концентрации от 31,2 мг/мл

ТАБЛИЦА 30. ЧАСТОТА ВЫДЕЛЕНИЯ МИКОПЛАЗМ ПРИ НГУ И НЕКОТОРЫХ ДРУГИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ МОЧЕПОЛОВОЙ СФЕРЫ, А ТАКЖЕ ОТ ЗДОРОВЫХ МИКОПЛАЗМОНОСИТЕЛЕЙ (ПО МАТЕРИАЛАМ UROLOGIA INTERNALIS, 1959; KLIENEBERGER-NOBEL, 1962; SHEPARD, 1966, 1967; TAYLOR-ROBINSON ET AL., 1969; FORD, 1967, 1969)

| Больные | | | | | | | | | Условно здоровые | | | | | | | | | Авторы |
|---|---------------|------|---------------------|---------------|---|---------------|---------------|---|---|---------------|----|---------------------|---------------|---|---------------|---------------|---|--------------------------------------|
| выделенные микоплазмы не идентифицированы | | | <i>M. hominis</i> I | | | T-штаммы | | | выделенные микоплазмы не идентифицированы | | | <i>M. hominis</i> I | | | T-штаммы | | | |
| число случаев | число находок | % | число случаев | число находок | % | число случаев | число находок | % | число случаев | число находок | % | число случаев | число находок | % | число случаев | число находок | % | |
| 24 | | 17 | | | | | | | — | | — | | | | | | | Beveridge, 1943 |
| 70 | | 20 | | | | | | | 67 | | 0 | | | | | | | Beveridge, Campbell, Lind, 1946 |
| 45 | | 7 | | | | | | | 28 | | 14 | | | | | | | Solaman, 1946 |
| 839 | | 16,8 | | | | | | | 50 | | 0 | | | | | | | Harkness, Henderson-Begg, 1948, 1950 |
| 71 | | 19,4 | | | | | | | — | | — | | | | | | | Harkness et al., 1951 |
| 61 | | 18 | | | | | | | 60 | | 16 | | | | | | | Melón, Linors, 1952 |
| 140 | | 126 | | | | | | | 20 | | 11 | | | | | | | Nicol, Edward, 1953 |
| 75 | | 10,6 | | | | | | | 20 | | 0 | | | | | | | Wagner et al., 1953 |
| 631 | | 7,4 | | | | | | | — | | — | | | | | | | Durel et al., 1954 |

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----------|------------|-----|----|----|-----|----|----|-----|------|-------------|----|----|-----|----|----|--|
| 38 | 53 | | | | | | | 112 | 18 | | | | | | | Shepard, 1954 |
| 120 | 27 | | | | | | | 115 | 19,1 | | | | | | | Röckl et al., 1954 |
| 500 | 70 | | | | 74 | 46 | 62 | | | | | | | | | Shepard, 1956, 1959 |
| 109 45 | 30,3 60 | | | | | | | 28 | 36 | | | | | | | Freundt, 1956 |
| 75 | 44 | | | | | | | 51 | 9,8 | | | | | | | Willkinson, Wittington, 1959 |
| 65 | 48 | | | | | | | 100 | 3 | | | | | | | Klieneberger-Nobel, 1962 |
| | | 45 | 8 | 18 | 45 | 27 | 60 | | | 25 | 2 | 8 | 25 | 7 | 28 | Ford et al., 1962 |
| | | | | | | | | | | заклученные | | | | | | |
| | | | | | | | | | | 30 | 7 | 23 | 30 | 5 | 17 | |
| | | | | | | | | | | 100 | 37 | 37 | 100 | 47 | 47 | Ford, Du Vernet, 1963 (см. Ford, 1967) |
| | | 100 | 27 | 27 | 100 | 79 | 79 | | | 100 | 10 | 10 | 100 | 21 | 21 | |
| | | | | | | | | | | повобранцы | | | | | | |
| | | | | | 64 | 33 | 52 | | | | | | | | | Shepard, 1964 |
| | | 101 | 17 | 17 | 100 | 71 | 70 | | | 95 | 9 | 9 | 95 | 12 | 13 | Csonka et al., 1966 |

ТАБЛИЦА 30 (продолжение)

| Больные | | | | | | | | | Условно здоровые | | | | | | | | | Авторы |
|--|---------------|------|---------------------|---------------|------|---------------|---------------|----|--|---------------|------|---------------------|---------------|----|---------------|---------------|------|------------------------|
| выделенные микроплазмы не идентифицированы | | | <i>M. hominis</i> 1 | | | Т-штаммы | | | выделенные микроплазмы не идентифицированы | | | <i>M. hominis</i> 1 | | | Т-штаммы | | | |
| число случаев | число находок | % | число случаев | число находок | % | число случаев | число находок | % | число случаев | число находок | % | число случаев | число находок | % | число случаев | число находок | % | |
| | | | | | | 45 | 30 | 66 | | | | 15 | 1 | 7 | 15 | 0 | 0 | Ingham et al., 1966 |
| | | | | | | | | | | | | мальчики | | | 54 | 26 | 48 | |
| | | | 104 | 39 | 37,5 | 104 | 22 | 21 | | | | 75 | 16 | 21 | 75 | 7 | 9 | Holmes et al., 1967 |
| | | | 56 | 11 | 20 | 56 | 26 | 46 | | | | 53 | 5 | 9 | 53 | 31 | 58,5 | Black, Rasmussen, 1968 |
| | | | | | | | | | | | | новобранцы | | | 16 | 4 | 25 | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | Shiply et al., 1968 |
| | | | | | | 24 | 17 | 70 | | | | | | | 13 | 3 | 23 | |
| | | | 30 | 12 | 40 | 30 | 19 | 63 | | | | | | | | | | Dunlop et al., 1969 |
| | | | | | | 179 | 95 | 53 | | | | | | | 123 | 50 | 41 | Fowler, Leeming, 1969 |
| | | | | | | 50 | 41 | 80 | | | | | | | 21 | 5 | 24 | Csonka, 1969 |
| 2252 | — | 19,5 | 574 | — | 22,5 | | | | 839 | — | 17,5 | 348 | — | 12 | | | | |
| мужчины | | | | | | | | | мужчины | | | | | | | | | |
| 1346 | — | 49 | 128 | — | 46 | | | | 886 | — | 21 | 135 | — | 16 | заклученные | | | |
| женщины | | | | | | | | | женщины | | | | | | | | | |

до 250 мг/л (при рН 7,6); подавление роста других видов микоплазм отмечено при использовании 1000 мг/мл (рН 7,6). Ингибирование роста Т-штаммов может быть предотвращено введением в среду тимидина, который препятствует включению 5-йод-2'-дезоксисуридина. Последний обладает также антивирусным действием, включаясь в ДНК таких вирусов, как вирус вакцины или вирус псевдобешенства, т. е. отмечается некоторая аналогия его действия на вирусы и Т-штаммы.

Интересно отметить, что антилейкозный препарат оксимочевина не утилизируется Т-штаммами и ингибирует их рост. Т-штаммы не ферментируют углеводы, каталазоотрицательны, продуцируют β -гемолизин, лизирующий эритроциты морской свинки (отмечено слабое гемолитическое действие его по отношению к эритроцитам человека и барана; эритроциты лошади, быка, свиньи, кролика и курицы не гемолизуются).

В соскобах эпителия уретры Т-штаммы выглядят в виде кокковидных или удлинённых элементов, располагающихся в цитоплазме эпителиальных клеток или вне их. При НГУ нередко их находят фагоцитированными полиморфноядерными лейкоцитами. Пассирование Т-штаммов на куриных эмбрионах в хорион-аллантоической жидкости и желточном мешке сопровождалось размножением данной микоплазмы без выраженного цитопатического эффекта.

Микоплазмы Т-штаммов хорошо пассируются в культуре куриных эндодермальных клеток. После 2—4 слепых пассажей они обнаруживаются в виде внутриклеточных включений (окраска по Гимзе), весьма сходных с включениями, выявляемыми в соскобах уретры больных НГУ. После 9—12 пассажей в тканевой культуре штаммы хорошо росли и перевивались на искусственных средах в виде слегка гранулярных, хорошо окрашивающихся по Динесу колоний диаметром 6—15 мк, реже 20 мк, состоящих из мелких одинаковых по форме и размеру гранул.

Эти штаммы активно размножались в клетках HeLa, вызывая цитопатические изменения, обладали способностью вызывать гемагглютинацию куриных эритроцитов в разведении 1 : 64 и больше (Shepard, 1960).

Изучение антигенных особенностей Т-штаммов началось недавно. Пока установлено существование 6 разных серотипов, дающих, однако, перекрестные серореакции (Ford, 1967).

Подробные сведения о распространенности микоплазма-инфекции при хронических заболеваниях урогенитальной сферы и у здоровых людей с указанием видовой принадлежности микоплазм приведены в табл. 30.

Из табл. 30 видно, что при хронических заболеваниях мочеполовой сферы, преимущественно уретритах, выделялось от 7 до 70% неидентифицировавшихся видов микоплазм, от 17 до 46% — *M. hominis* 1 и от 20 до 80% — представителей Т-группы. В то же время в контрольных группах (лица без выраженных симптомов заболевания) частота обнаружения неидентифицировавшихся видов микоплазм составляла до 36%, *M. hominis* 1 — до 37% (37% у заключенных — условно здоровых лиц) и Т-группа — от 13 до 58,5%. Преобладание микоплазма-инфекции у больных очевидно, однако обращает на себя внимание факт, что частота выделения микоплазм значительно варьирует как у больных, так и у здоровых. Причины вариабельности многообразны: 1) условность критериев отбора больных (сложность дифференциального диагноза НГУ, фаза заболевания, отсутствие тщательной уретроскопии и т. д.); 2) условность отбора контрольных групп без учета возрастной половой активности, гигиенических и социальных условий жизни, например максимальное выделение микоплазм (30%) у здоровых мужчин, имевших недавний половой контакт, по сравнению с мужчинами, не имевшими контакта (14%) (Holmes et al.,

1967); высокий показатель обнаружения T-штаммов (47 и 21%) у заключенных и новобранцев (Ford, Du Vernet, 1963), у новобранцев и студентов (58,5 и 37%) (Black, Rasmussen, 1968); 3) кратность взятия проб для исследования повторные взятия материала обычно ведут к более высокой частоте выделения (20—25%), хотя и не влияют на соотношения результатов у разных одновременно обследованных групп (Fowler, Leeming, 1960); 4) статистически достоверное соотношение обследовавшихся групп; 5) наличие смешанной микоплазма-бактериальной инфекции; 6) техника отбора проб, при которых отмечаются более высокие показатели выделения *M. hominis*; 7) количество и равноценность взятого материала; 8) качество используемых для посева питательных сред и др.

Результаты изучения микоплазма-инфекции, полученные у нас в лаборатории (И. С. Новикова, Л. М. Курносова, 1969) и на кафедре микробиологии I Ленинградского медицинского института имени И. П. Павлова (С. С. Автушенко, 1974), свидетельствуют о значительной частоте выделения *M. hominis* при НГУ, гонорее и трихомонназе (табл. 31). Если рас-

ТАБЛИЦА 31. СВОДНЫЕ ДАННЫЕ О ЧАСТОТЕ ВЫДЕЛЕНИЯ МИКОПЛАЗМ ИЗ УРОГЕНИТАЛЬНОЙ СФЕРЫ МУЖЧИН И ЖЕНЩИН, ОБСЛЕДОВАННЫХ В МОСКВЕ И КОСТРОМЕ (СОСТАВЛЕНА ПО МАТЕРИАЛАМ И. С. НОВИКОВОЙ И Л. М. КУРНОСОВОЙ, 1961; С. С. АВТУШЕНКО, 1974)

| Группа обследованных | Число обследованных | Выделение микоплазм, % | Видовая идентификация |
|---|---------------------|------------------------|---|
| Больные НГУ | 145 | 31,5 | 150 штаммов, за исключением 3, идентифицированы как <i>M. hominis</i> 1; 3 — как <i>M. fermentans</i> |
| Больные гонореей | 139 | 36,5 | |
| Больные трихомонназом и лица, имевшие контакт по трихомонназу | 60 | 35 | |
| Лица с воспалительными процессами | 90 | 3 | |
| Мужчины-импотенты | 48 | 14,8 | |
| Практически здоровые | 85 | 15 | |

смагивать группу НГУ как полиэтиологическую, то в части случаев вполне можно допустить, что микоплазмы являются этиологическим агентом. Обнаружение микоплазм у практически здоровых людей может явиться показателем существования латентной, бессимптомной инфекции или микоплазмонительства. Эта бессимптомно протекающая инфекция может активироваться различными стресс-факторами, провоцирующими возникновение заболевания.

Одним из аргументов, выдвигаемых против этиологической роли *M. hominis* при НГУ, является ее резистентность к эритромицину. Этот антибиотик бывает эффективным при терапии некоторых форм НГУ (Shepard et al., 1966). Однако в группе НГУ известны формы, при которых весьма эффективна терапия стрептомицином и окситетрациклином, к которым *M. hominis* 1 чувствительна.

Эпидемиологический анализ характера передачи микоплазма-инфекции также указывает, что в ряде случаев они могут явиться причиной заболевания. Так, в работе Krücken и Fabri (1955), в подробном обзоре Morton (1959) приводится значительное число примеров возникновения заболевания вследствие полового контакта с больным партнером или партнером-микоплазмонителем, при этом у обоих партнеров обнаруживается один и тот же вид микоплазм. Morton отмечает, что при микоплазма-уретритах

имеется половой путь передачи возбудителя. В связи с этим мероприятия должны быть такими же, как при других венерических заболеваниях.

Связь Т-штаммов с НГУ и микоплазмонительство в течение последнего десятилетия изучались путем обследования больных мужчин и женщин и прослеживания их половых контактов у ограниченных групп населения, супружеских пар, а также у больших контингентов военных моряков и лиц, контактировавших с ними. Т-штаммы были выделены у 37% из 86 женщин, больных лейкореей (Ford, 1967). При обследовании 21 женщины, чьи мужья страдали неспецифическими уретритами, Т-штаммы были выделены у 5 из 11 женщин без признаков воспалительных процессов и у 8 из 10 женщин с цервицитами или вагинитами (Csonka et al., 1967).

Несмотря на относительно высокий процент положительных находок Т-штаммов среди условно здоровых лиц, отмечаемый отдельными исследователями (Black, Rasmussen, 1968; Ingham et al., 1966), преобладание этой группы микоплазм у больных несомненно. Исключительный интерес представляют данные эпидемиологического наблюдения Shepard (1964), изучившей НГУ, их связь с Т-штаммами и другими видами микоплазм, а также место среди других заболеваний мочеполовой сферы у моряков на разных военно-морских базах США.

Первое наблюдение было проведено на 1000 моряков, больных НГУ. У 70% из них были выделены Т-штаммы. У женщин, имевших половые контакты с ними, носительство Т-штаммов микоплазм обнаружено в 44%. Последующие исследования были проведены на военно-морских базах Субик, Лусена на Филиппинах. Под наблюдением состояло около 10 тыс. моряков, а в ближайшем городе, примыкавшем к базе Олонгапо, обследовались женщины, имевшие контакт с моряками. В задачу исследования входило выяснение частоты уретритов, не связанных с гонореей, осложнение НГУ гонококковой инфекцией, резистентной к пенициллину, этиологическая связь НГУ с Т-штаммами, носительство Т-штаммов в генитальном тракте женщин, имевших соответствующие половые контакты.

Среди обследуемых мужчин у 38% в анамнезе были уретриты, у 86% зарегистрированы половые связи на Филиппинах, в том числе у 70% — в городе Олонгапо. Профилактические мероприятия по предотвращению контактов вообще не проводились.

Обобщенные данные, характеризующие заболеваемость, свидетельствуют о том, что 68% были больны гонореей, у 26% встречался уретрит, ассоциирующийся с выделением Т-штаммов, 11% имели уретрит, связанный с другими микроорганизмами, и у 7% был уретрит неизвестной этиологии.

Из 100 обследованных женщин, контактировавших с моряками, Т-штаммы выделены у 61% (в том числе у 27% из шейки матки и уретры, у 23% — только из уретры и у 11% — только из шейки матки); у 68% женщин выделены классические штаммы микоплазм, 50% имели смешанную микоплазма-инфекцию (Т-штаммы + классические штаммы). У этих же 100 обследованных женщин гонококк выделен в 30%, 7% имели кандиды, 7% — трихомонасы и 1% — неидентифицированный штамм вибриона. Весьма примечательны выводы, сделанные на основании этой работы. Уретрит, связанный с Т-штаммами, следует отнести к венерическим заболеваниям. Он характеризуется слизисто-гнойными, необычными выделениями, зудом в уретре, частыми мочеиспусканиями. В процесс часто вовлекается простата, нередко болезнь принимает хроническое течение с перемежающимися обострениями. Инкубационный период составляет 3—5 недель. Мужчины заражаются половым контактом, женщины являют-

ся носителем Т-штаммов микоплазм. Проявление заболевания у женщин не описано, предполагается бессимптомное носительство Т-штаммов. Бессимптомная инфекция может наблюдаться и у мужчин. Диагноз зависит от анамнеза, клинических данных, выделения и идентификации микоплазм. Лечение тетрациклином и окситетрациклином в этих случаях эффективно (500 мг каждые 6 часов в течение 10 дней).

Обнаружение микоплазм при венерических заболеваниях может свидетельствовать о возможной активации микоплазма-инфекции под влиянием специфической бактериальной флоры.

Помимо хронических и бессимптомных форм микоплазма-инфекции ведутся весьма интенсивные поиски значения микоплазм при нарушениях беременности и ее септических осложнениях. Так, в наиболее ранних сообщениях (Singerland, Morgan, 1952; Stokes, 1955) приводятся данные о выделении микоплазм из крови при пuerперальном сепсисе и о серологическом подтверждении этих находок. Далее появилось сообщение Tully (1955) о выделении *M. hominis* 1 при аборте, сопровождавшемся септицемией. Было обнаружено 16-кратное нарастание титров антител к аутоштамму и прототипному штамму *M. hominis* 1. При обследовании 62 спонтанно абортировавших женщин у 8% из легких плода была выделена *M. hominis* 1; установлена определенная корреляция между выделением микоплазмы и присутствием комплементсвязывающих антител в сыворотке абортировавших женщин. Jones (1967a, b), Jones и Tobin (1968) подчеркивают этиологическое значение *M. hominis* 1 при абортальном и пuerперальном сепсисе и осложнениях. По данным Harwick с соавторами (1970), *M. hominis* 1 выделена в 35% от 51 больной с выкидышами, сопровождавшимися подъемом температуры, у 11% от 53 больных с выкидышами, не имевших повышенной температуры, и в 14% от 102 женщин с нормальной беременностью.

По данным Csonka (1966), частота выделения микоплазм увеличивается во время беременности (Т-штаммы обнаружены у 65%, *M. hominis* 1 — у 30% беременных женщин и 40 и 12% — у небеременных соответственно). Как указывают Klein с соавторами (1969), выделение *M. hominis*, особенно Т-штаммов, чаще ассоциируется с родильной горячкой и реже — с осложнениями ранней беременности, включая аборт. Kundsин и Driscoll (1970) пришли к заключению, что микоплазмы, особенно Т-штаммы, могут быть высокопатогенными во время беременности. Они выделяли микоплазмы у 67% беременных женщин при преждевременных родах и абортах.

При септических абортах, обусловленных микоплазмами, и спонтанных абортах микоплазмы нередко обнаруживаются в организме плода и мертворожденных детей. Jones (1967) выделил *M. hominis* 1 из легких у 8% обследованных плодов; у одного из них гистологически была диагностирована пневмония, у 4 — воспалительные изменения плаценты. При воспалительных заболеваниях глаз новорожденных Jones и Tobin (1968) выделяли *M. hominis* 1 у 4%; другая флора полностью отсутствовала.

Сходные данные получены Fou с соавторами (1970), выделившими *M. hominis* из глаз и половых путей новорожденных и Т-штаммы из гениталий.

Hayflick и Stanbridge (1957) выделяли *M. hominis* с кожи и из печени у 2 из 5 эмбрионов, а Harwick с соавторами — из печени плода при септическом аборте. Pease с соавторами (1967) сообщили о выделении *M. hominis* 1 из бактериологически стерильного легкого мертворожденного ребенка. Kundsин с соавторами (1967, 1968) выделяли *M. hominis* 1 и Т-штаммы из оболочек плода и плаценты с гистологически установленными хрониче-

скими воспалительными изменениями при спонтанных абортах и преждевременных родах. Описаны зависимость низкого веса новорожденных и обнаружения у них микоплазм — *M. hominis* и Т-штаммов (Klein et al., 1969; Braun, 1971).

Несомненный интерес представляют данные о выделении *M. hominis* из стерильной амниотической жидкости новорожденного с гистологически установленной интерстициальной пневмонией (Brunner et al., 1969) и аналогичное сообщение М. А. Башмаковой (1970), обнаружившей *M. hominis* 1 в мозге, легких и кишечнике плода с пневмонией.

Распространенность микоплазма-инфекции урогенитальной сферы человека позволяет предполагать, что *M. hominis*, Т-штаммы и, возможно, другие пока не идентифицированные виды микоплазм относятся к условно патогенной микрофлоре урогенитальной сферы человека. Латентная микоплазма-инфекция активируется под влиянием разнообразных причин; особую роль могут играть беременность и роды. В этом случае латентная инфекция переходит в острую и микоплазмы могут явиться причиной пуэрперального сепсиса, септических аборт, септических и воспалительных процессов у плода и новорожденных. Однако, помимо разнообразных стресс-факторов, активирующих микоплазма-инфекцию, большое значение имеют патогенные потенции самих микоплазм. Изучение патогенных потенций микоплазм урогенитального тракта и разработка критериев отбора патогенных штаммов пока весьма ограничены. Попытки заражения 2 волонтеров в гениталии *M. fermentans* и *M. hominis*, выделенными при фузоспириллярной инфекции гениталий (Ruiter, Wentholt, 1953), не увенчались успехом. Заражение мышей этими штаммами подкожно и в подушечки задних лап сопровождалось появлением абсцессов и изменениями в суставах; из абсцессов выделялись культуры микоплазм.

Наряду с этим Dienes с соавторами (1948), Nicol и Edwards (1953), Harkness, Henderson-Begg (1948) сообщили о том, что им не удалось обнаружить патогенных штаммов для разных видов животных. Представляют интерес данные об экспериментальном конъюнктивите человека в результате инфицирования конъюнктивы *M. pneumoniae* и экспериментальном конъюнктивите кошек, вызванном микоплазмой, изолированной из воспаленной конъюнктивы кошки (Cole et al., 1969). Опыты, проведенные у нас в лаборатории И. С. Новиковой совместно с Б. С. Гусман (1971), дали интересные, на наш взгляд, модели патологических процессов, пригодных для их использования в качестве критерия оценки патогенных потенций *M. hominis* 1.

При инфицировании таким штаммом *M. hominis* конъюнктивы морской свинки у нее развивается острый конъюнктивит (рис. 49) с выраженной мононуклеарной и плазмоклеточной инфильтрацией, тяжелыми дистрофическими изменениями и некрозом эпителия. Эти явления нарастают в период с 3-го по 14-й день, сопровождаются реакцией со стороны внутренних органов и прежде всего появлением нередко выраженной интерстициальной пневмонии (рис. 50).

Особый интерес представляет аналогичный конъюнктивит, развивающийся на 7-й день после заражения на неинфицированном глазу, что свидетельствует о переносе инфекции и возможности естественного инфицирования конъюнктивы *M. hominis* 1.

При интратестикалярном инфицировании крыс той же культурой *M. hominis* обнаружены токсические изменения в месте инъекции (полный некроз части канальцев) в ранние сроки после заражения (рис. 51) и полная репарация к 7-му дню. Вместе с тем зафиксирована нарастающая реакция со стороны внутренних органов и органов иммуногенеза, дости-

гающая максимума к 14-му дню. Развивается тяжелая интерстициальная пневмония (рис. 52) с фибриноидным набуханием, инфильтрацией межальвеолярных перегородок с преобладанием плазматических клеток и с периваскулярной инфильтрацией. Эта пневмония идентична интерстициальным микоплазма-пневмониям человека и животных.

Выявленные в эксперименте высокие патогенные потенции отдельных штаммов *M. hominis* 1 указывают на возможную роль этих высокопатогенных штаммов микоплазм при заболеваниях мочеполовой сферы человека.

Серологические показатели урогенитальной микоплазма-инфекции человека

Впервые Beveridge с соавторами (1946) обнаружили комплементсвязывающие антитела в 62% сывороток больных НГУ и только в 7% у здоровых доноров. Однако четкой корреляции серологических показателей и клинической картины не было выявлено.

Последующее изучение присутствия антител у больных с разными поражениями урогенитальной сферы не дало однозначных результатов. При исследовании хронических заболеваний, ассоциирующихся с *M. hominis* 1 и Т-штаммами, получены противоречивые данные. Так, Card (1959), изучив 1300 сывороток мужчин и женщин в РСК со штаммами микоплазм, выделенными из канала шейки матки, обнаружила в 34% случаев положительные реакции у больных с хроническими заболеваниями (НГУ, цервицит, вагинит, гонорея, сифилис, трихомониаз). У женщин положительная РСК встречалась в 2 раза чаще, чем у мужчин. В контрольной группе (взрослые доноры и дети) положительная реакция отмечена лишь у 2% обследованных.

Отрицательные результаты серологических исследований при НГУ получены Harkness и Henderson-Begg (1948) при постановке РСК и РАГ, Norman с соавторами (1950) при использовании РАГ, Röckl и Naseman (1956), применивших РСК. Ruys с соавторами (1967) при исследовании сывороток мужчин с НГУ, сопровождавшимся выделением Т-штаммов, получили отрицательные результаты РИР этих микоплазм. Об аналогичных данных РИМ сообщают Fowler и Leeming (1969), несмотря на выделение Т-штаммов у обследованных больных.

Некоторую корреляцию результатов серологического исследования и клинических проявлений НГУ отметили Purcell и соавторы (1966), исследовавшие парные сыворотки 20 больных НГУ, от которых выделены Т-штаммы. Ингибирующие метаболизм антитела к аутоштамму одного из больных обнаружены в 95% сывороток, взятых в острой фазе и периоде реконвалесценции. В 5 случаях было установлено 2-кратное нарастание титров.

В последующей работе Purcell с соавторами (1967) сообщили о том, что парные сыворотки 20 больных НГУ не содержали ингибирующих метаболизм антител (ни к 6 различным сывороткам Т-микоплазм, ни к *M. hominis*, тип 1); низкий уровень антител был выявлен лишь у 1 больного к *M. hominis* 2 и *M. fermentans*.

Эти работы представляют, на наш взгляд, значительный интерес, так как демонстрируют специфичность серологических показателей лишь в отношении определенных серотипов, с которыми ассоциируется данное заболевание.

При обострениях хронических воспалительных процессов и при острых заболеваниях урогенитальной сферы, связанных с микоплазмами, анти-

тела выявляются несколько чаще и в более высоких титрах. Так, Melen и Gotthardson (1955) выявили комплементсвязывающие антитела у 35% гинекологических больных и у 9% практически здоровых мужчин и женщин. 26% женщин с разными формами сальпинго-оофорита имели титры РСК 1:2—1:16; у 5 больных с острым сальпинго-оофоритом негонекокковой этиологии титры были 1:32—1:256 и выше.

Микоплазмы выделены у этих больных из канала шейки матки, у 2 больных — из абсцесса яичника; у 2 больных отмечено 4-кратное нарастание титров в периоде реконвалесценции.

Stokes (1955, 1959), выделявшая *M. hominis* 1 из крови женщины с пuerперальным сепсисом и у больной с гидросальпинксом, выявила наличие комплементсвязывающих антител к этим микоплазмам, нарастание титров в периоде реконвалесценции и падение их после выздоровления. У здоровых и других больных антитела не обнаруживались.

Серологическое подтверждение острой урогенитальной микоплазмаинфекции получено Tully с соавторами (1965), Harwick с соавторами (1967), наблюдавшими 4—16-кратное нарастание титров антител к *M. hominis* 1, выделенной из крови при постабортальном сепсисе. По Harwick с соавторами (1970), серологически инфекция *M. hominis* при септических абортах с высокой температурой подтвердилась у 83,3% женщин и лишь у 25% женщин с бестемпературными выкидышами. Для постановки серологического анализа использовались 3 разных штамма микоплазм. Положительные результаты, как правило, получены по отношению к аутоштамму и гомологичному прототипу.

По Jones (1967), существует определенная зависимость серологических показателей, осложненной беременности и результатов микробиологических находок *M. hominis* 1. Антитела обнаруживаются большей частью у женщин с угрожающими и незавершенными абортами (29%), чем при нормальной беременности (15%), у женщин, от которых выделены культуры (91%), чем у женщин с отрицательными результатами посева (69%). У 4 из 5 матерей с плодами, обсемененными *M. hominis*, установлены высокие титры комплементсвязывающих антител (до 1:640 и выше).

Обнаружение антител у лиц без выраженных признаков микоплазмаинфекции зависит от возраста. По данным Jones и Sequeira (1966), у женщин титры антител увеличиваются с возрастом половой активности, достигая максимума в десятилетие после менопаузы (в группе 45—55-летних — у 26% по РСК и у 17% по РИР), а затем уменьшаются. У мужчин отмечено равномерное нарастание титра антител в РСК и РИР до 65 лет.

Аналогичные результаты получены Purcell с соавторами (1969). Показатели РСК и РИР приблизительно одинаково увеличиваются по отношению к *M. hominis* 1 и Т-штаммам, достигая максимума в возрасте половой активности, и чаще выявляются у женщин, чем у мужчин. Частота обнаружения антител к *M. hominis* одинакова у мужчин и женщин. Снижение уровня антител отмечается у лиц старшего возраста. Совпадающие данные получены Taylor-Robinson с соавторами (1965, 1966), Kundsин и Discoll (1970) в РИМ и РПГА.

* * *

Результаты 35-летнего изучения роли микоплазм в патологии урогенитальной сферы человека позволяют высказать предположение о существовании двух форм микоплазмаинфекции — латентной и острой.

Первая носит бессимптомный характер, иногда в виде микоплазмонительства у практически здоровых людей. Она может активироваться

под влиянием разнообразных факторов (беспорядочная половая жизнь, травма, беременность, роды, венерические заболевания). В этом случае увеличивается обсемененность, может повышаться вирулентность микоплазм и они могут явиться первопричиной таких хронических заболеваний, как НГУ и др., или осложнить имевшиеся ранее заболевания, этиологически не связанные с микоплазмами.

Микоплазмы *M. hominis* 1 и Т-штаммы могут быть этиологическими агентами полиэтиологических НГУ. Несомненные доказательства этиологической роли Т-штаммов при НГУ, приведенные в классических работах Shepard (1967) и Ford (1969), сводятся к следующему:

1. При НГУ, в том числе не осложненных венерическими заболеваниями, отмечается наиболее высокий процент выделения Т-штаммов из урогенитального тракта.

2. Эффективность лечения НГУ эритромицином совпадает с чувствительностью Т-штаммов к этому препарату.

3. У лиц, не поддающихся лечению эритромицином и тетрациклином, обычно появляются рецидивы заболевания, сопровождающиеся выделением Т-штаммов. Эффективная терапия приводит к прекращению выделения Т-штаммов.

4. Неэффективность лечения женатых мужчин обычно связана с присутствием Т-штаммов у их жен, постоянно инфицирующих своих мужей. Только одновременная терапия супружеских пар прерывает реинфицирование и дает излечение обоих индивидуумов.

5. Половой путь передачи инфекции.

6. Наличие бессимптомных форм не отрицает значения Т-штаммов при НГУ, а лишь подтверждает возможность существования латентной инфекции Т-штаммами микоплазм, представляющей потенциальную угрозу для человека. Ассоциация с разнообразными факторами и агентами, активирующими инфекцию, может завершиться развитием патологического процесса.

Острая форма микоплазма-инфекции проявляется в виде пуэрперального, абортального сепсиса, воспалительных процессов, сопровождающихся септициемией, и септических осложнений беременности. Микробиологические и иммунологические данные свидетельствуют об этиологической роли микоплазм (*M. hominis* 1 и Т-штаммы) при этих заболеваниях. Помимо разнообразных факторов, активирующих латентную микоплазма-инфекцию и тем самым способствующих возникновению острых форм, большое значение, по-видимому, имеют и патогенные потенции микоплазм.

МИКОПЛАЗМЫ МЛЕКОПИТАЮЩИХ И ПТИЦ

В составе этой группы известны микоплазмы — возможные возбудители генитальной сферы крупного рогатого скота, свиней, коз и овец.

В 1947 г. Edward выделил из полового тракта коров и быков при воспалительных процессах микоплазмы. В 1950 г. он установил, что часть штаммов по характеру роста и пищевым потребностям сходна с микоплазмами-сапрофитами, выделяемыми из сточных вод, удобрений, компоста и т. д. Эти штаммы были отнесены к сапрофитам (S-штаммы) в отличие от штаммов, условно причисленных к патогенным (P-штаммы или *M. bovis genitalium*). С помощью этих штаммов Seiffert (см. Edward, 1954) удалось вызвать искусственный вагинит у коров. При обследовании 307 образцов семенной жидкости крупного и мелкого рогатого скота, полученных от 166 животных, было выделено 39 культур микоплазм, в том числе 24 культуры из семенной жидкости быков (Barber, Fabricant, 1962). Зараженные быки при случке заражали коров, на основании чего было

сделано предположение, что эти микоплазмы являются причиной бесплодия коров. В естественных условиях быки-микоплазмоносители являлись прекрасными производителями. Экспериментальное инфицирование воспроизводилось непостоянно. В связи с этим микоплазмы полового тракта рогатого скота рассматриваются как комменсалы. При раздражении слизистой оболочки по разным причинам микоплазмы получают возможность усиленного размножения и становятся патогенными.

Последующими наблюдениями (Hartman et al., 1964; Nasri, 1967) установлено, что имеется 2 вида микоплазм: *M. bovis genitalium* и *M. agalactiae bovis*, оба связанные с заболеваниями половой сферы и молочной железы у коров. Мнение, что *M. bovis genitalium* вызывает бесплодие у коров, в настоящее время ставится под сомнение, тем не менее этот штамм выделяется при вульвовагинитах и может вызывать в естественных и экспериментальных условиях мастит у коров. *M. agalactiae* var. *bovis* (штамм Donetta), выделенная из мочеполовой сферы, может выживать и длительно сохраняться в сперме. Эта микоплазма, обнаруживаемая в церво-вагинальных выделениях коров в течение 8 месяцев после их осеменения инфицированной спермой, является причиной хронических сальпингитов, фиброзных оофоритов и в меньшей степени эндометритов. Вместе с тем штамм Donetta известен как возбудитель воспалительных процессов молочной железы коров.

Nasri (1967) отмечает, что у данных видов микоплазм отсутствует монотропизм и что они характеризуются тропизмом ко всем репродуктивным органам (яичники, сальпикс, матка, молочная железа).

M. hyogenitalium, выделенная из матки и молочной железы на 4-й день после опороса у свиньи, наиболее полно описана Switzer (1969). Это типичный представитель семейства *Mycoplasmataceae*, серологически отличный от таких микоплазм свиней, как *M. hyoarthrinosa* и *M. hyorhinis*; при экспериментальном инфицировании свиней вызывает маститы и метриты.

Относительно недавно были опубликованы материалы Taylor-Robinson (1969) о выделении из уретры, мочевого пузыря и режы влагалища T-штаммов от 33% обследованных автором дойных коров. Особенно часто они выделялись из семенной жидкости быков. Эти штаммы серологически отличались от T-штаммов человека. Их значение в патологии пока не выяснено.

Представляет интерес *M. meleagridis*, связанная с респираторным заболеванием индеек и вместе с тем имеющая прямое отношение к их половой сфере.

По данным Jamamoto (1967), *M. meleagridis* вызывает врожденное заболевание у индеек, проявляющееся в воздушных мешках потомства. Заболевание эндемично во многих хозяйствах США.

Изучение путей передачи этой микоплазма-инфекции выявило весьма интересные ее особенности.

1. *M. meleagridis* может присутствовать в синусе или трахее индеек и не обнаруживаться в половой сфере самцов и самок, причем антител к этой микоплазме может не быть. В этом случае отсутствуют врожденная инфекция и венерический путь ее передачи.

2. Содержание микоплазмы в синусах может иногда сопровождаться подъемом титров соответствующих антител, при этом она длительное время выделяется без выраженных симптомов заболевания.

3. Искусственное инфицирование самцов в гениталии сопровождается длительным сохранением *M. meleagridis* в сперме (в течение 49 дней). При осеменении индеек зараженной спермой наблюдаются инфекция яйцеводов и появляется потомство с врожденной инфекцией *M. meleagridis*.

4. Инфицирование самок в абдоминальный воздухоносный мешок ведет к появлению микоплазм в яйцеводах и трансвариальной передаче инфекции. В то же время внутривенное инфицирование не вызывает врожденной инфекции.

МИКОПЛАЗМА-ИНФЕКЦИЯ ПРИ СЛОЖНЫХ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ СИНДРОМАХ И ЗАБОЛЕВАНИЯХ СУСТАВОВ ЧЕЛОВЕКА, ЖИВОТНЫХ И ПТИЦ

К наиболее изученным воспалительным синдромам, связанным с присутствием микоплазм, можно отнести синдром Рейтера человека, агалактию коз и синдром Глоссера свиней. Заболевания суставов и сердца, обусловленные микоплазма-инфекцией, встречаются либо в виде осложнений при воспалительных синдромах, либо самостоятельно.

УРЕТРО-КОНЪЮНКТИВАЛЬНО-СИНОВИАЛЬНЫЙ СИНДРОМ РЕЙТЕРА ЧЕЛОВЕКА

Болезнь Рейтера характеризуется негонококковым гнойным уретритом, длящимся 2—14 дней, артритами и конъюнктивитами. Чаще всего поражаются крупные и межфаланговые суставы. Болезнь сопровождается ремиссиями и обострениями. Суставы болезненны, конъюнктивиты тяжелые и длительные. Осложнения в виде иритов встречаются нечасто. Болезнь сопровождается ириксией, ночными потами; как правило, возникает вторичная анемия. Течение длительное — месяцы и годы. Синдром, по имени описавшего его в 1916 г. Рейтера, назван болезнью Рейтера (Bally, Bishop, 1959).

Этиология болезни Рейтера до настоящего времени не выяснена. Атаки синдрома Рейтера наступают как после гонококковых, так и негонококковых уретритов. Иногда они развиваются после успешной пенициллино-терапии гонорей, когда гонококки совершенно не выделяются.

По мнению Csonka (1959), ряд клинических признаков синдрома Рейтера, характер лейкоцитоза, картина электрофореза белков, динамика С-реактивного белка, отсутствие признаков септических артритов противоречат прямой этиологической роли гонококка. Клинические, рентгенологические и лабораторные данные не выявляют этиологической связи синдрома Рейтера и гонорей. Изучение роли микоплазм в этиологии синдрома Рейтера ведется в течение 20 лет, однако прямые доказательства до настоящего времени не получены. О находке микоплазм в синовиальной жидкости при болезни Рейтера сообщили еще в 1948 г. Dienes с соавторами (1948). В последующие годы ряд авторов находили микоплазмы в выделениях уретры, синовиальной жидкости и в посевах отделяемого при конъюнктивитах. Эти материалы представлены в табл. 32. Csonka (1959) при обследовании 211 больных у 98 обнаружил сочетание уретрита, конъюнктивита и артрита, у 109 были только артриты и уретрит, у 4 — артрит, плантарный фасцит и конъюнктивит. По мнению автора, редкость микробиологических и иммунологических находок не дает основания считать микоплазмы этиологическим фактором при синдроме Рейтера (табл. 33).

Столь пессимистические выводы данного автора нам кажутся преждевременными. Возбудитель выделяется чаще от больных, чем от здоровых, и реже, чем при НГУ. Аналогичные данные получены при серологическом анализе. Отсутствуют динамические исследования, которые могли бы оказаться наиболее существенными. Напомним, что серологический диагноз такой хорошо изученной микоплазма-инфекции, как *M. pneumoniae*

ТАБЛИЦА 32. ВЫДЕЛЕНИЕ МИКОПЛАЗМ ПРИ УРЕТРО-СИНОВИАЛЬНО-КОНЪЮНКТИВАЛЬНОМ СИНДРОМЕ РЕЙТЕРА (СОСТАВЛЕНА ПО МАТЕРИАЛАМ UROLOGIA INTERNALIS, 1959 И MORTON, 1959)

| Число больных | Положительные находки | | Исследуемый материал | Авторы |
|---------------|-----------------------|----|------------------------|--|
| | абс. число | % | | |
| 10 | 5 | — | Отделяемое конъюнктивы | Kunzel, Menkel, 1950 (цит. по Morton, 1959) |
| 35 | 1 | — | Синовиальная жидкость | Braun, 1951 (цит. по Morton, 1959) |
| 26 | 10 | — | Отделяемое уретры | Klieneberger-Nobel (цит. по Urologia internalis, 1959) |
| — | — | — | Синовиальная жидкость | |
| 41 | — | 17 | Отделяемое уретры | Charkness, Henderson-Brigs, 1948 (цит. по Urologia internalis, 1959) |
| 31 | 28 | — | Отделяемое уретры | Kait, Wittington, Wilkinson (цит. по Urologia internalis, 1959) |
| 17 | 11,8 | — | Отделяемое уретры | |
| 5 | — | — | Синовиальная жидкость | Csonka (1959) |
| 2 | — | — | Отделяемое конъюнктивы | |
| 31 | 9 | — | Отделяемое уретры | Oates, Wittington, Wilkinson (1959) |

ТАБЛИЦА 33. БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИЕ И СЕРОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СВЯЗИ СИНДРОМА РЕЙТЕРА С МИКОПЛАЗМА-ИНФЕКЦИЕЙ (СОСТАВЛЕНА ПО МАТЕРИАЛАМ CSOKKA, 1959)

| Контигент обследованных | Источник выделения культуры | Число обследованных | Положительные результаты | |
|---|-----------------------------|---------------------|--------------------------|------|
| | | | абс. | % |
| С острым синдромом Рейтера Здоровые люди | Секрет уретры | 17 | 2 | 11,8 |
| | Синовиальная жидкость | 5 | — | — |
| | Отделяемое конъюнктивы | 2 | — | — |
| | Моча | 96 | 2 | 2,1 |

Показатели РСК с антигеном микоплазм

| | | | |
|--|-----|---|-----|
| С острым синдромом Рейтера | 31 | 2 | 6,4 |
| Разные больные, исключая лиц, страдающих урогенитальными заболеваниями | 111 | 5 | 4,5 |

пневмония, устанавливается исключительно динамическим исследованием нарастания титра антител.

В работе Oates с соавторами (1959) приводятся более высокие величины положительных бактериологических и серологических находок при синдроме Рейтера. Эти данные свидетельствуют о прямой зависимости положительных результатов исследования от фазы болезни и лечения. Из обследованных 54 больных положительные результаты получены у 25, в том числе от 9 больных выделены культуры. У 16 больных получены

серологические подтверждения (эти результаты отмечены в острой фазе заболевания у нелеченых больных). Отрицательные результаты микробиологического исследования и положительная РСК оказались у 2 больных из 23 после лечения в неактивной форме.

Эти данные хотя и убедительны, но не достаточны для окончательного решения вопроса об этиологической роли микоплазм при синдроме Рейтера. Следует отметить зависимость результатов анализа от клинической фазы заболевания, осложнений и характера лечения. Обращает на себя внимание преобладание случаев выделения микоплазм из уретры и венерического пути передачи микоплазма-инфекции при синдроме Рейтера (Ford, 1967, 1969; Harkness, 1955) и редкость выделения из суставной жидкости пораженных суставов (Dienes, Smith, 1946; Dienes et al., 1948).

T-штаммы выделялись из уретры больных с синдромом Рейтера реже, чем при НГУ, выделить же T-штаммы из синовиальной жидкости и конъюнктивы больных чаще всего не удавалось (Ford, 1967). Bartholomew (1967), используя пассаж через культуру клеток, выделил из синовиальной жидкости 2 штамма микоплазм, идентифицированные как *M. hominis* 2 (*M. arthritidis*).

Редкость выделения микоплазм и неэффективность терапии этого заболевания тетрациклином, по мнению Ford (1967), заставляют усомниться в этиологическом значении микоплазм при этом заболевании. Вместе с тем выраженный тропизм микоплазм к синовиальным оболочкам и слизистой оболочке конъюнктивы свидетельствует о целесообразности дальнейших поисков роли микоплазм при синдроме Рейтера. В этой связи представляют большой интерес данные Holland (1960), приведенные в обзоре Taylor-Robinson (1969), о выделении неидентифицированных микоплазм из конъюнктивы 7 из 14 больных увеитами, у одного больного с синдромом Рейтера и у 3 из 25 нелеченых больных с конъюнктивитами, в то время как из конъюнктивы здоровых людей микоплазмы не выделялись.

ЗАБОЛЕВАНИЯ СУСТАВОВ ЧЕЛОВЕКА

Несмотря на значительные успехи в изучении патогенеза ревматоидного артрита, в выяснении роли аутоиммунных процессов и генетических факторов, первичные пусковые механизмы, начинающие патологический процесс, до настоящего времени все же остаются не выясненными. В этой связи представляет определенный интерес изучение хронических инфекций, способных вызвать пролонгированную антигенную стимуляцию.

Изучение микоплазма-инфекции при ревматических заболеваниях человека началось с работы Butas (1957), сообщившего о выделении из суставной жидкости 2 женщин, больных полиартритом, неидентифицированных штаммов микоплазм. Одна из этих женщин болела много лет, другая перенесла 3 атаки. Оба штамма оказались серологически родственными. Антисыворотка, приготовленная к одному штамму, агглютинировала его в разведении 1 : 320, а гетерологичный — 1 : 160.

Jansson (1961) при обследовании больных с разными ревматическими заболеваниями путем непосредственного посева суставной жидкости на бесклеточные среды выделил микоплазмоподобные агенты у 4 больных с синдромом Рейтера, у одного больного с анкилозирующим спондилитом, у 3 из 11 больных с разными венерическими артритами, у 4 из 6 больных подострыми и хроническими полиартритами, отнесенными к нетипичным формам ревматоидного артрита, и у 2 больных псориазной артропатией. При обследовании 12 больных ревматоидным артритом микоплазмы выделить не удалось.

Более подробное исследование проведено Bartholomew (1965, 1967). Автор использовал пассивную синовиальную жидкость, костного мозга и почечной ткани 17 больных ревматоидным артритом, системной эритематозной волчанкой и синдромом Рейтера на первичных не контаминированных микоплазмой клетках и выделил микоплазмы у 14 человек. Микоплазмы обнаружены у 5 больных ревматоидным артритом (один юноша и 4 взрослых), болевших в течение 3—6 лет с эпизодическими обострениями. При системной эритематозной волчанке микоплазмы высеяны у 4 больных, заболевание длилось 1—4 года, серологический диагноз и результаты биопсии подтвердили диагноз. Из синовиальной жидкости 3 мужчин с синдромом Рейтера через 24 недели после появления артрита выделены культуры микоплазм. В контрольной группе больных с травматическими артритами микоплазм не было.

Все выделенные штаммы микоплазм росли на плотной среде в виде типичных колоний, ферментировали глюкозу, гемолизировали эритроциты барана. Все 10 штаммов, выделенные от 5 больных ревматоидным артритом, родственны в антигенном отношении и близки штамму GDL (Butler, Leach, 1964), идентифицированному в настоящее время как *M. hyorhinis* — возбудитель полисерозита у свиней.

Штаммы, полученные из синовиальной жидкости больных с синдромом Рейтера, идентифицированы как *M. hominis* 1 и *M. hominis* 2.

Следует отметить весьма примечательное обстоятельство, что при ревматоидном артрите наблюдается нарастание специфических комплементсвязывающих антител в сыворотке и синовиальной жидкости к аутоштаммам и GDL. Корреляции между титром комплементсвязывающих антител к микоплазмам и ревматоидным фактором не отмечено. Вместе с тем в самых ранних стадиях заболевания РСР была отрицательной. Антител, ингибирующих рост микоплазм, не найдено.

Несмотря на несомненное значение работ Bartholomew (1965, 1967), обнаружившего микоплазму при непрямом исследовании проб синовиальной жидкости, эти данные нуждались в подтверждении факта выявления микоплазм в условиях непосредственного посева на искусственные питательные среды. Результаты подобного исследования (Falberg et al., 1966; Jansson, Wager, 1967) подтвердили факт присутствия микоплазм в организме больных ревматоидным артритом. При обследовании 24 таких больных Falberg с соавторами (1966) выделили микоплазмы у 22 человек, находившихся большей частью в острой фазе заболевания; в фазе ремиссии (2 человека) микоплазмы не обнаружены. Все выделенные штаммы отнесены к антигенно гомологичной группе. Данных по идентификации культур не приведено.

Jansson и Wager (1967) исследовали 28 проб синовиальной и суставной жидкости больных ревматоидным артритом. У 2 больных выделено 3 штамма, идентифицированных как *M. hominis* 2 — *M. arthritidis*. Из 132 сывороток 11 давали положительную РСР со специфическим антигеном в титрах 1 : 32 (1 больной) и 1 : 16 (10 больных). Из 318 сывороток положительные результаты в РИГА обнаружены у 8 (1 в титре 1 : 28 000, 7 в титре 1 : 250). Williams выделил микоплазмы, родственные *M. fermentans*, из синовиальной жидкости 36 больных ревматоидным артритом из 90 обследованных (Taylor-Robinson, 1969).

Представленные данные хотя и недостаточны для окончательных выводов, однако они представляют, на наш взгляд, несомненный интерес в связи с выделением при ревматоидном артрите человека штаммов, вызывающих соответствующие заболевания у животных (*M. hyorhinis* у свиней и *M. hominis* 2 у крыс и мышей).

АГАЛАКТИЯ КОЗ И ОВЕЦ

Агалактия коз и овец — контагиозное генерализованное и системное заболевание, известное с 1816 г. (Klieneberger-Nobel, 1962).

Инкубационный период длится от 48 часов до 6—24 дней, а иногда и до 2 месяцев. Заболевание может протекать в острой и хронической форме. Продолжительность острой формы заболевания — 5—7 дней. Она может закончиться гибелью животного или переходом в хроническую форму. Протекает с двумя подъемами температуры. Первый период короткого подъема сменяется апирексией в течение 7—8 дней, с последующим подъемом различной длительности. Заболевание начинается слабостью, потерей аппетита, появляется везикулезно-пустулезная сыпь, затем развивается катаральный или паренхиматозный мастит. У самок заболевание развивается чаще всего в период лактации. Мастит завершается абсцессами молочной железы. У самцов наблюдаются абсцессы тестикул. Независимо от пола у животных поражаются глаза и суставы, возникает паренхиматозный кератит или паннофталмит. Иногда наблюдается разрыв роговицы и наступает слепота. Поражаются синовиальные оболочки суставов. Они болезненны, отечны, развиваются артриты и анкилозы. Нередки серозно-фибринозные плевриты и пневмонии. Очень быстро поражаются доли легкого. В крови отмечены лейкопения и моноцитоз. Хроническая форма может длиться несколько месяцев, периодически обостряясь и изнуряя животное (Zavagly, 1951). Вирулентный возбудитель в течение длительного времени выделяется с молоком, имеется в слезе, выделяется с испражнениями. Возбудитель попадает в организм респираторным и алиментарным путем. Инфекция может длительное время оставаться латентной и активироваться в условиях, снижающих резистентность животного.

По данным Klieneberger-Nobel (1962), агалактия коз встречается во многих странах Европы и Ближнего Востока, в некоторых областях Голландии, Франции, Швейцарии, Австрии, Венгрии, Италии, Югославии, Румынии, Греции, Сирии, Иордании и Ливана, широко распространена в Турции и Иране. Агалактия очень ограничена в некоторых областях Африки, например в Марокко, Алжире, Тунисе, Триполитании и Судане. Незначительно распространена агалактия на Дальнем Востоке, в Америке, Парагвае и Индии; встречается в Канаде. Эффективным методом профилактики является вакцинация. Препятствием для ее повсеместного использования являются антигенные особенности местных штаммов. Высокоактивные в иммуногенном отношении штаммы, выделенные в одной местности, оказываются непригодными для другой.

Еще в 1906 г. Celli и de Olari (цит. по Klieneberger-Nobel, 1962) показали, что возбудитель контагиозной агалактии коз фильтруется через бактериальные фильтры. Значительно позже Bridge и Donatien (1925) получили чистую культуру возбудителя на плотных и жидких питательных средах и успешно инфицировали ею в экспериментальных условиях лактирующее животное. *M. agalactiae* вызывает экспериментальный патологический процесс при подкожном, внутрикожном, интравенозном, интраартикулярном инфицировании. Помимо коз, восприимчивым к заражению оказался крупный рогатый скот. Мелкие лабораторные животные естественно резистентны и не реагируют на экспериментальное инфицирование; куриные эмбрионы высокочувствительны (Yamamoto, 1955). Вирулентность культур длительно сохраняется. В условиях пассирования на искусственных питательных средах у них не снижается исходная вирулентность даже после 100 пересевов при хранении под вазелиновым маслом при

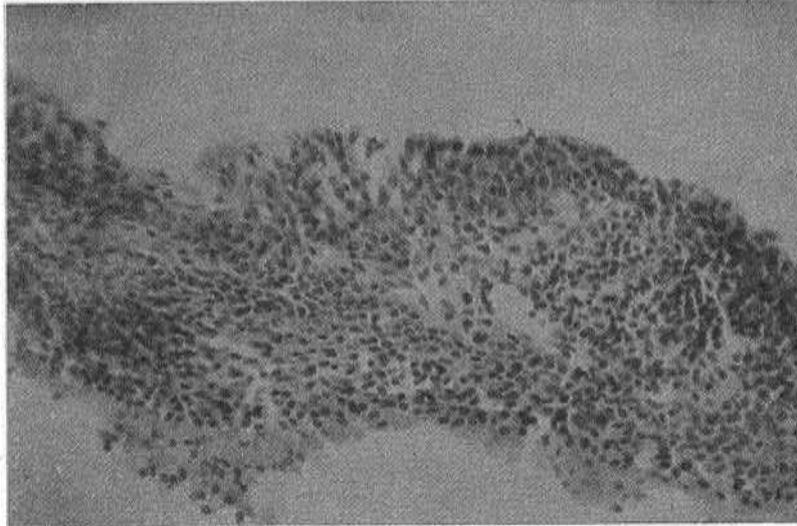


Рис. 49. Экспериментальный конъюнктивит у морской свинки, вызванный *M. hominis* 1. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 900$ (препарат Б. С. Гусман и И. С. Новиковой).

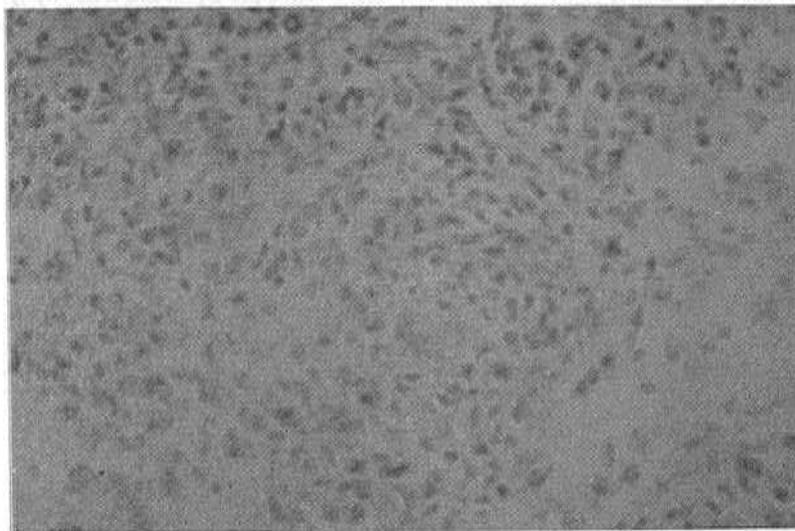


Рис. 50. Интерстициальная пневмония морской свинки после инфицирования конъюнктивы *M. hominis* 1. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 900$ (препарат Б. С. Гусман и И. С. Новиковой).

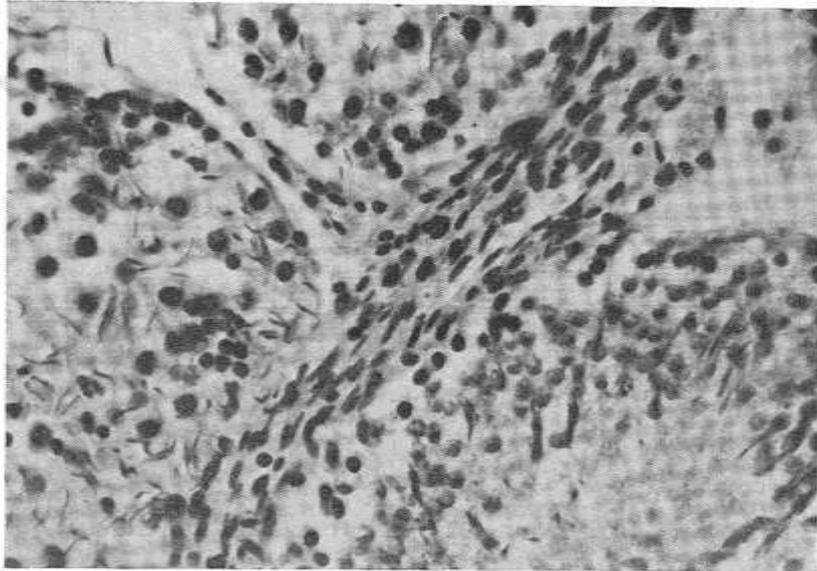


Рис. 51. Некроз канальцев тестикул у крысы после инфицирования *M. hominis* 1. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 900$ (препарат Б. С. Гусман и И. С. Новиковой).

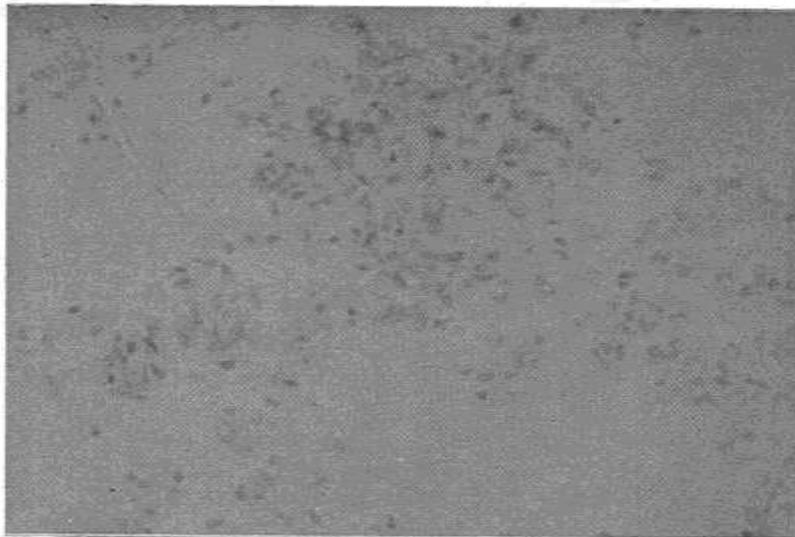


Рис. 52. Интерстициальная пневмония крысы после интратестикулярного инфицирования *M. hominis* 1. Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 900$ (препарат Б. С. Гусман и И. С. Новиковой).

температуре от -10 до -12° в течение 22 месяцев (Bridre, Donatien, 1925). Zavagly (1951) сообщает, что экспериментальная инфекция возникает также при введении возбудителя лактирующим овцам. Микроорганизмы появляются в крови и молоке уже через 12—24 часа, через 36 часов они исчезают из крови и появляются в селезенке. Их не находят в почках, но они могут встречаться в головном мозге. Изучая эпизоотологию агалактии коз, автор пришел к выводу, что инфекция после заражения остается латентной и обостряется только под влиянием факторов, снижающих резистентность животного.

Hudson с соавторами (1967) и Sharp (1967) сообщают, что экспериментальное инфицирование, как правило, сопровождается отеками в месте инъекции и тяжелыми артритами. В обзоре Hudson с соавторами (1967) и в ряде других работ Cottew с соавторами (1968), Watson с соавторами (1968) приводятся результаты экспериментального инфицирования коз и овец штаммами, выделенными при разных вспышках. Так, в Турции было выделено 3 типа *M. agalactiae*: N, E и C. Первый непатогенен для коз и овец, второй вызывал у них синдром агалактии, но без кератита, который в естественных условиях отмечался у животных в этой стране. Третий штамм обуславливал отеки и некрозы в месте введения. Культуры штамма А были получены из молока больных животных, они не отличались от типичного прототипа, штаммы N высевались от больных и здоровых животных, штаммы C выделены от больных животных с типичными клиническими признаками в Турции, Греции и Иране.

M. agalactiae — возбудитель агалактии коз и овец — типичный представитель семейства *Mycoplasmataceae*, имеющий определенные черты сходства с другими, еще не полностью идентифицированными штаммами микоплазм, выделенными от коз и овец. Это указывает на гетерогенность штаммов микоплазм, выделенных от коз при агалактии и других заболеваниях. Эта группа микоплазм подразделяется по ферментации углеводов, термочувствительности комплементсвязывающего антигена и наличию термостабильного полисахаридного антигена, а также по способности вызывать заболевание с определенной клинической картиной в условиях естественного и искусственного инфицирования.

M. agalactiae, вызывающая у коз и овец в полевых условиях и в эксперименте характерный синдром, отличается ферментативной инертностью, содержит термолabileный комплементсвязывающий антиген и, по всей вероятности, не содержит термостабильного полисахарида. *M. agalactiae* близка, но не идентична штамму *M. agalactiae*, выделенному Dhanda с соавторами в 1959 (Hudson et al., 1969) во время вспышки мастита у коз. Этот штамм при экспериментальной инфекции вызывал септицемию, маститы и артриты, был более вирулентным, чем *M. agalactiae*, и, несмотря на сходство патогенного действия с этой микоплазмой, отличался от нее ферментацией углеводов и присутствием антигена, общего с *M. mycoides* var. *capri*.

Интересные наблюдения септицемии и артритов коз и овец при вспышке этого заболевания в Калифорнии сделаны Cordy с соавторами (Sharp, 1967). Выделенная культура по биологической и антигенной характеристике отличалась от *M. mycoides* var. *capri* и *M. agalactiae*. Заболевание в естественных и экспериментальных условиях протекало однотипно, заканчивалось гибелью или тяжелой инвалидностью животных. Инкубационный период длился от 1 до 6, а иногда до 11 дней, болезнь продолжалась 2—5 недель. Заболевание сопровождалось повышением температуры, нарушением лактации и поражением суставов. Микоплазмы высевали из суставного экссудата, селезенки, легких, печени и крови. Гистологи-

чески выявлены инфильтрация синовиальных мембран мононуклеарными и нейтрофильными лейкоцитами, гиперемия, геморрагии, отеки и нейтрофильная инфильтрация лимфатических узлов, некротические очаги в селезенке, иногда в печени. У экспериментально инфицированных животных развивались перикардиты. К экспериментальному инфицированию оказались чувствительными поросята, у которых при внутривенном инфицировании отмечены лихорадка и поражения суставов, а при внутрибрюшинном — перикардиты, плевриты и перитониты.

В табл. 34, составленной Hudson с соавторами (1967), дается анализ сложных воспалительных синдромов, индуцированных микоплазмами коз и овец.

Из этой таблицы видно, что 8 из 10 штаммов микоплазм коз, овец и коров в экспериментальных условиях, вызывая разные сложные воспалительные синдромы, непременно поражают суставы (исключением являются лишь 2 штамма). Даже *M. mycoides* var. *mycoides* — возбудитель плевропневмонии коров — в экспериментальных условиях на буйволах, козах и овцах наряду с другими поражениями вызывает тяжелые артриты.

Приведенные выше данные позволяют заключить, что естественная и экспериментальная инфекция *M. agalactiae* сходны. Вирулентные штаммы и экссудаты из мест поражения вызывают близкие патологические изменения при экспериментальном инфицировании. Разнообразные стресс-факторы, беременность, лактация утяжеляют течение патологического процесса. Внутривенная инокуляция обуславливает более тяжелое поражение, чем подкожная. Внутрисуставное введение сопровождается развитием артрита в течение 2—6 дней без генерализации процесса.

Преобладающее большинство представителей гетерогенной группы микоплазм коз отличается способностью вызывать поражения суставов.

СПОНТАННЫЕ И ПОСТВАКЦИНАЛЬНЫЕ АРТРИТЫ РОГАТОГО СКОТА (В АКЦИНА *M. MYCOIDES* VAR. *MYCOIDES*)

В 1956 г. Moulton (Sharp, 1967) наблюдал спонтанно возникшее заболевание телят, характеризующееся лихорадкой, насморком, диареей и полиартритами. Гистологически выявлены очаги уплотнения легочной ткани, инфаркты в почках, гиперемия, макрофагальная и нейтрофильная инфильтрация синовиальных оболочек, а также плотный слой фибрина на их поверхности. Микоплазма была выделена из суставов, почек и селезенки, по ферментативным свойствам она отличалась от *M. mycoides* var. *mycoides*.

Внутривенное введение этой микоплазмы телятам сопровождалось лихорадкой, перемежающейся хромотой, припуханием суставов. В одном случае был отмечен конъюнктивит, микоплазмы выделялись из очагов поражения.

Simmons и Jonnes (Sharp, 1967) также наблюдали вспышку артрита у 3 из 27 телят из одного стада. Из синовиальной жидкости была выделена микоплазма. Авторы воспроизвели экспериментальный артрит у телят. После гибели гистологически выявлены фибриновые артриты с пролиферацией синовиальных клеток. Микоплазмы выделялись из крови, многих суставов, нескольких лимфатических узлов и печени. Полной идентификации штаммов не приведено, однако описание культуральных, ферментативных свойств, серологическое обследование больных животных и изучение эпизоотологической обстановки, свидетельствующей об отсутствии инфекции *M. mycoides* var. *mycoides*, а также тропизм данных микоплазм к синовиальным оболочкам и суставам позволяют предполагать, что выделявшиеся штаммы не относились к *M. mycoides*.

ТАБЛИЦА 34. БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МИКЛОПЛАЗМ КОЗЬЕГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ ПО СРАВНЕНИЮ С *M. MYCOIDES* (ПО HUDSON ET AL., 1967)

| Вид | Авторы | Первичный хозяин | Экспериментальный хозяин | Заболевания и патологическая картина | Минимальное время гибели, дни | Ферментация углеводов | Серологические тесты | | | | | |
|--------------------------------|------------------------|------------------|--------------------------|--|--------------------------------------|-----------------------|----------------------|----|-----------------|----|--------------------|----|
| | | | | | | | <i>M. agalactiae</i> | | <i>M. capri</i> | | <i>M. mycoides</i> | |
| | | | | | | | РСК | РА | РСК | РА | РСК | РА |
| <i>M. agalactiae</i> | Bridre, Donatien, 1923 | Овцы, козы | Овцы, козы | Маститы у лактирующих животных. Подартриты, конъюнктивиты, блефариты, отеки и целлюлиты в месте инокуляции | Либо через 15—16 дней, либо выживают | — | + | + | — | — | — | — |
| <i>M. capri</i> | Longley, 1940—1951 | Козы | Овцы, козы | Плевропневмония и артриты, отеки и целлюлиты в месте инокуляции | 3 | + | НД(·) —(++) | — | НД + | + | НД + | + |
| <i>M. заболевания «Спарта»</i> | Debonera, 1937 | Козы | Овцы | Отек, целлюлиты, артриты, перикардиты, острые нефриты, отеки и целлюлиты в месте инокуляции | 3 | + | +(+) —(++) | + | НД + | НД | НД + | НД |
| Микоплазма | Hanko, Otterlein, 1955 | Козы, овцы | Козы, овцы | Энтериты, колиты, некротическая гнойная пневмония и маститы | | | + | | + | | | |
| | Cordy et al., 1955 | Козы | Овцы, козы, свиньи | Полартриты, серозиты, целлюлиты в месте инокуляции | 3 | + | — | — | — | — | — | — |

ТАБЛИЦА 34 (продолжение)

| Вид | Авторы | Первичный хозяин | Экспериментальный хозяин | Заболевания и патологическая картина | Минимальное время гибели, дни | Ферментация углеводов | Серологические тесты | | | | | |
|--------------------------|---------------------|------------------|--------------------------|--|-------------------------------|-----------------------|----------------------|---------|-----------------|---------|--------------------|---------|
| | | | | | | | <i>M. agalactiae</i> | | <i>M. capri</i> | | <i>M. mycoides</i> | |
| | | | | | | | РСК | РА | РСК | РА | РСК | РА |
| Микоплазма | Laws, 1956 | Козы, овцы | Козы овцы | Перитониты и артриты, абсцесс в месте инокуляции | 3 | + | НД — | НД — | НД — | НД — | + | НД + |
| | Olds | Козы | Овцы, козы, коровы | Плевропневмония и артриты, отек и целлюлиты в месте инокуляции | 3 | + | НД * | НД — | НД — | НД — | НД + | НД + |
| | Dhanda et al., 1959 | Козы, овцы | Козы | Маститы, артриты, целлюлиты в месте инокуляции | 3 | + | НД | НД | НД | + | НД | НД |
| Микоплазма Н-козий штамм | Cottew, Lloyd, 1965 | Козы | Козы, овцы | Пневмония, локальные артриты, некрозы в месте инокуляции | | — | + | + | — | — | — | — |
| <i>M. mycoides</i> | | Коровы | Буйволы, козы, овцы | Плевропневмония, артриты и нефриты, отеки и целлюлиты в месте инокуляции | | + | — | — | — | — | + | + |

Условные обозначения: НД — нет данных; (.) — результаты Klieneberger; (+) — результаты Debonera; (+ +) — результаты Edward; (*) — результаты авторов таблицы.

Помимо спонтанных артритов, у рогатого скота часто развиваются артриты в ответ на вакцинацию аттенуированными штаммами *M. mycoides* var. *mycoides*. Sharp (1967) приводит данные, характеризующие частоту развития артритов после вакцинации, особенно у молодых животных.

При вакцинации телят в кончик хвоста развивались артриты у 28 из 70 телят в возрасте 7 дней, у 8 из 30 в возрасте 20—30 дней, у 2 из 30 в возрасте 40—50 дней, у 66 телят в возрасте 144—153 дней и у 30 телят в возрасте от 1½ до 3 лет; осложнений в суставах не регистрировалось. При внутривенной вакцинации 7-дневных телят возникали осложнения в виде артритов и эндокардитов. Последние иногда развивались вслед за поражениями суставов, что позволило предположить возникновение эндокардита как результат проникновения микоплазм в кровоток.

Имеются сообщения о развитии поствакцинальных артритов и у взрослых животных с последующим выделением из пораженных суставов микоплазм.

ПОЛИСЕРОЗИТЫ И АРТРИТЫ СВИНЕЙ

Полисерозиты и артриты свиней начали изучать с 1945 г., когда впервые из суставной жидкости пораженного сустава свиньи путем пассирования материала через организм куриного эмбриона был выделен инфекционный агент неизвестной природы. Этот агент при введении пороссятам вызывал у них плевриты, перитониты и артриты. В 1957 г. Cole с соавторами (Sharp, 1967) вырастил этот агент на сывороточном бульоне, а Switzer (1953, 1956, 1969) определил его принадлежность к семейству *Mycoplasmataceae*. Возбудитель полисерозита свиней был назван *M. hyorhinis*. Эта микоплазма выделяется с большой частотой при естественно возникших и искусственно индуцированных полисерозитах из плевральной, перикардиальной и синовиальных полостей, встречается почти в 50% случаев и чаще в носовых ходах при атрофическом рините и заболеваниях легких. Около 50% практически здоровых свиней являются микоплазменосителями *M. hyorhinis*. Интраназальная инокуляция *M. hyorhinis* сопровождалась ее выделением из носовых ходов, но атрофического ринита эта микоплазма не вызывала.

В естественных условиях полисерозиты часто осложняют атрофический ринит свиней, являясь следствием проникновения возбудителя из носовых ходов в кровоток и последующей септицемии.

Хотя при интраназальном введении *M. hyorhinis* пороссятам атрофический ринит не воспроизводится, все же иногда возникают пневмонии. Нарастания специфических антител при этом не наблюдается. *M. hyorhinis* не является возбудителем инфекционного ринита и пневмоний и может быть отнесена к сопутствующей флоре при этих заболеваниях. Вместе с тем этиологическая роль этой микоплазмы при полисерозитах признают большинство исследователей (Carter, 1953, 1954; Morton, 1959; Switzer, 1956, 1967, 1967, 1969).

Полисерозиты, вызванные *M. hyorhinis*, широко распространены. Наряду с острыми наблюдаются хронические (чаще) формы этого заболевания. По Switzer (1969), полиартриты, перикардиты и перикардиальные осложнения, типичные для полисерозитов этой этиологии, встречаются у 8% продажных свиней. Заболевание чаще встречается у молодых животных при ослаблении резистентности разными стресс-факторами, а также у старых. Естественное инфицирование осуществляется прямым контактом, нередко при поступлении молодых самцов в инфицированное стадо. Появляется скротальная реакция с последующим развитием тяжело протекающих полисерозитов, часто заканчивающихся летально.

Для выделения *M. hyorhinis* и последующего ее культивирования используют жидкие и плотные среды, куриные эмбрионы и культуры клеток. Оптимальные условия культивирования создаются добавлением сыворотки свиней или птиц; дрожжевой экстракт замедляет рост. *M. hyorhinis* устойчива к ацетату таллия и пенициллину и они добавляются в среду для выделения.

M. hyorhinis — типичная микоплазма, растет в виде характерных колоний размером 300 мкм, состоит из мицелиальных форм с короткими ответвлениями и сферических, кольцевидных клеток, дает слабое закисление сред с глюкозой. *M. hyorhinis* хорошо развивается в разных культурах клеток и оказывает цитопатический эффект. Для идентификации используют гель-диффузию, ингибирование роста и метаболизма и реакцию иммунофлуоресценции.

К экспериментальному инфицированию чувствительны молодые свиньи и поросята, птицы и куриные эмбрионы.

Внутривенное и внутрибрюшинное заражение молодых свиней ведет к появлению перитонитов, плевритов, перикардитов и артритов. У свиней старше 6 недель поражения менее значительны, артрит развивается у 5—20%.

Инфицированные животные заболевают через 3—5 дней после заражения, перемежающаяся хромота начинается с 5—10-го дня. На 4-й день отмечается нейтрофильная и лимфоцитарная инфильтрация синовиальных оболочек, на 10-й день возникают воспалительные явления, гиперемия, значительная инфильтрация мононуклеарными и плазматическими клетками. На 30-й день после инфицирования синовиальные мембраны утолщены, отечны, имеется гиперплазия синовиальных оболочек, диффузная лимфоцитарная инфильтрация ресничек. На 56-й день гиперплазия синовиальных клеток и периваскулярная лимфоцитарная инфильтрация увеличиваются, образуются лимфоидные узелки. В некоторых синовиальных мембранах развивается фибриноидный некроз, в прилегающих к некротическим участкам областях концентрируются нейтрофилы. Присутствие плазматических клеток, лимфоцитов и мононуклеаров зависит от длительности развития поражений. *M. hyorhinis* выделяется из суставной жидкости. По мнению Sharp (1967), особого внимания заслуживают развитие хронического негнойного воспаления синовиальных оболочек и лимфоидных фолликулитов, а также цитология синовиальной жидкости. Эти изменения сходны с ревматоидным артритом человека.

При внутривенном или внутрибрюшинном введении *M. hyorhinis* 6-недельным или более молодым птицам у них повышается температура, развиваются полисерозиты и артриты. У птиц в возрасте 8 недель появляются умеренно выраженные формы заболевания (Roberts et al., 1963; цит. по Switzer, 1969).

При заражении 5—7-дневных куриных эмбрионов *M. hyorhinis* через 7 дней после инъекции возникают перикардиты и перитониты.

Экспериментальные полисерозиты свиней сопровождаются повышением титра ингибирующих рост антител (Sabin, 1967; цит. по Switzer, 1969).

СЕРОЗНЫЕ СИНОВИИТЫ СВИНЕЙ, ВЫЗВАННЫЕ *M. GRANULARUM*

Изучение распространенных у свиней серозных синовиитов, не сопровождавшихся выделением *M. hyorhinis*, при последующем совершенствовании сред культивирования (добавление дрожжевого экстракта, муцина,

свиных желудков) завершилось выделением из синовиальной жидкости микоплазмы, отличающейся зернистым ростом и названной поэтому *M. granularum* (Switzer, 1969). Микоплазма растет в виде нежного осадка, легкого помутнения и нежных нитей на поверхности жидкой среды; лучше растет в аэробных условиях, не имеет склонности к мицелиальному росту, обесцвечивает феноловый красный, не редуцирует соли тетразолия, резистентна к пенициллину и ацетату таллия, чувствительна к линкомицину и тилозину, размеры микроструктур 300 мкм. *M. granularum* не размножается и не вызывает гибели или повреждений в куриных эмбрионах и экспериментальных поражений у лабораторных животных. Чувствительным видом животных является естественный хозяин — свинья.

M. granularum выделяется из пораженных синовиальных оболочек и носовой полости, очень редко встречается в очагах пневмонии.

Патогенез этого заболевания изучен недостаточно, однако предполагается, что носовая полость является резервуаром инфекции и что в определенных пока еще мало известных условиях микоплазмы проникают в суставные полости и поселяются там.

Острые синовиты появляются в стаде свиней, достигших веса около 34 кг. Заболевание возникает внезапно: повышается температура на 1—1,5°, появляется хромота, связанная с острой болью, отмечается поражение больших суставов (бедренно-большеберцовый), в которых накапливается экссудат. Поражения чаще моностеральные и реже билатеральные.

Выздоровление обычно наступает через 3 недели. Иногда заболевание переходит в хроническую форму, которая сохраняется в течение многих месяцев и лет. В этих случаях отмечают периартикулярный фиброз и поражение костей; в редких случаях встречаются некрозы и изъязвления суставов.

Лечение линкомицином и тилозином эффективно.

ПОРАЖЕНИЯ СУСТАВОВ У СВИНЕЙ, СВЯЗАННЫЕ С *M. HYOARTHROSINOSA*

M. hyoarthrosinosa выделена из пораженных суставов свиньи Moore с соавторами (1965, 1966). Эта микоплазма отличается от других изменением pH среды в щелочную сторону, в культуре почки свиньи вызывает ЦПЭ, при пассажах в бесклеточных средах утрачивает вирулентность; последующие пассажи на культуре клеток ведут к ее восстановлению.

Экспериментальное инфицирование свиней внутривенно сопровождается появлением артритов. Из пораженных суставов выделяется *M. hyoarthrosinosa*. Независимо от места введения этой микоплазмы она внедряется в разные ткани.

С помощью иммунофлуоресценции была обнаружена в тканях пищевого тракта, почек, кровяной системы, центральной нервной системы, легких и суставов.

Таким образом, *M. hyoarthrosinosa*, как и *M. hyoarthrosinosa*, является обитателем носовой полости больных (атрофический ринит, пневмония) и здоровых свиней.

Не будучи этиологическим агентом респираторных заболеваний, они проникают в кровоток, вызывают полисерозиты как в естественных условиях, так и экспериментально. Эти микоплазмы, особенно *M. hyoarthrosinosa*, являются бипатогенными микроорганизмами, поражая в одинаковой степени молодых свиней и птиц.

МИКОПЛАЗМЫ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ СУСТАВОВ КРЫС И МЫШЕЙ

В 1939 г. Klieneberger выделила из опухоли подчелюстной железы крысы микоплазму, названную ею L_4 — *M. arthritidis* (синонимы: *Mycoplasma arthritidis*, «Preston», Pg_6 — возбудитель полиартрита крыс). Этот микроорганизм при внутривенном заражении крыс вызывал артриты, при внутримозговом — энцефалиты, при подкожном — абсцессы. Штамм Klieneberger по характеру роста и серологически был идентичен культуре Woglom и Waggen (1938), выделенной из суспензии саркомы крыс.

Экспериментальное заражение крыс и мышей в нижние конечности культурой Woglom и Waggen вызывало артриты. Способность вызывать экспериментальные артриты сохранялась после культивирования этой микоплазмы на искусственных питательных средах в течение ряда лет. По заключению Klieneberger-Nobel (1962), эта культура оказалась высоковирулентной. При инъекции вместе с адьювантом внутривенно развивался тяжелый полиартрит. Крысы, выздоровевшие от полиартрита, содержали комплементсвязывающие антитела в высоких титрах к *M. arthritidis* и были иммунны по отношению к повторному инфицированию.

Ранние и многочисленные работы о спонтанных артритах крыс, выделение микоплазм из пораженных суставов и воспроизведение экспериментального артрита вызвали у исследователей большие надежды на возможность создания модели ревматоидного артрита человека.

Однако последующий анализ этого заболевания показал, что изменение в суставах характеризуется интенсивной пролиферацией полиморфноядерных лейкоцитов в синовиальных оболочках и периартикулярной ткани и весь процесс протекает по септическому и гнойному типу, несходному с ревматоидным заболеванием. Впоследствии были описаны эпизоотии спонтанных артритов в колониях крыс и в одной локализованной вспышке удалось показать поражение животных высоковирулентным штаммом *M. arthritidis* (Tully, 1969).

Спонтанные гнойные артриты начинаются с опухания и покраснения тибатарзальных и радиокarpальных суставов передних или задних лап, а иногда и всех четырех. Суставы и даже конечности могут увеличиваться в размерах, кожа вокруг суставов становится синюшной и отеочной; отеки распространяются на фаланги, появляются изъязвления. Излечение наступает после самопроизвольной ампутации. *M. arthritidis* выделяется во всех фазах заболевания. Процесс начинается с мягких тканей и распространяется на весь сустав, капсулу, синовиальные оболочки и даже хрящ, в более поздних стадиях процесса развивается прогрессирующий остеомиелит.

Патогистологической особенностью естественного заболевания является распространенный полиморфноядерный лейкоцитоз.

Спонтанный *M. arthritidis*-артрит крыс редко становится системным заболеванием в силу небольшого тропизма к разным органам и тканям, из которых эта микоплазма выделяется редко. Наиболее вероятно существование латенции *M. arthritidis* в организме крыс. При воздействии ослабляющих резистентность факторов появляются спонтанно возникающие заболевания и даже эпидемические вспышки.

Экспериментальное воспроизведение этого заболевания (Sharp, 1967; Jasmin, 1967; Tully, 1969, и др.) зависит от вирулентности штамма и места инокуляции. В результате подкожного введения агаровой взвеси *M. arthritidis* крысам у них появлялись локальные абсцессы без артритов с выделением микоплазмы из крови, селезенки, ближайших лимфатических узлов

и почек. Внутривенное введение свежeweделенных штаммов или штаммов, культивировавшихся в присутствии бесклеточных опухолевых экстрактов, приводило к развитию гнойных полиартритов, осложненных конъюнктивитами и уретритами. Экспериментальные полиартриты были близки естественно возникающим; микоплазмы выделялись из инфицированных суставов в течение двухнедельного периода максимальной выраженности патологического процесса. При затихании процесса у 25% крыс отмечены вялые параличи задних конечностей, обусловленные распространением процесса на позвонки с компрессией нервных корешков. Последующее прогрессирование заболевания заканчивалось гибелью животных.

Первой фазой экспериментального артрита *M. arthritidis* является развитие гнойного воспаления суставов и синовиальных оболочек с последующей деструкцией хряща и кости. Эти явления возникают в ответ на микоплазма-инфекцию, развивающуюся внутри и вне синовиальных оболочек.

В изучении экспериментальных артритов, индуцированных *M. arthritidis*, большую роль сыграли работы по изучению артритов, вызванных введением экссудата лимфосаркомы Murphy крысам (Jasmin, 1967). Последующая адренэктомия или одновременное введение микоплазмы с опухолевым экссудатом или декстраном резко усиливали артритогенный эффект. В этих случаях отмечены прогрессирующее нарастание воспалительных изменений в суставах конечностей и позвоночника и осложнения со стороны урогенитальной сферы (геморрагические кисты яичников).

Начальные гистологические изменения выражались в появлении мононуклеарного или полинуклеарного экссудата. Полинуклеарная экссудация доминировала при введении опухолевой жидкости внутривенно, а при внутрибрюшинном введении преобладала мононуклеарная реакция.

Преобладание больших мононуклеаров отмечалось при регрессе экссудативной фазы. Процесс распространялся с синовиальных и капсулярных тканей на хрящ и даже кость. Нередко наблюдалась остеолитическая реакция со вторичным образованием остеоидной ткани, а также фиброз артикулярной и периарттикулярной ткани.

Изучение пораженных суставов, индуцированных экссудатом крысиной лимфосаркомы, у других видов животных показало, что экссудат содержит инфекционный агент, идентичный микоплазме Woglom и Warren (1938) и Klieneberger (1939), впоследствии идентифицированный как *M. arthritidis*. Обнаружено сродство *M. arthritidis* с клетками лимфосаркомы Murphy. Внутриклеточная локализация этих микоплазм препятствует их подавлению тетрациклином. Вирулентность *M. arthritidis* в лимфосаркоме Murphy сохраняется, а при пассировании на бесклеточных средах снижается. Несмотря на возможность воспроизведения экспериментального артрита введением вирулентных недавно выделенных, не пассированных культур *M. arthritidis* и экссудатов, содержащих эти культуры, заслуживают внимания данные Cole с соавторами (1937) (цит. по Tully, 1969), показавших, что даже аттенуированная культура *M. arthritidis* способна в больших дозировках вызвать экспериментальный артрит и локализоваться также в тканях печени и селезенки.

Небезынтересно также отметить приведенные выше факты выделения *M. arthritidis* (*M. hominis* 2) из синовиальной жидкости больных синдромом Рейтера, полиартритами, ревматоидным артритом и при коллаgenoзе. Это позволяет высказать предположение о бипатогенности данной микоплазмы и ее тропизме к синовиальным оболочкам разных хозяев.

Известны еще две разновидности артритогенных для мышей микоплазм. Это *Musculomyces arthropicus* (серологический тип В) и *M. histopicus* (серологические типы С, D и E). Первый вызывает полиартрит мышей при внутривенном и внутривенном введении, а второй — при внутривенном. По данным Sabin (1939, 1939a), полиартрит воспроизводится у 100% мышей. Уже через 4—5 дней после внутривенной или внутривенной инъекции начинают опухать суставы; артрит мигрирует, охватывая все новые суставы. У мышей наблюдается веретенообразное утолщение отдельных фаланг пальцев. Процесс носит прогрессирующий хронический характер, часто приводит к анкилозу, особенно коленных суставов. Методом слепого пассажа из хронически пораженных суставов изолировали культуру микоплазм даже через 70 дней после первичного внутривенного заражения. Эти микроорганизмы при последующем заражении мышей не размножались в мозге, внутренних органах, плевральной и брюшной полостях; патологические поражения ограничивались суставами. Отмечена пролиферация соединительной ткани синовиальных оболочек, капсулы перихондрия хрящей. Только внутривенное введение инфекта вызывало заболевание; инъекции в нос, кожу, под кожу, в мышцы, грудную клетку не приводили к артритам и не давали даже местной реакции. Кролики и морские свинки резистентны к инфекции.

Штамм В (*M. arthropicus*) в отличие от типа А не образует экзотоксина.

Как мы уже указывали выше, латентная инфекция *M. pulmonis* в организме крыс хорошо изучена, однако лишь недавно было установлено, что эта микоплазма не только связана с респираторным заболеванием, но и обладает артритогенными потенциями (Barden, Tully, 1969). Из пораженных суставов мышей, использовавшихся для пассирования опухоли, индуцированной холантеном, выделена *M. pulmonis*, артритогенная для здоровых мышей. Внутривенное введение этой культуры вызывало генерализованную микоплазма-инфекцию и блуждающие артриты, начинающиеся с поражения луче-запястных, а затем тибитарзальных суставов. На ранних стадиях патологического процесса выявлялось воспаление синовиальных оболочек и околосуставных тканей с экссудацией. В экссудате содержались полиморфноядерные и моноядерные клетки. Полиартрит развивался медленно; остаточные явления регистрировались в течение 4 месяцев, клиническая и гистологическая картина была близка артритам, индуцированным *M. arthritidis*. При последующем испытании еще 10 штаммов *M. pulmonis* только два оказались способными вызывать артриты. Оба штамма выделены из крови и суставов крыс, зараженных *Plasmodium berghei*. Воздействие дополнительного агента активировало артритогенные потенции *M. pulmonis*.

МИКОПЛАЗМА-ИНФЕКЦИЯ ПРИ ПОРАЖЕНИЯХ СУСТАВОВ У ПТИЦ

Наиболее полно это заболевание описал Fabricant (1969). Инфекционные синовииты характеризуются опуханием суставов, бурситами и синовиитами, осложняющимися спленоmegалией и увеличенной обесцвеченной печенью (что несвойственно инфекции *M. gallisepticum*). Заболевание наиболее часто встречается у молодых растущих птиц и реже у взрослых, имеет длинный инкубационный период, пролонгированное и постепенно прогрессирующее течение. Первыми симптомами заболевания являются замедленный рост и хромота; смертность невысокая. Первоначально это заболевание ассоциировали с вирусной инфекцией и несколько позднее была доказана его связь с *M. synoviae*. По Olson с соавторами (1956,

1959), Kerr и Olson (1967), Sevoian с соавторами (1958), синовиально-артритический синдром птиц сходен с ревматоидным артритом человека. Наряду с поражением суставов наблюдаются пери- и миокардиты с поражениями клапанов и стенки сердца.

При экспериментальной, внутривенной, внутривнутрибрюшинной и внутрисуставной инфекции *M. synoviae* инкубационный период короткий (2—10 дней). Заболевание протекает сходно у кур и индеек: поражаются суставы, в ранней фазе появляется вязкий экссудат, который в поздних стадиях становится гнойным; во внутренних органах отмечается гиперплазия ретикулярных клеток. Из пораженных суставов и органов выделяется *M. synoviae*.

Длительные экспериментальные наблюдения Kerr и Olson (1967) были проведены с *M. synoviae* наряду с *M. gallisepticum* и вирусным агентом.

Обследовались 3 группы зараженных этими агентами птиц параллельно со здоровыми контрольными и птицами, бывшими в контакте с больными. Все 3 агента обуславливали сходные изменения в сердце в виде отека миокарда, интерстициальной гетерофильной и мононуклеарной инфильтрации, пролиферации ретикуло-эндотелия и дегенерации миофибрилл. В сосудах сердца регистрировались пролиферация медиального слоя, мононуклеарная инфильтрация и последующий некроз. В группах зараженных *M. gallisepticum* и *M. synoviae* развивались эпикардиты. Наиболее тяжелые поражения сердца вызваны *M. synoviae*.

Известный интерес представляют статистические данные о поражениях сердца (табл. 35).

Постмортальные изменения сердца выражались в уплотнении перикарда, развитии фибриновых рубцов в эпикарде, сращивании эпи- и перикарда, уплотнении эндокарда с прорастанием клапанов.

Данные об эпизоотологии инфекции *M. synoviae* скудные. Отмечается травосваривальный и контактный пути передачи инфекции. Имеются указания о находках *M. synoviae* в респираторном тракте птиц без патологических изменений, однако микоплазмонительство изучено мало.

ТАБЛИЦА 35. ЧАСТОТА И ТЯЖЕСТЬ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ПОРАЖЕНИЙ СЕРДЦА У ПОДОПЫТНЫХ ПТИЦ (ПО KERR И OLSON, 1967)

| Агент | Частота поражений, % | | Частота постмортальных поражений в сердце, % |
|-------------------------|---------------------------|---------------------------|--|
| | в группах зараженных птиц | в группах контактных птиц | |
| Вирус А. | 80 | 60 | 25 |
| <i>M. synoviae</i> | 80 | 55 | 25 |
| <i>M. gallisepticum</i> | 89 | 30 | 15 |

Различные виды микоплазм у разных видов животных вызывают сложные воспалительные синдромы в виде острых, подострых, хронических и бессимптомных форм заболевания (например, агалактия коз, вызванная *M. agalactiae*, или полисерозиты свиней, этиологически связанные с *M. hyorhinis*). Вместе с тем известно, что при сложном воспалительном синдроме человека, известном под названием болезни Рейтера, этиологическая роль микоплазм пока не доказана, несмотря на выделение некоторых видов микоплазм (*M. hominis* 1 и *M. hominis* 2, Т-штаммы) из уретры, конъюнктивы и реже из суставной жидкости подобных больных.

Обращает на себя внимание выраженный тропизм различных видов

микоплазм к синовиальной и суставной ткани разных видов животных. Этот тропизм проявляется и при сложных воспалительных синдромах типа агалактии коз, полисерозитов свиньи, синдрома Рейтера человека и поствакцинальных суставных осложнений в результате введения вакцинного штамма *M. mycoides* var. *mycoides*, при экспериментальном заражении микоплазмами, не связанными с заболеваниями суставов (например, *M. pulmonis*), и, наконец, при естественных и искусственно воспроизведенных у разных видов животных заболеваниях суставов, этиологически связанных с определенными видами микоплазм.

Этиологическая роль микоплазм доказана микробиологическими, серологическими, клинико-гистологическими и эпизоотологическими данными, полученными при изучении артритов коров, коз, свиней, крыс, мышей и птиц.

Естественно возникшие и экспериментально воспроизведенные патологические процессы весьма сходны и зависят как от генетической предрасположенности хозяина, так и от вирулентности микоплазмы.

Гистологические исследования показывают, что артриты коз, овец, крыс, мышей и птиц являются следствием специфических процессов. Патологические проявления выражаются в развитии гнойных экссудатов в суставной полости, интенсивной и обширной инфильтрации синовиальных мембран и суставных капсул полиморфноядерными лейкоцитами; у крыс нередко поражения периартикулярных тканей, хряща и остеоинделиты.

Особый интерес представляет другой тип артритов — негнойные артриты свиней, вызванные *M. hyorhinis* и гистологически сходные с ревматоидным артритом человека. Отличительной чертой этих артритов является содержание одних нейтрофилов в ранних воспалительных инфильтратах и присутствие во всех последующих стадиях заболевания нейтрофилов, лимфоцитов, мононуклеаров и плазматических клеток. В очагах поврежденной синовиальной ткани (по истечении 2 месяцев и более от начала заболевания) обнаруживаются лимфоидные фолликулы, сходные с лимфоидными фолликулами, характерными для ревматоидного артрита человека. Развитие хронического негнойного артрита в ответ на инфекцию *M. hyorhinis* у свиней, по-видимому, является специфической реакцией в ответ на эту микоплазма-инфекцию.

Ценны также находки *M. hyorhinis* в суставной жидкости людей, больных ревматоидным артритом. Изучение роли микоплазм при ревматоидном артрите и других суставных поражениях у человека начато недавно. Выделенные микоплазмы, как правило, не идентифицированы, однако из 3 идентифицированных видов *M. hominis* 2 (*M. arthritidis*), *M. hyorhinis* и *M. fermentans* первые 2 вида являются возбудителями заболеваний суставов у млекопитающих.

Материалы, характеризующие поражения суставов у птиц, вызванные *M. synoviae*, позволяют заключить, что эти поражения протекают не только по типу гнойных процессов, которые могут быть обусловлены присоединившейся бактериальной инфекцией, осложняющей заболевание, но и по типу процессов, сходных с ревматоидным артритом человека. Наряду с поражениями суставов нередко перикардиты и миокардиты.

Способность разных видов микоплазм вызывать в естественных и экспериментальных условиях острые гнойные и хронические артриты у разных видов животных и птиц, а также факты выделения микоплазм при суставных заболеваниях человека свидетельствуют о необходимости самого широкого поиска их роли в этиологии и патогенезе суставных заболеваний человека.

МИКОПЛАЗМЫ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

Имеются единичные сообщения о выделении микоплазм при некоторых заболеваниях нервной системы у человека и обширные исследования заболевания, известного под названием хорей мышей — rolling disease, вызванного *M. neurolyticum*. Ниже приводим краткий обзор этих сведений.

В 1950 г. Pain и вслед за ним Davies и Arnstein (1954) сообщили о выделении неидентифицированных видов микоплазм от больных воспалением менингеальных оболочек и абсцессом мозга. Sharp (1967) ссылается на данные Carlson, Spector и Douglas, выделивших микоплазму от погибшего ребенка с врожденным заболеванием сердца и присоединившейся инфекцией. При вскрытии был обнаружен абсцесс в левой лобной мозговой доле и гнойно-фибринозный менингит. Культуры микоплазм выделены прижизненно из крови и цереброспинальной жидкости и из экссудата желудочков посмертно.

Нами совместно с Е. И. Коптеловой и В. И. Покровским (1962, 1963) при обследовании спинномозговой жидкости 150 больных менингитами, менингоэнцефалитами и абсцессами мозга в 15% случаев выделены стабильные L-формы, не реверсирующие в бактерии, весьма сходные по характеру роста, морфологии колоний и морфологии микроструктур с семейством *Mycoplasmataceae*.

Имеющиеся данные о роли микоплазм при заболеваниях нервной системы человека разрознены и не позволяют пока сделать какие-либо определенные заключения.

M. neurolyticum (*Musculomyces neurolyticum* L₅—Findlay et al., 1938; серологический тип А — Sabin, 1938; Pg-28) выделена при внутримозговых пассажах вирусов желтой лихорадки и лимфоцитарного хориоменингита (Findlay et al., 1938), а также при пассажах *Toxoplasma gondii* (Sabin, 1938). Этиологическая роль *M. neurolyticum* при rolling disease мышей доказана огромным количеством работ (Findlay et al., 1938; Sabin, 1938, 1939, 1940; Tully, 1964, 1969). По Sabin (1938), возбудитель ни разу не выделялся от здоровых мышей (1000 исследований). При пассировании на искусственной питательной среде было получено 48 последовательных субкультур, причем все оказались патогенными для мышей, давая одинаковый клинический и патологический эффект. Возбудитель проходил через бактериальный фильтр (размеры примерно 250—292 мкм), патогенность его терялась при нагревании около 45° в течение 15 минут. Пассажный и искусственно культивируемый агенты при заражении мышей обуславливали полный взаимный иммунитет. Автором был получен экзотоксин высокого неврогенного действия.

Штамм Финдлея (L₅) при интрацеребральном введении его в смеси с агаром вызывал синдром rolling disease у молодых мышей, штамм Sabin (A) при внутрибрюшинном и внутригрудном заражении вызывал поражение мозга. При интравенозном введении возникали явления тяжелого мигрирующего полиартрита. Возбудитель размножался в мозге, плевре, перикарде и брюшине. Уникальной особенностью *M. neurolyticum* является способность экзотоксинообразования. Экзотоксин термолабилен, имеет белковую природу, инактивируется при температуре 50° в течение 30 минут, продуцируется в начальных фазах роста и быстро разрушается (уже через 2 дня исчезает из культуры). Происхождение экзотоксина неизвестно; является ли он продуктом секреции мембраны или продуцируется внутриклеточно и экскретируется во внешнюю среду, пока не установлено. Он вызывает симптомы уже через 1—2 часа после внутривенного

введения 2-недельным мышам. Большая часть мышей гибнет через несколько часов, а у выживших продолжают нервные симптомы. На вскрытии найдены некротические повреждения в передней части мозжечка, ацидофильный некроз клеток Пуркинье. Выздоровевшие мыши были иммунны к повторному введению этого токсина.

Roth (1951) и Lemcke (1961) выделили микоплазмы, неврогенного действия из мозга мышей. Один из этих штаммов, KSA (Lemcke, 1961), был проверен серологически и оказался идентичным штаммам L₅ по типу *M. neurolyticum* (Tully, Ruchmann, 1964). В последующей работе Tully (1964, 1969) установил высокую вирулентность штамма KSA и штамма типа А, хранившегося в лиофилизированном виде 20 лет. Внутривенное введение этих культур мышам вызывало уже через 1—2 часа после инъекции симптомы rolling disease; смерть наступала через 3—5 часов. Культуры оказались способными продуцировать экстрацеллюлярный сильный экзотоксин. Перевивки культур в лабораторных условиях (100 субкультур) не снижают их токсинообразующей функции, инактивация токсина отмечается через 48—60 часов культивирования микоплазм в бульоне. К токсину чувствительны молодые мыши и крысы. С возрастом их резистентность повышается (4—5-недельные мыши и 1—2-месячные крысы уже резистентны). Температурная резистентность цельных клеток отмечена в пределах 45°, токсина — в пределах 50°. Фильтрация через фильтры «Миллипор» выявила, что клетки нейротоксигенных культур проходили через поры, равные 200 мкм, и задерживались порами размером 100 мкм. Полученный фильтрат был высоконейротоксичным. Попытки выявить эндотоксин в лизированных клетках *M. neurolyticum* дали отрицательные результаты.

M. neurolyticum растет в виде типичных колоний, состоящих из типичных микроструктур: гранул, вакуолей, нитей, часто с радиальными ответвлениями; обнаружена несколько бóльшая цитоплазматическая мембрана (100 Å). Размеры элементарных единиц около 100 мкм. Большинство нейротоксических штаммов не привередливы и хорошо растут на средах с низким содержанием сыворотки. *M. neurolyticum* быстро ферментирует ряд углеводов, не обладает ферментами, расщепляющими аргинин.

Подробный анализ инфекции *M. neurolyticum*, сделанный Tully (1969), позволил прийти к заключению, что естественная инфекция *M. neurolyticum* связана с латенцией этого возбудителя в организме мышей и его последующей активацией разными стресс-факторами, в том числе инфицированием вирусами или другими агентами.

Первыми признаками поражения центральной нервной системы являются вращательные движения вокруг длинной оси тела и атаксия; развиваются и другие нарушения локомоторной сферы и прогрессивно нарастающие восходящие параличи. Мыши гибнут в течение периода от 8 часов до 2 дней с начала заболевания. Нередко наблюдаются осложнения в виде лабиринтитов и воспалений среднего и внутреннего уха.

У крыс в естественных условиях заболевание не отмечено. Экспериментальная инфекция *M. neurolyticum* дает сходную с мышами клиническую картину, но менее активную.

Экспериментальное инфицирование мышей бульонными культурами вызывает наиболее активный и быстро развивающийся процесс в связи с накоплением в бульоне экзотоксина. Внутривенное введение культур ведет к немедленной атаксии, «вертячке» и гибели животного через 5—10 минут. У многих животных обнаруживается также отек легких; у некоторых явления развиваются позднее (через 4—8 часов после инъекции).

Токсин и бульонные культуры *M. neurolyticum* при внутривенном введении быстро фиксируются сосудистыми рецепторами и транспортируются в центральную нервную систему. Независимо от способа введения нейротоксин проникает в чувствительную к нему нервную ткань, развиваются очаговые поражения мозга, мозжечка и особенно глубоких отделов коры и подлежащего белого вещества.

Представляет особый интерес изучение поведения *M. neurolyticum* в соответствующих культурах клеток. Микоплазмы обнаруживаются в фагоцитарных вакуолях (*M. neurolyticum* фагоцитируется нейтрофилами и эозинофилами — Zucker-Franklin et al., 1966) и подвергаются деградации под влиянием лизосомальных ферментов. Вместе с тем мононуклеарные клетки содержат внутри вакуолей неизмененные или мало измененные микоплазмы.

Внутриклеточное нахождение микоплазм в моноцитах и возможность их длительного сохранения без внутриклеточной деструкции под влиянием иммунных субстанций свидетельствуют об очагах латенции в моноцитах.

Антитела к *M. neurolyticum* нейтрализуют токсин и бульонные культуры *in vitro*. Наряду с этим протективный эффект *in vivo* может быть получен при предварительном внутриклеточном введении антител или не позднее чем через 2 минуты после введения токсина, который уже через 2 минуты связывается тканевыми рецепторами и не способен нейтрализоваться соответствующими антителами (Thomas et al., 1966; Tully, 1969).

Сведения об эпизоотологии инфекции *M. neurolyticum* ограничены. Известно, что новорожденные мыши свободны от микоплазм, но в возрасте 2—3 недель они уже являются носителями латентной микоплазменной инфекции. Имеет место капельно-респираторный путь передачи, так как у мышей в раннем возрасте обнаруживается *M. neurolyticum* в легких, в носоглотке, среднем и внутреннем ухе, а также в слизистой оболочке глаз.

МИКОПЛАЗМЫ И ДРУГИЕ МИКРООРГАНИЗМЫ С ДЕФЕКТОМ КЛЕТочНОЙ СТЕНКИ ПРИ ОПУХОЛЯХ И ЛЕЙКОЗЕ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

Первые находки микоплазм в опухолевых тканях известны с 1938 и 1939 гг., когда Woglom и Warren (1938) и Klieneberger (1939) выделили из взвеси лимфосаркомы крысы и опухоли подчелюстной железы микоплазму, позднее идентифицированную как *M. arthritidis*. Эти находки прошли незамеченными, и значительно позднее, с 1964 г., внимание исследователей было вновь обращено на факты выделения микоплазм из некоторых опухолевых тканей животных и человека.

В ряде работ сообщается о выделении цитопатических агентов из клеточных культур, инокулированных костным мозгом людей, больных острым лейкозом (Nakala, Horoszewicz, 1963; Negroni, 1964; Murphy et al., 1965), и о наличии в тканях и плазме крови лейкозных больных вирусоподобных агентов (Braunsteiner et al., 1960; Burger et al., 1964; Dmoschowski, 1965). Эти находки, а также некоторые общие признаки вирусов, особенно группы миксовирусов и микоплазм, размеры, чувствительность к эфиру, способность гемадсорбции и гемагглютинации, резистентность к большинству антибиотиков, цитопатический эффект в культуре ткани и интерференция с некоторыми вирусами *in vitro* (Hayflick, Chaposk, 1965) стимулировали поиски микоплазм при лейкозе и других опухолях человека.

ВЫДЕЛЕНИЕ МИКОПЛАЗМ ОТ БОЛЬНЫХ ЛЕЙКОЗОМ И ПРИ НЕКОТОРЫХ ДРУГИХ ОПУХОЛЕВЫХ ПРОЦЕССАХ ЧЕЛОВЕКА

Для выделения микоплазм из лейкозных и других опухолевых материалов используют 2 приема: 1) пассирование в чувствительных культурах клеток для накопления агента с последующим высевом на искусственные питательные среды и 2) непосредственный посев на бесклеточные искусственные среды.

В течение 1963—1970 гг. появилось значительное число сообщений о выделении микоплазм из разнообразных культур клеток, инокулированных материалами от больных лейкозом. Так, в 1963 г. Nakala с сотрудниками выделили микоплазму от больного с хронической лимфоидной лейкопенией. В 1964 г. Negroni, пассируя материалы от лейкозных больных CW и PT в культуре клеток эмбриона человека, обнаружил цитопатический эффект. Последующие высевы этого материала на искусственных питательных средах завершились получением культуры микоплазм (Girardi et al., 1965). В 1964 г. Inman с соавторами выделили цитопатогенный агент, оказавшийся микоплазмой. Andrews (1965), пассируя лейкозный материал через культуру клеток, также изолировал микоплазмы, обозначенные GC, RD и KH.

Grase с соавторами (1965) при исследовании 21 пробы лимфоматозной и лейкозной ткани от 16 больных лейкозом выделили 4 цитопатических агента (880, 20, 22, 102), одинаковых по антигенной характеристике и характеру цитопатического эффекта, впоследствии идентифицированные как микоплазмы. Один из этих штаммов L(880), полученных из селезенки больного хроническим лейкозом и названный затем M. mergenhagen, идентифицирован как M. pulmonis.

При испытании контрольных 15 проб из тканей неоплазм, 15 проб от больных без лимфоматоза и 22 проб от 20 здоровых лиц микоплазмы не выделялись. Varile (1967) в культурах клеток, инокулированных осадком мочи больного лейкозом, обнаружил вирусоподобный агент, также оказавшийся микоплазмой.

Обширный материал представлен в работах Murphy с соавторами (1961, 1967, 1970), которые с 1960 г. начали систематические исследования проб костного мозга больных лейкозом людей с целью выделения инфекционных агентов. В результате исследования 1950 проб от лейкозных и нелейкозных больных выделено 64 штамма микоплазм, 7 проб содержали по 2 штамма. Таким образом, была изучена 71 культура. Из общего числа выделенных культур 27 были получены путем непосредственного посева на искусственные бесклеточные среды. Использование клеточных культур оказалось значительно эффективнее прямого посева. Микоплазмы высевались из свежего материала и замороженных проб. Значительная их часть была обнаружена только в клеточном материале и не культивировалась в условиях бесклеточных сред. Они выделялись из проб периферической крови чаще, чем из костного мозга, от детей чаще, чем от взрослых. Частота выделения микоплазм в момент установления первичного диагноза и при рецидивах была большая, чем в фазе ремиссии. Клиническая форма лейкемии и лекарственные препараты не влияли на результаты обнаружения микоплазм.

У детей микоплазмы выявлялись с одинаковой частотой при разных формах лейкоза, нелимфоидных злокачественных новообразованиях и дискразии крови. У взрослых наиболее часто они отмечались при лейкозе и других злокачественных новообразованиях. Эти наблюдения совпали с результатами работ других авторов, обнаруживших микоплазмы при

болезни Ходжкина (Somerson, 1965), при некоторых солидных опухолях (Hayflick, 1965; Armstrong et al., 1965). Так, Hayflick (1965) сообщил о выделении микоплазм из материала ретрофарингеальной тимомы и гемангиомы при инокуляции этим материалом клеточных культур. Armstrong с соавторами (1965) при многократном исследовании проб тканей двух доброкачественных опухолей — гемангиомы коленного сустава и задней фарингеальной фибромы, пассированных на деконтаминированных от микоплазм культурах, выделили 2 штамма микоплазм, соответственно названных F-11 и F-12. Попытки культивировать данные микоплазмы непосредственно на бесклеточных искусственных средах оказались безуспешными.

Оценка результатов выделения микоплазм из опухолевого материала путем предварительного пассирования через разнообразные культуры клеток встречает значительные затруднения, обусловленные широкой контаминацией микоплазмами перевиваемых клеточных линий. Это обстоятельство не могли не учитывать большинство исследователей, и во многих работах проводится тщательный анализ фактов, целью которого является выяснение истинного источника микоплазм. Кроме того, разрабатывались экспериментальные методы непосредственного высева микоплазм из опухолевого материала на искусственных питательных средах.

Для доказательства непосредственного присутствия микоплазм в опухолевом материале при использовании непрямого метода их выделения оказалось целесообразным использовать следующие приемы.

1. Инокуляция и пассажи испытуемого материала в тщательно контролируемые первично трипсинизированные клеточные культуры, контаминация которых микоплазмами наблюдается крайне редко (И. В. Раковская, 1965, 1966; Hayflick, Chanock, 1965; Varile, 1965, и др.).

2. Многократные исследования одних и тех же проб испытуемого материала в разных тщательно контролируемых клеточных линиях на наличие микоплазм и разных проб испытуемого материала в одних и тех же клеточных линиях при параллельном исследовании контрольных проб (аналогичного неопухолевого материала, тканей здоровых людей и т. д.). Этот прием применяли многие исследователи (Armstrong et al., 1965; Murphy et al., 1965, 1967; Grace et al., 1965; Fallon et al., 1965, и др.). Например, Fallon с соавторами (1965) использовали клетки 59 эмбрионов человека, полученные в течение 4 лет, для заражения материалом костного мозга от 8 больных лейкозом. После инокуляций появлялся ЦПЭ и выделялись микоплазмы с одинаковой биологической и серологической характеристикой. Параллельное использование этих клеточных линий для заражения материалом от 18 других больных и от 38 человек, не страдающих лейкозом, не сопровождалось ЦПЭ; микоплазмы при этом не высевались.

3. Идентификация микоплазм, выделенных из опухолевого материала, с целью их дифференциации от видов, контаминирующих культуры клеток. В этом отношении весьма интересны результаты опытов Armstrong с соавторами (1965), выделивших из двух доброкачественных опухолей 2 штамма микоплазм F-11 и F-12.

4. Анализ достоверности выделения микоплазм из опухолевого материала. Hayflick и Korrowski (1965) считают целесообразными дополнительные параллельные исследования смывов из горла наблюдаемого больного, обслуживающего персонала и лиц, работающих в лаборатории, на носительство данного вида микоплазм.

Наиболее доказательно непосредственное выделение микоплазм на искусственных питательных средах, минуя инокуляцию и пассажи на клеточ-

ных культурах. Однако этот метод неприменим в отношении микоплазм, репродукция которых в начальных фазах их выделения из организма хозяина возможна лишь в тканевых культурах. Тем не менее ряд исследователей уже в 1965 г. осуществил непосредственное культивирование опухолевого материала на искусственных питательных средах. Так, Hayflick и Korgowski (1965) сообщили о непосредственном выделении микоплазм из 3 проб костного мозга больного ребенка с диагнозом лимфобластического лейкоза при посеве на соответствующий бульон. Выделенный штамм был назван N-4. При одновременных посевах 2 проб костного мозга от 2 больных лейкозом, подвергшихся предварительной химиотерапии, и 3 проб костного мозга от больных, не пораженных злокачественными опухолями, микоплазмы не обнаружены. Из горловых смывов больного ребенка, у которого микоплазма была выделена из костного мозга, и лиц, работающих в лаборатории, этот штамм не выделялся. Barile и Robson (1965), используя метод непосредственного посева на искусственные среды, выделили микоплазму из ткани опухоли легкого при болезни Ходжкина (штамм А 63-17).

Barile с сотрудниками (1965, 1966) при непосредственном посеве проб костного мозга и крови 10 больных острым лейкозом и 10 контрольных больных с операциями на сердце выделили у первых микоплазмы. Все пробы взяты вскоре после поступления больных в начале клинических проявлений болезни. Ни у одного из обследованных больных не было признаков какой-либо инфекции ни в момент взятия проб, ни за месяц до установления диагноза. Чистые культуры микоплазм выделены из 6 проб от 4 больных. Никакой сопутствующей флоры в виде бактерий или грибов в этих пробах не обнаружено.

Микоплазмы выделены от 2 из 4 больных с острым миелоидным лейкозом (от 17-летней девушки и 74-летнего мужчины — штаммы 249 и 274) и от 2 (девочка 3 лет и юноша 17 лет — штаммы 278 и 283) из 6 больных с острой лимфоидной лейкемией, у 3 больных до начала антибиотикотерапии и у одного после соответствующих терапевтических вмешательств. Микоплазмы выделены из осадков костного мозга 2 больных в момент установления первичного диагноза, у одного больного из осадка плазмы крови и эритроцитов костного мозга на 3-й день после установления диагноза и у одного больного из осадка костного мозга на 37-й день с момента начала рецидива после антибиотикотерапии. У этого же больного на 97-й день с начала рецидива и после антилейкозной терапии микоплазма из костного мозга не высевалась, но была обнаружена в осадке пробы эритроцитов периферической крови. Из проб костного мозга периферической крови 10 хирургических больных, подвергшихся операции на сердце, микоплазмы не выделили.

Hayflick и Stanbridge (1966) сообщили о выделении Flamm (в Австрии) культуры микоплазм (штамм 583) из костного мозга больного лейкозом при непосредственном посеве на агар, а также о выделении Jensen (Хельсинки) культуры микоплазм из посева костного мозга у больной с метастазирующим раком молочной железы и микоплазмы N-2 из папилломы мочевого пузыря.

Выделявшиеся многими авторами микоплазмы имелись непосредственно в испытуемом опухолевом материале, костном мозге, периферической крови больных миелоидным и лимфоидным лейкозом и в тканях некоторых других опухолей. Они чаще выделялись на ранних стадиях болезни и реже при рецидивах и, как правило, до применения соответствующей терапии, по одним данным, у взрослых чаще, чем у детей, по другим (Murphy et al., 1970), наоборот, чаще у детей, чем у взрослых.

Взятие свежих проб материала от больных с недавно установленным диагнозом, применение наиболее чувствительных к микоплазмам клеточных культур и наиболее эффективных бесклеточных сред культивирования (со свежей сывороткой человека) позволяют, по мнению Murphy и Bullis (1966), выделять микоплазмы от больных острым лейкозом значительно чаще. Однако авторы отмечают, что микоплазмы можно иногда выделить и от людей, не страдающих лейкозом.

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МИКОПЛАЗМ, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ БОЛЬНЫХ ЛЕЙКОЗОМ И ПРИ НЕКОТОРЫХ ДРУГИХ ОПУХОЛЯХ

Изучение микоплазма-инфекций лейкозного и опухолевых материалов началось с электронномикроскопических исследований вирусоподобных агентов, встречающихся в этих тканях. Так, Anderson (1964), Anderson и Barile (1965, 1966), Dmochowski и соавторы (1965) сообщили, что культуры известных видов микоплазм содержат структуры, морфологически сходные с вирусоподобными агентами, ранее обнаруженными в тканях больных лейкозом, лимфомой, миеломой и инфекционным мононуклеозом. Иногда обнаруживаемые вирусоподобные агенты в равной мере можно было отнести и к микоплазмоподобным агентам. В этой связи появилась необходимость несколько подробнее остановиться на электронномикроскопических данных, характеризующих морфологические особенности микоплазм опухолей в клеточных культурах и на бесклеточных средах, сопоставив эти особенности с тонкой микроструктурой других микоплазм, а также некоторых вирусов.

Как известно, в тонкой структуре микоплазм имеются морфологические формы двух видов: зрелые клетки (диаметром 500—1000 мкм) и элементарные репродуцирующиеся тельца (75—250 мкм). Кроме того, в зависимости от метода культивирования встречаются и нитевидные формы.

В ряде работ Dmochowski с соавторами (1964, 1965, 1967) описываются микоплазмоподобные агенты в лейкозных тканях и крови больных мышей и людей, а также 9 разных штаммов микоплазм, выделенных от больных лейкозом на плотных и жидких средах. Используя метод негативного окрашивания и ультратонких срезов осадков культур на искусственных средах и в тканях, авторы обнаружили значительный полиморфизм микоплазм: размеры их варьировали от 450 до 5000 Å в разных стадиях. Изучение концентратов плазмы от 20 больных с различными формами лейкоза и злокачественной лимфомы выявило у 13 (65%) больных структуры, напоминающие вирусы, и у 9 (45%) больных структуры, сходные с микоплазмами, однако дифференцировать эти структуры было очень трудно.

При электронномикроскопическом исследовании (Fallon et al., 1965) лейкозных микоплазм (Negroni, 1964; Andrews, 1965) установлено типичное для микоплазм строение. Размеры отдельных клеток варьировали от 90 до 1000 Å; длина нитей была различной, но их диаметр не превышал 75 мкм. Клетки и нити имели ограничивающую мембрану и внешний электроннопрозрачный покров. Вирусоподобные агенты, обнаруженные в седиментах после ультрацентрифугирования клеточных культур, инокулированных лейкозным материалом, из которого были выделены данные штаммы микоплазм, были весьма сходны с общеизвестными видами микоплазм.

Сходные наблюдения были сделаны Hummeler с соавторами (1965) при изучении той же микоплазмы CW (Negroni). После 23 пассажей этого штамма на искусственной питательной среде авторы обнаружили круп-

ные формы диаметром 540 мкм, изредка нитевидные структуры и множество элементарных телец размером 90 мкм. Изменения структуры и размеров отдельных элементов этой микоплазмы в значительной мере зависели от методов их культивирования и приготовления препаратов для электронной микроскопии. Двойная ограничивающая мембрана у данного штамма хорошо выявлялась в культурах, выросших на бесклеточных средах, и не выявлялась при размножении микоплазм в культурах клеток.

Изучение тонкой структуры микоплазм при их размножении в клеточных культурах сопряжено с большими трудностями. В этом случае более крупные клетки можно различить благодаря их размерам, но элементарные тельца практически не отличимы от вирусоподобных агентов. В бульонных культурах они по размерам однородны и приблизительно равны миксовирусам, имеют двойную ограничивающую мембрану, напоминающую мембрану вирусов. Лишь у некоторых частиц пространство между мембранами несколько уже, чем у вирусов.

Аналогичные исследования проведены Anderson и Barile (1965) на других видах лейкозных микоплазм (274 и 278). В негативно окрашенных препаратах большая часть микоплазм имеет более или менее сферическую форму, диаметр их 500—2000 мкм. Эти большие тела чаще всего содержат центральную светлую структуру, вероятно, соответствующую ядерной зоне. От поверхности каждого микроорганизма отходило несколько нитей размером 50—200 мкм, иногда они разветвлялись. В ряде случаев нити имеют две утолщенные области, содержащие внутренние более светлые структуры; у некоторых структур нет большого тела, и они состоят из сплошной ветвящейся нити.

В препаратах ультратонких срезов у больших тел микоплазм видна центральная нуклеарная область из тяжелой ДНК и периферическая цитоплазматическая область, содержащая рибосомоподобные гранулы. Редко встречаются большие тела без ядерной области. Нити в основной субстанции содержат рибосомоподобные гранулы, некоторые из них имеют внутренние более светлые зоны, состоящие из тяжелой, неотличимых от тяжелой ДНК нуклеарных областей больших тел. Мелких и плотных элементарных телец, описанных у других микоплазм (Domermuth et al., 1964; Anderson, Barile, 1965; Anderson, Manaker, 1966), у данных штаммов не обнаружено. При сравнительном исследовании лейкозной микоплазмы 880 (*M. mergenhagen* — *M. pulmonis*) и *M. hominis* 1 методом негативного окрашивания в культурах, выращенных на одинаковых искусственных средах, обнаружено наличие нитевидных структур у *M. pulmonis* в несколько меньшем количестве, чем у описанных выше штаммов 274 и 278. Значительно меньше нитевидных форм выявлено у *M. hominis*.

Электронномикроскопическое исследование микоплазм, выделенных из опухолей F-11 и F-12, показало их значительный полиморфизм как в искусственных средах, так и в клеточных культурах. В зависимости от плоскости среза можно было увидеть электронноплотные нуклеоиды, которые были связаны нитями и окружены цитоплазмой. Располагаясь в клетках, плотные гранулы микоплазм часто образовывали непосредственно под ограничивающей мембраной клетки плотный слой, сплошь состоящий из гранул овальной или круглой формы размером 200—500 мкм.

Размеры элементарных телец (75—150 мкм), их сферическая форма, вид нуклеарной области, наличие двухслойной оболочки сближают их морфологию с морфологией некоторых вирусов. В связи с этим, помимо сравнительного изучения структур микоплазм, выделяемых при опухо-

лях *in vitro* и *in vivo*, необходимо сравнительное исследование элементарных телец данных микоплазм и вирусов, особенно группы онковирuсов, по общепринятым параметрам (величина, форма, структура и состав оболочки, строение и состав нуклеоида и т. д.). Поскольку в настоящее время нет возможности четко отдифференцировать в клетках вирусоподобные агенты от микоплазмopодобных, для решения вопроса об их природе нужно провести последующее выделение и идентификацию как вирусов, так и микоплазм. Выделение одного из агентов не исключает возможности их совместного существования в ткани.

Весьма интересной представляется гипотеза Grace и соавторов (1965) о возможной роли микоплазм как «помощника», необходимого для репликации вирусного агента, локализующегося внутри зрелых клеток микоплазм. Основанием для этой гипотезы послужило выявление авторами при электронномикроскопическом исследовании M. mergenhagen в клетках лейкозной ткани включений элементарных вирусоподобных телец.

Предположение о включении вирусоподобных агентов в структурные элементы микоплазм нуждается в самой тщательной проверке, поскольку в структуре шаровидных тел микоплазм нередко содержится большое количество включений в виде гранул или элементарных репродуцирующихся частиц. Последние могут находиться и вне шаровидных тел. И если некоторые из них размером примерно 200 мкм могут репродуцироваться в искусственных средах, то более мелкие (75—150 мкм), по-видимому, не способны к репродукции на бесклеточных средах и являются облигатными клеточными паразитами, способными к самостоятельной репродукции только после ряда пассажей в чувствительных клетках.

Что касается возможной роли микоплазм как «вируса-помощника», то остается неясным вопрос о том, что имеет место в данном случае — генетическое взаимодействие двух агентов, один из которых выступает в качестве помощника, компенсирующего своей генетической информацией дефекты структуры партнера, или же налицо явление потенцирования, в основе которого лежат другие механизмы, в частности подавление продукции интерферона.

В целях идентификации микоплазм, выделявшихся при опухолях, исследовали их рост на искусственных питательных средах, ферментативную активность, способность гемадсорбции и наличие гемолитических свойств, ЦПЭ и антигенные особенности. Некоторые из этих данных будут представлены ниже.

Группа лейкозных штаммов CW и PT (Negroni, 1964, и др.), 11, RD, KH (Andrews, 1965)

Эти штаммы (Fallon et al., 1965; Girardi et al., 1965; Leach, Butler, 1966) растут в виде типичных колоний размером от 0,5 до 1 мм, иногда пигментированных, вырастают в агар, окрашиваются по Динесу и сохраняют окраску. Штаммы CW и 11 ферментируют глюкозу; другие штаммы ферментативно инертны. Штамм CW вызывает гемолиз эритроцитов морской свинки при температуре 37° после 48 часов.

Эта группа штаммов чувствительна к тетрациклину (10 мкг), колистину (50 мкг), канамицину (10 мкг) и хлортетрациклину (10 мкг), резистентна к пенициллину (500 мкг) и цефалоридину (32 мкг). Они отличаются выраженным ЦПЭ и именно по этому признаку были впервые обнаружены в тканях как цитопатогенные агенты. Все штаммы вызывали сходный ЦПЭ. В центральной части монослоя к 3-м суткам выявлялись зернистые вытягивающиеся клетки, дегенерация распростра-

нялась к периферии, начинались десквамация клеток и отслоение моно-слоя (3—5-е сутки). В это время среда сильно закислялась. Штамм СW давал ЦПЭ при первичной инокуляции и в последующих пассажах в культурах клеток эмбриона человека и HeLa. В первично трипсинизированной ткани почки обезьяны резус, в перевиваемых линиях клеток почки хомячка и амниона человека ЦПЭ появлялся лишь после нескольких слепых пассажей. ЦПЭ подавлялся тетрациклином (0,6 мкг), хлортетрациклином (8 мкг) и канамицином (1,75 мкг). Культуральная жидкость утрачивала инфекционность при температуре 4° в течение 12 часов и под воздействием эфира при температуре 44° в течение часа. Антисыворотки к данным штаммам подавляли ЦПЭ. Серологическая идентификация этой группы с помощью разнообразных тестов, в том числе реакции ингибирования роста, выявила их близкое родство или идентичность с *M. pulmonis*.

Группа лейкозных штаммов M. mergenhagen — 880, 20, 22, 102
(Grace et al., 1965; Horoszewicz et al., 1966)

Эти штаммы на бесклеточных средах растут в виде типичных колоний размером 0,5—1 мм, иногда пигментированных. Все 4 штамма дают ЦПЭ в линиях перевиваемых клеток кишечника человека, в первичной культуре клеток почки быка и в AV₃ и не вызывают ЦПЭ в культурах клеток почки обезьяны и HeLa. ЦПЭ микоплазм сохраняется после их пассирования в искусственных питательных средах. Минимальные размеры инфицирующих агентов данных микоплазм 50—80 мк. Фильтраты, содержащие такие элементы, вызывают ЦПЭ в чувствительных культурах клеток уже в первом или втором пассаже. При посеве данных фильтратов на жидкие и полужидкие искусственные среды микоплазмы не вырастают; их рост обнаруживается только после появления ЦПЭ.

Рост микоплазм в клеточных культурах сопровождается быстрым снижением рН среды. Добавление буферных веществ восстанавливает рН, но не снижает ЦПЭ.

Хлороформ, эфир и прогревание при температуре 45° в течение 30 минут инактивируют рост микоплазм как в искусственных средах, так и в культурах ткани и устраняют ЦПЭ. Хлормицетин (250 мкг) и хлортетрациклин (25 мкг) предупреждают ЦПЭ микоплазм, выращенных на искусственных средах, в клеточных культурах, и ингибируют рост микоплазм в искусственной питательной среде. Антисыворотка, приготовленная против микоплазм, выросших на искусственных питательных средах, нейтрализует ЦПЭ микоплазм, культивированных в тканях, и, наоборот, антисыворотка, полученная против тканевых микоплазм, нейтрализует ЦПЭ микоплазм, выросших на искусственной питательной среде.

Тканевые культуры, зараженные *M. mergenhagen*, не агглютинировали эритроциты человека группы 0, морской свинки, барана, курицы и мыши при 4°, 25° и 37° и не обладали способностью адсорбировать эритроциты морской свинки и эритроциты человека группы 0. Антигенная идентичность штаммов этой группы обнаружена посредством перекрестной нейтрализации антисыворотками цитопатического агента в реакции связывания комплемента, реакции агглютинации и иммунофлуоресценции. При последующем серологическом исследовании установлено антигенное родство *M. mergenhagen* 880 с *M. pulmonis* N-1 и *M. hyorhinis*. ДНК этого штамма характеризуется гетерогенностью и необычайно низким содержанием Г + Ц (24—26%). Физические параметры свидетельствуют о двуспиральной ДНК штамма 880.

Лейкозный штамм N-1 (Hayflick, Koprowski, 1965)

Отличительной особенностью этого штамма является высокая жизнеспособность. Он сохраняется в жидкой среде при температуре 37° в течение 90 дней, не ферментирует глюкозу и серологически близок (если не идентичен) *M. orale*.

Последующее изучение генетического родства микоплазмы N-1 с микоплазмой Negroni, *M. mergenhagen* 880, *M. pulmonis* и *M. hyorhinis* посредством метода гомологии ДНК — РНК выявило невозможность их дифференциации с помощью этого теста (Somerson et al., 1966).

Группа лейкозных штаммов 283, 278, 249, 274 и 327 — штамм, выделенный из лимфомы Burkitt (Barile, 1965, 1966; Barile et al., 1966)

Из этой группы штаммов серологически не идентифицирован штамм 283. Остальные в антигенном отношении родственны *M. orale*.

Группа микоплазм, известных как «прототипы» цитопатогенных агентов, обнаружены в ткани больного острым гранулоцитарным лейкозом (K-1), острым stem cell лейкозом (K-7), выделены от больного недифференцированной саркомой с метастазами в костном мозге (K-10) и при красной волчанке F₃ (Murphy et al., 1965, 1966; Leach, Butler, 1966). Эти микоплазмы растут в виде характерных, очень мелких колоний, вызывают разный по силе и характеру гемолиз, серологически близки *M. fermentans*.

В результате изучения ЦПЭ выделенных агентов обнаружено их избирательное отношение к разным клеточным культурам. Наиболее чувствительной оказалась культура клеток легкого эмбриона человека. Микоплазмы этой группы обладали более выраженными цитопатическими свойствами, чем смесь микоплазм и вирусных агентов. Они отличались от других микоплазм термостабильностью (выдерживали температуру 56°) и кислотоустойчивостью (рН 3).

Murphy с соавторами (1970) подразделили все идентифицированные ими микоплазмы на 4 группы: 1) *M. fermentans*; 2) *M. laidlawii*; 3) *M. orale* 1 и 4) неидентифицированные.

Два штамма, выделенные из доброкачественных опухолей F-11₄ и F-12 (Armstrong et al., 1965)

Селекционированный штамм F-11 ферментативно активен, ферментирует глюкозу, дает β-гемолиз эритроцитов морской свинки, серологически не идентифицируется. Штамм F-12 серологически идентичен штамму F-11, но ферментативно инертен. Недавно выяснилось, что штамм F-12 серологически близок группе микоплазм GDL (*M. hyorhinis*).

Обе культуры вырастают на бесклеточных средах лишь после пассажа в чувствительных клетках. В разных клеточных культурах штаммы F-11 и F-12 вызывают цитопатический эффект, который выражается в значительной вакуолизации клеток и закислении среды. Добавление к среде L-аргинина несколько стабилизировало рН среды. Цитологическое исследование этих микоплазм в клеточных культурах (Hummler et al., 1965) в световом микроскопе выявляет окрашивающиеся по Гимзе — Май-Грюнвальду группы микоплазм между дегенировавшими клетками. При электронной микроскопии можно видеть группы микоплазм на поверхности клеток. Они обнаруживаются внутри цитоплазматиче-

ческих вакуолей; вокруг микоплазм заметна некротическая зона цитоплазмы.

Микоплазма-инфекция клеток сопровождается разбуханием эндоплазматического ретикулума с последующей вакуолизацией цитоплазмы; митохондрии деформированы, в цитоплазме имеются некротические зоны. Однако эти изменения можно обнаружить и в клетках, свободных от микоплазм.

По характеру роста на бесклеточных средах и морфологии эти микоплазмы мало отличаются от других представителей семейства *Mycoplasmataceae*, хотя среди них чаще встречаются ферментативно активные цитопатогенные виды. Тем не менее дифференцировать их по характеру ЦПЭ в разных клеточных культурах, изменениям метаболизма клеток и скорости появления ЦПЭ пока не представляется возможным и прежде всего из-за использования авторами различных клеточных культур и применения ими отличающихся методических приемов.

Серологическая идентификация выявила среди микоплазм, выделявшихся при опухолях, виды, серологически родственные *M. pulmonis* (возбудитель респираторных заболеваний крыс), *M. orale* (микоплазма человека), *M. fermentans* (микоплазма человека), *M. arthritidis* (возбудитель полиартрита крыс, выделенный из лимфосаркомы крысы), *M. laidlawii* (микоплазма, выделенная из сточных вод), GDL — *M. hyorhinis* (возбудитель полисерозита свиньи) и серологически не идентифицированные микоплазмы.

ВЫДЕЛЕНИЕ МИКОПЛАЗМ ОТ БОЛЬНЫХ ЛЕЙКОЗОМ МЫШЕЙ И ПРИ ДРУГИХ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЯХ

Tully и Rask-Nielsen (1967) сообщили о распространении микоплазм среди мышей со злокачественными новообразованиями. Подробный обзор данных, характеризующих микоплазма-инфекцию при лейкозе мышей (Tully, 1969), позволяет сделать следующее заключение. Микоплазмы часто выделяются при различных лейкомиях мышей из селезенки, печени, лимфатических узлов и других тканей. Чаще обнаруживается *M. neurolyticum*, реже — *M. pulmonis*. Вместе с тем последняя была выделена от мыши с плазмноклеточной опухолью из легких, мозга, печени и из измельченной подкожной опухоли. *M. neurolyticum* часто обнаруживается у мышей линии AKR, у которых в возрасте старше 9 месяцев в высоком проценте отмечается лейкоз. Как известно, микоплазмонительство *M. pulmonis*, *M. neurolyticum*, *M. arthritidis* имеет место среди практически здоровых мышей, но при лейкозе микоплазма-инфекция обнаруживается значительно чаще. Повторные инъекции разных материалов мышам способствуют активации латентной микоплазма-инфекции, которая в свою очередь может отягощать и осложнять патологические процессы, в том числе и лейкозы, индуцированные введением соответствующих вирусных агентов или пассажных материалов. Stansley (1965) наблюдал характерные для инфекции *M. neurolyticum* паралитические симптомы у мышей при пассажах клеток ретикулярной саркомы (Tully, 1969). Ассоциации различных видов микоплазм с разнообразными вирусами или другими инфекционными агентами благоприятствуют размножению первых, усиливают их патогенность и способствуют проявлению соответствующего болезнетворного эффекта. Nelson (1957) показал, что внутримозговое введение микоплазм «катарального типа» мышам-сосункам швейцарской породы и породы Принстон не вызывает патологической реакции и сопровождается их быстрой гибелью в мозговой ткани. Размножение и патогенность этих

штаммов резко усиливалась у швейцарских мышей при одновременном внутримозговом заражении вирусом мышинного гепатита. В срезах мозга отмечалась резкая лейкоцитарная реакция, разрушение нервных клеток передних рогов мозга. При контрольной инъекции одного вируса таких изменений не наступало. Усиление размножения микоплазм автор склонен объяснить тем, что микоплазмы черпают у вируса необходимые для их роста и жизнедеятельности липопротенины.

Интенсивное размножение мышинных штаммов микоплазм в организме мышей наблюдал Moozer (1943) при одновременном заражении их микоплазмами и вирусом экстремелии мышей. Инфекция вирусом активировала латентную микоплазма-инфекцию.

В более поздних опытах удалось успешно культивировать в организме мышей штаммы микоплазм из организма человека, вводя их одновременно с вирусом экстремелии.

Röckl и Nasemann (1960) при выращивании выделенных от людей штаммов микоплазм на хорион-аллантоисной мембране куриного эмбриона отмечали явное усиление их размножения при одновременном инфицировании вирусами экстремелии, вакцины, нейралапины или миксоматоза. По данным Köhler (1964), вирус экстремелии активизирует размножение микоплазм человека и кур при пассажах на белых мышах. Некоторая активация размножения этих микоплазм наблюдалась также при одновременном их введении с вирусом асцитной саркомы 180. Одновременная инъекция вируса вакцины, вируса Columbia SK, асцитной карциномы Эрлиха не активировала размножения микоплазм. Таким образом, была установлена избирательная стимуляция лишь определенных ассоциаций микоплазм и вирусов.

Патогенные штаммы *M. arthritidis*, выделенные от крысы с лимфосаркомой Мерфи — Штурма, становились непатогенными после пассирования в искусственной питательной среде PPL фирмы Дифко. Прибавление к среде экстракта опухолевой ткани, свободного от клеток и бактерий, восстанавливало патогенность микоплазм. Патогенность восстанавливалась также при культивировании микоплазм в опухоли *in vitro*. Из зараженной опухоли было выделено два морфологических типа микоплазм: клональный и диффузный. Последний чаще вызывал у зараженных крыс межфаланговый полиартрит. Сыворотка таких выздоровевших от полиартрита крыс, устойчивых к повторному заражению, предупреждала появление экспериментального артрита (Howell et al., 1963; Janson, 1967; Tully 1969).

Таким образом, несмотря на отсутствие прямых доказательств роли микоплазм в лейкемогенезе у мышей, нельзя исключить возможное значение смешанной микоплазма-вирусной инфекции в вирусном онкогенезе. Этот вопрос должен быть предметом специальных исследований.

Л-ФОРМЫ БАКТЕРИЙ И БЛИЗКИЕ ИМ ВАРИАНТЫ БАКТЕРИЙ ПРИ ЛЕЙКОЗЕ И ДРУГИХ ОПУХОЛЯХ

Помимо микоплазм, из материалов, взятых от больных лейкозом и от больных с другими злокачественными заболеваниями, могут выделяться стабильные L-формы бактерий, которые иногда трудно отличить от микоплазм. Нередки находки разнообразных полиморфных микробных агентов (например, при карциоме Брауна — Пирса, саркоме Крокера, аденокарциоме Эрлиха и др.), которые в силу их чрезвычайного полиморфизма чаще всего остаются неидентифицированными. Обобщение этих данных приведено в монографии В. А. Крестовниковой (1960). Значе-

ние подобных агентов в патогенезе злокачественных опухолей неясно. Преобладающее большинство исследователей расценивают эти агенты как спутники опухолей.

В ряде сообщений (Г. А. Кротова, М. В. Герасимова, 1966; Г. В. Голосова, В. А. Мартынова, Г. В. Осеченская, 1969; Turk et al., 1968; Mattman, 1968, и др.) приводятся данные о выделении от больных лейкозом и от больных с новообразованиями протопластов и других вариантов, сходных с L-формами бактерий.

В результате микробиологического исследования крови и костного мозга больных лейкозом, проведенного у нас в лаборатории (Г. Я. Каган, Г. В. Голосова, В. А. Мартынова, Л. П. Чумакова, Е. М. Контелова, Г. М. Раскова, 1971), установлен факт выделения разнообразных инфекционных агентов, подлежащих строгой дифференциации.

Микробные агенты, выделяющиеся из первичных посевов на средах без L-индуцирующих агентов, можно условно подразделить на 4 типа: I тип. Бактериальный агент стрептококкоподобной морфологии (рис. 53, тип I), отличающийся, однако, от обычных стрептококков более мелкими размерами и длинными цепочками. Эти микрококки окрашиваются по Граму, не растут на среде Горо, как правило, не дают β -гемолиза на 5% кровяном агаре; очень редко и непостоянно дают α -гемолиз. Солянокислые антигены по Лэнсфилд из этих штаммов не преципитируются групповыми стрептококковыми антисыворотками. Все они чувствительны к пенициллину, канамицину, линкомицину, неомицину, левомецитину и мономицину и антиагенту PPLO, задерживаются бактериальными миллиметровыми фильтрами диаметром 0,22 мкм. Они непостоянно вырастают на чашках с плотным агаром, растут в виде полупрозрачных микроколоний, с врастающим в среду центром и вместе с тем иногда приподнятым над средой краем.

Присутствие сыворотки в среде совершенно необходимо для их роста. Хороший рост наблюдается на полужидкой среде (0,2—0,3% пептона) на основе бульона Хоттингера, а также в триптическом переваре бычьего сердца и BTS. Добавление веществ, повышающих осмотическую концентрацию среды (10% сахарозы), стимулирует рост.

Стрептококки преобладали в культурах данного типа, хотя иногда можно было встретить даже в пределах одной и той же колонии единичные коккобациллярные формы.

Тип II бактериального агента — это очень мелкие дифтероидоподобные или коккобациллярные палочки, окрашивающиеся по Граму. Окраска по Нейссеру выявляет наличие в них зерен. В подобных культурах изредка встречаются агенты типа I. По характеру роста, структуре колоний, пищевым потребностям, чувствительности к антибиотикам, отсутствию способности проходить через фильтры с диаметром отверстия 0,22 мкм они идентичны бактериальному агенту типа I. Оба типа микроорганизмов слабо подвижны.

Типы III—IV культур — преимущественно полиморфные агенты. В культурах типа III преобладают сферопластоподобные раздутые коккобациллярные, вакуолизированные и гантелевидные формы, структуры, не имеющие определенной формы, зерна, изредка кокковидные особи типа I. Эти структуры морфологически сходны как с начальными фазами морфогенеза L-форм, так и с фазами морфогенеза реверсии L-форм в бактериальные (см. рис. 53, тип III). Нитевидные и микоплазмоподобные формы в этих культурах встречаются редко. По характеру роста на питательных средах и пищевым потребностям они мало отличаются от бактериальных агентов типа I и II.

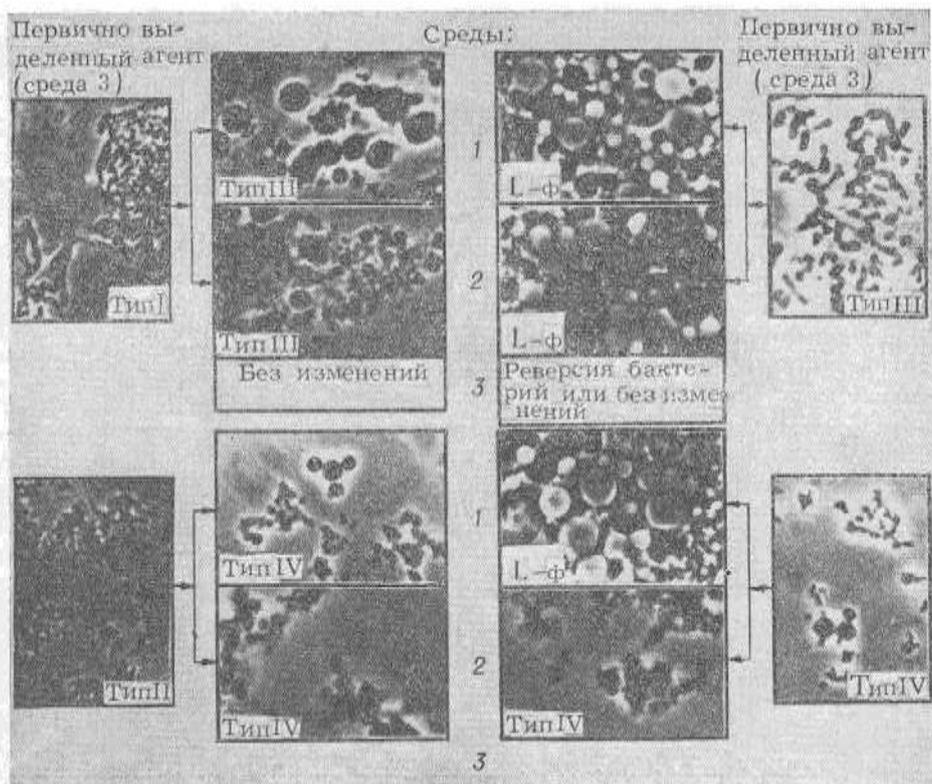


Рис. 53. Типы микробных агентов, выделенных из костного мозга больных лейкозом (I — IV). Фазовый контраст. Ув. $\times 1350$ (препараты Г. Я. Каган, Т. В. Голосовой, В. А. Мартыновой, Л. П. Чумаковой, 1974).
 1—3 — среды культивирования.

В культурах типа IV преобладают очень мелкие зернистые коккобациллярные тельца, извитые формы с напизанными зернами, не имеющие определенной формы образования, массы зерен и нити; встречаются отдельные сферопластоподобные элементы. Культуры этого типа обозначены нами как микоплазмоподобные. В их составе также встречаются сферопластоподобные и вакуолизированные тела, изредка небольшие коккобациллярные особи типа II (рис. 53, тип II и IV).

Колонии агентов типов III и IV вырастают очень редко. Они спаяны со средой, мелкие с более темным центром. Эти колонии отличаются по виду и структуре от бактериальных и от типичных L-колоний или колоний микоплазм «fried egg» (рис. 54, типы III и IV).

Указанные агенты последовательно пассированы на трех видах сред — 1, 2 и 3. Среда 1 содержала индуцирующий L-формы фактор; среда 2 характеризовалась повышенной осмотической концентрацией без L-индуцирующего фактора; они пригодны главным образом для выделения и культивирования транзитных форм. Среда 3 не содержала индуцирующего L-формы фактора обычной осмотической концентрации, обогащенного сывороткой и другими дополнительными пищевыми субстратами, пригодными для выделения и культивирования микоплазм и бактериальных форм. Как правило, это сопровождалось появлением значительных и весьма типичных изменений. Так, пассирование агента типа I на среде 1 и 2 часто при-

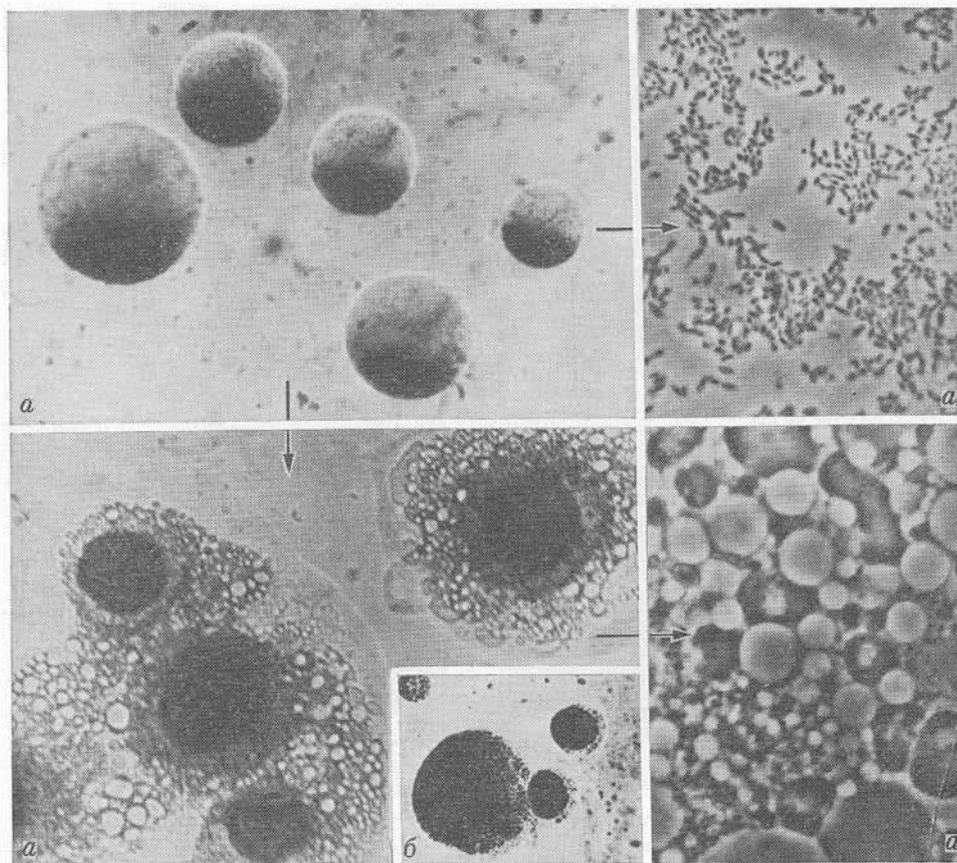


Рис. 54. Вид колоний и микроструктур, выделенных из крови больного острым лейкозом (гемоцитобластоз) (препараты Г. Я. Каган, Т. В. Голосовой, В. А. Мартыновой, Л. П. Чумаковой, 1971).

а — формирование L-колоний из микробного агента от больного С.; б — колонии типа IV (микоплазмоподобные).

водило к появлению в субкультурах полиморфных структур типа III (см. рис. 49, тип I—IV); на среде 3 подобные изменения не наблюдаются.

Пассирование агента типа II на средах 1, 2 и 3 в последнем случае не сопровождается изменениями. На средах 1 и 2 агент резко изменяется с преобладанием структур типа IV (см. рис. 49, тип II—IV).

Пассажи полиморфного агента типа III на средах 1 и 2 уже в первом пересеве (через 18 часов на среде 1 и через 72 часа на среде 2) сопровождаются индукцией типичных L-форм (см. рис. 49 — L_ф). Длительные пассажи на среде 3 иногда завершались реверсией бактериальных форм. Из 6 штаммов этого типа 2 штамма дали индукцию L-вариантов, а 3 других штамма — реверсию в β-гемолитические стрептококки группы А. Пассажи полиморфного агента типа IV на среде 1 приближают его к L-формам. На среде 2 (см. рис. 49, тип IV — L_ф) и 3, как правило, они остаются без изменений (рис. 49, тип IV без изменений).

Бактериологическое исследование 28 проб крови и костного мозга 25 больных острым лейкозом установило в 17 случаях бактериальные агенты, из них в 7 случаях стрептококкоподобной и в 10 случаях дифтероидоподобной морфологии. В 10 случаях выделены полиморфные аген-

ты на среде 2 и в 6 случаях — на среде 4; всего 12, в том числе 6 — типа III и 6 — типа IV.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что наряду с измененными бактериальными формами (тип I и II) из костного мозга и крови больных лейкозом выделяются резко полиморфные, отличающиеся от бактериальных форм агенты, которые в одном случае (тип III) можно рассматривать как переходные формы, в равной мере близкие как фазам индукции L-форм, так и фазам реверсии бактерий из имевшихся в организме L-форм. В другом случае полиморфные агенты типа IV (рис. 54, тип IV) весьма сходны по морфологии с микоплазмами, но отличаются от последних указанными выше признаками. На среде с индуцирующим L-формы фактором они приближаются по морфологии к типичным L-формам. Перечисленные особенности этих агентов не позволили отнести их к определенным видам микоплазм и поэтому они были условно названы нами микоплазмоподобными.

Результаты приведенных наблюдений свидетельствуют о необходимости четкой дифференциации измененных микробных агентов, выделяемых из костного мозга и крови больных лейкозом, которые, вероятно, в ряде случаев являются агентами-спутниками этого тяжелого заболевания. Однако нельзя отбросить и другое предположение, что среди агентов-спутников могут находиться формы, потенциально способные играть какую-то пока еще не известную роль в патогенезе лейкоза.

Пониженная резистентность больного лейкозом, особенности иммунологического статуса, насыщение организма разнообразными химиопрепаратами — все это может способствовать индукции L-форм из аутофлоры. Обнаруживаемые L-формы и другие полиморфные агенты могут быть не причиной лейкоза, а его следствием. Вместе с тем они могут в какой-то мере отягощать или осложнять основное заболевание.

Лейкоз может также способствовать активизации латентной микоплазма-инфекции, которая не проявляется у здорового человека. Наряду с этим латентная микоплазма-инфекция может служить активатором специфической вирусной инфекции и играть определенную роль в патогенезе лейкоза и его осложнениях.

РОЛЬ МИКОПЛАЗМ В ЭТИОЛОГИИ И ПАТОГЕНЕЗЕ ЛЕЙКОЗА И ДРУГИХ ОПУХОЛЕВЫХ ПРОЦЕССОВ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

Попытка выделения микоплазм из опухолевых тканей человека, увенчавшаяся в ряде случаев успехом, послужила основанием для гипотез и поисков путей исследования возможной роли этой группы микроорганизмов при опухолях. Эти исследования начались лишь в последние 5 лет, однако уже имеются разные точки зрения. Так, одни исследователи, признавая несомненный факт непосредственного выделения микоплазм из опухолевого материала на искусственных питательных средах, ставят под сомнение опухолевое происхождение цитопатогенных микоплазм из материала, пассируемого в клеточных линиях, из-за широкой контаминации последних микоплазмами.

Трудности, связанные с оценкой результатов непрямого выделения микоплазм, обусловлены отсутствием эффективных приемов и средств деконтаминации, гарантирующей стерильность тканей в отношении микоплазм, несовершенством знаний об их антигенной структуре и гомологии нуклеиновых кислот, что затрудняет видовую идентификацию микоплазм, и, наконец, несовершенством методов прямого выделения микоплазм

на искусственных питательных средах. Последнее обстоятельство связано с тем, что отсутствуют четкие представления о механизме репликации элементарных телец микоплазм размером 75—150 мкм. Невозможность непосредственного выделения этих агентов на искусственных питательных средах может быть обусловлена потребностями в дополнительных питательных веществах. Может быть сходство репликативного процесса элементарных телец микоплазм и вирусов. В этом случае выделение микоплазмы в бесклеточных средах невозможно. Эти соображения должны обязательно учитываться при оценке результатов непрямого выделения микоплазм из любого материала, в том числе и опухолевого.

Тем не менее анализ большей части приведенных выше данных о непрямом выделении микоплазм из опухолевого материала, тщательно продуманная система контрольных исследований (Hayflick, Koprowski, 1965; Murphy et al., 1965, 1966, 1970; Barile et al., 1965, 1966) позволяют рассматривать эти данные как относительно достоверное доказательство непрямого выделения микоплазм из испытывавшихся опухолевых материалов. Особое значение, несомненно, имеют достоверные факты непосредственного высева микоплазм из костного мозга больных лейкозом.

В отношении этого имеются разные точки зрения. Так, например, Hayflick и Koprowski (1965), Hayflick и Stanbridge (1966), ссылаясь на отсутствие данных о трансформирующем действии микоплазм, выделенных при лейкозе, считают, что наличие их у больных можно рассматривать как результат активизации латентной микоплазма-инфекции, обусловленной снижением резистентности организма уже в начальных фазах опухолевого процесса. Авторы категорически отвергают возможное этиологическое значение микоплазм при лейкозах, полагая, что они имеют такое же отношение к лейкозу, как любая вирусная, бактериальная или грибковая микрофлора, встречающаяся у больных лейкозом. Вместе с тем они указывают, что активизация микоплазма-инфекции может как-то осложнять течение болезни, а наличие сложных энзиматических систем у микоплазм, находящихся в костном мозге, может, вероятно, влиять на регуляцию миелопоэза.

Другие исследователи, признавая отсутствие прямых доказательств этиологической роли микоплазм при лейкозе, все же менее категоричны в выводах и в своих экспериментальных поисках, пытаются расшифровать возможные связи микоплазм и лейкоза (Fellon et al., 1965; Grace et al., 1965; Murphy et al., 1965, 1966; Barile et al., 1965, 1966).

Основными направлениями этих исследований являются:

1. Изучение патогенных и трансформирующих потенциалов микоплазм при экспериментальном заражении животных; изучение ЦПЭ и трансформирующего действия в культурах клеток и кариологических изменений зараженных клеток.

2. Сравнительный анализ свойств микоплазм и вирусов. Попытки экспериментальных подходов к изучению возможной роли микоплазм как помощника вируса.

3. Исследование значения микоплазм как агентов, обуславливающих продукцию аутоантигенов.

4. Изучение взаимодействия микоплазм и онкогенных вирусов *in vitro* и *in vivo*.

Прямые опыты изучения патогенности микоплазм, выделенных при опухолях, чаще всего не приносили успеха. Так, при самых разнообразных путях заражения новорожденных и взрослых мышей, крыс, хомяков, морских свинок, кроликов и обезьян *M. mergenhageni* с искусственной и тканевой сред культивирования при наблюдении в течение 18 месяцев

не было обнаружено ни патогенного, ни трансформирующего эффекта (Grace, 1965). Не выявлены также патогенные потенции у штаммов микоплазм F-11 и F-12 (Armstrong et al., 1965). Сравнительное изучение онкогенных потенций разнообразных вирусов и двух видов микоплазм — *M. pulmoniae* и *M. sp. 83 810* из контаминированных диплоидных клеток человека путем заражения новорожденных хомячков также дало отрицательные результаты. Умеренным онкогенным действием обладал аденовирус типа 7 и более активными оказались аденовирусы типов 12 и 18.

Более успешными были наблюдения Murphy с сотрудниками (1965, 1966, 1970). Им удалось при заражении мышей цитопатогенными микоплазмами из костного мозга больных лейкозом воспроизвести лейкозоподобное заболевание, сопровождавшееся увеличением тимуса, селезенки, паховых и подмышечных узлов, подъемом лейкоцитоза до 20 000—90 000 в 1 мм³ и более выраженной гиперплазией костного мозга, фолликулярной гиперплазией узлов и селезенки и выраженным экстрамедуллярным гемопоэзом. Заболевание протекало либо остро и заканчивалось гибелью мышей, либо переходило в хроническую форму. Доза 10⁹ микоплазм убивала мышей разных инбредных линий в течение 24—43 дней. Четырехкратное введение микоплазм вызывало после последнего введения быструю гибель при явлениях анафилактического шока. От зараженных мышей, обработанных кортизоном, выделялись чистые культуры соответствующих микоплазм. Фильтраты микоплазм не вызывали ни летального, ни патологического эффекта.

Авторы высказали вполне обоснованное предположение, что микоплазмы могут играть определенную роль в патогенезе лейкоза, способствуя фолликулярной гиперплазии, медуллярному и экстрамедуллярному гемолизу, и что они вызывают токсемию и могут явиться причиной аутоиммунной гемолитической анемии. Безвредность фильтратов микоплазм может свидетельствовать об отсутствии активных экстрацеллюлярных веществ и вирусоподобных агентов. Впоследствии Murphy с соавторами (1970) обобщили результаты своих опытов и пришли к выводу, что «хотя некоторые штаммы микоплазм, выделенные от больных людей, индуцируют хроническое лейкомоидное заболевание у мышей, модели лимфоцитарной или гранулоцитарной лейкемии получить не удалось, что не позволяет сделать заключение об этиологической роли микоплазм при лейкозе человека».

Эти прямые эксперименты на мышах оказались в известной мере такими же безуспешными, как и попытки воспроизвести лейкоз на животных, инокулируя им материал от больных людей, содержащий гипотетический вирус лейкоза человека.

Как известно, эти опыты продолжаются, и лишь в последнее время удалось воспроизвести лейкозоподобное заболевание обезьян, вводя им материал от больных людей, содержащий гипотетический вирус лейкоза человека (Б. А. Лапин, Л. А. Яковлева, 1969).

Мы глубоко убеждены, что приведенные выше данные, свидетельствующие о несомненных патогенных потенциях микоплазм, частота выделения от больных лейкозом микоплазм, обладающих высокими цитопатогенными потенциями, влияние микоплазм на клеточный метаболизм и метаболизм нуклеиновых кислот, хромосомный аппарат и способность трансформировать некоторые клеточные культуры — все это свидетельствует о целесообразности дальнейших исследований по изучению роли микоплазм при лейкозе человека, животных и птиц. Поведение микоплазм в клеточных культурах, взаимодействие микоплазм и вирусов при смешанной инфекции убеждают нас в правомерности предположения о воз-

можной роли микоплазм как «помощников», способствующих активизации опухолеродных вирусов (Grace, 1965, и др.), и необходимости последующего развития работ именно в этом направлении.

В настоящее время хорошо известно, что опухолеродные и инфекционные вирусы могут вызывать скрытые или явные, острые или хронические, деструктивно-воспалительные или пролиферативные процессы в чувствительном организме или ткани. Так, например, аденовирусы человека типов 7, 12 и 18 индуцируют опухоли у хомячков, мышей и крыс; обычный комменсал лабораторных мышей — вирус полиомы — при экспериментальном инфицировании новорожденных и реже взрослых сирийских хомячков и мышей вызывает опухоли (веретенчатые саркомы мышей или геморрагические кисты хомячков). Можно было привести большое число подобных примеров.

Аналогично вирусам, в зависимости от вида хозяина, одна и та же микоплазма может быть связана с разными патологическими процессами. Локализуясь в разных тканях одного и того же хозяина, она может обуславливать различные патологические проявления. Так, *M. arthritidis*, первоначально выделенная из эмульсии лимфосаркомы крысы, способна вызвать при экспериментальном заражении крыс полиартрит и сохранять это свойство в пассажах. Она оказалась идентичной *M. hominis* 2, часто выделяющейся при патологических процессах мочеполовой сферы человека, и была выделена из костного мозга больной с метастазирующим раком грудной железы.

Вторым, не менее интересным, примером является *M. neurolyticum*. Этот вид микоплазм образует экзотоксин высокого неврогенного действия и в зависимости от пути инфицирования мышей вызывает либо поражение центральной нервной системы — хореею, либо тяжелый мигрирующий полиартрит.

Интересно отметить, что и пути передачи микоплазма-инфекций и вирусных инфекций весьма сходны. И тем и другим свойственны два пути передачи заразного начала: горизонтальный (передача прямым или косвенным контактом) и вертикальный (передача от матери потомству через молоко или плаценту или же от отца матери через сперму, а затем потомству, причем один путь передачи не исключает другого). Ярким примером горизонтально-вертикального пути передачи микоплазма-инфекции является микоплазмоз птиц.

Микоплазмы, как и многие опухолеродные вирусы, являются слабыми антигенами, хотя и стимулируют выработку соответствующих антител.

Весьма интересно, что сыворотки больных лейкозом могут содержать антитела к микоплазмам, выделенным от больных (Negroni, 1966; Murphy et al., 1966, 1967). Так, Negroni обнаружил высокие титры антител у больных к агенту Negroni, а затем Murphy с сотрудниками выявили ингибирующие рост *M. fermentans* свойства сывороток больных лейкозом. Помимо антител, ингибирующих рост *M. fermentans*, обнаруживалось нейтрализующее действие сыворотки на ЦПЭ, вызываемый данными микоплазмами. Наряду с антителами к микоплазмам выявлены антитела к аденовирусу типа 4 и вирусу саркомы Рауса. Обсуждая эти находки, авторы отмечают трудности их интерпретации в связи с измененной РЭС у больных лейкозом и имеющимися извращениями их иммунологического статуса; вместе с тем они указывают на необходимость дальнейших исследований.

При неоплазмах, особенно лейкозах, отмечены изменения антигена эритроцитов группы I. Эти изменения встречаются крайне редко у здоровых людей (<0,1%) и часто у больных лейкозом (почти у 33%). Веро-

ятно, это обусловлено тем, что в течение болезни происходит блокирование или разрушение антигена под влиянием неизвестных причин, в том числе и микоплазм, встречающихся у людей, больных лейкозом.

M. pneumoniae и другие патогенные виды микоплазм могут адсорбироваться на поверхности эритроцитов. Клеточные культуры, инфицированные микоплазмой, могут также давать гемадсорбцию эритроцитов морской свинки. Электронная микроскопия и метод иммунофлуоресценции позволили выявить адсорбцию микоплазм на поверхности и других клеток. Нами также была установлена локализация разных видов микоплазм на поверхности клеток разнообразных клеточных линий (Г. Я. Каган и др., 1965; И. В. Раковская, 1966).

Многие микоплазмы продуцируют α - и β -гемолизины; известны микоплазмы, агглютинирующие эритроциты (группа птичьих микоплазм). Тест непрямой гемагглютинации, как известно, используется для изучения многих патогенных микоплазм.

Данные о способности микоплазм адсорбироваться на клетках, в том числе и на эритроцитах, гемагглютинирующие и гемолитические свойства микоплазм, а также обнаружение последних у больных лейкозом послужили основанием для предположения, что фактором, вызывающим разрушение антигенных компонентов эритроцитов у больных, могут быть присутствующие в организме микоплазмы. С целью подтверждения правильности этого предположения были проведены интересные, на наш взгляд, эксперименты Schmidt, Barile и Guinisse (1965). Было испытано действие 27 видов микоплазм, 11 вирусов и 2 видов бактерий на антиген эритроцитов группы I. Агенты были приведены в контакт с эритроцитами, затем последние испытывались в реакции гемагглютинации с гомологичной антисывороткой. Торможение реакции гемагглютинации отмечено у 20 из 27 испытывавшихся микоплазм, в том числе у 7 из 9 штаммов человеческого происхождения (неактивными оказались *M. salivarium* и *M. hominis* 1). Наиболее выраженный ингибирующий эффект был обнаружен у 3 микоплазм, выделенных из опухолей человека [микоплазма A63-17 (саркомы), *M. mergenhagen* 880, микоплазма, выделенная из гистiocитомы человека]. Только 1 из 11 вирусов давал следы торможения реакции гемагглютинации.

Таким образом, в серии весьма убедительных экспериментов была доказана способность микоплазм (наиболее резко выраженная у микоплазм, выделенных из опухолей) разрушать агглютиноген эритроцитов группы I.

Полученные факты свидетельствуют также о появлении под влиянием микоплазм иммунологически чужеродных клеток хозяина, которые могут вызвать образование соответствующих аутоантител. Это положение совпадает с ранее сделанными наблюдениями Thomas (1964). Автор обнаружил в периоде реконвалесценции при первичных атипичных пневмониях (ПАП), обусловленных *M. pneumoniae*, появление аутоантител в отношении легочной ткани человека. В то же время известно, что именно при ПАП имеется рост холодовых агглютининов к эритроцитам группы 0.

Итак, имеются все основания предполагать возможную роль микоплазм в аутоиммунных процессах. Эту концепцию поддерживает Barile (1966), который сделал попытку сопоставить некоторые заболевания, этиология которых окончательно не выяснена, с возможными аутоиммунными процессами, обусловленными присутствием микоплазм (табл. 36).

Как видно из табл. 36, из 7 заболеваний в 5 присутствии микоплазм сейчас уже твердо установлено. Приведенный список можно пополнить еще таким аутоиммунным заболеванием, как ревматоидный артрит чело-

ТАБЛИЦА 36. ВЗАИМОСВЯЗЬ МИКОПЛАЗМ, АНТИГЕНА I ЭРИТРОЦИТОВ, ХОЛОДОВЫХ АГГЛЮТИНИНОВ С АУТОИММУННЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ И ИХ ЭТИОЛОГИЕЙ (ПО VARILE, 1966)

| Заболевание | Наличие мико-плазм | Холодо-вые агглю-тинины | Аутоим-мунные заболе-вания | Анти-ген I. Анти-тело I | Этиология |
|--|--------------------|-------------------------|----------------------------|-------------------------|------------|
| ПАП | + | + | + | + | Микоплазма |
| Лейкозы | + | + | + | + | Неизвестна |
| Синдром Рейтера | + | ? | + | ? | » |
| Системная эритематозная вол-чанка | + | ? | + | ? | » |
| Инфекционный мононуклеоз Schoenlein—Henoch * | ? | ? | + | + * | » |
| Сосудистая пурпура | + | ? | + | ? | » |
| Аутоиммунная гемолитическая анемия | ? | + | + | + | » |

* Больные инфекционным мононуклеозом часто имеют высокие титры антиагглютининов i.

века, при котором в последнее время были выделены микоплазмы, отличающиеся от известных видов (Bartolomew, 1965, 1966; Fahlberg et al., 1966; Jansson, Wager, 1967). Эти находки позволяют предполагать причинную связь микоплазм и некоторых аутоиммунных процессов. Таким образом, вырисовывается еще один аспект исследований микоплазма-инфекций — иммунопатологический. Нельзя не согласиться с Varile (1966) в том, что сходство цитоплазматической мембраны микоплазм и животных клеток обуславливает их предпочтительную локализацию на клеточной мембране клеток хозяина, что в свою очередь определяет способность микоплазм изменять клетки хозяина (Schmidt, Barile, Grünise, 1964, 1965; Varile et al., 1965). Кроме того, энзиматическая активность микоплазм может также способствовать возникновению иммунологически чужеродных клеток.

* * *

Приведенные материалы свидетельствуют о зарождении в современной микоплазматологии новой главы, посвященной исследованию возможной роли микоплазм в этиологии и патогенезе опухолевого процесса. Пока нет достаточно убедительных доказательств этиологической роли мико-плазм при опухолях, однако короткая история их изучения показывает, что подобная гипотеза не может быть отброшена. Собранные по крупницам отдельные факты требуют обобщения и диктуют необходимость последующих настойчивых поисков.

Как известно, вирусные опухоли животных были описаны уже в начале XX века, однако вирусно-генетическая теория опухолевого роста получила широкое признание лишь в период расцвета молекулярной биологии, вскрывшей значение ДНК и РНК соответствующих вирусов как источника чужеродной генетической информации в клетке хозяина.

Вирусная теория происхождения опухолей строилась на цепи последовательных доказательств, вытекающих из фактов обнаружения разных вирусов при опухолевых процессах у млекопитающих и птиц, патогенных и трансформирующих потенциалов вирусов, эпидемиологических и клинических наблюдений, данных об онкогенных свойствах вирусов одних видов животных для других видов, проявляющихся непосредственно либо

в сочетании с канцерогенами или вирусами-помощниками, и на успехах в изучении иммунологии опухолей.

Сходство мельчайших репродуцирующих элементов микоплазм и вирусов обратило на себя внимание исследователей, а их внутриклеточная локализация и ЦПЭ обусловили поиски микоплазм при опухолях. В настоящее время мы располагаем лишь отдельными фактами, свидетельствующими о выделении микоплазм при опухолях, особенно у больных острым лейкозом в самой ранней фазе заболевания или при рецидивах, преимущественно до проведения антилейкозной и антибиотикотерапии. Биология выделенных микоплазм еще недостаточно изучена. Нельзя считать законченным сбор данных о дифференциации микоплазм от других инфекционных агентов (стабильные L-формы), а также таксономической идентификации микоплазм, сходных с ними. Вместе с тем твердо установлен факт высокого ЦПЭ этих микоплазм независимо от их видовой принадлежности в ряде клеточных культур.

Микоплазмы, как и вирусы, вызывают острые и хронические патологические процессы, протекающие явно или скрыто в виде латентных инфекций, активируемых разнообразными воздействиями. Обусловленные ими патологические процессы носят дегенеративно-воспалительный или пролиферативный характер.

Способность микоплазм адсорбироваться на клеточной поверхности, внутриклеточный паразитизм, энзиматические воздействия — все это может способствовать превращению клеток в иммунологически чужеродные антигены и вызывать при микоплазма-инфекциях формирование аутоантител и вместе с тем отражаться на взаимодействии измененных клеток с соответствующими вирусами.

Сложность взаимоотношений микоплазм и вирусов при смешанных инфекциях является еще одним важным аргументом в пользу необходимости расширения исследований взаимодействия микоплазм и онкогенных вирусов *in vivo* и *in vitro* с целью выявления влияния микоплазм на вирусный онкогенез — лейкомогенез.

Заключение

Микоплазмы человека, животных и птиц подразделяются на патогенные и непатогенные виды.

Патогенные виды являются возбудителями соответствующих заболеваний, и их этиологическая роль установлена клинико-микробиологическими, клинико-иммунологическими исследованиями, а также результатами экспериментальных исследований в опытах *in vivo* и *in vitro*.

Все патогенные виды микоплазм вызывают заболевания, протекающие по типу острой, подострой и хронической инфекции. Наряду с активными формами микоплазма-инфекций встречаются бессимптомные — инapparантные формы, способные активироваться разнообразными стресс-факторами, ослабляющими или изменяющими естественную резистентность хозяина. Особый интерес представляет активизация латентной микоплазма-инфекции присоединившейся вирусной инфекцией или воздействие латентной микоплазма-инфекции на вирусную инфекцию. Изучение смешанных микоплазма-вирусных инфекций *in vivo* и *in vitro* даст, вероятно, в недалеком будущем принципиально новые ответы на многие неясные вопросы этиологии и патогенеза патологических процессов невыясненной инфекционной природы.

Особенностью микоплазма-инфекций является их аффинитет к тканям разных хозяев (выделение *M. arthritidis* — возбудителя гнойного полиартрита грызунов от человека или *M. hyorhinis* — возбудителя полисерозита свиней от человека и птиц и т. д.).

Изучение вероятной бипатогенности или даже полипатогенности микоплазм является, на наш взгляд, первоочередным вопросом. О перспективности подобных исследований свидетельствует анализ данных экспериментального инфицирования животных и материалов естественно возникших микоплазма-инфекций, показывающих, что различные виды микоплазм вызывают избирательное поражение одинаковых тканей у разных хозяев. Так, например, *M. mycoides* var. *mycoides* в основном поражает соединительную ткань, обуславливая острый воспалительный процесс с фибринозной экссудацией. *M. agalactiae* также поражает соединительную ткань, но воспалительная реакция протекает менее остро, наблюдается пролиферация фиброзной ткани. Штаммы, вызывающие пневмонию, дают гиперплазию ретикулярных клеток и полиморфноядерную экссудацию. Особое внимание привлекает тенденция большинства видов микоплазм локализоваться в синовиальных оболочках и суставах разных хозяев и поражать их.

Реакция животных на экспериментальное инфицирование микоплазмами также зависит в известной мере от вида микоплазм, вида животных, инфицирующего материала и метода его введения. Все патогенные виды микоплазм по их способности вызывать соответствующую патологическую реакцию хозяина в ответ на экспериментальное инфицирование можно условно подразделить на 3 группы:

1. Патогенные виды микоплазм — заведомые возбудители тяжелых заболеваний, которые при экспериментальном инфицировании восприимчивых видов либо не воспроизводят соответствующего процесса, либо воспроизводят его лишь в определенных условиях.

2. Патогенные виды микоплазм, воспроизводящие при экспериментальном инфицировании соответствующие патологические процессы.

3. Микоплазмы, воспроизводящие соответствующие патологические процессы лишь в ассоциации с другими инфекционными агентами или в условиях действия разнообразных факторов, снижающих резистентность организма.

Следует отметить, что независимо от принадлежности микоплазм к той или иной группе большое значение в проявлении их способности вызывать специфический патологический процесс имеют разнообразные биологические, физические и химические факторы, играющие роль пусковых механизмов, активаторов латентной микоплазма-инфекции, способствующих их переходу в состояние активной инфекционности.

К первой группе микоплазм можно условно отнести *M. mycoides*, так как экспериментальное заражение телят, высоковосприимчивых к contagious pleuropneumonia, становится возможным лишь при определенном пути ее введения. Именно интратрахеальное (или лучше — аэрозольное) введение вирулентной культуры *M. mycoides* var. *mycoides* или разнообразные методы введения вирулентной лимфы могут оказаться весьма эффективными. Мыши не чувствительны к *M. mycoides* var. *mycoides*, однако заражение мышат, особенно определенных линий, может сопровождаться появлением специфической патологической реакции.

Ко второй группе микоплазм можно причислить *M. agalactiae*, *M. mycoides* var. *capri*, *M. arthritidis*, *M. neurolyticum* и *M. pneumoniae*.

Микоплазмы — возбудители агалактии коз и contagious pleuropneumonia коз — способны воспроизводить соответствующие патологические процессы у восприимчивых видов животных и продолжительное время (буквально годами) сохранять эту способность в лабораторных условиях. Однако инфекционность данной группы микоплазм также усиливается под воздействием разнообразных неспецифических биологических, химических и физических факторов. Особый интерес представляет отнесенная нами к данной группе такая микоплазма, как *M. arthritidis*, выделенная из опухоли подчелюстной железы крысы, а также из крысиной лимфосаркомы Мерфи — Штурма, вызывающая при экспериментальном заражении у крыс тяжелый полиартрит. Вторым примером может явиться *M. neurolyticum* (выделенная при пассажах вирусов желтой лихорадки, лимфоцитарного хориоменингита мышей и возбудителя токсоплазмоза), обуславливающая при экспериментальном заражении мышей так называемый хорейческий синдром, известный под названием rolling disease, и образующая экзотоксин высокого специфического нейrogenного действия. Число подобных примеров можно еще увеличить.

Почему эти микоплазмы, выделяемые из опухолей или при пассажах других инфекционных агентов, вызывают при экспериментальном инфицировании специфические патологические процессы, выделяются при этих процессах и сохраняют способность вызывать их даже после длительного хранения в лабораторных условиях (например, *M. neurolyticum* после двадцатилетнего хранения в высушенном виде)? Можно предполагать, что, находясь в латентном состоянии в организме, они начинают активно размножаться и их можно выявить, когда на организм действуют другие, более активные агенты. Выделенные из организма уже в активном состоя-

нии, эти микоплазмы способны приводить к специфическим патологическим процессам, возбудителями которых они являются.

Весьма убедительными оказались экспериментальные данные, касающиеся *M. pneumoniae*. Они свидетельствуют о несомненной этиологической роли этой микоплазмы при атипичных пневмониях человека и позволяют отнести данную микоплазму к группе возбудителей, воспроизводящих в эксперименте модель соответствующего патологического процесса.

Представителем третьей группы микоплазм может явиться *M. pulmonis*, вызывающая бронхоэктатическую болезнь крыс лишь у старых животных или при соответствующем хирургическом вмешательстве. Эта микоплазма-инфекция является прекрасным примером латентной инфекции, активируемой разнообразными неспецифическими, в том числе и возрастными, факторами.

Несмотря на то что этиология и патогенез многих микоплазма-инфекций в настоящее время хорошо изучены, факторы патогенности патогенных видов микоплазм мало исследованы (известны некоторые экзо- и эндотоксины, некоторые механизмы, определяющие аффинитет микоплазм к определенным клеткам и тканям, избирательная способность микоплазм к внутриклеточной латенции и размножению).

Помимо патогенных видов микоплазм, вызывающих определенные заболевания, многие виды ассоциируются с некоторыми патологическими процессами, но их значение в этиологии и патогенезе последних все еще изучается.

Характерной особенностью почти всех без исключения микоплазма-инфекций является их способность к латенции. Изучение условий, способствующих проявлению этих инфекций, также должно быть предметом последующего изучения.

Послесловие

Громадный поток информации последних трех лет (1970—1972) в виде множества оригинальных статей и 2 монографий (Sharp, Thomas, 1970; Smith, 1971), материалов Международной конференции по таксономии микоплазм (1972), не нашедших отражения в настоящей книге в силу чисто технических причин, еще раз убедили нас в актуальности и своевременности ее издания.

Анализ материалов, приведенных в нашей монографии, и последующих данных за 1970—1972 гг. о роли L-форм бактерий и семейства *Mycoplasmataceae* в патологии свидетельствует о существовании трех последовательных этапов исследования этой совершенно новой области биологии и медицины.

Первый наиболее ранний этап был этапом феноменологическим и сводился к описанию феноменов, устанавливающих существование выраженных патогенных потенций у вариантов бактерий, частично или полностью утративших клеточную стенку (сферопласты, нестабильные и стабильные L-формы), а также у класса *Mollicutes*, полностью лишённого клеточной стенки и ее предшественников.

Информация об этиологической роли отдельных представителей класса *Mollicutes*, семейства *Mycoplasmataceae*, при естественном и экспериментальном инфицировании разных хозяев колоссальна. Имеющиеся данные позволяют уже сейчас сделать вывод о том, что человек не является исключением из числа млекопитающих, подверженных разнообразным микоплазма-инфекциям. Обобщение имеющихся данных позволило еще в 1961 г. (В. Д. Тимаков, Г. Я. Каган, 1961) сформулировать гипотезу об этиологическом принципе классификации микоплазм независимо от вида их естественного хозяина. Последующее десятилетие ознаменовалось накоплением значительного числа новых фактов, подтверждающих обоснованность данной концепции (Г. Я. Каган, 1963; В. Д. Тимаков, Г. Я. Каган, 1967; Г. Я. Каган, И. В. Раковская, 1968; Hayflick, 1969; Sharp, Thomas, 1970; Brown et al., 1970; Smith, 1971; Cahill et al., 1971, и др.).

Последние годы выявили разнообразие патогенных потенций микоплазм и показали, что феноменологический этап их изучения не исчерпан. Особого внимания, на наш взгляд, заслуживают данные, характеризующие смешанные микоплазма-вирусные инфекции, а также данные о возможной полипатогенности микоплазм.

В качестве примера многообразия выражений смешанных микоплазма-вирусных инфекций мы приведем результаты опытов, выполненных в ИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи АМН СССР в 1970—1972 гг. (Г. Я. Каган, И. В. Раковская, З. А. Постникова, Т. Д. Моргунова), в которых было установлено, что из большого набора разных видов микоплазм (*M. laidlawii*, *M. gallisepticum*, *M. hominis*, *M. orale*, *M. fermentans* и *M. arthritidis*) лишь 2 вида—*M. laidlawii* и *M. arthritidis*—вызывали активацию вируса

лейкоза Раушера в организме резистентных к этому вирусу мышей гибридов (C57BL/6ХА/Не)_{F₁}. *M. laidlawii* способствовала временному развитию спленомегалии, а *M. arthritidis* — развитию первичного лейкоза при смешанной инфекции данным видом микоплазмы + вирус Раушера. Вирусная и микоплазма-моноинфекции подобных феноменов не вызывали.

Кроме того, было установлено, что один и тот же вид микоплазмы и вируса (*M. laidlawii* + вирус Раушера) в организме разной чувствительности вызывают 2 диаметрально противоположных эффекта: «эффект активации» — в резистентном организме и «эффект ингибирования» — в чувствительном (мыши BALB/cDe). Результаты этих опытов впервые установили возможное усиление или ингибирование лейкогенных потенций вируса при смешанной инфекции микоплазма + вирус.

Как доказательство возможной полипатогенности микоплазм следует также привести некоторые примеры. Так, *M. laidlawii*, первоначально выделенная из сточных вод, оказалась способной активировать в резистентном организме мышей вирус Раушера; она же выделяется при лейкозе человека, раневых ожогах и конъюнктивитах новорожденных, экспериментальном лейкозе обезьян обнаруживается при маститах коров и заболеваниях глаз у птиц.

M. arthritidis, способствующая возникновению лейкоза у резистентных мышей при смешанном инфицировании с вирусом Раушера, выделена из материала лимфогранулемы крыс, при лимфоме Буркитта, при ревматоидном артрите человека и из печени плодов матерей, больных гепатитом.

Не безынтересна в этом отношении и *M. hominis* 1, вызывающая экспериментальный фарингит человека, экспериментальный конъюнктивит, осложняющийся пневмонией у морских свинок, является причиной пуэрперального сепсиса и спонтанных септических аборт, выделяется при НГУ, хронических заболеваниях мочеполовой сферы и от условно здоровых людей.

Период с 1961 по 1972 г. являлся периодом накопления фактов, устанавливающих существование патогенных потенций у сферопластов, нестабильных и стабильных L-форм бактерий. Феноменологический этап изучения патогенности дефектных по клеточной стенке форм бактерий также далек от завершения, однако уже сейчас получены несомненные доказательства значения этих форм в патогенезе некоторых заболеваний. Имеются факты индукции сферопластов и L-форм *in vivo*, их выделения при разнообразных хронических заболеваниях, особенно в фазе ремиссии (Chagache, 1970), и, наконец, воспроизведение в эксперименте на животных патологических процессов, индуцированных стабильными L-формами, моделирующих в известной мере соответствующую патологию человека, например холерный альгид мышей, экспериментальную ангину обезьян, менингиты и менингоэнцефалиты кроликов, пиелонефриты крыс, листериоз кроликов и овец (Г. А. Котлярова и др., 1972) и описанный недавно хронический полиартрит кроликов (Cook et al., 1969).

Содержанием второго этапа исследования проблемы является изучение факторов патогенности микробных агентов, лишенных клеточной стенки, их поведения в чувствительном и резистентном организме и форм взаимодействия с клетками.

Выявление патогенных потенций у микоплазм и L-форм поставило перед современной микробиологией и иммунологией вопрос о детерминантах патогенности (применительно к видам) и вирулентности (применительно к отдельным штаммам), локализованных вне клеточной стенки, в цитоплазматической мембране или, может быть, даже в цитоплазме.

Патогенные потенции микоплазм и стабильных L-форм бактерий не

находят своего объяснения в постулатах классической микробиологии о детерминантах патогенности, вирулентности и антигенной видовой и типовой специфичности, локализованных в клеточной стенке бактерий, и ставят перед современным исследователем вопрос о поисках этих детерминант, присущих лишь агентам, лишенным клеточной стенки.

Изучение особенностей поведения стабильных L-форм бактерий и микоплазм в чувствительном и резистентном организме встречает значительные затруднения. Они обусловлены не только тем, что пока еще мало известны факторы патогенности этих агентов, но и необыкновенным полиморфизмом последних, наличием в их составе минимальных жизнеспособных частиц (в пределах 200 мкм), формы взаимодействия которых с клетками пока еще мало исследованы. Изучение латенции L-форм бактерий и микоплазм, выявление их органотропности и очагов персистенции, исследование интимных механизмов взаимодействия с клетками являются предметом активных творческих поисков (Fogh, 1970, 1974; Stanbridge, 1971, и др.), хотя они все еще далеки от завершения.

Успехи, достигнутые в изучении биологии L-форм бактерий и особенно микоплазм, убеждают нас в том, что в ближайшем будущем станут возможными поиски взаимодействия их генома с геномом клеток, а также геномов микоплазм и вирусов при смешанных инфекциях клеток. Эти поиски будут знаменовать наиболее важный этап исследования взаимодействия микробных агентов, лишенных клеточной стенки, и клеток хозяина на молекулярном уровне.

Литература

- Андреев В. М.* О минимальных размерах клонообразующих единиц микоплазм. Биофизика, 1969, 1, 192.
- Андросов В. В.* Мутационная изменчивость L-форм вульгарного протея под влиянием мутагенных факторов. В кн.: Некоторые актуальные вопросы биологии и медицины. М., 1968а, с. 104.
- Андросов В. В.* Восстановление свойств у культур, реверсированных из L-форм протея, с помощью УФ-облучения. В кн.: Некоторые актуальные вопросы биологии и медицины. М., 1968б, с. 107.
- Бароян О. В., Васильева В. И., Каган Г. Я., Прозоровский С. В.* Эпидемиология M. pneumoniae-инфекции в Советском Союзе. Вестн. АМН СССР, 1969, 5, 8.
- Башмакова М. А.* Генитальные микоплазмы в патологии женщины, плода и новорожденного ребенка. Вопр. охр. мат., 1970, 6, 71.
- Буров С. А., Мовсисян А. М., Васильева В. И., Прозоровский С. В.* Результаты исследования специфических антител к M. pneumoniae в организованном коллективе. В кн.: Грипп и острые респираторные заболевания. Л., 1967, в. 1, с. 8.
- Васильева В. И., Прозоровский С. В., Бархатова О. И.* и др. Получение комплемент-связывающего антигена для лабораторной диагностики M. pneumoniae-инфекции. Вестн. АМН СССР, 1969, 5, 37.
- Вихнович Э. М.* Изучение некоторых биологических свойств M. pneumoniae и ее роли в этиологии острых респираторных заболеваний и пневмоний. Дисс. канд. М., 1967.
- Гамалея Н. Ф.* Гетероморфизм бактерий под влиянием солей лития. Врач, 1894, 15, 19, 541.
- Глаз П. В., Неустроева В. В.* Включение H³-тимидина в клетки культур, зараженных микоплазмами. Ж. микробиол., 1968, 12, 21.
- Голосова Т. В., Мартинова В. А., Осеченская Г. В.* Выделение и идентификация микроорганизмов из крови и костного мозга больных острым лейкозом. Пробл. гематол., 1969, 4, 25.
- Гребнев Г. М.* Биологическая характеристика некоторых видов микоплазм, выделенных от птиц. Дисс. канд. М., 1972.
- Гуткина А. В., Глаз П. В., Лотте В. Д., Неустроева В. В.* Морфологические методы выявления микоплазм в культуре клеток. В кн.: Материалы Всесоюзной конференции по проблеме безопасности вирусных вакцин. М., 1968, с. 12.
- Дрейзин Р. С., Вихнович Э. М., Каган Г. Я., Прозоровский С. В.* Серологическое изучение инфекции M. pneumoniae в различных возрастных группах. Пробл. вирусол., 1967, 6, 660.
- Дрейзин Р. С., Прозоровский С. В., Вихнович Э. М.* и др. Изучение инфекции детей и взрослых, вызванной микоплазмой. В кн.: Грипп и острые респираторные заболевания. Л., 1967, в. 1, с. 14.
- Дромашко А. С., Гайдамик М. Г., Шиханова А. Г.* Этиология пневмоний у детей раннего возраста и значение смешанной инфекции. Педиатрия, 1968, 3, 75.
- Захарова М. С., Порубиновская Н. М.* Антиген для реакции связывания комплемента и применение его для серодиагностики заболеваний, вызванных M. pneumoniae. Ж. микробиол., 1966, 3, 60.
- Замдников Д. М., Булатова З. В., Морозенко М. А.* и др. К вопросу о микоплазменной пневмонии у взрослых. В кн.: Материалы 4-й межобластной конференции «Морфология, физиология и патология органов дыхания». Л., 1968, с. 83.
- Имшенецкий А. А.* К морфологии гигантских бактериальных клеток. Докл. АН СССР, 1937, 16, 4, 223.
- Имшенецкий А. А.* Критика метафизической теории изменчивости бактерий. Микробиология, 1939, 8, 491.
- Имшенецкий А. А.* Строение бактерий. М.—Л., 1940.
- Каган Г. Я.* О природе L-форм бактерий. В кн.: «Изменчивость микроорганизмов и бактериофагия». М., 1960, с. 182.

- Каган Г. Я. Биологические особенности L-форм некоторых патогенных видов бактерий. Дисс. докт. М., 1963.
- (Каган Г. Я.) Kagan G. Ja. Comparative study of the pathogenicity of bacterial L-forms and mycoplasma organisms. В кн.: Proceedings fourth congress of hungarian associat of microbiologist. Budapest, 1964, p. 375.
- (Каган Г. Я.) Kagan G. Ja. The results of some comparative experimental investigations of L-forms of bacteria and Mycoplasma. Ann. N.Y. Acad. Sci., 1967, 143, 734.
- (Каган Г. Я.) Kagan G. Ja. Some aspects of investigations of the pathogenic potentialities of L-forms of bacteria. В кн.: L. Guze. Microbial protoplasts, spheroplasts and L-forms. Baltimore, 1968, p. 422.
- (Каган Г. Я.) Kagan G. Ja. Isolierung und Identifizierung von L-Formen und Mycoplasmen aus Klinischen. Material. Ges. Hyg., 1971, 17, 788.
- (Каган Г. Я.) Kagan G. Ja., Vastlieva V. I., Prozorowsky S. V. et al. Seroepidemiologische Untersuchungen über M. pneumoniae-Infektionen bei pneumonien, akuten respiratorischen Erkrankungen und gesunde Personene in der Soviet Union (1964—1968). В кн.: Mycoplasma disease of Man. Proceedings. Intern. Sympos. Reichardsbrunn. Castle Iiena, 1969, s. 245.
- Каган Г. Я., Ершов Ф. И. О цитохимическом составе стабильных L-форм некоторых патогенных видов бактерий. Ж. микробиол., 1964, 5, 101.
- Каган Г. Я., Ершов Ф. И., Коптелова Е. И., Федорова Г. И. Об антигенной структуре L-форм β-гемолитических стрептококков. Бюлл. exper. биол., 1965, 1, 78.
- Каган Г. Я., Коптелова Е. И., Покровский В. И. О выделении PPLO и L-форм бактерий из ликвора больных гнойными менингитами. Ж. микробиол., 1965, 2, 105.
- Каган Г. Я., Коптелова В. И., Прозоровский С. В. и др. Опыт экспериментального инфицирования обезьян Macacus speciosus L-формами гемолитического стрептококка. Вестн. АМН СССР, 1965, 8, 54.
- Каган Г. Я., Левашев В. С. Биологические свойства реверсированных культур из L-форм бактерий брюшного тифа. В кн.: Изменчивость микроорганизмов. М., 1957, в. 2, с. 373.
- Каган Г. Я., Левашев В. С. Стабилизация возбудителя брюшно о тифа в L-форме. В кн.: Изменчивость микроорганизмов. М., 1957, в. 2, с. 363.
- Каган Г. Я., Левашев В. С. О методике получения L-форм гемолитического стрептококка группы А и их реверсии в бактериальные культуры. Ж. микробиол., 1959, 2, 68.
- Каган Г. Я., Михайлова В. С. Биологические особенности ревертантов L-форм стрептококка. Антибиотики, 1963, 9, 791.
- Каган Г. Я., Песина З. П. Получение и изучение морфологических особенностей L-форм гонококка. Вестн. венерол. и дерматол., 1959, 4, 54.
- Каган Г. Я., Прозоровский С. В., Коптелова Е. И. и др. Результаты экспериментального инфицирования приматов L-формами β-гемолитических стрептококков. В кн.: Биология и патология обезьян, изучение болезней человека в эксперименте на обезьянах. Материалы Международного симпозиума. Сухуми, 1966, с. 54.
- (Каган Г. Я., Прозоровский С. В., Коптелова Е. И. и др.) Kagan G. Ja., Prozorowsky S. V., Koptelova E. I. et al. L'angine experimentale du singe provoquer les formes L des streptocoques du groupe A. Ann. Inst. Pasteur, 1969, 6, 733.
- Каган Г. Я., Раковская И. В. О цитопатогенном действии L-форм некоторых патогенных видов бактерий в культурах ткани. Бюлл. exper. биол., 1964, 6, 69.
- Каган Г. Я., Раковская И. В. Микоплазма-инфекция тканевых культур. М., 1968.
- Каган Г. Я., Савенкова В. Т. Методика получения и морфологические особенности L-форм *S. diphtheriae*. Ж. микробиол., 1960, 3, 55.
- Каган Г. Я., Щеголев А. Г., Прозоровский С. В. О патогенных и иммуногенных свойствах L-форм *S. typhimurium*, полученных под влиянием пенициллина. Антибиотики, 1964, 8, 722.
- Калина Г. П. Развитие микробных клеток из доклеточного вещества. Киев, 1954.
- Клодницкая С. Н. Гемокультуры от детей, больных ревматизмом в активной фазе. Ж. микробиол., 1961, 11, 56.
- Колесников Л. В., Евдокимов Н. М., Кириллов Л. Я., Гродинская А. Е. Реактогенные и иммуногенные свойства лабораторного штамма *M. pneumoniae*, пассированного на искусственных питательных средах. В кн.: Актуальные вопросы противовирусного иммунитета при гриппе и других респираторных инфекциях. Материалы симпозиума. Л., 1969, с. 12.
- Комм С. Г., Каган Г. Я., Раковская И. В. и др. Основные направления кинематографических исследований L-форм бактерий и семейства *Mycoplasmataceae*. Вестн. АМН СССР, 1965, 8, 20.
- Коптелова Е. И., Миронова Т. К. Методика получения L-форм менингококка. Ж. микробиол., 1968, 4, 101.

- Коптелова Е. И., Миронова Т. К. Особенности стабилизации и реверсии Л-форм менингококка. Ж. микробиол., 1970, 10, 16.
- Коптелова Е. И., Покровский В. И. Об экспериментальном менингите кроликов, вызванном Л-формами менингококка. Ж. микробиол., 1964, 10, 90.
- Котлярова Г. А. Биологические свойства Л-форм *Listeria monocytogenes*. Дисс. канд. М., 1970.
- Котлярова Г. А., Прозоровский С. В., Бакулов И. А., Чевелев С. Ф. Биологические свойства Л-форм *Listeria monocytogenes*. Вестн. АМН СССР, 1969, 5, 84.
- Кочемасова З. Н. Л-формы микобактерий туберкулеза. Дисс. докт. М., 1969.
- Крестовникова В. А. Микробиологическое изучение раковых опухолей. М., 1960. (Кричевский И. Л., Пономарева Л. В.) *Kritchewski I. L., Ponomareva L. W.* On the pleomorphism of bacteria. J. Bact., 1934, 28, 111.
- Кричевский И. Л., Рубинштейн П. Л. О плеоморфизме бактерий. Сообщение. Ж. микробиол., 1936, 4, 564.
- Кротова Г. А., Герасимова М. В. Бактериемия при лейкозе. Пробл. гематол., 1966, 8, 10.
- Крымский Л. Д., Перчикова Г. Е., Учитель И. Я. Опыт воспроизведения ревмокардита в эксперименте. Экспер. хир., 1958, 4, 44.
- (Курочкин Т. И.) *Kurotschkin T. I.*, 1937. Цит. по Purcell, Chanock, Taylor-Robinson. В кн.: L. Hayflick. The Mycoplasmatales and L-phase of bacteria. New York, 1969.
- (Курочкин Т. И., Банардский Т.) *Kurotschkin T. I., Banardsky T.*, 1938. Цит. по Purcell, Chanock, Taylor-Robinson. В кн.: L. Hayflick. The Mycoplasmatales and L-phase of Bacteria. New York, 1969.
- Лапин Б. А., Яковлева Л. А. О вирусной природе лейкоза человека. Вестн. АМН СССР, 1970, 5, 60.
- Левашев В. С. Биологические свойства регенерированных фильтрующихся и Л-форм вибриона Мечникова и вольгарного протей. Дисс. канд. М., 1956.
- Левашев В. С. Генетическая характеристика Л-форм бактерий, процессов их образования и реверсии. Дисс. докт. М., 1966.
- Лямперт И. М., Белецкая Л. В., Бородин Н. А., Смирнова М. Н. Антитела, реагирующие с сердечной тканью человека в противострептококковой сыворотке кролика. Ж. микробиол., 1962, 2, 62.
- Мегапцев М. Ф. Микоплазмы птиц и их роль в патологии хронической респираторной болезни. Конференция по проблеме Л-формы бактерий и семейство *Mycoplasmataceae*. М., 1965, с. 17.
- Мельников В. Н., Раковская И. В. Динамика размножения *M. laidlawii* в жидкой среде. Вестн. АМН СССР, 1969, 5, 43.
- Мельников В. А., Раковская И. В. Фракционирование популяции *M. laidlawii* в градиенте плотности урографина. Микробиология, 1971, 3, 567.
- Мельников В. А., Уланов Б. П., Раковская И. В., Каган Г. Я. Электронно-микроскопическое исследование ДНК *M. laidlawii*. Молекуляр. биол., 1968, 2, 161.
- Миресашивили Э. И. Острые пневмонии у взрослого населения Абхазской АССР за 1954—1967 гг. Дисс. канд. М., 1968.
- Михайлова В. С. Реверсия стрептококков из Л-форм и биологические свойства ревертангов. Дисс. канд. М., 1964.
- Неустроева В. В. Контаминация культур клеток микоплазмами, принципы и методы деконтаминации. Дисс. канд. М., 1969.
- Новикова И. С., Курносова Л. М. Характеристика микоплазм, выделенных при некоторых заболеваниях мочеполового тракта у человека. Ж. микробиол., 1970, 10, 137.
- Осидзе Д. Ф. Значение микоплазм в вирусологии и их роль в патологии животных. М., 1970.
- Петрoсова В. Н., Раковская И. В., Раскова Т. М., Каган Г. Я. Серологическая характеристика некоторых видов микоплазм по данным реакций агглютинации, связывания комплемента и ингибиции роста. М. микробиол., 1969, 10, 67.
- Пешков М. А. О так называемых Л-формах бактерий. Микробиология, 1954, 5, 607.
- Пешков М. А. Рецензия на книгу В. Д. Тимакова, Г. Я. Каган «Семейство *Mycoplasmataceae* и Л-формы бактерий». Микробиология, 1969, 4, 736.
- Пискарева Н. А., Кузнецова Э. Е., Пратусевич Р. М., Прозоровский С. В. О возможной роли инфекции *M. pneumoniae* при первичных острых заболеваниях нервной системы у детей. Вестн. АМН СССР, 1969, 5, 34.
- Пискарева Н. А., Попова Р. А., Якиманская К. И. и др. Характеристика острых респираторных заболеваний, обусловленных *M. pneumoniae* у детей. Вестн. АМН СССР, 1969, 5, 30.
- Плещитый Д. Ф., Аверьянова Л. Л. Аутоиммунологические процессы в механизмах развития экспериментального эндокардита. Вестн. АМН СССР, 1967, 2, 19.
- (Покровская М. П.) *Pokrowskaja M. P.* Zytologische Beobachtungen über dissiziation process der Pestbacillen Zbl. Bakt., 1931, 19, 363.

- Покровский В. И., Лазуткина Л. Н., Астафьева Н. В. и др. Острые пневмонии, их место в инфекционной патологии, проблемы диагностики. В кн.: Материалы Всесоюз. конференции «Ранняя диагностика и лечение инфекционных болезней». Л., 1969, с. 120.
- Покровский В. И., Рыжков Е. В., Коптелова Е. И. Патоморфологическая картина экспериментального менингита кроликов, вызванного L-формами стрептококка, стафилококка и брюшнотифозной палочки. Вестн. АМН СССР, 1969, 5, 95.
- Покровский В. И., Хруслева Н. В. Клиника микоплазма-пневмоний. Вестн. АМН СССР, 1969, 5, 22.
- Порубиновская Н. М. Культивирование M. pneumoniae на плотных питательных средах отечественного производства. Лабор. дело, 1966, 6, 373.
- Порубиновская Н. М., Захарова М. С., Фурман М. А. Опыт выявления заболеваний, вызванных M. pneumoniae. Вестн. АМН СССР, 1965, 8, 82.
- Прозоровский С. В. Биологические свойства L-форм патогенных стафилококков. Дисс. канд. М., 1959.
- Прозоровский С. В. Проблема патогенности L-форм бактерий и микоплазм. Дисс. докт. М., 1970.
- Прозоровский С. В., Бочко Г. М. Сравнительное изучение реакции нейтрализации L-форм бактерий и микоплазм. Лабор. дело, 1969, 3, 157.
- Прозоровский С. В., Вихнович Э. М., Вилникова Н. И., Зубец Н. А. Биология L-форм бактерий и микоплазм — возбудителей заболеваний органов дыхания и верхних дыхательных путей. Вестн. АМН СССР, 1965, 8, 74.
- Прозоровский С. В., Вихнович Э. М., Каган Г. Я. и др. Использование модели экспериментальной пневмонии при сравнительном изучении патогенности M. pneumoniae. Бюлл. exper. биол., 1967, 2, 76.
- Прозоровский С. В., Вихнович Э. М., Каган Г. Я. и др. Выделение штамма M. pneumoniae и сравнительная характеристика его биологических свойств. Ж. микробиол., 1967, 3, 10.
- Прозоровский С. В., Левина Г. А., Рыжкова Е. В. Сравнительное изучение патогенных свойств некоторых видов L-форм бактерий и микоплазм. Вестн. АМН СССР, 1969, 5, 72.
- Раковская И. В. Биологическая характеристика микоплазм, загрязняющих культуры. Вест. АМН СССР, 1965, 8, 50.
- Раковская И. В. Биологическая характеристика микоплазм-контаминантов тканевых культур. Дисс. канд. М., 1966.
- Раковская И. В., Каган Г. Я., Гаврилов В. И. и др. Выделение и биологическая характеристика микоплазм из хронически инфицированных клеток легких эмбриона человека. Вестн. АМН СССР, 1969, 5, 63.
- Раковская И. В., Неустрова В. В. Некоторые принципы деоконтаминации тканевых культур от микоплазм. Ж. микробиол., 1967, 3, 51.
- Рыбакова Н. И. Эпидемиология M. pneumoniae инфекции. Дисс. канд. М., 1968.
- Смирнов П. В., Белецкая Л. В., Бородинок Н. А. Экспериментальная стрептококковая инфекция обезьян. Ж. микробиол., 1950, 5, 61.
- Смирнова Т. Д. Взаимоотношения некоторых видов микоплазм с вирусом Лангат при смешанной инфекции перичной культуры клеток куриного эмбриона. Дисс. канд. М., 1970.
- Сукнев В. В., Вольферц Г. Ф. Выявление фильтрующихся форм бактерий с помощью «кормилок» из бактериофаговых фильтратов. Вестн. микробиол., эпидемиол. и паразитол., 1932, 11, 4, 239.
- Сукнев В. В., Тимаков В. Д. К вопросу о сущности иммунитета. Сообщение 1. Выявление авизуальных форм бактерий методом «кормилок». Ж. микробиол., 1937, 19, 3, 411.
- Тимаков В. Д., Каган Г. Я. L-формы бактерий. Вестн. АМН СССР, 1960, 11, 25.
- Тимаков В. Д., Каган Г. Я. Биология L-форм бактерий. М., 1961.
- Тимаков В. Д., Каган Г. Я. L-формы гемолитического стрептококка и их обнаружение в крови больных ревматизмом и септическим эндокардитом. Вопр. ревмат., 1962, 2, 3.
- Тимаков В. Д., Каган Г. Я. Семейство Mycoplasmataceae и L-формы бактерий. М., 1967.
- Тимаков В. Д., Каган Г. Я., Коптелова Е. И. Особенности биологических свойств авизуальных фильтрующихся и регенерированных из них форм бактерий брюшного тифа. Сообщение 2. Труды института микробиологии АН СССР. М., 1958, т. 5, с. 225.
- Тимаков В. Д., Каган Г. Я., Коптелова Е. И., Соловьев Н. И. Особенности биологических свойств авизуальных фильтрующихся и регенерированных из них форм бактерий брюшного тифа. Сообщение 1. Труды института микробиологии АН СССР. М., 1958, т. 5, с. 214.

- Тимаков В. Д., Каган Г. Я., Левашов В. С. Биологические особенности L-форм бактерий брюшного тифа, полученных под влиянием пенициллина. Антибиотики, 1958, 4, 46.
- Тимаков В. Д., Михельсон Р. С., Колядицкая Л. С., Шмурыгина А. А. Выявление фильтрующихся форм бактерий из дизентерийных фагофильтратов. Сообщение 1. Ж. микробиол., 1951, 10, 36.
- Тимаков В. Д., Михельсон Р. С., Колядицкая Л. С., Шмурыгина А. А. Выявление фильтрующихся форм из фильтратов дизентерийных культур. Сообщение 2. Ж. микробиол., 1952, 8, 25.
- Тогунова А. И., Байдакова В. Л. О фильтрующихся формах возбудителей туберкулеза. Ж. exper. биол. и мед., 1927, 7, 18, 321.
- Устименко Л. М. Получение L-форм бледной трепонемы. Дисс. канд. Казань, 1964.
- Утенков М. Д. Авизуальные стадии микроорганизмов и культура из одной клетки. Вестн. микробиол., эпидемиол. и иммунол., 1932, 7, 190.
- Федерольф А. К. Влияние хлористого лития на бактерии. Врач, 1895, 16, 39, 1084.
- Федорова Г. И. Образование колоний из протопластов *V. megatherium*. Ж. микробиол., 1965, 8, 36.
- Флеер Г. П., Каган Г. Я., Раковская И. В., Смирнова Т. Д. Влияние некоторых видов микоплазм на образование бляшек вирусом Лангат в первичной культуре клеток куриного эмбриона. Вестн. АМН СССР, 1969, 5, 63.
- Фомина А. Я., Грошева Г. А. Сравнительное изучение некоторых свойств культур микоплазм, выделенных от больных кур. Труды Всесоюзного института экспериментальной ветеринарии. М., 1962, т. 29, с. 79.
- Фомина А. Я., Грошева Г. А., Осолоков В. С. Основные свойства *M. gallisepticum* (штамм Sg). Ветеринария, 1964, 5, 29.
- Фрадкин В. А. Аллергизирующие свойства антигена Грассе L-форм гемолитического стрептококка. Вестн. АМН СССР, 1965, 8, 64.
- Хрушова Н. В., Прозоровский С. В., Дрейзин Р. С., Вилнович Э. М. Первичные атипичные пневмонии, вызванные агентом Итона. Сов. мед., 1968, 5, 71.
- Цибина Г. А., Порубиновская Н. М., Захарова М. С. Выделение культур *M. pneumoniae* у больных пневмониями. Ж. микробиол., 1967, 8, 34.
- Шаговский К. П., Левашев В. С. О патогенности L-форм вульгарного протея для куриных эмбрионов. Ж. микробиол., 1966, 10, 99.
- Шубин В. А. В кн.: Серебрякова А. С. и Грошева Г. А. Респираторный микоплазмоз птиц. М., 1970.
- Щеголев А. Г., Прозоровский С. В. L-трансформирующее действие пенициллина на *S. typhi murium*. Антибиотики, 1963, 6, 507.
- Щеголев А. П., Старшинова В. И. О выделении L-форм бактерий от больных брюшным тифом и бактерионосителей. Ж. микробиол., 1964, 7, 15.
- Abrams R. V. A method for the cultivation of L forms in liquid media. J. Bact., 1955, 70, 251.
- Adler H. E., Shifrine M. *Mycoplasma laidlawii* var. *inocuum* comb. nov. J. Bact., 1964, 87, 1245.
- Afshar A. The growth of *Mycoplasma bovis genitalium* in cell culture. J. gen. Microbiol., 1967, 47, 103.
- Albertini A., Grumbach. Цит. по Mischer P. a. Forlaender, 1961.
- Alderman M. H., Freedman L. R. Experimental pyelonephritis. Yale. J. Biol. Med., 1963, 36, 157.
- Allison A. C., Paton G. Chromosomal abnormalities in human diploid cells infected with *Mycoplasma* and their possible relevance to the aetiology of Down's syndrome (mongolism). Lancet, 1960, 11, 1229.
- Altenbern R. A. Critical factors influencing growth of L forms of *Proteus mirabilis*. J. Bact., 1961a, 81, 586.
- Altenbern R. A. Reversion of 3A type L-forms of *Proteus mirabilis*. J. Bact., 1961b, 81, 762.
- Altucci P., Georgiades J., Varone G. L. Sugli aspetti biologici ed immunologici piu recenti della nostra sperimentazione sui micoplasmi. Boll. Ist. sieroter. Milan, 1968, 47, 244.
- Amies C. R., Jones S. A. A description of *Haemophilus vaginalis* and its L-forms. Canad. J. Microbiol., 1957, 3, 579.
- Anderson D. R. Ultrastructural studies of *Mycoplasmas* and the L-phase of bacteria. В кн.: L. Hayflick «The mycoplasmatales and the L-phase of bacteria». New York, 1969, p. 365.
- Anderson D. R., Barile M. F. Ultrastructure of *Mycoplasma hominis*. J. Bact., 1965, 90, 180.

- Anderson D. R., Barile M. F. Ultrastructure of *Mycoplasma orale* isolated from patients with leukemia. *J. nat. Cancer Inst. (Wash.)*, 1966, 36, 161.
- Anderson D. R., Manaker R. A. Electron microscopic studies of *Mycoplasma* (PPLO strain 880) in artificial medium and in tissue culture. *J. nat. Cancer Inst. (Wash.)*, 1966, 36, 139.
- Anderson D. R., Pollock M. E., Brower L. F. Morphology of *Mycoplasma laidlawii* type A.I. Comparison of electron microscopic counts with colony-forming units. *J. Bact.*, 1965a, 90, 1764.
- Anderson D. R., Pollock M. E., Brower L. F. Morphology of *Mycoplasma laidlawii* type A. II. Effect of glucose on growth and cellular morphology. *J. Bact.*, 1965b, 90, 1768.
- Anderson R. J. Acid treatment modification for the preparation of permanent slides of L forms and mycoplasmas. *J. Bact.*, 1967, 93, 493.
- Andrews B. Hpt. no R. Fallow. *Brit. med. J.*, 1965, 14, 388.
- Arai S., Yuri K. Y., Kudo A. et al. Effect of antibiotics on the growth of various strains of *Mycoplasma*. *J. Antibiot.*, 1967, 20A, 246.
- Argaman M., Razin S. J. Cholesterol and cholesterolesters in mycoplasma. *J. gen. Microbiol.*, 1965, 38, 153.
- Argaman M., Razin S. J. Antigenic properties of mycoplasma organisms and membranes. *J. gen. Microbiol.*, 1969, 55, 45.
- Armstrong D., Henle G., Somerson H. L., Hayflick L. Cytopathogenic mycoplasmas associated with two human tumors. *J. Bact.*, 1965, 90, 418.
- Armstrong D., Paucker R. Effect of mycoplasma on interferon production and interferon assay in cell cultures. *J. Bact.*, 1966, 92, 97.
- Aula P., Nichols W. W. The cytogenetic effects of mycoplasma in human leukocyte cultures. *J. cell. Physiol.*, 1967, 70, 281.
- Baernstein H. D., Trevisani M. E., Axtell S., Quilligan J. J. *Mycoplasma pneumoniae* (Eaton atypical pneumonia agent) in children's respiratory infections. *J. Pediat.*, 1965, 66, 829.
- Bailey J., Clark H., Felts W., Fowler R., Brown Th. Antigenic properties of pleuropneumonia-like organisms from tissue cell cultures and the human genital area. *J. Bact.*, 1961, 82, 542.
- Bailey J. S., Clark H. W., Felts W. R., Brown T. Growth inhibitory properties of *Mycoplasma* antibody. *J. Bact.*, 1963, 86, 147.
- Bandur B. M., Dienes L. L forms isolated from a strain of *Serratia*. *J. Bact.*, 1963, 86, 829.
- Barden J. A., Tully J. G. Experimental arthritis in mice with *Mycoplasma pulmonis*. *J. Bact.*, 1969, 100, 5.
- Barile M. F. *Mycoplasma* and leukemia. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1967, 143, 557.
- Barile M. F., Bodey G. P., Snyder J. et al. Isolation of *M. orale* from leukemic bone marrow and blood by direct culture. *J. nat. Cancer Inst. (Wash.)*, 1966, 36, 155.
- Barile M. F., Del Giudice R. A., Carski T. R. et al. Isolation and characterization of *Mycoplasma arginini*: spec. nov. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)*, 1968, 129, 489.
- Barile M. F., Jaguchi R., Eveland L. V. A simplified medium for the cultivation of pleuropneumonia like organisms and the L-form of bacteria. *Am. J. clin. Path.*, 1958, 30, 171.
- Barile M. F., Leventhal B. G. Possible mechanism for *Mycoplasma* inhibition of lymphocyte transformation induced by phytohaemagglutinin. *Nature (London)*, 1968, 219, 751.
- Barile M. F., Malizia W. F., Riggs D. Incidence and detection of PPLO in cell cultures by fluorescent antibody and cultural procedures. *J. Bact.*, 1962, 84, 130.
- Barile M. F., Schimke R. T. A rapid chemical method for detecting PPLO contamination of tissue cell cultures. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)*, 1963, 114, 676.
- Barile M. F., Schimke R. T., Riggs D. B. Presence of the arginine-dihydrolase pathway in *Mycoplasma*. *J. Bact.*, 1966, 91, 189.
- Barker L. F., Patt J. K. Role of complement in immune inactivation of *Mycoplasma gallisepticum*. *J. Bact.*, 1967, 94, 403.
- Barnard J. E. The microscopical examination of filterable viruses associated with malignant new growths. *Lancet*, 1925, 2, 117.
- Bartholomew L. E. Isolation and characterization of *Mycoplasmas* (PPLO) from patients with rheumatoid arthritis, systemic lupus erythematosus and Reiter's syndrome. *Arthr. and Rheum.*, 1965, 8, 376.
- Bartholomew L. E. Characterization of *Mycoplasma* strains and antibody studies from patients with rheumatoid arthritis. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1967, 143, 522.
- Bartholomew L. E., Wheeler E., Nelson F. R. Heat-sensitive mycoplasma antigens. *J. Lab. clin. Med.*, 1968, 72, 65.
- Beckman B. L., Kenny G. E. Immunochemical analysis of serologically active lipids of *M. pneumoniae*. *J. Bact.*, 1968, 96, 1171.

- Benton W. J., Cover M. S., Melchior F.* Mycoplasma gallisepticum in a commercial laryngotracheitis vaccine. Avian Dis., 1967, 11, 426.
- Berkowich S., Millian S. J., Snyder R. D.* The association of viral and Mycoplasma infections with recurrence of Welzing in asthmatic child. Ann. Allergy, 1970, 28, 43.
- Beveridge W., Campbell A. et al.* Pleuropneumonia-like organisms in cases of nongonococcal urethritis in man and in normal female genitalia. Med. J. Aust., 1946, 1, 179.
- Biberfeld G., Biberfeld P.* Ultrastructural features of M. pneumoniae. J. Bacteriol. 1970, 102, 855.
- Biberfeld R. G., Johnsson T., Jonsson J.* Studies on Mycoplasma pneumoniae infection in Sweden. Acta path. microbiol. scand., 1965, 63, 469.
- Biberfeld R. G., Stenbeck J. et al.* Mycoplasma pneumoniae infection in hospitalized patients with acute respiratory illness. Acta path. microbiol. scand., 1968, 74, 287.
- Bieling R.* (1940). Цит. по P. Miescher и K. Forlaender, 1961.
- Bittner J., Vionesco V.* Formes «L» toxigènes du Clostridium perfringens. В кн.: IX International Congress for Microbiology (Abstracts). Moscow, 1966, с. 353.
- Black F. F., Rasmussen O. G.* Occurrence of T-strains and other mycoplasmata in nongonococcal urethritis. Brit. J. vener. Dis., 1968, 44, 324.
- Blaskovic D., Raus J.* An attempt to induce L-forms of bacteria in vivo. I. Passive and active immunization of white rats. Folia Microbiol. (Praha), 1959, 4, 262.
- Blaskovic D., Raus J.* An attempt to induce L-forms of bacteria in vivo. II. Administration of penicillin to white rats. Folia Microbiol. (Praha), 1960, 5, 21.
- Bloss-Bender L.* Über modifikative und mutative L-Formen von Proteus vulgaris. Arch. Mikrobiol., 1959, 34, 16.
- Bode H. R., Morowitz H. J.* Size and structure of the Mycoplasma hominis H39 chromosome. Molec. Biol., 1967, 23, 191.
- Bohnhoff M., Page M. I.* Experimental infection with parent and L-phase variants of Neisseria meningitidis. J. Bact., 1968, 95, 2070.
- Bonifas V. H.* Influence de la pression osmotique sur le maintien en milieu liquide penicilliné d'une souche de Proteus sous la forme L. Schweiz. Z. Path., 1954, 17, 525.
- Bordet J.* La morphologie du microbe de la peripneumonie des bovidés. Ann. Inst. Pasteur., 1910, 24, 161.
- Borel L. J.* Pleuropneumonia et bacteries en phase «L». Etudes des problèmes bacteriologiques et cliniques. J. biol. Med., 1952, 41, 379.
- Borrel A., Dujardin-Beaumetz E.* Jeantet p. et Jouan Cr. — Le microbe de la peripneumonie. Ann. Inst. Pasteur., 1910, 24, 168.
- Boven C. P. A. van, Ensering H. L., Hijmans W.* Size determination by the filtration method of the reproductive elements of group A Streptococcal L forms. J. gen. Mikrobiol., 1968, 52, 403.
- Braude A. J., Siemienski J., Jacobs I.* Protoplast formation in human urine. Trans. Ass. Amer. Phyens., 1961, 74, 234.
- Braude A. J., Siemienski J., Lee K.* Spheroplasts in human urine. В кн.: Guze. Microbial protoplasm, spheroplasts and L forms. Baltimore, 1968, p. 396.
- (*Braun W.*) *Брайун В.* Генетика бактерий. Пер. с англ. М., 1968.
- Bredt W.* Phasenkontrastmikroskopische Untersuchungen zu Morphologie und Vermehrung von Mycoplasma pneumoniae in Glas. Zbl. Bakt. I Abt. Orig., 1968, 208, 549.
- Bredt W.* Filamentous growth of some Mycoplasma species of man. Experientia, 1969, 25, 1118.
- Bredt W.* Serological diagnosis in human mycoplasma-infection. Deut. Med. Wchenschr. 1970, 95(5), 234.
- Bredt W., Brunner H., Maisch G.* Vorkommen von Mycoplasmen in Rückenabstücken. Zbl. Bakt. I. Abt. Orig., 1969, 210, 538.
- Brem A. M., Eveland W. C.* L-forms of Listeria monocytogenes. I. In vitro induction and propagation of L forms in all serotypes. J. infect. Dis., 1968a, 118, 181.
- Brem A. M., Eveland W. C.* Induction and pathogenicity of Listeria monocytogenes L forms. (University of Michigan Ann. Arbor.) Bact. Proc., 1968b, 73, 1448.
- Brennan P., Feinstein R.* Relationship of hydrogen-peroxide production by Mycoplasma pulmonis to virulence for catalase-deficient mice. J. Bact., 1969, 98, 1036.
- Breslow L.* Epidemic of acute respiratory disease associated with atypical pneumonia. J. clin. Invest., 1945, 24, 775.
- Bridré J., Donatien A.* Le microbe de l'agalaxie contagieuse et sa culture in vitro. C.R. Acad. Sci. (Paris), 1923, 177, 841.
- Bridré J., Donatien A.* Le microbe de l'agalaxie contagieuse du mouton et de la chèvre. Ann. Inst. Pasteur., 1925, 39, 925.
- Brown T. M., Nunemaker J. C.* Rat bite fever. Bull. Johns Hopk. Hosp., 1942, 70, 201.
- Bürger H., Doss M., Mannheim W., Schüler A.* Studien zur biochemischen Differenzierung von Mycoplasmen. Z. men. Mikrobiol., 1967, 153, 138.
- Butas C. A.* The isolation of pleuropneumonia-like organisms from two cases of polyarthritis. Canad. J. Microbiol., 1957, 3, 419.

- Butler M., Knight B. The measurement of the growth of Mycoplasma in liquid media. J. gen. Microbiol., 1960a, 22, 478.
- Butler M., Knight B. Steroid growth requirements and steroid growth inhibitors of Mycoplasma. J. gen. Microbiol., 1960b, 22, 483.
- Butler M., Leach R. H. A Mycoplasma which induces acidity and cytopathic effect in tissue culture. J. gen. Microbiol., 1964, 34, 285.
- Cabezas de Herrera E., Rubio-Huertos M. Algunas características de las formas L fijas del Agrobacterium tumefaciens obtenidas por medio de radiación ultravioleta. Microbiol. esp., 1967, 20, 131.
- Campbell A. D., Turner A. W. Complement-fixation reaction. Bull. Coun. Sci. Industr. Res. Aust., 1936, 97, 11.
- Card D. H. PPLO of human genital origin; serological classification of strains and antibody, distribution in man. Brit. J. vener. Dis., 1959, 35, 27.
- Carey W., Muschel L., Baron L. The formation of bacterial protoplasts in vivo J. immun. 1960, 84, 183.
- Carmichael L. E., Fabricant J., Squire R. H. A fatal septicemic disease of infant, puppies caused by cytopathogenic organisms with characteristics of Mycoplasma. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1964, 117, 826.
- Carrère L., Roux J. Obtention in vivo de formes L de Salmonella. C.R. Acad. Sci. (Paris), 1952, 234, 1647.
- Carrère L., Roux J. De la présence des formes évolutives des bactéries dans la hémocultures. C.R. Acad. Sci. (Paris), 1953a, 17, 1039.
- Carrère L., Roux J. Obtention de formes L de Brucella melitensis. Ann. Inst. Pasteur, 1953b, 84, 796.
- Carrère L., Roux J. Apparition spontanées persistance de corps globulux et de formes L à partir d'une souche de vibron cholérique. Ann. Inst. Pasteur., 1953c, 84, 986.
- Carrère L., Roux J., Mandin J. A propos du cycle L des bactéries obtention de formes naines, viables et filtrables en milieu liquide. C.R. Soc. Biol. (Paris), 1954, 148, 2050.
- Carski T. R., Shepard Ch. C. Pleuropneumonia-like (Mycoplasma) infections of tissue cultures. J. Bact., 1961, 81, 626.
- Carter G. Pleuropneumonia-like organisms isolated from bronchopneumonia of cattle. Science, 1954, 120, 113.
- Carter G., Grieg A. The recovery of diphtherias from L-forms organisms contaminating tissue cultures. Canad. J. Microbiol., 1963, 9, 317.
- Carter G. R., McKay K. A. A pleuropneumonia-like organism associated with infectious atrophic rhinitis of swine. Canad. J. comp. Med., 1953, 17, 413.
- Casterjan-Diez J., Fisher T. M., Fisher E. Experimental infection of tissue cultures with certain mycoplasma. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1963, 112, 643.
- Cavelli P. A. Studies on the pathogenesis of rheumatic fever. Arch. Path., 1947, 44, 1.
- Cavelli P. A. Autoimmunologic disease. J. Allergy, 1955, 26, 95.
- Chanock R. M. Mycoplasma infections of man. New Engl. J. Med., 1965, 273, 1257.
- Chanock R. M. Control of acute mycoplasmal and viral respiratory tract disease. Science, 1970, 169, 248.
- Chanock R., Chambon L., Chang W. et al. WHO respiratory disease survey in children. Bull. Wld. Hlth. Org., 1967, 37, 363.
- Chanock R. M., Cook M. K., Fox H. H. et al. Serologic evidence of infection with Eaton agent in lower respiratory illness in childhood. New Engl. J. Med., 1960, 262, 648.
- Chanock R. M., Dienes L., Eaton M. D. et al. Mycoplasma pneumoniae proposed nomenclature for atypicae pneumoniae organism (Eaton agent). Science, 1963, 140, 662.
- Chanock R. M., Fox H. H., James W. D. et al. Growth of laboratory and naturally occurring strains of Eaton agent in monkey kidney tissue culture. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1960, 105, 371.
- Chanock R. M., Fox H. H., James W. D. et al. Epidemiology of M. pneumoniae infection in military recruits. Ann. N.Y. Acad. Sci., 1967, 143, 484.
- Chanock R. M., James W. D., Fox H. H. et al. Growth of Eaton PPLO in broth and preparation of complement fixing antigen. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1962b, 110, 884.
- Chanock R. M., Mufson M. A., Bloom H. H. et al. Eaton agent pneumonia. J.A.M.A., 1962c, 175, 213.
- Chanock R. M., Mufson M. A., James W. D. et al. Recovery of PPLO of atypical pneumonia on artificial agar medium. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1962d, 110, 543.
- Chanock R. M., Mufson M. A., Johnson K. M. (1965). Int. no R. M. Chanock, 1970.
- Chanock R. M., Mufson M. A., Somerson N. L., Couch R. B. Role of mycoplasma (PPLO) in human respiratory disease. Am. Rev. resp. Dis., 1963, 88, 218.
- Chanock R. M., Rifkind D., Kravetz H. M. et al. Respiratory disease in volunteers infected with Eaton agent; a preliminary report. Proc. nat. Acad. Sci., 1961, 47, 887.
- Chanock R. M., Tyrrell D. A. J., Bynoe M. L., Hoorn B. Int. no R. M. Chanock, 1970.

- Chapman G. B., Hillier J. Electron microscopy of ultrathin sections of bacteria. I. Cellular division in *Bacillus cereus*. *J. Bact.*, 1953, 66, 362.
- Charache P. Atypical bacterial forms in human disease. В кн.: L. Guze Microbial protoplasts, spheroplasts and L-forms. Baltimore, 1968, p. 484.
- Charache P. Cell wall defective bacterial variants in human disease. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1970, 174, 903.
- Chatterjee A. N., Ward J. B., Perkins H. R. Synthesis of mucopeptide by L-form membranes. *Nature (London)*, 1967, 214, 1311.
- Chattman M. S., Mattman L. H., Mattman P. E. L-forms in blood cultures demonstrated by nucleic acid fluorescence. *Am. J. clin. Path.*, 1969, 51, 41.
- Chromatie W., Craddock I. Pathogenic action of group A streptococcal cell components. В кн.: R. Caravano. Current research an group a streptococcus. Amsterdam, 1968, p. 89.
- Chu H. P., Horne R. W. Electron microscopy of *M. gallisepticum* and *M. mycoides* using the negative staining technique and their comparison with Myxovirus. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1967, 143, 190.
- Clark H. W. Sedimentation counting and morphology of mycoplasma. *J. Bact.*, 1965, 90, 1373.
- Clark H. W., Bailey J. S., Fowler R. C., Brown T. M. Identification of Mycoplasmataceae by the fluorescent antibody method. *J. Bact.*, 1963, 85, 111.
- Clark H. W., Fowler R. C., Brown T. M. Preparation of pleuropneumonia-like organisms for microscopic study. *J. Bact.*, 1961, 81, 500.
- Clasener H. A., Ensering H. J., Hijmans W. Persistence in mice of the L-phase of three Streptococcal strains adapted to physiological osmotic conditions. *J. gen. Microbiol.*, 1970, 62, 195.
- Clive D., Landeman O. E. Growth of *B. subtilis* L forms on membrane filters—and stimulation of their reversion to Bacilli by the filters and by added cell wall. *Bact. Proc.*, 1968, Gp70, 5.
- Clyde W. A. Demonstration of Eaton's agent in tissue cultures. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)*, 1961, 107, 745.
- Clyde W. A. Hemolysis in identifying Eaton's pleuropneumonia-like organism. *Science*, 1963a, 139, 55.
- Clyde W. A. Studies on growth of Eaton's agent in tissue cultures. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)*, 1963b, 112, 905.
- Clyde W. A. Mycoplasma species identification based upon growth inhibition by specific antisera. *J. Immunol.*, 1964, 92, 6, 958.
- Clyde W. A. Prevention of disease due to *M. pneumoniae*. *J. infect. Dis.*, 1969, 120, 255.
- Clyde W. A. Biophysical Characteristics of the mycoplasmas. В кн.: L. Hayflick. The mycoplasmatales and L-phase of bacteria. New York, 1969, p. 349.
- Clyde W. A. Avirulent *M. pneumoniae* immunogenicity for hamsters and potential as live vaccine. *Bact. Proc.*, 1971, M83, 78.
- Clyde W. A., Denny F. W., Dingle J. H. Fluorescent-stainable antibodies to the Eaton agent in human PAP transmission studies. *J. clin. Invest.*, 1961, 40, 1638.
- Cohen G., Somerson N. L. *Mycoplasma pneumoniae*: hydrogen peroxide secretion and its possible role in virulence. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1967, 143, 85.
- Cohen G., Somerson N. L. Glucose-dependent secretion and destruction of hydrogen peroxide by *Mycoplasma pneumoniae*. *J. Bact.*, 1969, 98, 547.
- Cohen M., Panos C. Membrane lipid composition of *Streptococcus pyogenes* and derived L-form. *Biochemistry*, 1966, 5, 2385.
- Cohen R. L., Wittler R. G., Faber J. E. Modified biochemical tests for characterization of L-phase variants of bacteria. *Appl. Microbiol.*, 1968, 16, 1655.
- Cole B. C., Cahill J., Wiley B., Ward J. Immunological response of the rat to *Mycoplasma arthritidis*. *J. Bact.*, 1969, 98, 930.
- Cole B. C., Golightly L., Ward J. Characterization of *Mycoplasma* strains from cats. *J. Bact.*, 1967, 94, 1451.
- Cole R. M. Cell wall replication in *Salmonella typhosa*. *Science*, 1964, 143, 3608.
- Cole R. M. The structure of the group A streptococcal cell and its L-form. В кн.: R. Caravano «Current research on group a streptococcus». Amsterdam, 1968, p. 5.
- Collier A. M., Clyde W. A. Nature of human respiratory epithelial infection by *M. pneumoniae*. *Bact. Proc.*, 1971, M731, 76.
- Collier L. H. Contamination of stock lines of human carcinoma cells by PPLO. *Nature*, 1957, 180, 757.
- Comission on acute respiratory disease: epidemiology of atypical pneumonia and acute respiratory disease at Fort Bragg N.C. *Am. J. publ. Hlth.*, 1944, 34, 335.
- Conant R. M., Somerson N. L., Senterjit C. B. Immunodiffusion reactions between human sera and *Mycoplasma pneumoniae*. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)*, 1968, 129, 401.
- Cook M. K., Chanock R. M., Fox H. H. et al. Role of Eaton agent in disease of lower respiratory tract. Evidence for infection in adults. *Brit. med. J.*, 1960, 1, 905.

- Copperman R., Morton H. E.* Reversible inhibition of mitosis in lymphocyte cultures by non-viable mycoplasma. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1966, 123, 790.
- Cordy D. R., Adler H. E.* The pathogenesis of the encephalitis in turkey poultz produced by a neurotropic pleuropneumonia-like organism. Avian. Dis., 1957, 1, 235.
- Coriell L., Fabrizio D., Wilson S.* Comparison of pleuropneumonia-like organism strains from tissue culture by complement fixation. Ann. N.Y. Acad. Sci., 1960, 79, 574.
- Cottew G. S., Leach R. H.* Mycoplasma of cattle, sheep, and goats. В кн.: L. Hayflick. The Mycoplasmatales and the L-phase of bacteria. New York, 1969, p. 527.
- Cottew G. S., Lloyd L. C.* An outbreak of pleurisy and pneumonia in goats in Australia attributed to a mycoplasma species. J. comp. Path., 1965, 75, 363.
- Cottew G. S., Watson W. A., Arisoy F. et al.* The differentiation of *M. agactiae* from other mycoplasmas of sheep and goats. J. comp. Path., 1968, 78, 275.
- Couch R. B.* Diagnosis and treatment of *M. pneumoniae* disease in man. В кн.: L. Hayflick. The Mycoplasmatales and the L-phase of bacteria. New York, 1969, p. 683.
- Couch R. B., Cate T. R., Douglas R. G. et al.* Effect of route of inoculation on experimental respiratory viral disease in volunteers and evidence for airborne transmission. Bact. Rev., 1966, 30, 517.
- Coussons R. T., Cole R. M.* The size and replicative capacities of small bodies of group A streptococcal L-forms. В кн.: R. Caravano. Current research on group A streptococcus. Amsterdam, 1968, p. 327.
- Crawford V. E.* Studies of a complement-fixing antigen from group A streptococcal L-forms. I. Preparation and preliminary in rabbits and man J. Immunol., 1960, 84, 86.
- Crawford Y. E.* Studies of a complementfixing antigen from group A streptococcal L-forms. J. Immunol., 1962, 89, 698.
- Crawford Y. E.* Mycoplasma of human derivation. В кн.: C. Panos. A microbial enigma mycoplasma and bacterial L-forms. Cleveland, 1967, p. 3.
- Crawford Y. E., Frank P. E., Sullivan B.* Isolation and reversion of L-forms of beta-hemolytic streptococci. J. infect. Dis., 1958, 102, 44.
- Csonka G. W.* Bacteriological and biochemical investigation in Reiter's syndrome. Brit. J. vener. Dis., 1959, 35, 84.
- Csonka G. W., Williams R. E., Corse J.* T-strain mycoplasma in nongonococcal urethritis. Ann. N.Y. Acad. Sci., 1967, 143, 794.
- Dafaalla E. N.* Etudes sur la structure antigenique de l'agent causal de la peripneumonie bovine contagieuse. Bull. epizoot. Dos. Afr., 1957, 5, 211.
- Dajani A. S., Clyde W. A., Denny F. N.* Experimental infection with *M. pneumoniae*. J. exp. Med., 1965, 121, 229.
- Dalton H. P., Allison M. J., Escobar M. R.* Effect of linomycin pretreatment on *Staphylococcus aureus* L-form production. J. Bact., 1968, 95, 1199.
- Da Massa A. J., Adler H. E.* Effect of pH on growth and survival of three avian and one sarpophytic mycoplasma species. Appl. Microbiol., 1969, 17, 310.
- Dannis D. C., Morston J. H.* Antigenicity of a L-form membrane. Bact. Proc., 1968, 90, 145.
- Dasinger B. L., Suter E.* Endotoxic activity of L-forms derived from *Salmonella paratyphi B*. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1962, 11, 399.
- Davies G., Read W. C.* A modification of the growth-inhibition test and its use for detecting *Mycoplasma mycoides* var. *mycoides*. J. Hyg. (Lond.), 1968, 66, 319.
- Debonera G.* Une forme particulière et grave d'agalaxie contagieuse: la maladie des oedèmes des chèvres de Sparte. Rec. Med. Vet., 1937, 113, 79.
- Deeb B. J., Kenny G. E.* Characterization of *Mycoplasma pulmonis* variants isolated from rabbits. J. Bact., 1967a, 93, 1416.
- Deeb B. J., Kenny G. E.* Characterization of *Mycoplasma pulmonis* variants isolated from rabbits. J. Bact., 1967b, 93, 1425.
- Del Giudice R. A., Nobillard N. F., Carski T. R.* Immunofluorescence identification of *Mycoplasma* on agar by use of incident illumination. J. Bact., 1967, 93, 37.
- Dhanda M. R., Sharma G. L., Bhalla N. P.* Contagious agalactia in goats and sheeps. Indian. J. Vet. Sci., 1959, 29, 62.
- Dienes L.* L-organisms of Klieneberger and *Streptobacillus moniliformis*. J. infect. Dis., 1939, 65, 24.
- Dienes L.* Isolation of L-type growth from a strain of *Bacterioides funduliformis*. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1941, 47, 385.
- Dienes L.* The significance of the large bodies and the development of L-type of colonies in bacterial cultures. J. Bact., 1942, 44, 37.
- Diene L.* L-type of growth in cultures of a hemolytic parainfluenza bacillus. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1944, 48, 142.
- Dienes L.* Morphology and nature of the pleuropneumonia group of organisms. J. Bact., 1945, 50, 441.
- Dienes L.* Isolation of pleuropneumonia-like organisms from *H. influenzae* with the aid of penicillin. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1947a, 64, 166.

- Dienes L.* The morphology of the L₁ of Klineberger and its relationship to *Streptobacillus moniliformis*. *J. Bact.*, 1947b, 54, 231.
- Dienes L.* The influence of penicillin on the growth of *Proteus* cultures. *Proc. Meet. Soc. Am. Bact.*, 1948a, 1, 3.
- Dienes L.* Isolation of L-type colonies from typhoid bacilli with the aid of penicillin. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)*, 1948b, 68, 589.
- Dienes L.* The isolation of L-type cultures from *Bacteroides* with the aid of penicillin and their reversion into the usual bacilli. *J. Bact.*, 1948c, 56, 445.
- Dienes L.* Isolation of L-type cultures from *Clostridia*. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)*, 1950, 75, 412.
- Dienes L.* L-type cultures isolated from streptococci. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)*, 1953a, 83, 579.
- Dienes L.* Some new observations of L-forms of bacteria. *J. Bact.*, 1953b, 66, 274.
- Dienes L.* Electron micrographs made from L-forms of *Proteus* and two human strains of pleuropneumonia-like organisms. *J. Bact.*, 1953c, 66, 280, 286.
- Dienes L.* Contraversia aspects of morphology of PPLO. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1960, 79, 356.
- Dienes L.* The morphology of PPLO and bacterial L-forms. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1963, 108, 375.
- Dienes L.* Permanent stained agar preparation of *Mycoplasma* and of L forms of bacteria. *J. Bact.*, 1967, 93, 689.
- Dienes L.* Morphology and reproductive processes of bacteria with defective cell awll. В кн.: L. B. Guze. Microbial protoplasts, spheroplasts and L-forms. Baltimore, 1968, p. 2.
- Dienes L.* Permanent alterations of the L-forms of proteus and salmonella under varians conditions. *J. Bact.*, 1970, 104, 1369.
- Dienes L., Bullivant S.* Comparison of the morphology of PPLO and L-forms of bacteria with light and electron microscopy. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1967, 143, 719.
- Dienes L., Bullivant S.* Morphology and reproductive study of L-form and mycoplasma with the electron microscope. *J. Bact.*, 1968, 95, 672.
- Dienes L., Madoff S.* Differences between oral and genital strains of human pleuropneumonia-like organisms. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)*, 1953, 82, 36.
- Dienes L., Madoff S.* Morphology of the L-forms of group A streptococcus and other bacterial species. В кн.: R. Caravano. Current research on group a streptococcus. Amsterdam, 1968, p. 332.
- Dienes L., Ropes M. W., Suuth W. E.* et al. The role of pleuropneumonia-like organisms in genitourinary and joint diseases. *New Engl. J. Med.*, 1948, 238, 15, 509, 516, 563.
- Dienes L., Sharp J. T.* The role of high electrolytic concentration in the production and growth of L-forms of bacteria. *J. Bact.*, 1956, 71, 208.
- Dienes L., Smith W. E.* Reproduction of bacteria from the large bodies of *Bacteroides funduliformis*. *Proc. exp. Biol. (N.Y.)*, 1942, 51, 297.
- Dienes L., Weinberger H.* The L-forms of bacteria. *Bact. Rev.*, 1951, 15, 245.
- Dienes L., Weinberger H. J., Madoff S.* The transformation of typhoid bacilli into L-forms under various conditions. *J. Bact.*, 1950, 59, 755.
- Dienes L., Zamecnik L.* Transformation of bacteria into L-forms by amino acids. *J. Bact.*, 1952, 64, 770.
- Dinter Z., Dantelson D., Bakos K.* Differentiation of porcine mycoplasma strains. *J. gen. Microbiol.*, 1965, 41, 77.
- Dmochowski L., Dreyer D. A., Grey C. E.* et al. Studies on the submicroscopic morphology of structures resembling mycoplasma and virus particles in mice and man. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1967, 143, 578.
- Dmochowski L., Taylor H. G., Grey C. E.* et al. Viruses and mycoplasma (PPLO) in human leukemia. *Cancer*, 1965, 18, 1345.
- Dolman C. E., Chang H.* *Streptobacillus moniliformis* and its pleuropneumonia-like variant. *Canad. J. publ. Hlth.*, 1951, 42, 73.
- Domermuth C. H., Gourlay R. N.* A solid medium test for measuring growth inhibition and neutralization of *Mycoplasma mycoides* by immune bovine serum. *J. gen. Microbiol.*, 1967, 47, 289.
- Domermuth C. H., Nielson M. H., Freundt E. A., Birch-Andersen A.* Ultrastructure of *Mycoplasma* species. *J. Bact.*, 1964a, 88, 727.
- Domermuth C. H., Nielsen M. H., Freundt E. A., Birch-Andersen A.* Cross morphology and ultrastructure of *M. gallisepticum*. *J. Bact.*, 1964b, 88, 1428.
- Donald J. C., Lui C.* Cytological studies of chick embryo cells infected with virus of PAP. *Virology*, 1959a, 9, 20.
- Donald J. C., Liu C.* Serological studies of chick embryo cells infected with the virus of PAP. *Virology*, 1959b, 9, 23.
- Doolik L., Panos C.* Properties and particle purification of two alpha-glucosidase of streptoc. pyogenes and derived L-form. *Bact. Proc.*, 1958, 121, 61.

- Dowdle W. R., Robinson R. A., An indirect haemagglutination test for diagnosis of Mycoplasma pneumoniae infections. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1964, 116, 947.
- Dowdle W. R., Stewart J. A., Heyward J. T., Robinson R. A. Mycoplasma pneumoniae infections in a children's population: a five year study. Am. J. Epidem., 1967, 85, 137.
- Dowson H. H., Hobby G. L. Pleuropneumonia-like organisms as a variant phase of streptobacillus moniliformis. Third International Congress for Microbiology. Abstracts. New York, 1939, p. 21.
- Eaton M. D., Farham A. F., Levinthal M. D., Scala A. R. Cytopathic effect of the atypical pneumoniae organism in cultures of human tissue. J. Bact., 1962, 84, 1330.
- Eaton M. D., Meiklejohn G., van Herick W. Studies on the etiology of primary atypical pneumonia. A filterable agent transmissible to cotton rats, hamsters and chick embryos. J. exp. Med., 1944, 79, 649.
- Eaton M. D., van Herick W. Serological and epidemiological studies on primary atypical pneumonia and related acute upper respiratory disease. Am. J. Hyg., 1947, 45, 82.
- Eaton M. D., van Herick W., Meiklejohn G. Studies on the etiology of PAP. III. Specific neutralization of the virus by human serum. Exp. Med., 1945, 82, 329.
- Edward D. G. The occurrence in the normal mice of pleuropneumonia-like organisms capable of producing pneumonia. J. Path. Bact., 1940, 50, 409.
- Edward D. G. Catarrh of the upper respiratory tract in mice and its association with pleuropneumonia-like organisms. J. Path. Bact., 1947, 59, 209.
- Edward D. G. An investigation of the biological properties of organisms of the pleuropneumonia group, with suggestions regarding the identification of strains. J. gen. Microbiol., 1950, 4, 311.
- Edward D. G. A difference in growth requirements between bacteria in the L-phase and organisms of the pleuropneumonia group. J. gen. Microbiol., 1953, 8, 256.
- Edward D. G. The pleuropneumonia group of organisms: a review, together with some new observations. J. gen. Microbiol., 1954, 10, 27.
- Edward D. G. A suggested classification and nomenclature for organisms of the pleuropneumonia group. Int. Bull. Bact. Nomen. Tax., 1955, 5, 85.
- Edward D. G. Biology of the pleuropneumonia-like organisms. Discussion of part V. Ann. N.Y. Acad. Sci., 1960, 79, 608.
- Edward D. G. Problems of classification — an introduction. Ann. N.Y. Acad. Sci., 1967, 143, 7.
- Edward D. G., Fitzgerald W. A. The isolation of organisms of the pleuropneumonia group from dogs. J. gen. Microbiol., 1951a, 5, 566.
- Edward D. G., Fitzgerald W. A. Cholesterol in the growth of organisms of the pleuropneumonia group. J. gen. Microbiol., 1951b, 5, 576.
- Edward D. G., Fitzgerald W. A. A growth factor needed to isolate organisms of the pleuropneumonia group from the genital tract of cattle. Vet. Res., 1952, 64, 395.
- Edward D. G., Fitzgerald W. A. Inhibition of growth of pleuropneumonia-like organisms by antibody. J. Path. Bact., 1954, 68, 23.
- Edward D. G., Freundt E. A. The classification and nomenclature of organisms of the pleuropneumonia group. J. gen. Microbiol., 1956, 14, 197.
- Edward D. G., Freundt E. A. Proposal for Mollicutes as name of the class established for the order Mycoplasmatales. Int. J. system. Bact., 1967, 17, 267.
- Edward D. G., Freundt E. A. Proposal for classifying organisms related to Mycoplasma laidlawii in a family Sapromycetaceae, genus Sapromyces, within the Mycoplasmatales. J. gen. Microbiol., 1969a, 57, 391.
- Edward D. G., Freundt E. A. Classification of the Mycoplasmatales. В кн.: L. Hayflick. The mycoplasmatales and L-phase of bacteria. New York, 1969b, p. 147.
- Edward D. G., Freundt E. A. Amended nomenclature for a classification of strains related to M. laidlawii. J. gen. Microbiol., 1970, 62, 1.
- Edward D. G., Kanarek A. D. Organisms of the pleuropneumonia group of avian origin: their classification into species. Ann. N.Y. Acad. Sci., 1960, 79, 696.
- Edwards G. A., Fogh J. The fine structure of PPLO in pure culture and infected tissue culture cells. J. Bact., 1960, 79, 267.
- Edwards J., Panos C. Streptococcal L-forms. V. Acid-soluble nucleotides of a group a streptococcus and derived L-form. J. Bact., 1962, 84, 1202.
- Evans A. S., Brobst M. Bronchitis, pneumonitis and pneumonia in University of Wisconsin students. New Engl. J. Med., 1961, 265, 401.
- Fabricant J. Problems in the isolation and identification of avian PPLO. Ann. N.Y. Acad. Sci., 1960, 79, 393.
- Fabricant J. Avian Mycoplasma. В кн.: L. Hayflick. The mycoplasmatales and L-phase of bacteria. New York, 1969, p. 621.
- Falberg W. J., Moore R. W., Redmoud H. R., Brewer E. J. Isolation of Mycoplasma from Human Synovial Fluid and Tissues. Bact. Proc., 1966, 66, 48.

- Fallon R. J., Grist N. R., Inman D. R.* et al. Further studies of agents isolated from tissue cultures inoculated with human leukaemia bone marrow. *Brit. med. J.*, 1965, 2, 388.
- Farrel E., Lordt G., Vogel J.* Haverhill fever. *Arch. intern. Med.*, 1939, 64, 1.
- Feizi T., Maclean H., Sommerville R. G., Selwyn J. G.* Studies on a epidemic of respiratory disease caused by *M. pneumoniae*. *Brit. med. J.*, 1967, 1, 457.
- Feldman H. A., Suhs R. H.* Serologic epidemiologic studies with *M. pneumoniae*. I. Demonstration of an hemagglutinin and its inhibition by antibody. *Am. J. Epidem.*, 1966, 83, 345.
- Findlay G. M., Klienberger E. K., McCallum F. O., McKenzie R. D.* Rolling disease. New syndrome in mice associated with pleuropneumonia-like organism. *Lancet*, 1938, 235, 1511.
- Fitz-James P.* Fate of the mesosomes of *Bacillus megaterium* during protoplasting. *J. Bact.*, 1964, 87, 1483.
- Fleck J.* Etude de glycopeptide d'une forme L stable de *Proteus*. II. Action du lysozyme. *Ann. Inst. Pasteur.*, 1968, 115, 56.
- Fleck J., Minck R.* Mise en évidence des constituants du mucopeptide de la paroi bactérienne dans une forme L stable. *Ann. Inst. Pasteur.*, 1964, 106, 501.
- Fodor M., Miltényi L.* Studies on L-forms of staphylococcus aureus strains of different antibiotic and phage sensitivity. *Acta microbiol. Acad. Sci. hung.*, 1964, 11, 155.
- Fodor M., Rogers H. J.* Antagonism between vegetative cells and L-forms of *Bacillus licheniformis* strain 6346. *Nature (London)*, 1966, 211, 658.
- Fogh J., Fogh H.* Chromosome changes in PPLO-infected FL human amnion cells. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)*, 1965, 119, 233.
- Fogh J., Fogh H.* Morphological and quantitative aspects of mycoplasma human cell relationship. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)*, 1967, 125, 423.
- Fogh J., Fogh H.* Irreversibility of major chromosome change in a mycoplasma modified like of FL human amnion cells. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)*, 1968, 126, 67.
- Fogh J., Hahn E., Fogh H.* Effect of pleuropneumonia-like organism on cultured human cells. *Exp. Cell. Res.*, 1965, 39, 554.
- Folsome C. E.* Deoxyribonucleate binding and transformation in *Mycoplasma laidlawii*. *J. gen. Microbiol.*, 1968, 50, 43.
- Ford D. K.* Culture of human genital T-strain pleuropneumonia-like organisms. *J. Bact.*, 1962, 84, 1028.
- Ford D. K.* Serological studies on T-strain mycoplasmas. *Arthr. and Rheum.*, 1966, 9, 503.
- Ford D. K.* Relationship between *Mycoplasma* and the etiology of nongonococcal urethritis and Reiter's syndrome. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1967, 143, 501.
- Ford D. K.* The role of *Mycoplasmas* in Human genitourinary infections and arthritis. В кн.: L. Hayflick. The mycoplasmatales and L-phase of bacteria. New York, 1969, p. 645.
- Ford D. K., Du Vernet M.* Genital strains of human pleuropneumonia-like organisms. *Brit. J. vener. Dis.*, 1963, 39, 18.
- Ford D. K., McDonald J.* Morphology of human genital T-strain pleuropneumonia-like organisms. *J. Bact.*, 1963, 85, 649.
- Ford D. K., McDonald J.* Influence of urea on the growth of T-strain *Mycoplasmas*. *J. Bact.*, 1967, 93, 1509.
- Ford D. K., Rasmussen G., Minken J.* T-strain pleuropneumonia-like organisms as one cause of nongonococcal urethritis. *Brit. J. vener. Dis.*, 1962, 38, 22.
- Forsyth B. R., Bloom H. H., Johnson K. M., Chanock R. M.* Etiology of PAP in a military population. *J.A.M.A.*, 1965, 191, 364.
- Fox H., Purcell R. H., Chanock R. M.* Characterization of a newly identified *Mycoplasma* (*Mycoplasma orale* type 3) from the human oropharynx. *J. Bact.*, 1969, 98, 36.
- Foy H. M., Grayston J. T., Kenny G. E.* et al. Epidemiology of *M. pneumoniae* infection in families. *J.A.M.A.*, 1966, 197, 859.
- Freimer E. H.* Studies of L-forms and protoplasts of group A streptococci. *J. exp. Med.*, 1963, 117, 337, 377.
- Freimer E. H.* Immunochemical properties of the protoplast membrane of group A Streptococci. В кн.: L. Guze. Microbial. protoplasts, spheroplasts and L-forms. Baltimore, 1968, p. 279.
- Freimer E. H., Krause R. M., McCarty M.* Studies on L-forms and protoplasts of group A streptococci. *J. exp. Med.*, 1959, 110, 853.
- Freimer E. H., Zabriskie J.* An immunological relationship between the protoplast membrane of group A Streptococci and the sarcolemma, the cell membrane of cardiac muscle. В кн.: L. Guze. Microbiol protoplasts, spheroplasts and L-forms. Baltimore, 1968a, p. 356.
- Freimer E. H., Zabriskie J.* An immunological relationship between the cell (protoplast) membrane of the group a streptococcus and the sarcolemma of cardiac muscle. В кн.: R. Caravano. Current research on group a streptococcus. Amsterdam, 1968, p. 145.

- Frenkel A., Hirsch W.* Spontaneous development of L-forms of streptococci requiring secretions of other bacteria or sulphhydryl compounds for normal growth. *Nature* (London), 1960, 191, 728.
- Freundt E. A.* Observations on Dienes L-type growth of bacteria. *Acta path. microbiol. scand.*, 1950, 27, 159.
- Freundt E. A.* Morphological studies of the peripneumonia organisms (*Micromyces peripneumoniae bovis*). *Acta path. microbiol. scand.*, 1952, 31, 508, 571.
- Freundt E. A.* The occurrence of micromyces (pleuropneumonia-like organisms) in the female genito-urinary tract. *Acta path. microbiol. scand.*, 1953, 32, 468.
- Freundt E. A.* Morphological and biochemical investigation of human pleuropneumoniae like organism (*Mycromyces*). *Acta path. microbiol. scand.*, 1954, 34, 127.
- Freundt E. A., Order X.* Mycoplasmatales Freundt. В кн.: *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Baltimore, 1957.
- Freundt E. A.* Experimental investigations into the pathogenicity of the L-phase variant of *Streptobacillus moniliformis*. *Acta path. microbiol. scand.*, 1956, 38, 246.
- Freundt E. A.* The mycoplasmataceae (The pleuropneumonia group of organisms). В кн.: *Morphology, Biology and Taxonomy*. Copenhagen, 1958, p. 103.
- Freundt E. A.* Morphology and classification of the PPLO. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1960, 79, 312.
- Freundt E. A.* Mycoplasma infections in laboratory rodents A review. *Z. Versuchstier.*, 1968, 10, 17.
- Freundt E. A.* Cellular Morphology and Mode of Replication of the Mycoplasmatales. В кн.: L. Hayflick. *The Mycoplasmatales and the L-phase of Bacteria*. New York, 1969, p. 281.
- Friou G. J.* Experimental infection of the upper respiratory tract of young chimpanzes with group A hemolytic Streptococci. *J. infect. Dis.*, 1950, 86, 264.
- Fu-Chuou Chao, Freeman G., Cermuciugs J. G., Berridge B. J.* Amino acids of the Ornithine Cycle in Transformed Hamster Fibroblasts Carrying Pleuropneumonia-like Organisms. *Cancer Res.*, 1967, 27, 1474.
- Furness G., Pipes F. I., McMurtrey M.* Susceptibility of human Mycoplasma to ultraviolet and X-irradiations. *J. infect. Dis.*, 1968a, 118, 1.
- Furness G., Pipes F. I., McMurtrey M.* Analysis of the lifecycle of Mycoplasma pneumoniae by synchronized division and by X-irradiations. *J. infect. Dis.*, 1968b, 118, 7.
- Gilby A. R., Few A. V.* Osmotic properties of protoplasts of *Micrococcus lysodeikticus*. *J. gen. Microbiol.*, 1959, 20, 321.
- Ginsburg I., Zeiri N., Bentwitch Z.* et al. Organ lesions produced in rabbits following the intratonsillar injections of group A streptococci and some of their products. В кн.: R. Caravano. *Current research on group a streptococcus*. Amsterdam, 1968, p. 162.
- Ginsburg I., Zeire N., Boss J. H.* Lesions produced in rabbits following the intracardiac injection of streptococcal cell wall components. В кн.: R. Caravano. *Current research on group a streptococcus*. Amsterdam, 1968, p. 190.
- Girardi A. J., Hamparian V. V., Somerson N. L.* Mycoplasma Isolates from primary cell cultures and human, diploid cell strains. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)*, 1965a, 120, 760.
- Girardi A. J., Hayflick L., Lewis A. M., Somerson N.L.* Recovery of mycoplasma in the study of human leukaemia and other malignancies. *Nature* (London), 1965b, 205, 188.
- Godzeski C. W.* In vivo persistence of L-phase Bacteria. В кн.: L. Guze. *Microbiol protoplasts, spheroplasts and L-forms*. Baltimore, 1968, p. 39, 379.
- Godzeski C. W., Brier G., Farran J. D.* The interaction of antibiotics, bacteria and the bacterial L-phase in vivo. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1967, 143, 760.
- Godzeski C. W., Brier G., Griffin R. S., Black H. R.* Association of bacterial L-phase organisms in chronic infections. *Nature* (London), 1965, 205, 1340.
- Goodburn D. M., Marmion B. P.* A study of the properties of Eaton's primary atypical pneumonia organism. *J. gen. Microbiol.*, 1962, 29, 271.
- Goodburn D. M., Marmion B. P., Kendall E.* Infection with Eaton's primary atypical pneumonia agent in England. *Brit. med. J.*, 1963, 1, 1266.
- Gooder H.* Streptococcal Protoplasts and L-Form Growth Induced by Muralytic Enzymes. В кн.: L. Guze. *Microbiol protoplasts, spheroplasts and L-formes*. Baltimore, 1968, p. 4.
- Gooder H., Maxted W. R.* Protoplasts of group A beta haemolytic streptococci. *Nature* (London), 1958, 182, 808.
- Gooder H., Maxted W. R.* External factors influencing structure and activities of Streptococcus pyogenes. *Soc. gen. Microbiol.*, 1961, 11, 151.
- Goodwin R. F. W., Hodgson R. G., Whittlestone P., Woodhams F.* Immunity in experimentally induced enzootic pneumonia in pigs. *J. Hyg. (Lond.)*, 1969, 67, 193.
- Goodwin R. F. W., Pomeroy A. P., Whittlestone P.* Production of enzootic pneumonia in pigs with a mycoplasma. *Vet. Rec.*, 1965, 77, 1247.

- Goodwin R. F. W., Pomeroy A. P., Whittlestone P.* Characterization of *Mycoplasma suis* pneumoniae: mycoplasma causing enzootic pneumonia of pigs. *J. Hyg. (Lond.)*, 1967, 65, 85.
- Gori G. B., Lee Y.* A Method of Eradication of *Mycoplasma* Infection in cell cultures. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)*, 1964, 117, 918.
- Gourlay R. N.* The isolation of T-strains of mycoplasma from pneumonic calf lungs. *Res. Vet. Sci.*, 1968, 9, 376.
- Gourlay R. N.* Isolation of virus infecting a strain of *M. laidlawii*. *Nature*, 1970, 225, 1165.
- Gourlay R., Domermuth C. W.* Growth inhibition on neutralization of *M. mycoides* by immune serum. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1967, 193, 325.
- Gourlay R. N., Thrower K. J.* Morphology of *Mycoplasma mycoides* thread-phase growth. *J. gen. Microbiol.*, 1968, 54, 155.
- Grace J. T., Horoszewicz J. S., Stim I. B.* et al. Mycoplasmas (PPLO) and human leukemia and lymphoma. *Cancer*, 1965, 18, 1369.
- Grasset E.* Observations comparees sur la productions in vivo et in vitro de formes L de *Proteus vulgaris* et *Klebsiella pneumoniae* sous l'influence d'anticorps specifiques. *Ann. Inst. Pasteur.*, 1955, 89, 111.
- Grasset E., Blondel B.* Les formes L des Pasteurella: facteurs engendrant leurs transformations. *Schweiz. Z. allg. Path.*, 1956, 19, 598.
- Grayston J. T., Alexander E. R., Kenny G. E.* et al. *M. pneumoniae* (Eaton agent) infections: clinical and epidemiological studies. *J.A.M.A.*, 1965, 191, 369.
- Grayston J. T., Foy H. M., Kenny G. E.* The epidemiologic of *Mycoplasma* infections of the human respiratory tract. В кн.: L. Hayflick. The Mycoplasmatales and L-forme of bacteria. New York, 1969, p. 651.
- Grayston J. T., Kenny G. E., Foy H. M.* et al. Epidemiological studies of mycoplasma pneumoniae infections in civilians. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1967, 143, 436.
- Griffin P., Crawford J. E.* *Mycoplasma pneumoniae* in PAP. *J.A.M.A.*, 1965, 193, 95.
- Grigoraki L.* Formes L et sexualite. *Rev. Path. gen. Physiol. clin.*, 1958, 58, 1585.
- Gumpert J., Nermut M. V.* Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Wirkung von oberflächenaktiven Substanzen auf bakterielle Zellumhüllungen; *Z. allg. Microbiol.*, 1967, 7, 7.
- Gutman L. T., Schaller J., Wedgwood R. J.* Bacterial L-forms in relapsing urinary-tract infection. *Lancet.*, 1967, 1, 464.
- Gutman L. T., Turck M., Petersdorf R. G., Wedgwood R. J.* Significance of bacterial variants in urine of patients with chronic bacteriuria. *J. clin. Invest.*, 1965, 44, 1945.
- Gutman L. T., Winterbaur R., Turck M.* et al. The role of bacterial variants in experimental pyelonephritis. В кн.: L. Guze. *Microbiol. protoplasts, spheroplasts and L-forms*. Baltimore, 1968, p. 391.
- Guze L.* *Microbiol. protoplasts, spheroplasts and L-forms*. Baltimore, 1968.
- Guze L., Kalmanson G.* Persistence of bacteria in «Protoplasts» form after apparent cure of pyelonephritis in rats. *Science*, 1964, 143, 1340.
- Hakala M. T., Holland J. F., Horoszewicz J. S.* Change in pyrimidine deoxyribonucleotide metabolism in cell culture caused by mycoplasma (PPLO) contamination. *Biochem. biophys. Res. Comm.*, 1963, 11, 466.
- Hale H. H., Heimbaldt C. F., Plastringe W. N., Stula E. F.* Bovine mastitis caused by mycoplasma species. *Cornell Vet.*, 1962, 52, 582.
- Hallier G., Lynn R.* The response observed in rabbits following implantation of diffusion chambers containing L-forms of group A beta hemolytic streptococci. В кн.: L. Guze. *Microbiol. protoplasts, spheroplasts and L-forms*. Baltimore, 1968, p. 36, p. 352.
- Hamburger M., Carleton J.* Staphylococcal spheroplasts and L colonies. *I. J. infect. Dis.*, 1966, 116, 221, 544.
- Hanko E., Otterlin S. E.* An outbreak of PPLO infection in goats and speeps in Sweden. *Nord. Vet. Med.*, 1955, 7, 603.
- Harkness A. H., Henderson-Berg A.* The significance of pleuropneumonia-like or «L» organisms in nongonococcal urethritis Reiter's disease and abacterial pyuria. *Brit. J. vener. Dis.*, 1948, 24, 50.
- Hartman H. A., Tourtelotte M. E., Nielsen S. W., Plastringe W. N.* Experimental bovine uterine mycoplasmosis. *Res. Vet. Sci.*, 1964, 5, 303.
- Harwick H. J., Purcell R. H., Bruce Iuppa J., Fekety R. J.* *Mycoplasma hominis* and abortion. *J. infect. Dis.*, 1970, 121, 260.
- Hatten B. A., Sulkin S. E.* Intracellular production of *Brucella* L-forms. II. *J. Bact.*, 1966, 91, 14, 285.
- Hatten B. A., Sulkin S. E.* Possible Role of *Brucella* L-forms in the Pathogenesis of Brucellosis. В кн.: L. Guze. *Microbiol. protoplasts, spheroplasts and L-forms*. Baltimore, 1968, p. 457.
- Hatten B. A., Sulkin S. E.* Viability and filtrability of *Brucella* L-forms. *Bact. Proc.*, 1971, G112, 42.

- Hauduroy P.* Quelques questions a propos des «Formes L» Les Bacteries. Presse méd., 1955, 52, 1075.
- Havliček J., Havličková H.* Antigenic structure of *Streptococcus pyogenes* L forms. Path. et Microbiol. (Basel), 1967, 30, 469.
- Hayflick L.* Decontaminating tissue cultures infected with pleuropneumonia-like organisms. Nature (London), 1960, 185, 83.
- Hayflick L.* Tissue cultures and mycoplasma. Tex. Rep. Biol. Med., 1965a, 23, Suppl I, 285.
- Hayflick L.* The mycoplasma (PPLO) species of man. Trans. N.Y. Acad. Sci., 1965b, 27, 817.
- Hayflick L.* Biology of the mycoplasma. Ann. N.Y. Acad. Sci., 1967, 143, art. L, I.
- Hayflick L.* Fundamental biology of the class Mollicutes, order Mycoplasmatales. В кн.: L. Hayflick. The mycoplasmatales and L-phase of bacteria. New York, 1969, p. 15.
- Hayflick L.* The mycoplasmatales and L-phase of bacteria. New York, 1969.
- Hayflick L., Chanock R.* Mycoplasma Species of Man. Bact. Rev., 1965, 29, 185.
- Hayflick L., Koprowski H.* Direct agar isolation of mycoplasmas from human leukemia bone marrow. Nature (London), 1965, 205, 713.
- Hayflick L., Staubridge E.* Isolation and identification of Mycoplasma from human clinical material. Ann. N.Y. Acad. Sci., 1967, 143, 608.
- Hayflick L., Stinebring W. R.* Intracellular growth of pleuropneumonia like organismus. Anat. Rec., 1955, 121, 477.
- Hayflick L., Stinebring W. R.* Intracellular growth of PPLO in tissue culture and in Ovo. Ann. N.Y. Acad. Sci., 1960, 79, 433.
- Hayflick L., Stinebring W. R., Brookenridge F. C., Pomerat C. M.* Some effects of human pleuropneumoniae-like organisms on tissue clutures of human synovial cells. Bact. Proc., 1956, 9, 83.
- Hearn H. J., Officer J. E., Elsner V., Brown F.* Detection, elimination and prevention of contamination of celle cultures with pleuropneumonia-like organisms. J. Bact., 1959, 78, 575.
- Heilman F. R.* A study of *Asterococcus muris* (*Streptobacillus moniliformis*). J. infect. Dis., 1941, 69, 32, 45.
- Henrikson C. V., Smith P. F.* β -Glucosidase activity in mycoplasma. J. gen. Microbiol., 1964, 37, 1.
- Henrikson C. V., Smith P. F.* Growth response of Mycoplasma to carotenoid intermediates. J. gen. Microbiol., 1966, 45, 73.
- Hijmans W.* Absence of the group-specific and the cell-wall polysaccharide antigen in L-phase variants of group D streptococci. J. gen. Microbiol., 1962, 28, 177.
- Hijmans W., Dienes L.* Further observations on L-forms of alpha-hemolytic streptococci. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1955, 90, 672.
- Hijmans W., Kastelein M. J. W.* The production of L-forms of entorococci. Ann. N.Y. Acad. Sci., 1960, 79, 371.
- Hijmans W., van Boven C. P. A., Clasener H. A. L.* Fundamental Biology of the L-phase of Bacteria. В кн.: L. Hayflick. The mycoplasmatales and L-phase of bacteria. New York, 1969, p. 68.
- Hillier J., Knaysi G., Baker R. F.* New preparation techniques for the electron microscopy of bacteria. J. Bact., 1948, 56, 563.
- Hofschneider P. H.* Über Phagenadsorption an «large bodies» von *E. coli*. Die L-Forme Bakterien. Mtschr. Dtsch. Acad. Wiss. (Berlin), 1960, 21, 36.
- Hofschneider P. H., Lorek H.* Studies on the residual cell wall structure of *E. coli* and *B. megaterium* spheroplasts and of L-forms of *Proteus mirabilis*. В кн.: Fifth International Congress for Electron Microscopy. Ed by S. S. Breese. New York, 1962, v. 2, RR9.
- Hofschneider P. H., Martin H. H.* Diversity of surface layers in L-forms of *Proteus mirabilis*. J. gen. Microbiol., 1968, 51, 23.
- Holland J. F., Korn R., O'Malley J. et al.* 5-Allyl-2'-deoxyuridine inhibition of nucleoside phosphorylase in HeLa cells containing Mycoplasma. Cancer Res., 1967, 27, 18671.
- Hollingdale M. R., Lemcke R. M.* The antigens of *Mycoplasma hominis*. J. Hyg. (Lond.), 1969, 67, 585.
- Höpken W., Bartman K.* Phasen kontrastmikroskopische Beobachtung des durch Penicillin ausgelösten L Cyklus von *B. proteus*. Zbl. Bakt. I. Abt. Orig., 1955, 162, 372.
- Hornsleth A.* Mycoplasma pneumonia infection in infants and children in Copenhagen 1963—1965. Incidence of complement fixing antibodies in age groups 0—9 years. Acta path. microbiol. scand., 1967, 69, 304.
- Horoszewicz A. et al.* Untersuchungen über die L-Phase des Genus *Klebsiella*. Die L-Form Bakterien. Mtschr., Dtsch. Acad. Wiss. (Berlin), 1960, 2, 36.
- Hottle G. A., Wright D. N.* Growth and Survival of *Mycoplasma neurolyticum* in Liquid Media. J. Bact., 1966, 91, 1834.

- Howell E. V., Jones R. Factors influencing pathogenicity of Mycoplasma arthritis (PPLO) Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1963, 112, 65.
- Hubert E. G., Kalmanson G. M., Guze L. B. Preservation of antigen-coated sheep erythrocytes by freeing for use in indirect hemagglutination procedure. J. Bact., 1963, 86, 569.
- Hubrig T. Mycoplasmainsektion der Schweine. Wiss. Z. Friedrich-Schiller-Univ. (Jena), 1966, 15, 403.
- Hudson J. R., Cottew G. S., Adler H. A. Diseases of goats caused by Mycoplasma. A review of the subject with some new findings. Am. N.Y. Acad. Sci., 1967, 143, 287.
- Hummeler K., Armstrong D. Observation on Mycoplasma strains in Tissue Cultures. Ann. N.Y. Acad. Sci., 1967, 143, 622.
- Hummeler K., Armstrong D., Tommasini N. Cytopathogenic Mycoplasmas Associated with two human tumors. II Morphological Aspects. J. Bact., 1965, 90, 511.
- Hummeler K., Tommasini N., Hayflick L. Ultrastructure of a Mycoplasma (Negroni) isolated from human leukemia. J. Bact., 1965, 90, 517.
- Ianetta A., Wedgwood R. J. Culture of serum-induced spheroplasts from Vibrio-cholerae. J. Bact., 1967, 93, 1688.
- Iha Th. Folsome C., Fukuda M. The nature of genetic transformants of Mycoplasma laidlawii. Proc. XII Int. Congr. of genetics, 1968, 62, 1.
- Jansson E. Preparation of complement-fixing antigen for routine use in diagnosis of Eaton pneumonia. J. clin. Path., 1964, 17, 458.
- Jansson E., Wager O. Mycoplasma in Collagen diseases and blood discrasia. Ann. N.Y. Acad. Sci., 1967, 143, 535.
- Jansson E., Wager O., Stenstrom B. et al. Studies on Eaton PPLO pneumonia. Brit. med. J., 1964, 1, 142.
- Jensen K. E. Measurement of growth inhibiting antibody for Mycoplasma pneumoniae. J. Bact., 1963, 86, 1349.
- Jensen K. E., Senterfit L. B., Chanock R. M., Smith C. B., Purcell R. H. An Inactivated M. pneumonia vaccine. J.A.M.A., 1965, 194, 248.
- Jensen K. E., Senterfit L. B., Scully W. E. et al. Mycoplasma pneumoniae Infections in Children an Epidemiologic appraisal in Families Treated with Oxytetracycline. Am. J. Epidem., 1967, 86, 419.
- John T. J., Stahl M., Fulginiti V. A. Direct haemagglutination by M. pneumoniae and its inhibition by immune serum. J. med. Microbiol., 1969, 131.
- Johnson R. T., Cook M. K., Chanock R., Buescher E. L. Family outbreak of primary atypical pneumonia associated with the Eaton agent. New. Eng. J. Med., 1960, 262, 817.
- Jones D. M. Mycoplasma hominis in pregnancy. J. clin. Path., 1967a, 20, 633.
- Jones D. M. Mycoplasma hominis in abortion. Brit. med. J., 1967b, 1, 338.
- Jones D. M., Sequeira P. J. The distribution of complement fixing antibody and growth inhibiting antibody to M. hominis. J. Hyg. (Lond.), 1966, 64, 441.
- Jones D. M., Tobin B. Neonatal eye infections due to Mycoplasma hominis. Brit. med. J., 1968, 5616, 467.
- Jones D. M., Torn B. Isolation of mycoplasmas and other organisms from the placenta after Caesarean section. J. med. Microbiol., 1969, 2, 347.
- Jordan W. S. The infectiousness and incubation period of primary atypical pneumonia. Am. J. Hyg., 1949, 50, 315.
- Kagna B. M. Antibiotic sensitivities of staphylococcal L-forms. В кн.: L. Guze. Microbial protoplasts, spheroplasts and L-forms. Baltimore, 1968a, p. 314.
- Kagan B. M. Role of L-forms in staphylococcal infection. В кн.: L. Guze. Microbial protoplasts, spheroplasts and L-forms. Baltimore, 1968b, p. 372.
- Kagan B. M., Zolla S., Busser R., Liepmeks S. Sensitivity of coccal and L-forms of Staphylococcus aureus to five antibiotics. J. Bact., 1964, 88, 630.
- Kalmanson G. M., Guze L. B. Role of protoplasts in pathogenesis of pyelonephritis. J.A.M.A., 1964, 190, 1107.
- Kalmanson G. M., Huber E. G., Montgomerie J. Z., Guze L. B. Serum Bactericidal Activity against protoplasts. В кн.: L. Guze. Microbial protoplasts, spheroplasts and L-forms. Baltimore, 1968, p. 293.
- Kandler O., Hund A., Zehender C. Cell wall composition in bacterial and L-forms of Proteus vulgaris. Nature (London), 1958, 181, 552.
- Kandler O., Kandler G. Die L-Phase der Bakterien. Ergebn. Hyg. Bakt., 1960, 33, 97.
- Kandler O., Zehender G., Müller J. Weitere Untersuchungen über Atmungsstoffwechsel von Pr. vulgaris, dessen stabiler L-Phase und der pleuropneumoniae-ähnlichen Organismen. Arch. Mikrobiol., 1956, 24, 209, 249.
- Kang K. S., Casida L. E. Large bodies of mycoplasma and L-form organisms. J. Bact., 1967, 93, 1137.

- Kaplan M. H.* Production of auto-immune bodies to heart tissue in rabbits inoculated with streptococcal cultures. Nature and histological localization of the reactive antigen. *Ann. rheum. Dis.*, 1956, 15, 386.
- Kaplan M. H.* Immunological relation of Streptococcal and tissue antigens. *J. Immunol.*, 1963, 90, 595.
- Kaplan M. H.* Antibodies to heart and rheumatic fever: the induction of autoimmunity to heart by streptococcal antigen cross-reactive with heart. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1965, 124, 904.
- Karakawa W. W., Rotta J., Krause R. M.* Detection of M. protein in colonies of streptococcal L-forms by immunofluorescence. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)*, 1965, 118, 198.
- Kawamura H., Sato S., Shimizu F., Tsubchara H.* Cytopathic effect and plaque formation of avian mycoplasma in chicken, Kidney cell cultures. *Nat. Inst. Anim Health. Quart. (Tokyo)*, 1964, 4, 28.
- Kawatomari Tozjo.* Studies of the L-forms of *Cl. perfringens*. I. Relationship of colony, morphology and reversibility. *J. Bact.*, 1958, 76, 227.
- Kellenberger E., Liebermeister K., Bonifas V.* Studien zur L-Form der Bakterien. *Z. Naturforsch.*, 1956, 11b, 206.
- Keller R., Morton H. E.* The growth of pleuropneumonia-like organisms of human origin. *J. Bact.*, 1954, 82, 129.
- Kendl M.* Antibody response of animals to *Mycoplasma pneumoniae* measured by latex agglutination. *Appl. Microbiol.*, 1969, 17, 275.
- Kenny G.* Heat-lability and organic solvent-solubility of *Mycoplasma* antigens. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1967, 143, 676.
- Kenny G. E., Pollock M. F.* Mammalian cell cultures contaminated with PPLO. *J. infect. Dis.*, 1963, 112, 16.
- Kerr K. M., Mascoli C. C., Olson N. O., Campbell A.* Rapid specific agglutination of Eaton agent (*Mycoplasma pneumoniae*). *J. Bact.*, 1964, 87, 478.
- Kerr K. M., Olsen N. O.* Cardiac pathology associated with viral and *Mycoplasma* arthritis in chickens. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1967, 143, 204.
- King J. R., Theodore T. S., Cole R. M.* Identification of Bacterial L-forms by Polyacrylamide Gel Electrophoresis. *Bact. Proc.*, 1968, 71, 33.
- Kingston J. R., Chanock R. M., Mufson M. A., Hellman L. P., James N. D., Fox H. H., Manko M. A., Boyers J.* Eaton agent pneumonia. Treatment with dimethylchlorotetracycline. *J.A.M.A.*, 1961, 176, 118.
- Klieneberger E.* The natural occurrence of pleuropneumonia-like organisms, its apparent symbiosis with *Streptob. moniliformis* and other bacteria. *J. Path. Bact.*, 1935, 40, 93.
- Klieneberger E.* Studies on pleuropneumonia-like organisms. The L4 organism as the cause of Woglom's pyogenic virus. *J. Hyg. (Lond.)*, 1939, 39, 260.
- Klieneberger E.* The pleuropneumonia-like organisms: Further comparative studies and description account of recently discovered types. *J. Hyg. (Lond.)*, 1940, 40, 204.
- Klieneberger E.* Some new observations on the nature of the pleuropneumonia-like organisms known as L, associated with *Streptobacillies moniliformis*. *J. Hyg. (Lond.)*, 1942, 42, 475.
- Klieneberger-Nobel E.* Isolation and maintenance of L₁-like culture from *Fusiformis necrophorus*. *J. Hyg. (Lond.)*, 1947, 47, 407.
- Klieneberger-Nobel E.* Origin, development and significance of L-form in bacterial cultures. *J. gen. Microbiol.*, 1949, 3, 434.
- Klieneberger-Nobel E.* The L cycles process of regeneration in bacteria. *J. gen. Microbiol.*, 1951a, 5, 525.
- Klieneberger-Nobel E.* Filterable forms of Bacteria. *Bact. Rev.*, 1951b, 15, 77.
- Klieneberger-Nobel E.* Possible significance of PPLO in human genital infection. *Brit. J. vener. Dis.*, 1959, 35, 20.
- Klieneberger-Nobel E.* Pathogenicity and immunology of organisms of the Pleuropneumonia group. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1960, 79, 615.
- Klieneberger-Nobel E.* Pleuropneumonia-like Organisms (PPLO) *Mycoplasmataceae*. New York, 1962.
- Klieneberger-Nobel E., Cheng K. K.* On the association of the pleuropneumonia-like L3 organism with experimentally produced bronchiectasis in rats. *J. path. Bact.*, 1955, 70, 245.
- Klieneberger-Nobel E., Steabben D.* On a pleuropneumonia-like organism in lung lesions of rats, with notes on the clinical, and pathological features of the underlying conditions. *J. Hyg. (Lond.)*, 1937, 37, 143.
- Kraemer P. M.* Interaction of mycoplasma (PPLO) and Murine Lymphoma cell Cultures: Prevention of Cell Lysis by arginine. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)*, 1964, 115, 206.
- Kraemer P. M., Defendi V., Hayflich L., Manson L. A.* *Mycoplasma* (PPLO) strains with lytic activity for murine lymphoma cells in vitro. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)*, 1963, 112, 381.

- Krause R. M., McCarty M.* Studies on the chemical structure of the streptococcal cell wall. *J. exp. Med.*, 1961, 114, 127.
- Kraybell W. H., Crawford V. E.* A selective medium and color test for *Mycoplasma pneumoniae*. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)*, 1965, 11P, 965.
- Kraybell W., Crawford Y.* Comparison of two agar media for the isolation of *Mycoplasma* from the human oropharynx. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1967, 143, 401.
- Krembel J., Deluzarche A., Minek R.* Sur les lipides des formes L stable du *Proteus* p. 18, G.R. Acad. Sci. (Paris), 1961, 25, 2005.
- Krücken H., Fabry H.* Pleuropneumonia-like organisms bei Morbus Reiter und verwandten Syndromen. *Ärztl. Wschr.*, 1955, 10, 294.
- Kubota M. Y., Montgomerie J. R., Potter C. S., Kalmanson G. M., Guze L. B.* Effect of penicillin concentration on protoplast production by *Streptococcus faecalis*. В кн.: G. L. Hobby. Antimicrobial agents and chemotherapy. New York, 1966, p. 300.
- Kühl K., Liebermeister R.* Mikrozeitrasterfilm über die Entwicklung der L-Formen beim *B. proteus*. *Zbl. Bakt.*, 1 Abt. Ref., 1955, 156, 7, 180.
- Kundsin R. B., Driscoll S. G.* The role of Mycoplasmas in human reproductive failure. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1970, 174, 794.
- Kundsin R. B., Kirsch A., Parreno A.* Mycoplasma isolation and metabolic inhibition to T-strains in nuns. *Bact. Proc.*, 1971, M75, 77.
- Künzel W., Meissner C.* Use of β -propiolactone for cultivation of *Mycoplasma*. *Path. et Microbiol. (Basel)*, 1968, 32, 353.
- Kusaka I.* Growth and division of protoplasts of *Bacillus megaterium* and inhibition of division by penicillin. *J. Bact.*, 1967, 94, 884.
- Laidlaw P., Eilford W.* A new group of filtrable organisms. *Proc. roy Soc. London B.*, 1936, 120, 292.
- Landman O. E.* Protoplasts, Spheroplasts and L-forms Viewed as a Genetic System. В кн.: L. Guze. Microbial protoplasts, spheroplasts, and L-forms. Baltimore, 1968, p. 319.
- Landman O. E., Altenbern R. A., Ginoza H. S.* Quantitative conversion of cells and protoplasts of *Proteus mirabilis* and *Escherichia coli* to the L-form. *J. Bact.*, 1958, 75, 567.
- Landman O. E., Burchard W. K.* The mechanism of action of streptomycin as revealed by normal and abnormal division in streptomycin-independent *Salmonellae*. *Proc. nat. Acad. Sci.*, 1962, 48, 219.
- Landmann O., Forman A.* Gelatin-induced reversion of protoplasts of *Bacillus subtilis* to the bacillary form: biosynthesis of macromolecules and wall during successive steps. *J. Bact.*, 1969, 99, 576.
- Landman O. E., Ginoza H. S.* Genetic nature of stable L-forms of *Salmonella paratyphi*. *J. Bact.*, 1961, 81, 875.
- Lapinski E. M., Flakas E. D.* Induction of L-forms of *Haemophilus influenzae* in culture and their demonstration in human bronchial secretions. *J. Bact.*, 1967, 93, 1438.
- Larin N., Saxby N. J., Buggey D.* Quantitative aspects of *Mycoplasma pneumoniae* cells relationships in cultures of lung diploid fibroblasts. *J. Hyg. (Lond.)*, 1969, 67, 375.
- Lavillaureix J.* Action de formes L pathogenes sur de cultures de cellules cancéreuses. *C.R. Acad. Sci. (Paris)*, 1957, 244, 1098.
- Leach R. H.* Comparative studies of mycoplasma of bovin origin. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1967, 143, 305.
- Leach R. H., Butler M.* Comparison of Mycoplasmas Associated with Human Tumors, Leukemia and Tissue culture. *J. Bact.*, 1966, 91, 934.
- Lederberg J., St. Clair J.* Protoplasts and L-type growth of *Escherichia coli*. *J. Bact.*, 1958, 75, 143.
- Lemcke R. M.* Association of PPLO infection and antibody response in rats and mice. *J. Hyg. (Lond.)*, 1961, 59, 401.
- Lemcke R. M.* The serological differentiation of mycoplasma strains (pleuropneumonia-like organisms) from various sources. *J. Hyg. (Lond.)*, 1964a, 62, 199.
- Lemcke R. M.* The relationship of a type of mycoplasma isolated from tissue cultures to a new human oral mycoplasma. *J. Hyg. (Lond.)*, 1964b, 62, 351.
- Lemcke R. M.* A serological comparison of various species of mycoplasma by an agar gel double-diffusion technique. *J. gen. Microbiol.*, 1965, 38, 91.
- Lemcke R. M.* Immunochemistry of the Mycoplasmas. В кн.: L. Hayflick. The mycoplasmatals and L-phase of bacteria. New York, 1969, p. 265.
- Lemcke R. M., Csonka G. W.* Antibodies against pleuropneumonia-like organisms in patients with salpingitis. *Brit. J. vener. Dis.*, 1962, 38, 212.
- Lemcke R. M., Forshaw K., Fallon R.* The serological identity of Sabin's murine type C *Mycoplasma* and *Mycoplasma pulmonis*. *J. gen. Microbiol.*, 1969, 58, 95.

- Lemcke R. M., Marmion B. P., Plackett P.* Immunochemical analysis of *Mycoplasma pneumoniae*. Ann. N.Y. Acad. Sci., 1967, 143, 691.
- Lemcke R. M., Plackett F., Shaw E. J., Marmion B. P.* Immunochemical analysis of *Mycoplasma pneumoniae* II. Properties of chloroform methanol extract from *M. pneumoniae*. Austr. J. exp. Biol. med. Sci., 1968, 46, 123.
- Levaditi C., Nicolau S., Poincloux P.* Sur la rôle étiologique de *Streptobacillus moniliformis* dans l'érythème polymorphe aigu septicémique. C.R. Acad. Sci. (Paris), 1925, 180, 1188.
- Levaditi C., Selbie F. R., Schoan R.* Le rhumatisme infectieux spontané de la souris provoqué par le *streptobacillus moniliformis*. Ann. Inst. Pasteur., 1932, 48, 308.
- Levine E. M., Thomas L., McGregor D., Hayflick L., Eagle H.* Altered nucleic acid metabolism in human cell cultures infected with *Mycoplasma*. Proc. natl. Acad. Sci., 1968, 60, 2, 583.
- Liebermeister K.* Zur Frage der L-Phase von Bakterien. Zbl. Bakt. I. Abt. Orig., 1955, 156, 7, 181.
- Liebermeister K., Kellenberger E.* Studien zur L-Form der Bakterien. Z. Naturforsch., 1956, 11, B. 200.
- Lind K.* Isolation of *Mycoplasma pneumoniae* (Eaton agent) from patients with primary atypical pneumonia. Acta path., microbiol. scand., 1966, 66, 124.
- Lind K.* An indirect haemagglutination test for serum antibodies against *Mycoplasma pneumoniae* using formalinized, tanned sheep erythrocytes. Acta path. microbiol. scand., 1968, 73, 459.
- Lipnicki B.* Formy Lpaeczek *Salmonella typhi* wyosobnione od chorych na dur brzuszny. Postepy Hig. Med. dosw., 1958, 12, 113.
- Liu C., Eaton M. D., Heyl J. T.* Studies on primary atypical pneumoniae. Bull. N.Y. Acad. Med., 1956, 32, 170.
- Liu C., Eaton M. D., Heyl J. I.* Studies on primary atypical pneumonia. II. Observations concerning the development and immunological characteristics of antibody in patients. J. exp. Med., 1959, 109, 545.
- Liu C., Hey M. D.* Serological study of primary atypical pneumonia. Fed. Proc., 1957, 16, 423.
- Lloyd L. C.* Tissue necrosis produced by *Mycoplasma mycoides* in intraperitoneal diffusion chambers. J. Path. Bact., 1966, 92, 225.
- Longley E. O.* Contagious pleuropneumonia of goats. J. Vet. Sci., 1940, 10, 127.
- Lorkiewicz Z.* Growth of stabilized L-forms of *Proteus vulgaris* without the addition of serum and penicillin. Acta microbiol., pol., 1957, 6, 3.
- Lorkiewicz Z., Hulanicka E., Weinrauder H.* Bedania nad budowa antygenowa form L. 3A, 3B *Proteus vulgaris*. Microbiol. Pol., 1957, 6, 311.
- Low J. E., Eaton M. D.* Replication of *Mycoplasma pneumoniae* in broth culture. J. Bact., 1965, 89, 725.
- Low J. E., Eaton M. D., Proctor P.* Relation of catalase to substrate utilization by *Mycoplasma pneumoniae*. J. Bact., 1968, 95, 1425.
- Ludlaw G. B., Bridges J. B., Benn E. C.* Association of Stevens-Johnson syndrome with antibody for *M. pneumoniae*. Lancet, 1964, 1, 958.
- Lutsky G. C., Organick A. B.* Pneumonia due to mycoplasma in gnotobiotic mice. I. Pathogenicity of *Mycoplasma pneumoniae*, *M. salivarium*, and *M. pulmonis* for the lungs of conventional and gnotobiotic mice. J. Bact., 1966, 92, 1154.
- Lynn R. J.* Oxidative metabolism of pleuropneumonia-like organisms. Ann. N.Y. Acad. Sci., 1960, 79, 538.
- Lynn R. J.* Biochemical and immunological studies of the L-form of beta hemolytic streptococcus. В кн.: Abstr. 8 Int. Congr. Microbiol. Montreal, 1962, p. 125.
- Lynn R. J.* Immunology of mycoplasma and bacterial L-forms. В кн.: C. Panos. A microbial enigma mycoplasma and bacterial L-forms. Cleveland, 1967, p. 211.
- Lynn R. J., Haller G. J.* Studies on the Growth Inhibition of *Mycoplasma* and Bacterial L-forms by Immune sera. Bact. Proc., 1966, 66, 48.
- Lynn R., Smith P.* Nucleic acid content of pleuropneumonia-like organisms from human sources. J. Bact., 1957, 74, 811.
- MacPherson J.* Mycoplasmas in tissue cultures. J. cell. Sci., 1966, 1, 145.
- MacPherson J., Russell W.* Transformations in hamster cells mediated by mycoplasma. Nature (London), 1966, 210, 1343.
- McGee A., Rogul M., Wittler R. C.* Molecular genetic studies of relationships among mycoplasma L-forms and bacteria. Ann. N.Y. Acad. Sci., 1967, 143, 21.
- McQuillen K.* Bacterial protoplasts. Biochim. biophys. Acta, 1955a, 17, 382 I, II, 1955b, 18, 458.
- McQuillen K.* Lysis resulting from metabolic disturbance. J. gen. Microbiol., 1958, 18, 498.
- Madoff S.* L-forms from *Streptococcus*. Mg. Ann. N.Y. Acad. Sci., 1970, 174, 912.

- Madoff S., Annenberg S. M., Weinstein L.* Production of neuraminidase by L-forms of *Vibrio cholerae*. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1961, 107, 776.
- Madoff S., Burke M. E., Dienes L.* Induction and identification of L-form of bacteria. Ann. N.Y. Acad. Sci., 1967, 143, 755.
- Madoff S., Dienes L.* L-forms from pneumococci. J. Bact., 1958, 76, 245.
- Malizia W. Z., Barile M., Riggs D. B.* Immunofluorescence of pleuropneumonia like organisms isolated from tissue cell cultures. Nature (London), 1961, 191, 190.
- Manchee R. J., Taylor-Robinson D.* Haemadsorption and haemagglutination by Mycoplasma. J. gen. Microbiol., 1968, 50, 465.
- Manchee R. J., Taylor-Robinson D.* Studies on the nature of receptors involved in attachment of tissue culture cells to Mycoplasmas. Brit. J. exp. Path., 1969, 50, 66.
- Mandel P., Terranova T.* Untersuchungen über den Stoffwechsel und die Nucleinsäuren der L-Formen. Mschr. Akad. Wiss. (Berlin), 1960, 2, 45.
- Mandel P., Terranova T., Sensebrenner M.* Fractionnement des formes L fixées du proteus P₁₈. C.R. Acad. Sci. (Paris), 1957, 17, 1469.
- Maré C. J., Switzer W. P.* New species: Mycoplasma hyopneumoniae. A causativ agent of virus pneumonia. Vet. Med., 1965, 60, 841.
- Markham F. S., Wong S. C.* Pleuropneumonia-like organisms in the etiology of turkey sinusitis and chronic respiratory disease of chickens. Poul. Sci., 1952, 31, 902.
- Markov G. G., Bradvarovo J., Mintcheva A., Petrov P., Shishkov V. N., Tsanev R. G.* Mycoplasma contamination of cell culture Interferend with PS² labelling pattern of RNA. Exp. cell. Res., 1969, 57, 374.
- Marmion B. P., Goodburn G. M.* Effect of an organic gold salt on Eaton's primary atypical pneumonia agent and other observations. Nature (London), 1961, 189, 247.
- Marmion B. P., Hers J. F. Ph.* Observations on Eaton primary atypical pneumonia agent and analogous problems in animals. Am. Rev. res. Dis., 1963, 88, 198.
- Marmion B. P., Plackett P., Lemcke R. M.* Immunochemical analysis of Mycoplasma pneumoniae. Austr. J. exp. Biol. med. Sci., 1967, 45, 163.
- Marston J. H.* Observations on L-forms of staphylococci. J. infect. Dis., 1961, 108, 75.
- Marston J. H.* Production and cultivation of staphylococcal L-forms. В кн.: L. Guze Microbial protoplasts, spheroplasts and L-forms. Baltimore, 1968, p. 212.
- Martin H. H.* Composition of the mucopolymer in cell walls of the unstable and stable L-form of *Proteus mirabilis*. J. gen. Microbiol., 1964, 36, 441.
- Marzinowski E.* De l'etiologie de la peripneumonia. Ann. Inst. Pasteur., 1911, 25, 914.
- Mattman L. H.* L-form isolated from infections. В кн.: L. Guze. Microbial protoplasts, spheroplasts and L-forms. Baltimore, 1968, p. 472.
- Mattman L. H., Burgess A. R., Farkas M. E.* Evaluation of antibiotic diffusion in L-variant production by *Proteus* species. J. Bact., 1958, 76, 333.
- Mattman L. H., Dowell V. R., Neblett T. R.* Intraerythrocytic Forms in a case with *Cl. sordelli* bacteremia. Bact. Proc., 1971, M34, 69.
- Mattman L. H., Mattman P. E.* L-forms of *Streptococcus faecalis* in septicemia. Arch. intern. Med., 1965, 115, 315.
- Mattman L. H., Tunstall L., Mathews W., Gordon D.* L-variation in mycobacteria. Am. Rev. resp. Dis., 1960, 82, 202.
- Mattman L. H., Tunstall L. H., Rasmooore H. W.* Induction and characteristics of staphylococcal forms. Canad. J. Microbiol., 1961, 7, 705.
- Maxted W. R.* The active agent in nascent phage lysis of streptococci. J. gen. Microbiol., 1957, 16, 584.
- Maxted W. R.* Observations on the induction, growth and nature of streptococcal L-forms. В кн.: R. Caravano. «Current research on group a streptococcus». Amsterdam, 1968, p. 320.
- Maxted W. R.* The synthesis of group a type 12M antigen by streptococci of group G. В кн.: R. Caravano. «Current research on group A streptococcus». Amsterdam, 1968, p. 75.
- Medill M. A., O'Kane D. J.* A synhtetic medium for the L-type colonies of proteus. J. Bact., 1954, 68, 530.
- Medill-Brown W., Hutchinson N.* Effect of penicillin, growth phase, ultraviolet light, and ultrasonic vibrations on the ability of proteus mirabilis to form L type colonies. J. Bact., 1957, 47, 280.
- Melén B., Gotthardson A.* Complement fixation with human pleuropneumonia-like organisms. Acta path. microbiol. scand., 1955, 37, 196.
- Melén B., Linnros B.* Pleuropneumonia-like organisms in cases of non-gonococcal urethritis in man. Acta derm. venerol. (Stah.), 1952, 32, 77.
- Melén B., Odeblad E.* Pleuropneumonia-like microorganisms in the female genito-urinary tract. Scand. J. clin. Lab. Invest., 1951, 3, 47.
- Michel J. G., Braun W.* Serum spheroplasts of *Shigella dysenteriae*. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1959, 100, 422.

- Michel M., Hijmans W.* The additive effect of glycine and other amino acids on the induction of the L-phase of group A beta-haemolytic streptococci by penicillin and D cyclosetine. *J. gen. Microbiol.*, 1960, 23, 35.
- Milazzo F., Cremonesi L., Moroni M.* Analisi dei rapporti antigenici tra il *Mycoplasma pneumoniae* e i Micoplasmi saprofiti umani. *Boll. Ist. sieroter. Milan.*, 1968, 47, 427.
- Minck R.* Les formes L du vibron cholérique. *Schweiz. Z. allg. Path.*, 1951, 14, 595.
- Minck R.* Organismes du type de la peripneumoniae des bovidés et formes L des bacteries. *Rev. Immunol. (Paris)*, 1955, 19, 86.
- Minck R., Kirn A.* Pleuropneumonia-like organisms and L forms of bacteria. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1960, 79, 658.
- Minck R., Kirn A., Fleck J.* Study of the specific inhibiting action of antisera on cultures of L-forms of bacteria. *Ann. Inst. Pasteur.*, 1961, 101, 178.
- Minck R., Kirn A., Galleron A.* Recherches sur la transformation L (formes naines) en milieux synthétiques d'une souche de *Proteus*. *Ann. Inst. Pasteur.*, 1957, 92, 138.
- Minck R., Lavillareiz J.* La transformation L des bactéries. *Ann. Biol.*, 1956, 325, 153.
- Mitchell P., Moyle J.* Liberation and osmotic properties of the protoplasts of *Micrococcus lysodeikticus* and *Sarcina lutea*. *J. gen. Microbiol.*, 1956b, 15, 512.
- Molander C. W., Kagan B. M., Weinberger H. J.* et al. Induction by antibiotics and comparative sensitivity of L-phase variants of *Staphylococcus aureus*. *J. Bact.*, 1964, 88, 581.
- Moore R. W., Redmond H. E., Livingston C. W.* Pathologic and serologic characteristics of a mycoplasma causing arthritic in swine. *Am. J. vet. Res.*, 1966a, 27, 1649.
- Moore R. W., Redmond H. E., Livingston C. W.* Mycoplasma as the etiology of a metritis-mastitis syndrome in sows. *Vet. Med.*, 1966b, 61, 883.
- Mooser H.* Über die Mischinfektion der weißen Maus mit einem Stamm Klassischen Pleckfiebers und dem Virus der infektiösen Ektromelie. *J. Path. Bact.*, 1943, 6, 463.
- Mooser H.* Einschluss körper und Entwicklungsstadien bei Rickettsien. *Experientia*, 1945, 1, 336.
- Mooser H.* Die Mobilisation von *Musculomyces* durch das Virus der Ektromelia. *Experientia*, 1949, 5, 364.
- Mooser H.* Two varieties of murine PPLO infection and antibody response in rats and mice. *Arch. ges. Virusforsch.*, 1951, 4, 401.
- Morowitz H. J.* Biological self-replicating systems. *Prog. theor. Biol.*, 1967, 1, 35.
- Morowitz H. J.* The genome of *Mycoplasma*. В кн.: L. Hayflick. The mycoplasmatales and L-phase of bacteria. New York, 1969, 405.
- Morowitz H. J., Maniloff J.* Analysis of the life cycle of *Mycoplasma gallisepticum*. *J. Bact.*, 1966, 91, 1638.
- Mortimer E. A.* Production of L-forms of group A streptococci in mice. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)*, 1965, 119, 159.
- Mortimer E. A., Vastine E. L.* Production of capsular polysaccharide (hyaluronic acid) by L colonies of group A streptococci. *J. Bact.*, 1967, 94, 268.
- Mortimer E.* The production of L-forms of group A streptococci in mice. В кн.: L. Guze. Microbial protoplasts, spheroplasts and L-forms. Baltimore, 1968, p. 345.
- Morton H.* Mycoplasma-latex agglutination reaction. *J. Bact.*, 1966, 92, 1196.
- Morton H. E., Lecce J. G., Oskay J. J., Coy N. H.* Electron microscopy of PPLO isolated from man and chickens. *J. Bact.*, 1954, 68, 697.
- Moulton.* Цит. по J. T. Sharp, S. Riggs, 1967.
- Moustardier G., Brisou J., Perrey M.* Transformation en bactéries normales d'organismes L isolés par culture a partir d'urethrites amicrobiennes à inclusions. *Ann. Inst. Pasteur.*, 1953, 85, 520.
- Mufson M. A., Bloom H., Manko M., Kingston I., Chanock R.* Eaton agent (a review). *Am. J. publ. Hlth.*, 1962, 52, 6.
- Mufson M. A., Ludwig W. M., Purcell R. H.* et al. Exudative pharyngitis, following experimental *Mycoplasma hominis* type 1 infection. *J.A.M.A.*, 1965, 192, 1146.
- Mufson M. A., Sanders V., Chanock R.* Primary atypical pneumoniae due to *Mycoplasma pneumoniae* (Eaton agent): report of a case with a residual pleural abnormality. *New Engl. J. Med.*, 1963, 268, 1109.
- Murphy C. E., Swift H. F.* Цит. по P. Mischer, K. O. Vorlaender, 1961.
- Murphy W., Bullis C., Dabich L. R., Heyn C., Zarafonitis C. J.* Isolation of *Mycoplasma* from leukemia and nonleukemia Patients. *J. nat. Cancer. Inst.*, 1970, 452, 243.
- Murphy W. H., Bullis C., Ertel I. J., Zarafonitis C. J. D.* Mycoplasma studies of human leukemia. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1967, 143, 544.
- Nakamura M., Sakamoto H.* Effects of nucleic acids DNA amino acids and mucin on mycoplasma growth. *Jap. J. Bact.*, 1968, 23, 777.
- Nakamura M., Sakamoto H.* Modification of the growth of human mycoplasmas in tissue culture by infection with influenza virus and Japanese encephalitis virus (JEV). *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)*, 1969, 131, 343.

- Nardone R. M., Todd J., Gonzalez R., Gaffney E. V.* Nucleoside incorporation into strain L cells: subinfection by pleuropneumonia-like organisms. *Science*, 1965, 149, 1100.
- Nasri El. M.* Mycoplasma from contagious caprine pleuropneumonia. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1967, 143, 298.
- Negróni G.* Isolation of viruses from leukemic patients. *Brit. med. J.*, 1964, 1, 927.
- Neimark H. C.* Heterogeneity among the Mycoplasma and relationships to bacteria. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1967, 143, 31.
- Neimark H. C.* Glutaraldehyde-fixed erythrocytes for indirect haemagglutination with Mycoplasma. *Nature (London)*, 1968, 219, 5151.
- Nelson E. L., Pickett M. J.* The recovery of L-forms of brucella and their relation to brucella phage. *J. infect. Dis.*, 1951, 89, 221.
- Nelson J. B.* Cocco-bacilliform bodies associated with an infections fowl coryza. *Science*, 1935, 82, 43.
- Nelson J. B.* Studies on an uncomplicated coryza of the domestic fowl. VII. Cultivation of the cocco-bacilliform bodies in fertile eggs and in tissue cultures. *J. exp. Med.*, 1936, 64, 749.
- Nelson J. B.* Infections catarrh of mice. *J. exp. Med.*, 1937, 65, 833.
- Nelson J. B.* The enhancing effect of murine hepatitis virus on cerebral activity of pleuropneumonia-like organisms in mice. *J. exp. Med.*, 1957, 106, 179.
- Nelson J. B.* Biology of the pleuropneumonia-like organisms. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1960, 79, 305.
- Nelson J. B.* The behavior of murine PPLO in HeLa cell cultures. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1960, 79, 450.
- Nelson J. B.* Pathologic response of Swiss and Princeton mice to *M. pulmonis*. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1967, 143, 778.
- Nelson J. B., Lyons M. J.* Phase-contrast and electron microscopy of murine strains of Mycoplasma. *J. Bact.*, 1965, 90, 1750.
- Nermut M. V.* L cyklus bacterii, jene biologicky lekarsky vyznam. Praha, 1960.
- Nermut M. V.* The ultrastructure of *B. megaterium* cell wall of *Bacillus megaterium*. *J. gen. Microbiol.*, 1967a, 49, 503.
- Nicol C. S., Edward D. G.* Role of organisms of the pleuropneumonia-group in human genital infections. *Brit. J. vener. Dis.*, 1953, 29, 141.
- Nocard E. E., Roux E.* Le microbe de la peripneumonie. *Ann. Inst. Pasteur.*, 1898, 12, 240.
- Noel J. R., de Volt H. M., Faber J. E.* A serological analysis of eight strains of *Mycoplasma gallinarum*. *Poult. Sci.*, 1962, 41, 580.
- Nowak J.* Morphologie, nature et cycle evolutif du microse de la peripneumonie des bovidés. *Ann. Inst. Pasteur.*, 1929, 43, 1330.
- Oates J. J., Whittington M. J., Wilkinson A. E.* A note on the results of cultural and serological tests for pleuropneumonia-like organisms in Reiter's disease. *Brit. J. vener. Dis.*, 1959, 35, 184.
- Olson N. O.* Transmissible synovites of poultry. *Lab. Invest.*, 1959, 8, 1384.
- Olson N. O., Adler H. E., Da Massa A. J., Corstvet R. E.* The effect of intranasal exposure to *Mycoplasma synoviae* and infections bronchitis on development of lesions and agglutinins. *Avian Dis.*, 1964a, 8, 623.
- Olson N. O., Bletner J. K., Shelton D. C., Munro D. A., Anderson G. C.* Enlarged joint condition in poultry caused by an infectious agent. *Poult. Sci.*, 1954, 33, 1075.
- Olson N. O., Kerr K. M., Campbell A.* Control of infectious synovitis. 13. Antigen study of three strains. *Avian Dis.*, 1964b, 8, 209.
- Olson N. O., Seymour W. R., Boothe A. D., Dorsa L.* Characteristics of PPLO isolated from the genital and respiratory tracts of cattle. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1960, 79, 677.
- Olson N. O., Shelton D. S., Bletner J. K., Munro D. A., Anderson G. C.* Studies of infectious synovitis in chickens. *Am. J. vet. Res.*, 1956, 177, 747.
- Opie E. L.* The movement of water in tissues removed from the body and its relation to movement of water during life. *J. exp. Med.*, 1949, 89, 185.
- Organick A. B., Lutsky I. I.* Electron microscopy in bronchial and pulmonary lesions in gnotobiotic mice. *Bact. Proc.*, 1966, 66, 49.
- Organick A. B., Lutsky I. I.* Pneumonia due to Mycoplasma in gnotobiotic mice. III. Lesion in the lungs of gnotobiotic mice after multiple intranasal inoculations of broth cultures of *Mycoplasma pneumoniae*. *J. Bact.*, 1968, 95, 2310.
- Organick A. B., Siegesmund K. A., Lutsky I. I.* Pneumoniae due to mycoplasma in gnotobiotic mice. II. Localization of *Mycoplasma pulmonis* in the lungs of infected gnotobiotic mice by electron microscopy. *J. Bact.*, 1966, 92, 1164.
- Ørskov J.* Etude sur la morphologie du virus peripneumonique. *Ann. Inst. Pasteur.*, 1927, 41, 473.
- Ørskov J.* Streptobacillus moniliformis and the morphology of its variants. *Acta path. microbiol. scand.*, 1942a, 19, 575.
- Ørskov J.* On the morphology of peripneumonia-virus, agalactia-virus and Seiffert's microbes. *Acta path. microbiol. scand.*, 1942b, 19, 585.

- Ose E., Barnes L., Gosset F.* Induced PPLO infection in young chickens. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1960, 79.
- Pain T. F., Murray R., Perlmutter L., Finland M.* Brain abscess and meningitis associated with a pleuropneumonia like organism. Clinical and bacteriological observation in a case with recovery. *Ann. intern. Med.*, 1950, 32, 554.
- Panigel J., Cayeux P., Levillian R., Cluzan E.* Arthritis, cardiopathy and encephalitis experimentally produced in the mouse by group A streptococcus. В кн.: R. Caravano. Current research on group a streptococcus. Amsterdam, 1968, p. 261.
- Panos C.* Cellular physiology during logarithmic growth of a streptococcal L-form. *J. gen. Microbiol.*, 1965, 39, 131.
- Panos C.* Biochemistry of bacterial L-form and structure. В кн.: Ch. Panos. A Microbial Enigma — Mycoplasma and Bacterial L-forms. Cleveland, 1967, p. 167.
- Panos C.* A microbial enigma mycoplasma and bacterial L-forms. Cleveland, 1967.
- Panos C., Barculis S., Hayashi I.* Streptococcal L-forms. II. Chemical composition. *J. Bact.*, 1959, 78, 863; 1960, 80, 336.
- Panos C., Cohen B.* Growth rates of *Streptococcus pyogenes* and derived L-form at various temperatures. *J. Bact.*, 1964, 87, 1242.
- Panos C., Cohen M.* Cell wall inhibition in a stable streptococcal L-form. *Biochim. biophys. Acta*, 1966, 117, 98.
- Panos C., Cohen M., Fagan G.* Lipid alterations after cell wall inhibition. *Biochemistry*, 1966, 5, 1461.
- Panos C., Cohen M., Fagan G.* Antibiotic inhibition and binding studies with a group A streptococcal L-form. *J. gen. Microbiol.*, 1967, 116, 299.
- Panos C., Hynes L. M.* On growth and nutritional comparisons of a group A streptococcus before and after cell wall removal. *Arch. Biochem.*, 1964, 105, 326.
- Panos C., Parunak H.* Effect of pH and temperature on structural integrity of an L-form of *Streptococcus pyogenes*. *Nature (London)*, 1965, 205, 723.
- Parker F., Hudson N.* The etiology of Haverhill fever. *Am. J. Path.*, 1926, 2, 357.
- Parrott R. H.* Visual respiratory tract illnesses in children. *Bull. N.Y. Acad. Med.*, 1963, 39, 629.
- Partridge S. M., Klieneberger E.* Isolation of cholesterol from the oily droplets found in association with the L I organism separated from *Streptobacillus moniliformis*. *J. Path. Bact.*, 1944, 52, 219.
- Paton G. R., Jacobs J. P., Perkins F. T.* Chromosome changes in human diploid-cell cultures infected with Mycoplasma. *Nature (London)*, 1965, 207, 43.
- Paton G. R., Jacobs J. P., Perkins F. T.* The effect of Mycoplasma on the karyology of normal cells. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1967, 143, 626.
- Pease Ph.* Evidence that *Streptobacillus moniliformis* is an intermediate stage between a corynebacterium and its L-form or derived PPLO. *J. gen. Microbiol.*, 1962, 25, 91.
- Pease Ph.* The antigenic structure of PPLO (*Mycoplasma hominis*) and related bacteria. *J. gen. Microbiol.*, 1965, 41, 299.
- Pease Ph., Laughton N.* Observation on corynebacteria and related pleuropneumonia-like organisms (PPLO). *J. gen. Microbiol.*, 1962, 27, 383.
- Pease Ph., Rogers R., Cole B.* A cytopathogenic strain of mycoplasma *hominis* type I isolated from the lung of a stillborn infant. *J. Path. Bact.*, 1967, 94, 460.
- Peterson B. H., Brown J., Boyd R. J.* Characterization of the antibody response to the classic and L-phase forms of *Pr. mirabilis* and *E. coli*. *Bact. Proc.*, 1971, M227, 102.
- Peterson O. L., Ham T. H., Finland M.* Cold agglutinins in primary atypical pneumonias. *Science*, 1943, 97, 167.
- Pham Hun Trung, Boué A., Lardemer T., Haguenau Fb.* Ultrastructure du mycoplasme salivarium et du mycoplasme orele en culture de tissus. Le problème de leur reproduction à partir de la surface cellulaire. *Europ. J. Cancer*, 1968, 4, 429.
- Pham Hun Trung, Boué A., Schmitt-Slomska J., Haguenau F.* Ultrastructure of group a streptococcus L-forms. В кн.: R. Caravano. Current research on group a streptococcus. Amsterdam, 1968, p. 335.
- Pijneburg L. E.* An epidemic of PAP. *Ned. T. Geneesk.*, 1963, 107, 681.
- Plackett P.* On the probable absence of «mucocomplex» from *Mycoplasma mycoides*. *Biochim. biophys. Acta*, 1959, 35, 260.
- Plackett P.* A polyglycerophosphate compound from *Mycoplasma mycoides*. *Nature (London)*, 1961, 189, 125.
- Plackett P., Buttery S. H.* A galactan from *Mycoplasma mycoides*. *Nature (London)*, 1958, 182, 1236.
- Plackett P., Marmion P., Saw E., Lehicke R.* Immunochemical analysis of *Mycoplasma pneumoniae* III. Separation and chemical identification of serologically active lipids. *Austr. J. exp. Biol. med. Sci.*, 1969, 47, 171.
- Plackett P., Shaw E. J.* Glycolipids from *Mycoplasma laidlawii* and *Streptococcus M.G.* *Biochem. J.*, 1967, 104, 61.

- Plapp R. O., Kandler O. Zur Wirkungsweise zellwandhemmender Antibiotika bei gram-negativen Bakterien. Arch. Mikrobiol., 1965, 50, 171, 282.
- Pollack J. D., Razin S., Cleverdon K. S. Localization of enzymes in Mycoplasma. J. Bact., 1965, 90, 617.
- Pollack J. D., Somerson N., Senterfit L. Effect of pH on the immunogenicity of Mycoplasma pneumoniae. J. Bact., 1969, 97, 612.
- Pollock M. E., Kenny G. E. Mammalian cell cultures contaminated with PPLO. III. Elimination of PPLO with specific antiserum. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1963, 112, 176.
- Pollock M. E., Kenny G. E., Severson J. Isolation and elimination pleuropneumonia-like organisms from mammalian cell cultures. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1960, 105, 10.
- Pollock M. E., Treadwell P., Kenny G. E. Mammalian cell cultures contaminated with pleuropneumonia-like organism. II. Effect of PPLO on cell morphology in established monolayer cultures. Exp. Cell. Res., 1963, 31, 324.
- Ponten J., Macpherson I. Interference with Raus sarcoma virus focus formation by a mycoplasma like factor present in human cell cultures. Ann. Med. exp. Fenn., 1966, 44, 260.
- Powelson D. M. Metabolism of animal cells infected with Mycoplasma. J. Bact., 1961, 82, 288.
- Pratt B. C. Cell-wall deficiencies in L-forms of Staphylococcus aureus. J. gen. Microbiol., 1966, 42, 115.
- Prescott B., Caldes G., James W. D., Chanock R. M. Phospholipid hapten of Mycoplasma pneumoniae. Ann. N.Y. Acad. Sci., 1967, 143, 497.
- Prescott B., Sobeslavsky O., Caldes G., Chanock R. M. Isolation and characterization of fractions of Mycoplasma pneumoniae. I. Chemical and chromatographic separation. J. Bact., 1966, 91, 2117.
- Prestly F. W. A slide flocculation test for the diagnosis of contagious bovine pleuropneumonia. Vet. Res., 1954, 63, 427.
- Prittowitz-Gaffron J. von. Das Verhalten eines Stammes von Proteus vulgaris und seiner L-Phase gegenüber homologen Antisera. Zbl. Bact. J. Abt. Orig., 1955, 163, 313.
- Provost A., Villemot J. M., Perreau P., Queval R., Borredon C. Some concepts on the antigenic relationships of different mycoplasmas, both within and outside the group. Ann. N.Y. Acad. Sci., 1967, 143, 38.
- Pulvertaft R. J. V. The L-form of bacteria in relation to antibiotics. J. Path. Bact., 1953, 65, 75.
- Purcell R. H., Chanock R. M. Role of mycoplasmas in human respiratory disease. Med. Clin. N. Amer., 1967, 51, 791.
- Purcell R. H., Chanock R. M., Taylor-Robinson D. Serology of the Mycoplasma of man. В кн.: L. Hayflick. The mycoplasmatales and L-phase of bacteria. New York, 1969, p. 222.
- Purcell R. H., Somerson N. L., Fox H. et al. Identification of acid inducing agent and related mycoplasma as Mycoplasma hyorhinis. J. nat. Cancer. Inst., 1966, 37, 254.
- Purcell R. H., Wong D., Chanock R. M. et al. Significance of antibody to Mycoplasma as measured by metabolic-inhibition techniques. Ann. N.Y. Acad. Sci., 1967, 143, 664.
- Randall C., Gafford L. G., Gentry G. A., Lawson L. A. Lability of Host-Cell DNA in Growing Cell Cultures Due to Mycoplasma. Science, 1965, 149, 1098.
- Razin S. Nucleic acid precursor requirements of Mycoplasma laidlawii. J. gen. Microbiol., 1962, 28, 243.
- Razin S. Factors influencing osmotic fragility of mycoplasma. J. gen. Microbiol., 1964, 36, 451.
- Razin S. The cell Membrana of Mycoplasma. Ann. N.Y. Acad. Sci., 1967a, 143, 115.
- Razin S. The structure of Mycoplasma cells. Soc. gen. Microbiol. Proc., 1967b, 46, 3, 1.
- Razin S. Mycoplasma taxonomy studied by electrophoresis of cell proteins. J. Bact., 1968, 96, 687.
- Razin S. Structure and function in Mycoplasma. Ann. Rev. Microbiol., 1969, 23, 317.
- Razin S., Argaman M. Lysis of mycoplasma, bacterial protoplasts spheroplasts and L-forms by various agents. J. gen. Microbiol., 1963, 30, 155.
- Razin S., Boschwitz C. The membrane of the Streptobacillus moniliformis L-Phase. J. gen. Microbiol., 1968, 54, 21.
- Razin S., Cosenza B. J., Tourtelotte M. E. Filaments growth of mycoplasma. Ann. N.Y. Acad. Sci., 1967, 143, 66.
- Razin S., Knight B. C. The effects of ribonucleic acid and deoxyribonucleic acid on the growth of Mycoplasma. J. gen. Microbiol., 1960a, 22, 504.
- Razin S., Knight B. C. A partially defined medium for the growth of Mycoplasma. J. gen. Microbiol., 1960b, 22, 1492.
- Razin S., Oliver O. Morphogenesis of mycoplasma and bacterial L-form colonies. J. gen. Microbiol., 1961, 24, 225.

- Razin S., Tully J. Cholesterol requirement of mycoplasmas. *J. Bact.*, 1970, 102, 306.
- Razin S., Valdesuso J., Purcell K. H., Chanock R. M. Electrophoretic analysis of Cell Proteins of T-strain Mycoplasmas isolated from Man. *J. Bact.*, 1970, 103, 702.
- Reich P. R., Somerson N. L., Huebner C. G. et al. Genetic differentiation by nucleic acid homology. I. Relationships among Mycoplasma species of man. *J. Bact.*, 1966, 92, 302.
- Reuss K. Influence of Fixation on Gross Morphology of Mycoplasma. *J. Bact.*, 1967, 93, 480.
- Reynolds P. E. Antibiotics affecting cell wall synthesis. *Symp. Soc. gen. Microbiol.*, 1966, 16, 47.
- Rifkind D., Chanock R., Kravetz H., Johnson K., Knight V. Ear involvement (myringites) and primary atypical pneumonia following inoculation of volunteers with Eaton agent. *Am. Rev. resp. Dis.*, 1962, 85, 479.
- Riggs A. D. (1966). *Ukr. no H. Morowitz*, 1969.
- Riggs S., Sharp J. T., Carpenter R. R. Factors involved in growth inhibition of mycoplasmas by immune serum. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1967, 143, 784.
- Roberts D. H. Serotypes of avian mycoplasma. *J. comp. Path. Ther.*, 1964, 74, 447.
- Roberts D. H. Neuraminidase-like enzyme present in Mycoplasma gallisepticum. *Nature*, 1967, 213, 87.
- Roberts D. H., McDaniel J. Mechanism of egg transmission of mycoplasma gallisepticum. *J. comp. Path. Ther.*, 1967, 77, 439.
- Roberts E. D., Switzer W. P., Ramsey F. K. Pathology of visceral organs of swine inoculated with M. hyorhines. *Am. J. vet. Res.*, 1963, 24, 9.
- Roberts R. B. L-form of Neisseria gonorrhoeae. *J. Bact.*, 1966, 92, 1609.
- Roberts R. B. The in vitro Production, Cultivation and Properties of L-form of Pathogenic Neisseriae. В кн.: L. Guze. Microbial protoplasts spheroplasts and L-forms. Baltimore, 1968, p. 230.
- Roberts R. B., Wittler R. G. The L-form of Neisseria meningitidis. *J. gen. Microbiol.*, 1966, 44, 139.
- Robinson L. B., McBrown T., Wiechelhausen R. *Ukr. no Ch. Panos*, 1967.
- Robinson L. B., Wiechelhausen R. H., Roizman B. Contamination of human cell cultures by PPLO. *Science*, 1956, 124, 1147.
- Rodwell A. W. Nutrition and metabolism of Mycoplasma mycoides var. mycoides. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1960, 79, 499.
- Rodwell A. W. The nutrition and metabolism of mycoplasma progress and problem. *J. gen. Microbiol.*, 1965, 40, 227.
- Rodwell A. W., Abbot A. The function of glycerol cholesterol and long chain fatty acids in the nutrition of Mycoplasma mycoides. *J. gen. Microbiol.*, 1961, 25, 201.
- Röckl M., Nasmann T. Die pleuropneumonie-ähnlichen Organismen (PPLO) und ihre Bedeutung für die unspezifische Urethritis. *Zbl. Bakt. J. Abt. Orig.*, 1956, 105, 313.
- Romans N., Brancoto P. Inhibition of growth of measles virus by mycoplasma in cell cultures and the restoring effect of arginine. *Arch. ges. Virusforsch.*, 1970, 29, 39.
- Rosner R. Isolation of protoplasts of Staph. aureus from a case of recurrent acute osteomyelitis. *Am. J. clin. Path.*, 1968, 50, 385.
- Ross J. G. Mycoplasma mycoides var. mycoides in mice. *J. comp. Path. Ther.*, 1962, 72, 1.
- Ross R., Switzer W. Comparison of isolates of Mycoplasma hyorhinis by indirect hemagglutination. *Am. J. vet. Res.*, 1963, 24, 622.
- Roth W. Isolierung von Pleuropneumonia-virus aus dem Gehirn weisser Mäuse. *Schweizer. Z. Path. Bakt.*, 1951, 14, 578.
- Rothblat G. H. PPLO-contamination in Tissue culture. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1960, 79, 430.
- Rothblat G. H., Morton H. E. Detection and Possible source of Contaminating Pleuropneumonia-like Organisms (PPLO) in Cultures of Tissue Cells. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)*, 1959, 100, 89.
- Rothblat G. H., Smith P. F. Nonsaponifiable lipids of representative pleuropneumonia-like organisms. *J. Bact.*, 1961, 82, 479.
- Rotta J., Karakawa W. W., Krause R. M. Isolation of L-forms from Group A Streptococci exposed to bacitracin. *J. Bact.*, 1965, 89, 1581.
- Rottem S., Pfendt E. A., Hayflick L. Sterol-requirements of T-Strain Mycoplasmas. *J. Bact.*, 1971, 105, 323.
- Rottem S., Razin S. Uptake and Utilization of Acetate by Mycoplasma. *J. gen. Microbiol.*, 1967, 48, 53.
- Rottem S., Stein O., Razin S. Reassembly of Mycoplasma membranes disaggregated by detergents. *Arch. Biochem.*, 1968, 125, 46.
- Rouse H. C., Bonifas V. H., Schlesinger R. W. Dependence of adenovirus replication on arginine and inhibition of plaque formation by PPLO. *Virology*, 1963, 20, 357.
- Roux J. La multiplication des formes L. *Ann. Inst. Pasteur.*, 1960, 99, 286.

- Rovozzo G. C., Leeginbune R. E., Helmholtz C. F. A mycoplasma from a bovine causing cytopathogenic effects in calf kidney tissue culture. *Cornell. Vet.*, 1963, 53, 560.
- Rubio-Huertas M. Estudio del cycques L formes filtrables de los bacterias. Sevilla, 1957.
- Rubio-Huertas M., Caberas de Herrera E. Fixed L forms of *Agrobacterium tumefaciens* unduced by ultra-violet light radiation. *Nature (London)*, 1966, 209, 1262.
- Rubio-Huertas M., Gonzales-Vazquez C. Morphology and pathogenicity of L-forms of *Clostridium tetani* induced by glycine. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1960, 79, 626.
- Ruiter M., Wentholt H. M. Isolation of a pleuropneumonia like organisms in primary fusospirochaetal gangrene of the penis. *J. invest. Derm.*, 1950, 15, 301.
- Russel W. C. Alterations in the nucleic acid metabolism of tissue culture cells infected by mycoplasmas. *Nature (London)*, 1966, 212, 1537.
- Russel W. C., Niveu J., Berman L. Studies on the biology of the mycoplasma induced stimulation of BHK-21-CB cells. *Int. J. Cancer*, 1968, 3, 191.
- Ryter A., Landman O. E. Electron microscope study of the relationship between mesosome loss and the stable L state (or protoplast state) in *Bacillus subtilis*. *J. Bact.*, 1964, 88, 457.
- Ryter A., Landman O. E. Morphological study of the attachment of Nucleoid to Membrane in Bacilli, Protoplasts and Reverting Protoplasts of *Bacillus subtilis*. В кн.: L. Guze. Microbial protoplasts, spheroplasts and L-forms. Baltimore, 1968, p. 110.
- Sabin A. B. Identification of the filtrable, transmissible neurolytic agent isolated from toxoplasma-infected tissue as a new pleuropneumonia-like microbe. *Science*, 1938, 88, 575.
- Sabin A. B. Filtrabel microorganisms of pleuropneumonia group. *Bact. Rev.*, 1941, 5, 1.
- Sabin A. B. Nature and Source of Mycoplasma in various tissue cultures. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1967, 143, 628.
- Sabin A. B., Johnson B. Search for microorganisms of the pleuropneumonia group in rheumatic and non-rheumatic children. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)*, 1940a, 44, 565.
- Sabin A. B., Johnson B. Pathogenic pleuropneumonia-like microorganisms in tissues of normal mice and isolation of new immunological types. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)*, 1940b, 44, 569.
- Salton M. R. J. Cell wall of *M. lysodeikticus* as the substrate of lysozyme. *Nature (London)*, 1952, 179, 746.
- Salton M. R. The Bacterial Cell Wall. Amsterdam, 1964.
- Salton M. R. J. Цит. по G. W. Godzeski, 1968.
- Sammons S. S., Gardner Jr. E., Dienst R. B. A medium for growth and immunologic studies of Mycoplasma. *J. Lab. clin. Med.*, 1969, 73, 338.
- Sato H., Diana D. D., Greenberg L. Spheroplast induction and lyses of BCG strains by glycine and lysozyme. *Canad. J. Microbiol.*, 1966, 12, 255.
- Scheibell J., Assandro Y. Isolation of toxigenic L-phase variants from *Cl. tetani*. *Acta pathol. microbiol. scand.*, 1959, 46, 333.
- Schimke R. T. Studies of the metabolism of arginine by Mycoplasma. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1957, 149, 573.
- Schimke R. T., Barile M. F. Arginine metabolism in pleuropneumonia-like organisms isolated from mammalian culture. *J. Bact.*, 1963, 86, 195.
- Schmidt P. J., Barile M. F., McGinnies M. H. Mycoplasmas (PPL0) and blood group I, associations with neoplastic disease. *Nature (London)*, 1965, 205, 371.
- Schmidt P. J., Lennette E. H., Dennis J., Gee P. S. On the nature of complementfixing antibodies to *Mycoplasma pneumoniae*. *J. Immunol.*, 1966, 97, 95.
- (Schmitt-Slomska J.) Шмит-Сломска Ж. Персистенция и индукция L-форм стрептококков группы A in vivo. *Вестн. АМН СССР*, 1969, 5, 80.
- Schmitt-Slomska J., Boué A., Caravano R. Infection chronique des cellules diploides humaines en culture par les formes L du streptocoque du groupe A. *C.R. Acad. Sci. (Paris)*, 1966, 163, 1653.
- Schmitt-Slomska J., Saequet F., Caravano R. Group A streptococcal L-forms. I. Persistence among inoculated mice. *J. Bact.*, 1967, 93, 451.
- Schnauder G. Tierexperimente zur Frage der epidemiologischen Bedeutung der L-Formen. *J. Hyg. (Lond.)*, 1955, 141, 404.
- Schumann E., Taubeneck U. Stable L-Formen verschiedener E. coli Stämme. *Z. allg. Mikrobiol.*, 1969, 9, 297.
- Schwab J. H., Ohanian S. H. Biological properties related to chemical structure of the Streptococcae cell. В кн.: R. Caravano. Current research on group a streptococcus. Amsterdam, 1968, p. 80.
- Sensenbrenner M., Baden-Hirsch A. M., Terranova T., Mandel P. (1964). Цит. по W. Hijmans, 1969.
- Senterfit L. B., Jensen K. E. Antimetabolic antibodies to mycoplasma pneumoniae measured by tetrasolium reduction inhibition. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)*, 1966, 122, 786.

- Senterfit L. B., Jensen K. E.* Progress in the immunoprophylaxis of *M. pneumoniae* infection. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1967, 143, 461.
- Sevoian M., Snoeyenbos G. H., Basch H. I., Reynold I. M.* Infectious sinovites. *Avian Dis.*, 1958, 2, 499.
- Sharp J. T.* L colonies from hemolytic streptococci. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 1954, 87, 94.
- Sharp J. T.* The cell wall of bacterial L-forms and pleuropneumonia-like organisms. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1960, 79, 10, 344.
- Sharp J. T., Dienes L.* Carbohydrate containing antigen from the bacterial and L-forms of *Proteus*. *J. Bact.*, 1959, 78, 343.
- Sharp J. T., Hijmans W., Dienes L.* Examination of the L-forms of group A streptococci for the group-specific polysaccharide and M protein. *J. exp. Med.*, 1957, 105, 153.
- Sharp J. T., Riggs S.* Mycoplasmas and Rheumatic Disease. *Rheumatology. Ann. Rev.*, 1967, 1, 51.
- Shepard M. C.* Growth and development of T-strain pleuropneumonia-like organisms in human epidermoid carcinoma cells (HeLa). *J. Bact.*, 1958, 75, 351.
- Shepard M. C.* Human Mycoplasma Infections. *Science*, 1966, 3, 143.
- Shepard M. C.* Cultivation and properties of T-strains of Mycoplasmas associated with nongonococcal urethritis. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1967, 143, 505.
- Shepard M. C., Alexander C. E., Lunceford C. D., Campbell P. E.* Possible Role of T-strain Mycoplasma in Nongonococcal Urethritis. *J.A.M.A.*, 1964, 188, 729.
- Shepard M. C., Howard D. R.* Identification of T-Mycoplasmas in primary agar culture by means of a direct test for urease. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1970, 174, 809.
- Shepard M. C., Lunceford C. D.* Occurrence of urease in T-strains of Mycoplasma. *J. Bact.*, 1967, 93, 1513.
- Shifrine M., Gourlay R. M.* Serological relationships between *M. mycoides* and other bacteria. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1967, 143, 317.
- Shoetensack H. M.* Pure cultivation of filtrable virus isolated from canine distemper. *Kitasato. Arch. exp. Med.*, 1934, 11, 277.
- Silberstein J. K.* Observations on the L-forms of *Proteus* and *Salmonella*. *Schweiz. Z. allg. Path.*, 1953, 16, 739.
- Singer S. H., Barile M. F., Kirschstein R. L.* Enhanced Virus Yields and Decreased Interferon Production in Mycoplasma-Infected Hamster Cells. *Proc. Soc. exp. Biol. N.Y.*, 1969, 131, 1129.
- Singer S. H., Kirschstein R. L., Barile M. F.* Increased Yields of stomatitis virus from Hamster cells injected with Mycoplasma. *Nature (London)*, 1969, 222, 1087.
- Singerland D. W., Morgan H. R.* Sustained bacteremia with pleuropneumonia-like organisms in postpartum patient. *J.A.M.A.*, 1952, 150, 1309.
- Skalka B., Krejčír T.* The isolation of mycoplasmas from dogs. *Acta Univ. agricult.*, 1968, B37, 57.
- Smith D. W.* DNA replication in *Mycoplasma laidlawii* B. *Biochim. biophys. Acta*, 1969, 179, 408.
- Smith G. R.* Experimental infection of mice with *Mycoplasma mycoides* var. *capri*. *J. comp. Path.*, 1967a, 77, 21.
- Smith G. R.* *Mycoplasma mycoides* var. *mycoides*: production of bacteraemia and demonstration of passive immunity in mice. *J. comp. Path.*, 1967b, 77, 203.
- Smith J. A., Wills A. T.* Some physiological characters of L-form of *Staphylococcus aureus*. *J. Path. Bact.*, 1967, 94, 359.
- Smith P. F.* Amino acid metabolism by pleuropneumonia-like organism. *J. Bact.*, 1955, 70, 552.
- Smith P. F.* Amino acid metabolism by pleuropneumonia-like organisms. *J. Bact.*, 1957a, 73, 91; 1957b, 74, 75.
- Smith P. F.* Nutritional requirements of PPLO and their relation to metabolic function. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1960a, 79, 508.
- Smith P. F.* Amino acid metabolism of PPLO. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1960b, 79, 543.
- Smith P. F.* Comparative physiology of pleuropneumonia-like and L-type organisms. *Bact. Rev.*, 1964, 28, 97.
- Smith P. F.* Comparative lipid biochemistry of Mycoplasma. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1967a, 143, 139.
- Smith P. F.* The Physiology of Mycoplasma. В кн.: C. Pannos. A microbial enigma mycoplasma and bacterial L-forms. Cleveland, 1967b, p. 71.
- Smith P. F.* Nature of unsaponifiable lipids of a Mycoplasma strain grown with isopen-tenyl pyrophosphate as a substrate for sterol. *J. Bact.*, 1968, 95, 1718.
- Smith P. F.* The lipids chemistry of Mycoplasma. В кн.: L. Hayflick. The Mycoplasma-ales and L-phase of bacteria. New York, 1969, p. 69.
- Smith P. F.* Biosynthesis of glucosyl diglycerides by *Mycoplasma laidlawii* strain. *B. J. Bact.*, 1969, 99, 480.

- Smith P. F., Baughton J. E. (1964). Curr. no P. F. Smith, 1964.
- Smith P. F., Peoples D., Morton H. Conversion of pleuropneumonia-like organisms to bacteria. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1957, 96, 550.
- Smith P. F., Rothblat G. H. Relation of PPLO to bacteria. Ann. N.Y. Acad. Sci., 1960, 79, 461.
- Smith P. F., Sasaki S. Stability of PPLO to some Physical Factors. Appl. Microbiol., 1958, 6, 184.
- Smith W. E., Hiller I., Mudd S. Electron micrograph studies of two strains of pleuropneumonia-like (L) organisms of human derivation. J. Bact., 1948, 56, 603.
- Snoke J. E., Cornell N. Protoplast lysis and inhibition of growth of *Bacillus licheniformis* by bacitracin. J. Bact., 1965, 89, 415.
- Sobeslavsky O., Chanock R. M. Peroxide formation by Mycoplasmas which infect man. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 1968, 129, 531.
- Sobeslavsky O., Prescott B., Chanock R. M. Adsorption of *Mycoplasma pneumoniae* to neuraminic acid receptors of various cells and possible role virulence. J. Bact., 1968, 96, 695.
- Sobeslavsky O., Prescott B., James W. D., Chanock R. Isolation and characterization of fractions of *Mycoplasma pneumoniae*. Antigenity and immunogenicity. J. Bact., 1966, 91, 2126.
- Sobeslavsky O., Prescott B., James W. D., Chanock R. M. Serological and immunogenic activities of different fractions of *Mycoplasma pneumoniae*. Ann. N.Y. Acad. Sci., 1967, 143, 682.
- Sobeslavsky O., Syruček L., Bruckova M., Abrahamovich M. The etiological role of *M. pneumoniae* in otitis media in children. Pediatrics, 1965, 35, 652.
- Somerson N. L., Cook M. K. Suppression of Rous sarcoma virus growth in tissue cultures by Mycoplasmas orale. J. Bact., 1965, 90, 534.
- Somerson N. L., James W. D., Walls B. E., Chanock R. M. Growth of *Mycoplasma pneumoniae* on a glass surface. Ann. N.Y. Acad. Sci., 1967, 143, 384. Discuss, 422.
- Somerson N. L., Purcell R. H., Taylor-Robinson D., Chanock R. M. Hemolysin of *Mycoplasma pneumoniae*. J. Bact., 1965, 89, 813.
- Somerson N. L., Reich P. R., Chanock R. M., Weissman S. M. Genetic differentiation by nucleic acid homology. III. Relationships among *Mycoplasma*, L-Forms, and Bacteria. Ann. N.Y. Acad. Sci., 1967, 143, 9.
- Somerson N. L., Reich P. R., Walls B. E. et al. Genetic differentiation by nucleic acid homology. II. Genotypic variations within two *Mycoplasma* species. J. Bact., 1966, 92, 311.
- Somerson N. L., Taylor-Robinson D., Chanock R. M. Hemolysin production as an aid in the identification and quantitation of Eaton agent (*Mycoplasma pneumoniae*). Am. J. Hyg., 1963, 77, 122.
- Somerson N. L., Walls B. F., Chanock R. M. Hemolysin of *M. pneumoniae* tentative identification as a peroxide. Science, 1965, 150, 226.
- Somerson N. L., Weissman S. M. Application of Nucleic acid Techniques to study of Mycoplasmas and L-Phase Organisms. В кн.: L. Hayflick. The mycoplasmatales and the L-phase of bacteria. New York, 1969, p. 201.
- Spanoghe L., Lagasse A., Devos A., Vlaene N. Morphologie in vitro van *M. gallisepticum*. Vlaams diergeneesk. T., 1967, 36, 12, 566.
- Stanbridge E., Hayflick L. Growth inhibition test for identification of *Mycoplasma* species utilizing dried antiserum impregnated paper discs. J. Bact., 1967, 93, 1392.
- Steinberg P., Fuld S. L., White R. J. et al. Ecology of *M. pneumoniae* infections in marine recruits at Parris Island, South Carolina. Am. J. Epidem., 1968, 88, 62.
- Steinberg P., Horswood R., Brunner H., Chanock R. Temperature-Sensitive mutants of *Mycoplasma pneumoniae*. J. infect. Dis., 1971, 124.
- Steinberg P., Horswood R., Chanock R. Temperature sensitive mutants of *Mycoplasma pneumoniae* (in vitro biologic properties). J. infect. Dis., 1969, 120, 217.
- Stempen H., Hutchinson W. G. The formation and development of large bodies in *Proteus* X. J. Bact., 1951, 51, 321.
- Stewart S. M. The use of fluorescent-antibody technique for the identification of cultures of *Mycoplasma*. Immunology, 1967, 13, 513.
- Stewart S. M., Chowdray Y. E. Isolation of Mycoplasmas from the human respiratory tract. J. Path. Bact., 1968, 95, 580.
- Stock F. A., Gentry G. A. Mycoplasmal deoxyribonuclease activity in virus-infected L-Cell Cultures. J. Virol., 1969, 3, 313.
- Stockman G. D., Lampen J. D. Inhibition by antibiotics of the growth of bacterial and yeast protoplasts. J. Bact., 1962, 84, 508.
- Stokes E. J. Human infection with pleuropneumonia-like organisms. Lancet, 1955, 1, 276.
- Strangways W. I. Rats as carries of streptobacil. moniliformis. J. Path. Bact., 1933, 37, 45.

- Strominger J. L.* Enzymatic Reactions in Bacterial Cell Wall synthesis sensitive to penicillins and other antibacterial substances. В кн.: L. Guze. Microbial protoplasts, spheroplasts and L-forms. Baltimore, 1968, p. 55.
- Suhs R. H., Feldman H. A.* Serologic epidemiologic studies with *M. pneumoniae*. II. Prevalence of antibodies in several populations. Am. J. Epidem., 1966, 83, 2, 357.
- Switzer W. P.* Studies on infections atrophic rhinitis. Am. J. vet. Med. Res., 1955, 16, 540.
- Switzer W. P.* Swine Mycoplasmosis. Ann. N.Y. Acad. Sci., 1967, 143, 281.
- Switzer W. P.* Swine Mycoplasmas. В кн.: L. Hayflick. The mycoplasmatales and L-phase of bacteria. New York, 1969, p. 607.
- Tabor C. W.* Stabilization of protoplasts and spheroplasts by spermine and other polyamines. J. Bact., 1962, 83, 1101.
- Tang F. F., Wei H., Edgar J.* Further investigations on the causal agent of bovine pleuropneumonia. J. Path. Bact., 1936, 42, 45.
- Tang F. F., Wei H., McWhirter D. L., Edgar J.* An investigation of the causal agent of bovine pleuropneumonia. J. Path. Bact., 1935, 40, 391.
- Taubeneck U.* Zur Frage der Reversion der stabilen L-Form in ihre Ausgangsbakterien. Zbl. Bakt. I. Abt. Orig., 1962a, 184, 290.
- Taubeneck U.* Untersuchungen über die L-Form von *Proteus mirabilis* Häuser I, II. Z. allg. Mikrobiol., 1962b, 2, 56; 1962c, 2, 132.
- Taubeneck U.* Demonstration of lysogeny in stable L-forms of *Proteus mirabilis*. J. Bact., 1963, 86, 1265.
- Taubeneck U., Gumpert J.* Some notes on gram-negative bacteria with experimentally altered surface structures. Folia Microbiol., 1967, 12, 258.
- Taubeneck U., Schumann E.* Zur Genese und Charakterisierung der verschiedenen Typen des L-Wachstums. Mschr. Dtsch. Akad. Wiss., 1969, 1, 36.
- Tauraso N.* Effect of diethylaminoethyl dextran on the growth of *M.* in agar. J. Bact., 1967, 93, 1559.
- Taylor-Robinson D.* Techniques of mycoplasma antibody measurement and identification. J. gen. Microbiol., 1967, 46, 3.
- Taylor-Robinson D., Addey J. P., Hare M. J., Dunlop E.* Mycoplasma and non-specific genital infection. Brit. J. vener. Dis., 1969, 45, 265.
- Taylor-Robinson D., Canchola J., Fox H., Chanock R. M.* Characterization of a newly identified mycoplasma from the human oropharynx. Am. J. Hyg., 1965, 81, 180.
- Taylor-Robinson D., Dinter Z.* Unexpected serotypes of Mycoplasmas isolated from pigs. J. gen. Microb., 1968, 53, 221.
- Taylor-Robinson D., Manchee R. J.* Adherence of mycoplasmas to glass and plastic. J. Bact., 1967a, 94, 1781.
- Taylor-Robinson D., Manchee R. J.* Novel approach to studying relationships between mycoplasmas and tissue culture cells. Nature (London), 1967b, 216, 1306.
- Taylor-Robinson D., Purcell R. H.* Mycoplasmas of the human urogenital tract and oropharynx and their possible role in disease: a reviews, some recent observations. Proc. roy. Soc. Med., 1966, 59, 11, 1112.
- Taylor-Robinson D., Purcell R. H., Wong D. C., Chanock R. M.* A colour test for the measurement of antibody to certain mycoplasma species based upon the inhibition of acid production. J. Hyg. (Lond.), 1966, 64, 91.
- Taylor-Robinson D., Shirai A., Sobeslavsky O., Chanock R. M.* Serologic response to *Mycoplasma pneumoniae* infection. Am. J. Epidem., 1966, 84, 301.
- Taylor-Robinson D., Sobeslavsky O., Chanock R. M.* Relationship of *Mycoplasma pneumoniae* to other human mycoplasma species studied by gel diffusion. J. Bact., 1965, 90, 1432.
- Terranova T., de Gregorio P.* Das Bakterien L-Formen. Arch. Mikrobiol., 1957, 28, 126.
- Terry T. M., Engelman D. M., Moriwitz H. J.* Characterization of the plasma membrane of *Mycoplasma laidlawii*. II. Modes of aggregation on solubilized membrane components. Biochim. biophys. Acta, 1967, 135, 391.
- Theodore Th. S., King J., Cole R.* Identification of L-forms by polyacrylamide gel electrophoresis. J. Bact., 1969, 97, 495.
- Theodore Th. S., Tully J. G., Cole R. M.* Polyacrylamide Gel Identification of Bacterial L-forms and Mycoplasma species of human origin. Appl. Microbiol., 1971, 21, 272.
- Thivolet J., Sohier R., Picard M., Blanc G.* Application of the immuno-fluorescence technique to the immunological diagnostic of the pneumopathy induced by Eaton's Mycoplasma. Ann. Inst. Pasteur., 1963, 105, 749.
- Thomas L., Aley F., Ritenky M. W.* et al. Studies of PPLO infection. II. The neurotoxin of mycoplasma neurolyticum. J. exp. Med., 1966, 124, 1067.
- Thomas L.* et al. Mycoplasma in urogenital tract. Lancet, 1970, 2, 366.
- Thorsson K. G., Weibull C.* Electron microscopy of a stable *Proteus* L-form. Nature (London), 1958, 181, 1348.
- Tourtellotte M. E.* Protein Synthesis in Mycoplasmas. В кн.: L. Hayflick. The mycoplasmatales and L-phase of bacteria. New York, 1969, p. 451.

- Tulasne R.* Existence of L-forms in common bacteria and their possible importance. *Nature (London)*, 1949, 164, 876.
- Tulasne R.* Nouvelles observations sur les formes L des bactéries. *C.R. Soc. Biol. (Paris)*, 1950, 145, 429.
- Tulasne R.* Quelques données sur la formation L du *Proteus vulgaris*. *Bull. Ass. Dipl. Microbiol.*, Nancy, 1950, 144, 1200.
- Tulasne R.* Les formes L des bactéries. *Rev. Immunol. (Paris)*, 1951, 15, 223.
- Tulasne R.* Bilan de nos connaissances sur les cycles bactériens du type L et sur les formes L des bactéries. *Biol. Med.*, 1955, 45, 391.
- Tulasne R., Bringemann R.* Données nouvelles obtenues par la microscopie électronique sur la morphologie des formes L des bactéries. *Rev. Immunol. (Paris)*, 1952, 18, 325.
- Tulasne R., Brisou J.* Les pleuropneumonies. *Ann. Inst. Pasteur.*, 1955, 88, 237.
- Tulasne R., Lavillaureix J.* Pouvoir pathogène expérimental pour la souris d'une souche de formes L des bactéries. *C. R. Soc. Biol. (Paris)*, 1954, 148, 2080.
- Tulasne R., Lavillaureix J.* Sur une variante microbienne géante homogène et stable issue de bactéries du genre vibron. *Schweiz. Z. allg. Path.*, 1957, 20, 608.
- Tulasne R., Lavillaureix J.* Filtration et ultrafiltration d'une souche de forme L fixées. *C.R. Acad. Sci. (Paris)*, 1958, 246, 2396.
- Tulasne R., Minck R., Kirn A., Krembel J.* Délimitation de la notion de formes L des bactéries: protoplasts, spheroplasts et formes L. *Ann. Inst. Pasteur.*, 1960, 99, 859.
- Tulasne R., Vendrely R.* Demonstration of bacterial nuclei with ribonuclease. *Nature (London)*, 1947, 160, 225.
- Tully J. G.* Production and biological characteristics of an extracellular neurotoxin from *Mycoplasma neurolyticum*. *J. Bact.*, 1964, 88, 381.
- Tully J. G.* Biochemical, morphological and serological characterization of *Mycoplasma* of murine origin. *J. infect. Dis.*, 1965, 115, 171.
- Tully J. G.* *Mycoplasma granularum* of swine origin as a tissue culture contaminant. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)*, 1966, 22, 565.
- Tully J. G.* Murine *Mycoplasmas*. В кн.: L. Hayflick. The mycoplasmatales and L-phase of bacteria. New York, 1969, p. 571.
- Tully J. G., Brown M. S., Sheagren J. N., Young V. M., Wolf S. M.* Septicemia due to *M. hominis* type L. *New Engl. J. Med.*, 1965, 273, 648.
- Tully J. G., Rask-Nielsen R.* *Mycoplasma* in leukemic and nonleukemic mice. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1967, 143, 345.
- Tully J. G., Razin G.* Characteristics of a new sterol nonrequiring *Mycoplasma*. *J. Bact.*, 1969, 98, 970.
- Tully J. G., Razin S.* *Acholeplasma axanthum* sp. n.: a new sterolnonrequiring member of the Mycoplasmatales. *J. Bact.*, 1970, 103, 751.
- Tully J. G., Ruchman J.* Recovery, identification and neurotoxicity of Sabin's type A and C mouse mycoplasma (PPLO) from lyophilized cultures. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)*, 1964, 115, p. 554.
- Turck M., Gutman L., Wedgwood R., Petersdorf R.* Significance of bacterial variants in urinary tract infections. В кн.: L. Guze. Microbial protoplasts, spheroplasts and L-forms. Baltimore, 1968, p. 415.
- Turner A. W.* A study of the morphology and life-cycles of the organism of pleuropneumonia contagiosa bovim. *J. Path. Bact.*, 1935, 41, 1.
- Turner A. W., Campbell A. D., Dick A. T.* (1935). Цит. по E. Klieneberger-Nobel, 1962.
- Turner J. C.* Development of cold agglutinins in atypical pneumonia. *Nature (London)*, 1943, 151, 419.
- Turner J. C., Nisnewitz S., Jackson E. B., Berney R.* Relation of cold agglutinins to atypical pneumonia. *Lancet*, 1943, 244, 765.
- Ulrich K. J., Kramer K., Boylan J. W.* Цит. по W. Hijmans e coar., 1969. *Urologia interna*. (Basel), 1959, 9, 3.
- Van Boven C. P., Ensering H. L., Hijmans W.* Size determination by the filtration method of the reproductive elements of group A streptococcal L-forms. *J. gen. Microbiol.*, 1968a, 52, 403.
- Van Boven C. P., Ensering H. L., Hijmans W.* Size determination by phase contrast microscopy of the reproductive elements of group A streptococcal L-forms. *J. gen. Microbiol.*, 1968b, 52, 413.
- Van Boven C. P., Kastelein M. J., Hijmans W.* A chemically defined medium for the L-phase of group A streptococci. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1967, 143, 749.
- Van Demark P. J., Smith P. F.* Evidence for a Tricarboxylic acid cycle in *Mycoplasma hominis*. *J. Bact.*, 1964, 88, 1602.
- Van der Veen I., van Hunen M.* Role of *M. pneumoniae* in acute respiratory disease in military population. *Am. J. Hyg.*, 1963, 78, 293.
- Van Herick W., Eaton M. D.* An unidentified pleuropneumonia-like organism isolated during passage in chick embryos. *J. Bact.*, 1945, 50, 47.

- Van Iterson W., Ruys A. C.* The fine structure of the Mycoplasmataceae. *J. Ultrastruct.*, 1960b, 3, 282.
- Van Nunen M. C., Van der Veen J.* Examination for Mycoplasma pneumoniae (Eaton agent). *Ned. Y. Geneesk.*, 1963, 107, 2142.
- Vendrey R.* La notion d'espece à travers de quelques données biochimiques recentes et le cycle L. *Ann. Inst. Pasteur.*, 1958, 94, 142.
- Vendrey R., Tulasne R.* Chemical constitution of the L-forms of bacteria. *Nature (London)*, 1953, 171, 262.
- Vigouroux J., Hannoun C.* Etude des formes L des bactéries apparues spontanément in vivo. I. Propriétés biologiques et pouvoir pathogène. *Ann. Inst. Pasteur.*, 1956, 91, 912.
- Villemot J. M., Provost A.* Recherches immunologiques sur la peripneumonia. *Rev. Elev.*, 1959, 12, 363.
- Villemot J. M., Provost A., Queval R.* Endotoxin from mycoplasma mycoides. *Nature (London)*, 1962, 193, 906.
- Voureka A.* Bacterial variants in patients treated with chlorophenicol. *Lancet*, 1951, 1, 27.
- Wannan J. S.* A survey of human sera in Sydney for antibodies to Mycoplasmas pneumoniae (Eaton agent). *Med. J. Aust.*, 1967, 1, 1133.
- Ward J. R., Maddoff S., Dienes L.* In vitro sensitivity of some bacteria their L-forms and pleuropneumonia-like organisms to antibiotics. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)*, 1958, 97, 132.
- Ward J. R., Martin M.* Production of L-phase variants of bacteria with cycloserine. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)*, 1962, III, 156.
- Watson G. I. M.* pneumoniae in general practice. *J. Coll. gen. Pract.*, 1967, 13, 174.
- Watson R. F., Rothbard S., Swift H. F.* Type-specific protection and immunity following intranasal inoculation of monkeys with group A hemolytic streptococci. *J. exp. Med.*, 1964, 84, 127.
- Weibull C.* Osmotic properties of Protoplasts of *B. megaterium*. *Exp. Cell. Res.*, 1955, 9, 294.
- Weibull C.* Size of minimal reproductive units of bacterial L-forms. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)*, 1963, 113, 32.
- Weibull C.* Localization of enzymes and endotoxin in *Proteus* L-forms and in their parent bacteria. *Folia Microbiol.*, 1967, 12, 3214.
- Weibull C.* The morphology of protoplasts, Spheroplasts and L-forms. В кн.: L. Guze. Microbial protoplasts, spheroplasts and L-forms. Baltimore, 1968, p. 62.
- Weibull C., Beckman H.* Chemical and metabolic properties of various elements found in cultures of a stable *Proteus* L-forms. *J. gen. Microbiol.*, 1961, 24, 379.
- Weibull C., Bickel D., Haskins W. T.* et al. Chemical, biological, and structural properties of stable *Proteus* L-forms and their parent bacteria. *J. Bact.*, 1967, 93, 1143.
- Weibull C., Gyllang H.* Metabolic properties of some L-forms derived from gram-positive and gram-negative bacteria. *J. Bact.*, 1965, 89, 1443.
- Weibull C., Hammarberg K.* Catalase activity of *Proteus* L-forms and normal *Proteus* bacteria. *J. Bact.*, 1963, 85, 498.
- Weibull C., Lundin B. M.* Size and shape of PPLO grown in liquid media. *J. Bact.*, 1962, 84, 513.
- Weibull C., Mohrt T., Afzeltus B. A.* The morphology and fine structure of small particles present in cultures of a *Proteus* L-form. *J. Ultrastr. Res.*, 1965, 12, 81.
- Weinberger H. I., Maddoff S., Dienes L.* The properties of L-forms isolated from *Salmonella* and the isolation of L-forms from *Shigella*. *J. Bact.*, 1950, 59, 765.
- Weiss L. J.* Electron micrographs of pleuropneumonia-like organisms. *J. Bact.*, 1944, 47, 523.
- Whittellstone P.* Mycoplasma in enzootic pneumonia of pigs. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1967, 143, 271.
- Willett H. P., Thacore H.* The induction by lysozyme of an L-type growth in *Mycobacterium tuberculosis*. *Canad. J. Microbiol.*, 1966, 12, 11.
- Williams M. H.* Electron microscopy of T-strains. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1967, 143, 397.
- Williams M. H., Taylor-Robinson D.* Antigenicity of mycoplasma membranes. *Nature (London)*, 1967, 215, 973.
- Williams R. E.* L-forms of *Staphylococcus aureus*. *J. gen. Microbiol.*, 1963, 33, 325.
- Winterbauer R., Gutman L. T., Turck M.* et al. The role of penicillin induced bacterial variants in experimental pyelonephritis. *J. exp. Med.*, 1967, 125, 607.
- Wittler R. G.* The L-form of *Haemophilus pertussis* in the mouse. *J. gen. Microbiol.*, 1952, 6, 311.
- Wittler R. G.* L-forms protoplasts, spheroplasts: a survey of in vitro and in vivo studies. В кн.: L. Guze. Microbial protoplasts, spheroplasts, and L-forms. Baltimore, 1968, p. 200.

- Wittler R. G., Carry S. G., Lindberg R. B. Reversion of a pleuropneumonia-like organism to a corynebacterium during tissue culture passage. *J. gen. Microbiol.*, 1956, 14, 763.
- Wittler R. G., Malizia W. F., Kramer P. E. et al. Isolation of a corynebacterium and its transitional forms from a case of subacute bacterial endocarditis treated with antibiotics. *J. gen. Microbiol.*, 1960, 23, 315.
- Wittler R. G., McGee Z. A., Williams C. O., Burris C. Identification of L-forms: Problems and approaches. В кн.: L. Guze. Microbial protoplasts, spheroplasts and L-forms. Baltimore, 1968, v. 33, p. 333.
- (Witzleb W., Witzleb G.) Витцлеб В., Витцлеб Г. Инфекции, вызванные *M. pneumoniae* в Тюрингии. Вестн. АМН СССР, 1969, 5, 18.
- Woglom W. H., Warren J. A pyogenic filterable agent in the albino rat. *J. exp. Med.*, 1938, 68, 513.
- Wood W. B., Archer G. W. Цит. по В. Кagan et al., 1968.
- Woodson B. H., McCarty K. P., Shepard M. C. Arginins metabolism in Mycoplasma and infected strain L-929 fibroblasts. *Arch. Biochem.*, 1965, 109, 364.
- Wright D. N., Bayley G. D., Hatch M. T. Survival of airborne Mycoplasma as affected by relative humidity. *J. Bact.*, 1968a, 95, 251; 1968, 96, 970.
- Wroblewski W. Morphologie et cycle évolutif des microbes de la péripneumonie des bovidés et de l'agalaxie contagieuse des chèvres et des moutons. *Ann. Inst. Pasteur.*, 1931, 47, 94.
- Yamamoto R. Localization and egg transmission of *M. meleagridis* in turkeys exposed by various routes. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1967, 143, 225.
- Yamamoto R., Bigland C. H., Ortmyer H. B. Characteristics of *Mycoplasma meleagridis* sp-n, isolated from turkeys. *J. Bact.*, 1965, 90, 47.
- Yoder H. W., Hofstad M. S. Characterization of avian mycoplasma. *Avian. Dis.*, 1964, 8, 481.
- Yoshida T. Antigenicity of cell components of antigenic variants of contagious bovine pleuropneumoniae organisms in serological tests. *Nat. Inst. Anim. Health Quart (Tokyo)*, 1961, 1, 199.
- Young R. M., Dahlquist E. H. Pathogenicity of L-forms of *Staphylococcus aureus*. *Am. J. clin. Path.*, 1967, 48, 466.
- Zavagli V. L'agalaxie contagieuse des brébis et des chèvres. *Bull. Office. Intern. Epizoot.*, 1951, 36, 336.
- Zucker-Franklin D., Davidson M., Thomas L. The interaction of Mycoplasma with mammalian cell. I. HeLa-cells, Neutrophils, and Eosinophils. *J. exp. Med.*, 1966a, 124, 521.
- Zucker-Franklin D., Davidson M., Thomas L. The interaction of Mycoplasma with mammalian cells. II. Monocytes and lymphocytes. *J. exp. Med.*, 1966b, 124, 533.

Авторский указатель

- Автушенко С. С.** 292
Андреев В. М. 153
Андросов В. В. 80—82
Бароян О. В. 255, 257, 265
Башмакова М. А. 295
Белозерский А. Н. 198
Буров С. А. 265, 266
Васильева В. И. 161, 164, 246, 255, 256
Вихнович Э. М. 255, 256
Гаврилов В. И. 212
Гамалея Н. Ф. 4
Глан П. В. 223, 226
Голосова Т. В. 330
Гуткина А. В. 223
Дрейзин Р. С. 255
Захарова М. С. 246
Злыдников Д. М. 263
Имшенецкий А. А. 4
Каган Г. Я. 5, 7, 11—13, 15, 20—25, 29, 30, 42, 49, 50, 55, 57, 59, 61—64, 72, 73, 75, 80, 84, 85, 88, 90, 92, 95, 100, 101, 106, 117, 126, 147, 168, 195, 208, 212, 233, 239, 255, 257, 266, 330—332, 337, 343
Калина Г. П. 5
Кац Л. Н. 38
Клодницкая С. Н. 111
Колесников Л. В. 267
Комм С. Г. 49, 147
Коптелова Е. И. 25, 50, 71, 85, 126, 130—132, 317
Котлярова Г. А. 7, 20, 85, 92, 101, 102, 344
Кочемасова Э. Н. 17, 85, 97
Крестовникова 329
Кричевский И. Л. 4
Кротова Г. А. 330
Куниси 295
Курочкин Г. И. 183
Ланин Б. А. 335
Левашев В. С. 7, 17, 20, 29, 52—55, 74, 80, 82, 84
Лямперт И. М. 98, 114, 117
Мельников В. М. 151, 153, 162, 164
Миресашвили Э. И. 256
Михайлова В. С. 7
Морелл 261
Неустроева В. В. 9, 164, 205, 206, 208, 209, 211, 223, 224, 226, 234
Новикова И. С. 164, 170, 292, 295
Петросова В. Н. 167, 168—170, 179, 182
Пешков М. А. 4, 36, 41, 73, 81, 85, 194
Пискарева Н. А. 248
Покровская М. П. 4, 20
Покровский В. И. 4, 130—132, 246
Порубиновская Н. М. 246, 250, 255, 263
Прозоровский С. В. 7, 17, 19, 21, 25, 31, 50, 71, 75—77, 79, 84, 85, 90—92, 99, 126, 161, 164, 168—170, 172, 250, 255—257, 262, 265, 267—269
Прокофьева М. Т. 282, 283
Раковская И. В. 9, 96, 97, 126, 169, 170, 180, 208—210, 212, 219, 233, 321, 337
Рыбакова И. И. 166, 255, 256, 265
Серебряков А. С. 282
Смирнов П. В. 11
Смирнова Т. Д. 212, 219, 220, 233, 234
Сукнев В. В. 5, 7
Тимаков В. Д. 5, 7, 9, 13, 15, 20—23, 26, 29, 49, 55, 57, 61, 82, 106, 168, 195, 239, 266, 343
Тогунова А. И. 5
Устименко Л. М. 7, 20, 85, 86
Утенков М. Д. 5
Федерольф А. К. 4
Федорова Г. И. 18
Флеер Г. П. 233
Фоина А. Я. 172, 283
Фрадкин В. А. 104
Цибина Г. А. 250
Шаховский К. П. 89
Шубин В. А. 283
Щеголев А. Г. 83
Abrams 54
Adler 165, 173, 179, 194, 281, 283, 284
Afshar 233
Albertini 112
Alderman 92, 133, 134
Allison 231
Altenbern 21, 72
Altucci 162
Amies 84
Anderson 151, 152, 218, 323, 324
Andrews 264, 320, 323
Arai 164
Argaman 155, 186
Armstrong 208, 232, 237, 321, 327, 335
Aula 231
Baernastein 243, 250, 258
Bailey 169, 180, 300
Bandur 85
Barden 314
Barile 132, 158, 168, 194, 221, 222, 228, 229, 231, 320—322, 327, 334, 337, 338
Barker 172

- Bartholomew 185, 303, 338
 Beckman 185, 267
 Berkowich 246
 Beveridge 166, 247, 286, 288, 296
 Biberfeld 254, 261
 Bieling 114
 Black 290, 293
 Blaskovic 87
 Bloss-Bender 53, 82
 Bode 151, 153
 Bohnhoff 99
 Bonifas 23
 Bordet 5, 144
 Borel 5
 Borrel 144, 193, 274
 Boven 6, 34, 49
 Braude 91-93, 133
 Braun (Браун В.) 82, 85, 295, 301, 343
 Bredt 143, 243
 Brem 101
 Brennan 159, 281
 Breslow 264
 Bridré 5, 304-306
 Bürger 192
 Butas 54, 302
 Butler 164, 222, 232, 303
- Cabezas de Herrera** 171
 Campbell 166
 Card 106, 296
 Carey 87
 Carmicheal 222
 Carrère 17, 25, 32, 33, 84, 87, 93, 105
 Carski 168, 221, 250
 Carter 205, 309
 Casterjan-Diez 209
 Cavelti 114, 117
 Celli de Blasi 5, 304
 Chanock 154, 160, 166, 167, 193, 205, 243-253, 255, 258, 259, 261, 263-267
 Chapman 39
 Charache 134, 135, 343
 Chatterjee 56, 85
 Chattman 43
 Chromatie 111
 Chu 145, 151, 191
 Clark 146, 169, 244
 Clasener 86
 Clive 26
 Clyde 159, 161, 163, 168-171, 177, 179, 180, 193, 206, 222, 245, 251, 252
 Cohen 44, 47, 51, 57, 244
 Cole B. 37, 38, 39
 Cole R. 171, 175, 194, 309, 313
 Collier 180
 Conant 167, 246
 Consson 198
- Cook 113, 250, 251, 258, 260, 344
 Copperman 232
 Cordy 175, 284, 305, 306
 Coriell 166, 180, 219, 247
 Cottew 174, 175, 273, 276, 305, 307
 Couch 245, 265, 267
 Coussons 34, 37, 40, 41
 Crawford 9, 17, 21, 41, 60, 61, 111, 177, 179
 Csonka 286, 289, 290, 293, 294, 300, 301
- Dafaalla** 183
 Dajani 226, 252
 Dalton 17, 53
 Da Massa 163
 Dannis 64, 93
 Dasinger 85, 97
 Davies 86, 164, 172, 317
 Debonera 174, 306
 Deeb 176, 184, 193
 Del Giudice 168, 173, 214, 244
 Dhanda 175, 307
 Dienes 5, 6, 17, 19-21, 29, 31, 32, 36, 37, 40, 49, 52, 54, 55, 57, 59, 65, 67, 72, 73, 80, 84, 85, 105, 144, 157, 160, 196, 197, 284, 285, 287, 295, 300, 302
- Dinter 175
 Dmochowski 151, 319, 323
 Dolman 104
 Domermuth 151, 172, 281, 324
 Donald 249
 Doolik 56
 Dowdle 166, 246, 258, 259
 Dowson 7
 Dujardin-Beametz 5
 Dunlop 290
 Durel 288
- Eaton** 170, 171, 221, 222, 236, 243, 247-250, 252, 258, 268
 Edward 7, 8, 47, 54, 59, 143, 149, 155, 160, 162, 165, 166, 168, 170, 173-177, 190-194, 196, 198, 200, 217, 222, 250, 274, 280, 281, 286, 298
 Edwards 47
 Evans 260
Fabricant 169, 176, 283, 284, 314
 Falberg 160, 303
 Fallon 321, 323, 325
 Farrel 6
 Feizi 254, 264
 Feldman 173, 246
- Findlay 317
 Fitz-James 39
 Fleck 45
 Fodor 49, 51, 84
 Fogh 212, 219, 225, 228, 231, 344
 Folsome 154, 156
 Ford 162, 285-287, 288, 289, 291, 293, 298, 302
 Forsyth 260
 Fowler 290, 296
 Fox 193
 Foy 264, 265, 294
 Freimer 18, 23, 37, 51, 59, 65, 85, 97, 98, 117
 Freundt 7-9, 91, 144, 145, 151, 158, 161, 190, 193, 289
 Frenkel 18
 Friou 117
 Fu-Chuou Chao 229
 Furness 191
- George** 263
 Gilby 50
 Ginoza 53
 Ginsburg 112, 113
 Girardi 207, 320, 325
 Godzeski 88, 92, 97, 111, 134
 Gordon 249
 Goodburn 252, 254, 261
 Gooder 17, 18, 23, 26, 59, 71, 85
 Goodwin 194, 277, 278
 Gori 232
 Gourlay 154, 172, 174, 276
 Grace 194, 320, 321, 325, 326, 334-336
 Grasset 85, 87
 Grayston 166, 246, 247, 250, 255, 259, 263-265
 Griffin 250, 260, 275
 Grigoraki 82
 Gumpert 26, 29, 37, 51
 Gutman 53, 133, 134
 Guze 13, 89, 92, 133, 134
- Hafschneider** 37
 Hayflick 10, 41, 160, 168, 169, 204, 206, 221, 222, 227, 243, 250, 259, 294, 319, 321, 322, 327, 334, 343
 Hakala 229, 319, 320
 Hale 194
 Hallier 87
 Hamburger 20, 22, 53, 71, 72, 85
 Hanko 175
 Harkness 286, 288, 295, 296, 302
 Hartman 299
 Harwick 294, 297

- Hatten 37, 93
 Hauduroy 5
 Havliček 64
 Hearn 204
 Heilman 7
 Henrikson 155, 157
 Hijmans 13, 18, 19, 23—
 25, 29, 50, 64, 80,
 85, 93, 168
 Hillier 145
 Hofschneider 36, 44
 Holland 229, 302
 Hollingdale 187
 Holmes 290, 291
 Höpken 72, 74
 Hornsleth 254
 Horoszewicz 229, 326
 Hottle 163
 Howell 329
 Hubert 166
 Hubrig 283
 Hudson 174, 175, 193,
 274, 275, 276, 306, 308
 Huismans-Evers 169, 177
 Hummeler 208, 223, 323,
 327
Ianetta 18, 85
 Iha 154
 Ingham 290, 293
James 51
 Jansson 166, 246, 255,
 261, 303, 338
 Jensen 171, 236, 244, 248,
 264, 267, 322
 John 171, 246
 Johnson 246, 261, 264,
 302
 Jones 270, 294, 297
 Jordan 264
Kagan 17, 26, 53, 85, 134,
 265
 Kalmanson 8 2, 133,
 134
 Kang 146
 Kandler 21, 23, 44, 55
 56, 85
 Kaplan 98, 114, 117
 Karakawa 97
 Kawamura 212
 Kawatomari 29, 80, 84, 99
 Kellenberger 312, 313,
 319
 Keller 164
 Kendl 246
 Kenny 167, 176, 185,
 205, 219, 246
 Kerr 165, 246, 315
 King 16, 135
 Kingston 246, 248, 255,
 258, 260
 Klein 295
 Klieneberger 5, 6, 33, 85,
 91, 103, 173, 193,
 278, 279
 Klieneberger-Nobel 7, 9,
 13, 19, 34, 36, 48,
 49, 58, 67, 80, 85, 99,
 144—146, 149, 151,
 165, 166, 175, 176,
 180, 191, 272, 276,
 279, 286, 288, 289,
 301, 304, 312
 Kraemer 227, 228
 Krause 18
 Kraybell 157, 160, 163, 244
 Krembel 45, 48, 199
 Krücken 292
 Kubota 25
 Kühl 73
 Kundsın 294, 297
 Künzel 301, 302
 Kusaka 18, 84
Laidlaw 162, 194
 Landman 18, 20, 23—26,
 29, 50, 51, 53, 69,
 73, 82, 84, 85
 Lapinski 19
 Larin 219—221, 225
 Lavillaurex 94, 97
 Law 160, 161
 Leach 163, 173, 194, 325,
 327
 Lederberg 18, 22, 29, 23,
 25, 29, 44, 50, 54,
 72, 73, 82, 84
 Lemcke 166, 179, 180—
 185, 267, 279, 318
 Levaditi 6
 Levine 230
 Liebermeister 20, 23, 24,
 80, 85, 150, 151
 Lind 166, 168, 246, 250
 Lipnicki 57, 105
 Lisowski 93
 Liu 168, 246, 249, 251, 260
 Lynn 56, 59, 64, 166, 168
 Lloyd 274
 Longfeld 199
 Longley 174, 276, 306
 Lorkiewicz 20, 58
 Low 244, 246
 Ludlaw 248
 Lutsky 280
 Lynn 9, 156, 159
McGee 47, 135, 156, 101
 McKay 101
 MacPherson 210, 212, 213,
 217, 221, 233
 McQuillen 5, 21
 Madoff 18, 19, 21—23,
 26, 57, 84, 85, 97, 101
 Malizia 168
 Manchee 171—173, 215
 Mandel 36, 48, 56, 74
 Maré 194
 Markham 281
 Markov 230
 Marmion 186, 200, 248,
 250, 254, 267
 Marston 36
 Martin 85
 Marzinowski 144
 Mattman 17, 24, 43, 56,
 85, 92, 97, 105, 129,
 135, 330
 Matzuschita 4
 Maxted 18
 Medill 20, 23, 54, 161
 Medill-Brown 25, 85
 Melén 286, 296
 Michel J. 85
 Michel M. 17, 51
 Milazzo 178
 Minck 29, 47, 48, 54, 59,
 80, 81, 85, 94, 97,
 99, 100
 Mischer 42
 Mitchell 50
 Molander 52
 Moniloff 151
 Moore 194, 277, 311
 Mooser 329
 Morowitz 151—135, 162,
 164, 194
 Mortimer 34, 57, 87, 89, 90
 Morton 151, 160, 166,
 172, 246, 292, 309
 Moulton 308
 Moustardier 132
 Mufson 168, 246, 247,
 260, 265, 266, 270
 Murphy 171, 208, 236,
 313, 319—323, 327,
 334—336
Nakamura 161, 234
 Nardone 223, 229
 Nasri 175, 277, 299
 Negroni 208, 319, 320,
 323, 325, 336
 Neimark 156, 171, 201, 246
 Nelson 93, 206, 221,
 279—281, 328
 Nermut 37, 38, 44
 Nicol 165, 168, 286, 288,
 295
 Nocard 5, 273
Oates 301
 Olson 194, 314
 Opie 22, 93
 Organick 252, 280
 Ørskov 7, 144, 145
 Ose 283
Pain 317
 Panijel 114
 Panos 9, 17, 26, 34, 41,
 44—47, 49—51, 54—
 56
 Parker 6
 Parrott 255, 259
 Partridge 47
 Paton 207, 231
 Pease 294
 Peterson 245
 Peristein 163
 Pham Hun Trung 94
 Pijneburg 264

- Plackett 151, 159, 184,
 185, 186, 275
 Plapp 85
 Pollack 161, 171
 Pollock 171, 205
 Ponten 233
 Powelson 206, 219, 229
 Pratt 60, 85
 Prescott 185, 267
 Prestly 172
 Prittwitz-Gaffron 59
 Provost 166
 Pulvertaft 17, 52, 147
 Purcell 168, 171, 172,
 175, 179, 246, 248,
 270, 287, 296
 Putsura 19
Randoll 229
 Razin 31, 44, 51, 54,
 145, 149, 150, 154,
 155-157, 159, 161,
 163, 164, 191, 200
 Reich 157
 Reinhart 255
 Reuss 151
 Revel 197
 Reynolds 53
 Rifkind 252, 253
 Riggs 153, 172
 Roberts 50, 52, 78, 85,
 194, 310
 Robinson 52, 204
 Rodwell 149, 154, 155,
 157-159, 161
 Rökl 289, 296, 329
 Romans 236
 Rosner 105, 134
 Ross 175, 274
 Roth 318
 Rothblat 199, 204, 205
 Rotta 17
 Rottem 45, 135, 154-156
 Rouse 228, 232, 236
 Roux 49
 Rovozzo 207, 212
 Rubio-Huertas 17, 19,
 36, 48, 52, 74, 84
 Ruiter 286, 287, 295
 Ruys 143, 296
 Russel 213, 229, 230
 Ryter 36, 38, 40, 78
Sabin 171, 175, 176, 190,
 193, 310, 314, 317
 Saliba 259
 Salton 44, 51
 Sammons 160
 Sato 85
 Scheibell 53, 57, 84, 97
 Schimke 158, 227, 228,
 236
 Schmidt 337, 338
 Schmitt-Slomska 87, 89,
 92, 94, 126
 Schnauder 85, 92, 103
 Schönfeld 85
 Schumann 72
 Schwab 113,
 Seliba 264
 Sensenbrenner 41, 45
 Senterfit 267
 Sevoian 315
 Sharp 21, 35, 50, 59, 60,
 82, 85, 97, 305,
 308-310, 312, 317,
 343
 Shepard 142, 160, 192,
 205, 206, 221, 227,
 286-289, 291-293,
 298
 Shifrine 180, 186
 Shiply 290
 Shoetensack 175
 Silberstein 83, 41, 91,
 103
 Singer 234
 Singerland 294
 Skalka 156, 175
 Smarda 37, 53
 Smith D. 44, 55, 57, 82,
 150, 155, 157, 158,
 161, 163, 171, 201,
 343
 Smith G. 44, 198, 199
 Smith P. 9
 Smith W. 48, 50, 51, 154,
 156, 159, 200, 227, 267
 Snoke 53
 Sobeslavsky 159, 185,
 186, 215, 244, 247,
 248, 255, 261, 263,
 267
 Somerson 143, 157, 159,
 161, 167, 169, 178,
 201, 210, 214, 243-
 245, 267, 321, 327
 Spanoghe 151
 Stanbridge 172, 209, 231,
 344
 Stansley 328
 Steinberg 267
 Stempen 48
 Stewart 250
 Stinebring 204
 Stock 230
 Stockman 53
 Stokes 294, 297
 Strangways 6
 Strominger 16, 17, 19
 Suhs 265, 266
 Switzer 175, 193, 208, 277,
 278, 299, 309-311
Taber 21, 22
 Tang 144
 Taubeneck 23, 26, 29,
 49, 53, 82, 84
 Taurasowicola 161
 Taylor-Robinson 160,
 166, 167, 168, 170-
 174, 178-180, 193,
 214-217, 243, 244,
 246, 286-288, 299,
 302, 303
 Terranova 23, 44, 56, 82
 Terry 154
 Theodore 135
 Thivolet 254, 261
 Thomas 319, 333
 Thorsson 36
 Tourtellotte 154, 156
 Tulasne 5, 13, 19, 20, 25,
 29, 33, 36, 41, 47-
 49, 52, 53, 57, 72-
 74, 80, 94, 97, 99,
 100, 190
 Tully 155, 168, 176, 179,
 180, 185, 191, 194,
 280, 294, 297, 312,
 313, 317-319, 328,
 329
 Turck 133, 330
 Turner A. 245, 273
 Turner J. 7, 144, 190
Ulrich 93
Van Boven 49, 54
 Van Demark 154
 Van der Veen 254, 261
 Van Herick 171, 172, 214
 Van den Hooff 35
 Van Iterson 36, 51, 151
 Van Nunen 261
 Vendrely 45
 Vigouroux 41, 87, 101
 Villemot 178, 180, 184,
 275
Voureka 132
Wagner 288
 Wannan 255
 Ward 17, 85
 Watson G. 117, 175, 254
 Watson R. 264
 Weibull 21, 26, 34, 36,
 37, 40, 41, 44, 45,
 49, 57, 59, 84, 85, 97
 Weinberger 55, 57, 85
 Weiss 150
 Wepsie 153
 Whittlestone 175, 277, 278
 Willett 85
 Williams 51-53, 56, 286
 Winterbauer 20, 53, 84, 92
 Wittler 34, 47, 84, 87, 92,
 94, 97, 111, 135, 205
 Witzleb 248, 254, 255, 261
 Woglom 312, 313, 319
 Wood 52
 Wright 163
 Wroblewski 193
 Wyrick 49
Yamamoto 194, 284, 299,
 304
 Yoder 145
 Yoshida 173, 184
 Yung 89, 92
Zavagli 304
 Zucker-Franklin 217, 218,
 319

Алфавитный указатель микроорганизмов

- Acholeplasma axantum** 155, 191, 194
 A. granularum (см. *M. granularum*) 194
 A. laidlawii 194 (см. *M. laidlawii*)
Acholeplasmataceae 155, 191, 194, 202
Achromobacter epsteinii 4
Aeromonas hydrophila 186
Agrobacterium tumefaciens 84
Anulomycetaceae 190
Anulomycetales 190
Asterococcus canis 175
 — *muris* 6, 7
Bacillus anthracis 17
 — *licheniformis* 53, 72, 84
 — *megaterium* 5, 84
 — *Morax-Axenfeld* 19
 — *pestis* 87
 — *sp.* 84
 — *subtilis* 18, 23, 24, 69, 84
Bacteroides funduliformis 24
 — *sp.* 20, 29, 73, 84
Bordetella bronchiseptica 278
 — *pertussis* 84
Borellomycetales 7, 190
Brucella abortus 93
 — *melitensis* 79, 84
Candida albicans 105, 106
Caryophanon 4
Clostridium perfringens 80, 84, 99, 136
 — *tetani* 19, 23, 52, 57, 74, 84, 97, 136
Corynebacterium diphtheriae 20, 22, 32, 34, 68, 72, 84
 — *hoffmanii* 133
 — *sp.* 40, 59, 84, 94, 105
 — *xerosis* 186
Diplococcus pneumoniae 21, 22, 71
Escherichia coli 17, 20, 22, 24, 25, 29, 53, 57, 73, 84, 87, 88, 92, 134, 135, 153, 186
Flavobacterium sp. 23, 84
Fusiformis neeroforus 6, 34, 67
Gallionella 195
Haemophilus haemoliticus 133
 — *influenzae* 17, 19, 73, 84, 92, 101, 130
 — *parainfluenzae* 84
 — *pertussis* 87, 97
 — *pleuropneumoniae* 156
 — *vaginalis* 84
Haverhillia multiformis 6
Klebsiella pneumococcus 74, 92, 135
 — *pneumoniae* 87
Listeria monocytogenes 20, 21, 87, 101
Metallogenium 195
Mollicutales 191
Mollicutes 7, 8, 141, 190, 194, 195
Musculomyces neurolyticum (*C. M. neurolyticum*) 317
Mycobacterium tuberculosis 85, 130, 135
Mycrococcus lysodeikticus 5, 53
 — *salivarum* 157—160, 163, 164, 168, 171, 172, 176, 177, 179—181, 184, 185, 193, 208—210, 212, 215, 216, 222, 226, 231, 233, 241, 244, 271, 337
 — *spumans* 158, 193
 — *suipneumoniae* 175, 194
 — *synoviae* 176, 194, 241, 314
Mycoplasma 7, 191
 — *agalactiae* 150, 153, 154, 157, 173—175, 193, 194, 208—210, 216, 233, 240, 241, 276, 305—308, 315, 340, 341
 — *agalactiae bovis* 299
 — *anatis* 176, 194
 — *argini* 194, 234
 — *arthritidis* 145, 146, 150, 153, 154, 157, 158, 173, 176—178, 180, 185, 193, 226, 229, 230, 241, 287, 303, 312, 314, 316, 328, 329, 336, 340
 — *arthropicus* 314
 — *bovigenitalium* 150, 157, 173, 174, 178, 180, 181, 193, 211, 216, 229, 240, 299
 — *bovirhinis* 194
 — *canis* 193, 229
 — *felis* 176, 194
 — *fermentans* 145, 155, 157—160, 163, 168, 172, 177—182, 184, 186, 193, 208, 213, 216, 226, 230, 231, 242, 271, 286, 287, 295, 296, 316, 327, 328, 336
 — *foliminutum* 194
 — *gallinarum* 150, 154, 157, 158, 176, 179, 181, 191, 193, 201, 209, 212, 232, 242
 — *gallisepticum* 142, 143, 146, 150, 152, 153, 155—157, 159, 163, 164, 172, 173, 176, 179—182, 193, 201, 208—210, 212, 214—220, 232, 233, 237, 240, 242, 281—284, 315
 — *gateae* 176, 194
 — *granularum* 155, 175, 180, 208, 241, 310

- Mycoplasma hominis* 142, 147, 150, 152—160, 163—166, 172, 175, 177—183, 187, 193, 196, 200, 201, 208—210, 212, 213, 215, 216, 219, 220, 227, 229—233, 237, 240—242, 244, 270, 271, 286, 287, 291, 292, 294, 295—298, 303, 315, 316, 324, 336, 337
 — *hyoartrinosae* 175, 194, 241, 299, 311
 — *hyogenitalium* 175, 194, 240, 299
 — *hyopneumoniae* 175, 194, 240, 271, 277, 278, 284
 — *hyorhinis* 157, 170, 175, 193, 208, 225, 230, 231, 234, 241, 278, 299, 309—311, 315, 316, 326, 328, 340
Mycoplasma hystopicus 176
 — *hystotropicum* 193
 — *iners* 158, 176, 179, 193, 209, 233, 242
 — *inocuum* 194
 — *laidlawii* 142, 145, 147, 148, 150, 151, 153—155, 157—159, 161—165, 184, 186, 187, 191, 196, 197—200, 208—210, 212, 219, 220, 223, 231, 233, 237, 242, 327, 328
 — *leonis* 194
 — *lipophilum* 178, 194
 — *maculosum* 158, 193
 — *meleagridis* 163, 176, 194, 240, 299
 — *mergenhagen* 194, 320, 324, 326, 327, 337
 — *mycoides* 144, 150, 156, 157, 164, 172—174, 179, 182—184, 186, 193, 210, 274
 — *mycoides* var. *capri* 145, 150, 173, 174, 175, 178—181, 186, 192, 193, 200, 240, 272, 276, 284, 306—308, 341
 — *mycoides* var. *mycoides* 145, 151, 155, 156—157, 173—175, 178, 180, 181, 186, 192, 193, 240, 271, 273—277, 284, 306—308, 316, 340, 341
Mycoplasma neurolyticum 156, 159, 173, 176, 181, 193, 197, 217, 218, 230, 241, 317—319, 328, 336, 341
 — *orale* 155, 158, 160, 161, 164, 171, 172, 176—178, 181, 185, 193, 215—217, 230—232, 241, 242, 244, 271, 327, 328
 — *pharyngis* 163, 177, 193
 — *pneumoniae* 142, 147, 154, 157, 159—161, 163, 164, 169, 171—173, 177—180, 184, 185, 191—193, 201, 206, 207, 214—218, 220, 224, 227, 229, 230, 240, 242, 244, 245, 250, 251, 255—259, 269—271, 273, 341
 — *pulmonis* 145, 157, 159, 173, 176, 179, 181, 183—185, 192—194, 206, 210, 216, 217, 224, 230, 231, 240, 272, 278, 280, 281, 284, 316, 318, 326—328
Mycoplasmataceae 5, 7, 8, 9, 141, 142, 179, 186, 190, 202, 250, 278, 281, 284, 287, 299
Mycoplasmatales 7, 8, 190, 191, 202
 — sp. HeLa 212, 217, 229, 233
Neisseria gonorrhoeae 20—22, 25, 52, 53, 66, 85, 133
 — *meningitidis* 17, 21, 22, 25, 52, 53, 57, 71, 85, 99
Paramycetales 190
Parasitaceae 190
Parvobacteria 87
Pleuropneumoniae-like organism (PPLO) 5
Pleuropneumoniales 190
Proteus 21—23, 45, 50, 53, 54, 56, 59, 87, 135
 — *mirabilis* 29, 37, 40, 49, 51, 53, 57, 85, 88
 — *morgani* 52
 — *vulgaris* 17, 20, 29, 37, 45, 49, 52, 85, 87, 90, 91, 197
Pseudomonas sp. 85
Salmonella 17, 20—25, 50, 86, 87, 91
 — *paratyphi* B. 23, 29, 50, 57, 69, 85, 97
 — *typhi* 19, 32, 42, 43, 49, 52, 55, 57, 68—70, 74, 75, 78, 85, 86, 89, 90, 95, 96, 99, 100, 103, 104, 196—198
 — *typhimurium* 19, 25, 42, 43, 52, 55, 57, 68, 70, 78—80, 85, 86, 88, 90—92, 99, 100, 104
Sapromycetaceae 190
Sarcina lutea 85
Serratia marcescens 85
Shigella boydii 86
 — *flexneri* 57
 — sp. 17, 85, 87
Staphylococcus aureus 17, 25, 32, 40, 52, 57, 68, 89, 99, 134
Staphylococcus sp. 20, 22, 45, 53, 78, 85, 135
Streptobacillus faecalis 18, 25, 85
 — *haemolyticus* 25, 29, 52, 85, 99
 — *moniliformis* 6, 17, 19, 24, 29, 33, 45, 47, 48, 50—52, 54, 55, 57, 58, 67, 85, 91, 99, 103, 105, 188, 189
 — sp. 45
Streptococcus 21, 45, 135, 186
 — *faecalis* 53, 57, 71, 89, 105, 132, 134
 — *haemolyticus* 17, 19, 20, 25, 32, 68, 78, 95, 100, 196, 198
 — *pyogenes* 57
 — *viridans* 23, 24, 87
Streptothrix muris ratti 6
Toxoplasma gondii 317
Tr. pallida 20, 21, 86
V. cholerae 18, 29, 49, 57, 85, 86, 95, 97, 215

Глутамат, окисление у микоплазм 158
Глутаминовая кислота в составе L-форм бактерий 43—45
Глюкоза, превращение у микоплазм 157, 158
Глюкозамин в составе муреинового комплекса 16
Гонорея, выделение L-форм бактерий 133, 134
Гуанин, биосинтез нуклеиновых кислот у микоплазм 157

Дезоксиаденозин, расщепление у микоплазм 159
Дезоксигуанозин, расщепление у микоплазм 159
Дезоксиинозин, расщепление у микоплазм 159
Дезоксихолат натрия, действие на L-формы бактерий 37
Деление L-форм бактерий 48
— микоплазм 152, 153
Диаминопимелиновая кислота (ДАП) в составе муреинового комплекса 15, 26
Дифференциация биохимическая микоплазм 154—161
— — и L-форм бактерий 198—203
— микоплазм 173—183
— и стабильных L-форм бактерий 8, 195, 196, 198—203
— свиной 175
— морфологическая микоплазм и L-форм бактерий 186, 197
— серологическая микоплазм 173—183
— человека 177—183
ДНК микоплазм, включение тимидина 223, 224, 226
— — молекулярный вес 153
— — молярные отношения оснований 156, 157
— L-форм бактерий 45—47
— — биосинтез 44
— — молярные отношения оснований 46
ДНК-содержащие тела L-форм бактерий 41—43
Жирные кислоты, биосинтез у микоплазм 155
— — у L-форм бактерий 47, 48
Заболевания верхних дыхательных путей 246
— — — афебрильные, выделение микоплазм 246
— — — фебрильные, выделение микоплазм 246
— нервной системы 317
— — выделение микоплазм 317—319
— респираторного тракта, выделение микоплазм 249
— суставов крыс 312
— — выделение микоплазм 312—314
— — мышей 312
— — выделение микоплазм 312—314
— — человека 302
— — выделение микоплазм 302, 303
— урогенитальной сферы человека 286
— — — выделение микоплазм 286—294

Иммунохимические особенности микоплазм 183—187

Ингибирование репродукции вируса при микоплазма-инфекции в культуре клеток 232, 233
— — — при латентной микоплазма-инфекции в культуре клеток 234—236
Индол, образование у микоплазм 155
Индукция L-форм бактерий 13—16, 18—20, 30—34
— — — в культуре клеток 93—97
— — — генетический механизм 82
— — — изменение химического состава 45, 46
— — — in vivo 85—93
— — — лизисом 18
— — — лизосомом 18
— — — механизм 81—83, 92, 93
— — — питательные среды 20
— — — фазы 32—36
Инозит, потребность для роста микоплазм 161
Интерферон, образование при смешанной вирус-микоплазма-инфекции в культуре клеток 236
Инфекционный катар дыхательных путей мышей 279—281
— — — крыс 279—281
Инфицирование культур клеток микоплазмами 204—238
— хроническое стабильными L-формами бактерий 137

Канамидин как фактор L-трансформации 17
Каприловая кислота, превращение у микоплазм 158
Карбамилфосфат у микоплазм 158
Карбамилфосфокиназа у микоплазм 158
Карбоксиметаксаламин как фактор L-трансформации 19
Кариорексис у микоплазм 207
Каротиноиды у микоплазм 155
Каталаза у микоплазм 158
— у L-форм бактерий 56
 α -Кетоглутарат, окисление у микоплазм 158
Кислородфосфатаза у L-форм бактерий 56
Кислообразование при микоплазма-инфекции в культуре клеток 297
Классификация микоплазм человека 177—178
Клеточная стенка, потеря ригидности 44
— — синтез 16
Колицины, действие на L-формы бактерий 53
L-Конверсия 13
Контагиозная плевропневмония коз 240, 276, 277
— — свец 240, 276, 277
— — рогатого скота 240, 272—276
Крахмал, превращение у микоплазм 157, 158
Культура клеток, взаимодействие вируса и микоплазм 232—237
Культура клеток, взаимодействие вируса и микоплазм, образование интерферона 236

Культивирование микоплазм 147—152, 154—165

Лактат, окисление у микоплазм 158
Лог-фаза роста микоплазм 165
Лактатдегидрогеназа у микоплазм 158
Лейкемия, выделение L-форм бактерий 134
Лейкоз мышей, выделение микоплазм 328, 329
— человека, выделение микоплазм 241
— — этиологическая роль микоплазм 333—338
— — — L-форм бактерий 329—333
Лейцин 44
— использование у микоплазм 158
— как фактор L-трансформации 19
Лизин 44
— как фактор L-трансформации 18
Лизосомальные ферменты как фактор L-трансформации 90
Лизосом как фактор L-трансформации 18
Лимфома, выделение L-форм бактерий 134
Линкомицин как фактор L-трансформации 17
Липидные компоненты мембран у микоплазм 154
 α -Липоевая кислота, потребность для роста микоплазм 161
Липополисахариды у L-форм бактерий 47
Липолитическая активность у микоплазм 158
Лозостафин, действие на клеточную стенку 17
Люминесцентная микроскопия L-форм бактерий 28
Мальтоза, превращение у микоплазм 157, 158
Манноза в составе муреинового комплекса 16
— превращение у микоплазм 157, 158
Масляная кислота, превращение у микоплазм 158
Маститы коров, микоплазма-инфекция 240
Мембранные белки, серологические свойства 158
Менингит гнойный человека — выделение L-форм бактерий 127—130
Менингоэнцефалит человека, выделение L-форм бактерий 127—130
Метициллин, действие на микробную клетку 16
Метхионин как фактор L-трансформации 18
Метод радиоавтографии, выделение локализации микоплазм в культуре клеток 223, 224
— флуоресцирующих антител, выявление антигенных связей L-форм бактерий и микоплазм 63—66
Микоплазма-инфекция 4, 143, 204—238
— бессимптомное носительство 315
— инфицирующая доза (см. множественность инфекции)
— — латентная 204—206, 223, 224, 232, 237, 238

Микоплазма-инфекция изменения антигенной структуры 237
 — — — метаболизма 237
 — — — митотической активности 237
 — — — хромосомного аппарата 230, 231, 237, 238
 — — — локализация микоплазмы 221, 223
 — — — метаболизм 227—230, 234
 — — — множественность инфекции 219, 220
 — — — острая 208—212
 — — — потребность в азотистых основаниях 157
 — — — детей, распространение 259
 — — — пути передачи 338
 — — — человека 4, 239—241
 — — — распространение 254—261
 Микоплазматология 3, 141
 Микоплазматосительство 286—294
 — — у свиней 309
 — — у человека, лечение 294
 Микоплазмы, локализация адсорбционных участков 217, 218
 — — антигенная структура 183
 — — — 187
 — — — белковые фракции и серологическая активность 184—186
 — — — биологические особенности 8, 141—189, 323—333
 — — — биофизические особенности 161—165
 — — — биохимические свойства 154, 157, 158—161, 325—327
 — — — видовая идентификация 157
 — — — классификация 193, 194
 — — — внутриклеточная локализация 219—226
 — — — выделение, агенты селекции 164
 — — — выживание 163
 — — — гипотеза «бактериального происхождения» 195, 196
 — — — «прогрессивной эволюции» 195, 196
 — — — «регрессивной эволюции» 195, 196
 — — — гризунов 239
 — — — жизненный цикл 144
 — — — взрослые формы, размеры 151
 — — — классификация по этнологическому принципу 239—242
 — — — коз, классификация 174, 175
 — — — колонии, морфология 142, 143
 — — — мембрана, адсорбционные участки 217, 218
 — — — метаболизм 154—161
 — — — механическая хрупкость 163
 — — — микроструктурные элементы, дифференциация 145
 — — — — морфология 144—150
 — — — млекопитающих 241, 298
 — — — молекулярная гибридизация 201, 203
 — — — морфология колоний 142, 143, 146

Микоплазмы насекомых 239
 — — позвоночных 233, 242
 — — птиц 175—177, 239, 240, 242, 298, 299
 — — размножение в бесклеточной среде 219
 — — — в культуре клеток 219—226
 — — — растений 239
 — — — рост, динамика 164, 165
 — — — фазы 147—149
 — — — стеринезависимые 239
 — — — структурная организация 150—154
 — — — Т-штаммы 287—294
 — — — бессимптомное носительство 293, 294
 — — — урогенитальной сферы человека, видовой состав 286—292
 — — — человека, условные наименования 241, 242
 Микроорганизмы, действие L-индуцирующих агентов 67—72
 Миокардит человека, выделение L-форм бактерий 103—105
 Митотическая активность культур клеток при латентной микоплазма-инфекции 237
 — — M. pneumoniae-инфекция детей, распространение 259
 — — — вспышка семейная 264
 — — — человека, распространение 254—266
 — — — с диагнозом пневмония, частота 262, 263
 Молочная кислота, образование у микоплазм 156
 Морфогенез L-форм бактерий 7
 — — — этапы 34—36
 Мочевина, расщепление у микоплазм 159
 Мурамовая кислота 43—44
 Мурени 15, 16
 Мурениновый комплекс, состав 15
 Мурелатические ферменты 18
 Муцин, потребность для роста микоплазм на искусственных средах 157
 НАДН₂-оксидаза у микоплазм 158
 НАДФН₂-оксидаза у микоплазм 158
 Негоноккиновый уретрит (НГУ) 285—293
 — — выделение L-форм бактерий 286, 288—292
 — — — этиологическая роль микоплазм 285, 292, 293
 — — — — — реакция агглютинации (РАГ) 296
 — — — — — ингибирования метаболизма (РИМ) 296, 297
 — — — — — роста (РИР) 297
 — — — — — пассивной гематоглицинации (РПГА) 297
 — — — — — связывания комплемента (РСК) 296, 297
 Нейраминидаза, образование у L-форм бактерий 37
 Некроз очаговый печеночных клеток при инфекции L-формами бактерий 102, 103
 Неоминин как фактор L-трансформации 17

Нестабильные L-формы бактерий 3
 Никотинамид, потребность для роста микоплазм 161
 Никотиновая кислота, потребность для роста микоплазм 161
 Нитевидные L-формы бактерий 13
 Нитриты, восстановление у микоплазм 158
 Новоблоция как фактор L-трансформации 17
 Нуклеиновые кислоты микоплазм 157
 — — — гомология 157
 — — — метаболизм 159
 — — — ферментативная активность 159
 Нуклеопротеиды, биосинтез 157
 Нуклеотидный состав микоплазм 156, 157, 201, 203
 — — — L-форм бактерий 47
 Оптимум pH для роста L-форм бактерий 52
 — — — микоплазм 156
 Опухоли животных, выделение микоплазм 319
 Орнитин в обмене микоплазм 158
 Орнитинтранскарбамидаза у микоплазм 158
 Остеомиелит, выделение L-форм бактерий 134
 — — — хронический, выделение L-форм бактерий 134
 Острые респираторные заболевания, этиологическая роль микоплазм 246
 — — — вспышки, выделение микоплазм 258—259
 — — — удельный вес M. pneumoniae 256, 257
 Пантотеновая кислота, потребность для роста микоплазм 161
 Патогенность L-форм бактерий, 9, 95—103
 — — микоплазм 9
 Патогенные потенции L-форм бактерий 82—91
 — — — — — сохранение 97, 98
 Патологическая реакция животных на инфицирование L-формами бактерий 112—126
 Патология человека, роль L-форм бактерий 82—138
 Пенициллин, действие на клеточную стенку 16, 17
 — — — L-индуцирующая активность 86
 Периаэритриты, выделение L-форм бактерий 134
 Пероксидаза у микоплазм 159
 Персистенция гемолитического стрептококка 92
 — — сальмонелл 90, 91
 — — — L-форм бактерий 86—93
 — — — — — механизм 92, 93
 — — — — — лечение 311
 Пиелонефрит экспериментальный кролика 137
 — — — хронический, выделение протопластов 133
 Пиноз 207
 Пиридоксаль, потребность для роста микоплазм 161
 Пиридоксин, потребность для роста микоплазм 161
 Пируват в биосинтезе липидов 155
 Первичные атипичные пневмонии (ПАП) 337

Первичные атипичные пневмонии этиологическая роль микоплазм 246, 247, 249—251

Пневмонии небактериальные, выделение микоплазм 242, 244—248

— — клиника 246—248

— — терапия 248

Полисахаридные фракции микоплазм, серологическая активность 184—186

Полисахариды микоплазм 156

Полисерозиты свиней, выделение микоплазм 309, 310

— — этиологическая роль микоплазм 241

Поражение суставов птиц, микоплазма-инфекция 314, 315

Поражения суставов свиней, высеваемость микоплазм 311

— — — лечение 311

Продифферентивно-трансформирующий эффект микоплазма-инфекции в культуре клеток 212—214

Пропиолаток В, стерилизация сред 161

Протопласты 13

— гликолипидная фракция 48

— факторы формирования 16

— фосфолипидная фракция 48

Рамноза 44, 47

— в составе муренинового комплекса 16

Реакция агглютинации (РАГ) при микоплазма-инфекции 165—173, 179, 180, 182, 183

— гель-диффузии (РГД) при микоплазма-инфекции 165, 167, 168, 178, 180, 181, 186, 187

— иммунофлуоресценции (РИФ) при микоплазма-инфекции 165, 168, 169, 171, 178, 180, 185

— иммуноэлектрофореза (РИО) при микоплазма-инфекции 165

— ингибирования метаболизма (РИМ) при микоплазма-инфекции 165, 168, 171, 172, 185

— — роста (РИР) при микоплазма-инфекции 165, 168—172, 176, 178—180, 182

— латекс-агглютинации (РЛА) при микоплазма-инфекции 165, 166

— нейтрализации (РН) при микоплазма-инфекции (см. реакция ингибирования роста)

— патологическая обезьян на экспериментальное инфицирование стрептококком 115—127

— пассивной гемагглютинации (РПГА) при микоплазма-инфекции 165, 168, 177, 178, 180, 185, 187

— преципитации (РП) при микоплазма-инфекции 165, 167, 180—187

— связывания комплемента (РСК) при микоплазма-инфекции 165—167, 170, 173, 174, 176, 178—181

Реакция торможения гемагглютинации (РТГАД) при микоплазма-инфекции 171, 173, 178, 180

— — гемагглютинации (РТГАГ) при микоплазма-инфекции 171, 173

Реверсия бактерий из L-форм 73—81

— — — ингибирование D-метионином 72

— — — in vivo 91

— — — механизм 83, 92, 93

— — — морфогенез 73—81, 83

— — — — этапы 73—78

— — — — морфология 74—77, 83

— — — — продолжительность пассирования 68, 69

— — — — условия 72, 73

— — — — частота 72

— коринебактерий в культуре клеток 94

— сальмонеллы 78—81, 91

— протей стабильной L-формы 91

— стафилококков, морфогенез 76—78

— стрептококка гемолитического 92

— — морфогенез 76

Ревертанты стрептококков, морфологические элементы 75, 76

Ревматизм, выделение L-форм стрептококков 111

Ревматический полиартрит человека, выделение L-форм стрептококка 108—111

Ревматоидный артрит, выделение L-форм бактерий 134

Рентгеновы лучи как фактор L-трансформации 19

Репродуктивный цикл L-форм 48—50

Репродукция L-форм бактерий 48—50

— — — микроструктуры 49

— — — элементарные тела 49

Респираторный микоплазмоз птиц 281—284

Рибоза, биосинтез нуклеиновых кислот 157

Рибофлавин, потребность для роста микоплазм 161

Ристоцитин, действие на клеточную стенку 16, 17

— ингибирование биосинтеза клеточной стенки 52

РНК-содержащие структуры L-форм бактерий 41—43

РНК, молярные соотношения оснований у L-форм бактерий 46

Сахароза, стабилизация L-форм бактерий 50

Септический эндокардит, выделение L-форм стрептококка 105—109

Серин 44

Сероводород, образование у микоплазм 158

Серио-эпидемиологические исследования микоплазма-инфекции 254—272

Синдром Олдриха, выделение L-форм бактерий 134

— Сьегрена, выделение L-форм бактерий 134

Синовииты свиней, выделение микоплазм 310, 311

Системная красная волчанка, выделение L-форм бактерий 134

Спирты одноатомные, превращение у микоплазм 158

Среды питательные для культивирования микоплазм 160, 161

Стабилизация L-форм бактерий 7

— — — механизм 83

— — — потребность в катионах 51

— — — условия 83

— — — факторы 50

— — — фосфолипиды 51

— — — культур L-форм бактерий 67—72

Стабильные L-формы бактерий 3

Стероиды 155

Стрептокиназа, образование у L-форм бактерий 57

О-Стрептолизин, образование у L-форм бактерий 57

Стрептомицин как фактор L-трансформации 17

Сукцинатдегидрогеназа у микоплазм 158

— у L-форм бактерий 57

Сульфаниламиды как факторы L-трансформации 19

Сферические тела L-форм бактерий, размеры 32—34

Сферопластоподобные тела 13

Сферопласты 13

— действие детергентов 37

— условия образования 86

— этапы образования 40

Сыворотка лошади, L-индуцирующий эффект 86

— человека, L-индуцирующий эффект 86

Таксономическая идентификация L-форм бактерий 47

Таксономические признаки микоплазм человека 159, 160

Таксономия микоплазм 190—194

Тетразолий соединения, восстановление у микоплазм 158

Тетрациклин как фактор L-трансформации 17

Тиамин, потребность для роста микоплазм 161

Тимидин, расщепление у микоплазм 159, 160

Тирозин, использование у микоплазм 158

Токсические вещества, образование у микоплазм 159

«Транзитные формы» 13

L-Трансформация бактерий 13, 14

— — действие антибиотиков 16—18

— — значение видовых особенностей 22—25

— — — индукция 17

— — — спонтанная 24

— — — частота 24

— — — in vivo 87—90

— трепонем 86

— — при лечении пенициллином 86

L-Трансформирующий эффект, доза антибиотика 25—27

Трансформирующий эффект при микоплазма-инфек-

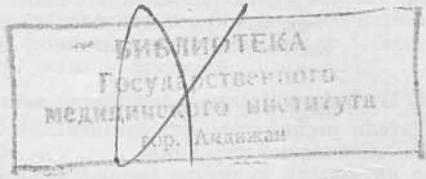
Оглавление

| | |
|--|-----|
| Введение | 3 |
| ЧАСТЬ I. L-ВАРИАНТЫ МИКРООРГАНИЗМОВ И ИХ РОЛЬ В ПАТОЛОГИИ | |
| <i>Глава I. Факторы и условия индукции L-вариантов бактерий.</i> | 15 |
| Факторы индукции L-вариантов бактерий | 15 |
| Состав питательных сред, условия индукции и культивирования L-форм бактерий | 20 |
| Значение индивидуальных особенностей вида, штамма и популяции бактерий для L-трансформации | 22 |
| <i>Глава II. Биологическая характеристика L-вариантов бактерий.</i> | 28 |
| Морфология колоний и микроструктурных элементов. Ультраструктурная организация | 28 |
| Морфология L-колоний | 29 |
| Морфология микроструктурных элементов L-колоний. | 31 |
| Ультраструктурная организация | 36 |
| Физиологические особенности L-вариантов бактерий. | 41 |
| ДНК- и РНК-содержащие структуры L-форм по данным цитохимии. | 41 |
| Особенности химического состава | 43 |
| Особенности репродукции. | 48 |
| Механическая и осмотическая хрупкость. Чувствительность к некоторым поверхностно-активным агентам и бактериофагам. | 50 |
| Условия культивирования, ферментативная активность. | 53 |
| Антигенная характеристика L-вариантов бактерий. | 57 |
| <i>Глава III. Стабилизация L-форм бактерий. Реверсия бактерий из L-форм и биологическая характеристика бактерий-ревертантов</i> | 67 |
| Стабилизация L-форм бактерий | 67 |
| Реверсия бактерий из L-форм и биологическая характеристика ревертантов | 72 |
| Некоторые данные о генетических механизмах индукции, стабилизации и реверсии L-вариантов бактерий. | 81 |
| <i>Глава IV. L-формы бактерий в патологии человека</i> | 84 |
| Патогенные потенции L-форм бактерий. | 84 |
| Индукция L-форм, их персистенция и реверсия in vivo. | 85 |
| Индукция, персистенция, цитопатический эффект и реверсия L-форм в клеточных культурах. | 93 |
| Факторы патогенности L-форм бактерий. Патологические реакции животных в ответ на экспериментальное инфицирование | 97 |
| Выделение L-форм бактерий при некоторых заболеваниях человека. Экспериментальные модели патологических процессов, вызванных L-формами бактерий | 105 |
| L-формы бактерий при сепсисе, септическом эндокардите и ревматизме | 105 |
| Экспериментальные патологические процессы, индуцированные введением стрептококков и их L-форм. Экспериментальная ангина обезьян. | 111 |
| L-формы бактерий при гнойных менингитах и менингоэнцефалитах. | 127 |
| Экспериментальный менингит кроликов. | 130 |

| | |
|--|-----|
| L-формы бактерий и другие варианты с дефектом клеточной стенки при заболеваниях мочеполовой сферы человека и при других воспалительных процессах | 132 |
| Проблема идентификации L-форм бактерий. | 135 |
| ЧАСТЬ ВТОРАЯ. СЕМЕЙСТВО MYCOPLASMATACEAE В ПАТОЛОГИИ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ | |
| <i>Глава V. Биологическая характеристика семейства Mycoplasmataceae.</i> | 142 |
| Морфологическая характеристика микоплазм. | 142 |
| Морфология колоний | 142 |
| Морфология микроструктурных элементов микоплазм. | 144 |
| Ультраструктурная организация микоплазм. | 150 |
| Физиологическая и биохимическая характеристика микоплазм. | 154 |
| Химический состав, особенности метаболизма. | 154 |
| Биофизическая характеристика. Чувствительность к физическим и химическим воздействиям. Фазы роста. | 161 |
| Антигенная характеристика микоплазм. | 165 |
| Методы серологического изучения микоплазм. Межвидовая и внутривидовая дифференциация. | 165 |
| Серологическая классификация микоплазм. Межвидовая и внутривидовая дифференциация | 173 |
| Иммунохимическая характеристика микоплазм. | 183 |
| <i>Глава VI. Филогения и таксономия класса Mollicutes.</i> | 190 |
| Классификация класса Mollicutes. | 190 |
| Классификация рода Mycoplasma (по Edward, Freundt, 1969b). | 193 |
| Филогения микоплазм, их сходство и различия с L-формами бактерий. | 195 |
| <i>Глава VII. Инфекционный процесс, вызванный микоплазмами в клеточных культурах</i> | 204 |
| Поведение микоплазм в культурах клеток. | 204 |
| Латентная микоплазма-инфекция клеточных культур. | 204 |
| Острая микоплазма-инфекция культур клеток. | 206 |
| Пролиферативно-трансформирующий эффект, вызванный микоплазмами | 212 |
| Процесс взаимодействия микоплазм и клеток. | 214 |
| Первая фаза взаимодействия микоплазм и клеток. | 214 |
| Размножение микоплазм в клеточных культурах. Внутри- и внеклеточная локализация микоплазм | 219 |
| Некоторые биохимические аспекты взаимодействия микоплазм и клеток | 227 |
| Некоторые цитогенетические аспекты взаимодействия микоплазм и клеток | 230 |
| Взаимодействие микоплазм и вирусов при смешанной инфекции клеточных культур | 232 |
| <i>Глава VIII. Семейство Mycoplasmataceae в патологии человека и животных.</i> | 239 |
| Микоплазмы — возбудители респираторных болезней. | 240 |
| Группа респираторных микоплазма-инфекций. | 242 |
| Небактериальные пневмонии и другие респираторные заболевания человека, этиологически обусловленные <i>M. pneumoniae</i> и <i>M. hominis</i> 1. | 242 |
| Биологическая характеристика <i>M. pneumoniae</i> | 243 |
| Методы лабораторной диагностики. | 243 |
| Клиника и терапия. | 246 |
| Клинико-микробиологические, клинико-серологические и экспериментальные доказательства этиологической роли <i>M. pneumoniae</i> при заболеваниях респираторного тракта. | 249 |
| Эпидемиология респираторных заболеваний, вызванных <i>M. pneumoniae</i> | 254 |
| Микоплазмы — возбудители респираторных заболеваний млекопитающих и птиц | 272 |
| Контагиозная плевропневмония крупного рогатого скота | 272 |
| Контагиозная плевропневмония коз и овец. | 276 |
| Энзоотическая пневмония свиней. | 277 |
| Бронхоэктатическая болезнь и бронхопневмонии лабораторных и диких крыс | 278 |
| Инфекционный катар дыхательных путей мышей и крыс. | 279 |
| Респираторный микоплазмоз птиц. | 281 |
| Группа микоплазм, связанных с заболеваниями мочеполового тракта. | 285 |
| Микоплазма-инфекция человека. | 285 |

| | |
|---|-----|
| Микоплазмы млекопитающих и птиц. | 298 |
| Микоплазма-инфекция при сложных воспалительных синдромах и заболеваниях суставов человека, животных и птиц. | 300 |
| Уретро-конъюнктивально-синовиальный синдром Рейтера человека | 300 |
| Заболевания суставов человека. | 302 |
| Агалактия коз и овец. | 304 |
| Спонтанные и поствакцинальные артриты рогатого скота, вакцина <i>M. mycoides</i> var. <i>mycoides</i> | 306 |
| Полисерозиты и артриты свиней. | 309 |
| Серозные синовиты свиней, вызванные <i>M. granularum</i> | 310 |
| Поражения суставов у свиней, связанные с <i>M. hyoarthrinosa</i> | 311 |
| Микоплазмы при заболеваниях суставов крыс и мышей. | 312 |
| Микоплазма-инфекция при поражениях суставов у птиц. | 314 |
| Микоплазмы при заболеваниях нервной системы. | 317 |
| Микоплазмы и другие микроорганизмы с дефектом клеточной стенки при опухолях и лейкозе человека и животных. | 319 |
| Выделение микоплазм от больных лейкозом и при некоторых других опухолевых процессах человека. | 320 |
| Биологическая характеристика микоплазм, выделенных от больных лейкозом и при некоторых опухолях других | 323 |
| Выделение микоплазм от больных лейкозом мышей и при других злокачественных новообразованиях. | 328 |
| L-формы бактерий и близкие им варианты бактерий при лейкозе и других опухолях | 329 |
| Роль микоплазм в этиологии и патогенезе лейкоза и других опухолевых процессов человека и животных. | 333 |
| Заключение | 340 |
| Послесловие | 343 |
| Литература | 346 |
| Авторский указатель | 379 |
| Алфавитный указатель микроорганизмов | 383 |
| Предметный указатель | 385 |

108960



Тимаков Владимир Дмитриевич, Казан Гитта Яковлевна
L-ФОРМЫ БАКТЕРИЙ И СЕМЕЙСТВО MYCOPLASMATACEAE ПАТОЛОГИИ

Редактор *Я. А. Парнес*
 Художественный редактор *В. И. Микрикова*. Технический редактор *Н. С. Кузьмина*. Корректор *М. П. Молокова*. Оформление художника *С. С. Елинсон*

Сдано в набор 27/VII 1972 г. Подписано к печати 16/I 1973 г. Формат бумаги 70×100^{1/16}=24,50 печ. л. +0,25 печ. л. вкл. (условных 32,18 л.) 35,84 уч.-изд. л. Бум. тип. № 1. Тираж 2500 экз. Т-01617. МН-72. Заказ 0636. Цена 4 р. 61 к.

Издательство «Медицина». Москва, Петроверигский пер., 6/8.

Ордена Трудового Красного Знамени Московская типография № 7 «Искра революции» Союзполиграфпрома при Государственном комитете Совета Министров СССР по делам издательств, полиграфии и книжной торговли.
 Москва, К-1, Трехпрудный пер., 9