

Серія диссертаций, допущенныхъ къ защитѣ въ ИМПЕРАТОРСКОЙ Военно-Медицинской Академіи въ 1890—1891 академическомъ году.

№ 98.

# КЪ ВОПРОСУ О ПАРАЗИТОЛОГИИ И ТЕРАПИИ БОЛОТНОЙ ЛИХОРАДКИ.

ДИССЕРТАЦІЯ

на степень доктора медицины

ЛЕКАРЯ

ДМИТРИЯ ЛЕОНИДОВИЧА РОМАНОВСКАГО.

Изъ Кабинета Клиническаго профессора М. И. Афанасьева при Петербургскомъ Николаевскомъ военномъ госпиталѣ.

Цензорами диссертации, по порученію Конференціи, были профессора: Л. В. Поповъ, А. Ф. Баталитъ и приватъ-доцентъ, клиническій профессоръ М. И. Афанасьевъ.



С.-ПЕТЕРБУРГЪ.

Типографія И. П. Скороходова (Надсудная, 43).

1891.

тактъ и подъ влияніемъ леченія, мы позволимъ изложить технику, благодаря которой намъ удалось окрасить ядро на сухихъ препаратахъ крови, чего авторамъ не удавалось и что нѣкоторые авторы считаютъ прямо невозможнымъ.

*Тезиса.* «L'aveoir appartient à l'hématologie» говоритъ Пауемъ \*). Хотя физиологія и патологія крови уже съ давнихъ поръ была предметомъ изслѣдованій многихъ ученыхъ, но только въ послѣднее время открыты факты, имѣющіе существенное значеніе въ патологіи крови, такъ что наука о болѣзненныхъ измѣненіяхъ ея (малярія, анемія и т. д.) и особенно методика ея изслѣдованія одна изъ новѣйшихъ отраслей нашихъ знаній. Но уже теперь, не смотря на всѣ недостатки, при современной медицинской діагностикѣ, гематологія должна занять видное мѣсто на ряду съ изслѣдованіями мочи, мокроты, кала, давая цѣныя, даже специфическія указанія, какъ напр.: при маляріи, возвратномъ тифѣ, лейкеміи и т. п. Если по одной характерной туберкулезной палочкѣ мы можемъ установить діагнозъ туберкулеза, то тѣмъ болѣе по одному кровепаразиту маляріи мы можемъ установить безошибочное распознаваніе, такъ какъ врядъ-ли можно допустить толкованіе о случайномъ попаданіи его въ препаратъ крови. Но для этого нужно знать отличительные признаки паразита, болѣе характерные, чѣмъ это было до сего времени.

Вышеприведенные сомнѣнія и споры объ искусственности или реальности паразита уже говорятъ за это; надо было имѣть морфологическіе признаки не меньше тѣхъ, которыми мы располагаемъ при распознаваніи туберкулезной палочки, чего, конечно, не могло быть при незнаніи строенія паразита маляріи, которое лучше всего можетъ быть выяснено примѣненіемъ соответствующей окраски, а то вѣдь возможно смѣшать вакуолу съ паразитомъ. При тяжкихъ пораженіяхъ крови особенно часто описываютъ появленіе въ красныхъ кровяныхъ тѣльцахъ разнообразныхъ вакуоль, т. е. безцвѣтныхъ неокрашенныхъ мѣстъ. Вѣрюжскій \*\*) особенно много видалъ ихъ при злокачественномъ малокровіи и маляріи.

\*) Du sang etc.

\*\*) Къ ученію объ измѣненіяхъ красныхъ кровяныхъ тѣлецъ при злока-

Здѣсь, кстати, позволимъ себѣ замѣтить, что, по нашему мнѣнію, значительная часть этой вакуолизациі, вѣроятно, искусственнаго происхожденія, такъ какъ, изучая кровь маляриковъ и анемиковъ, мы замѣтили, что появленіе ея много зависитъ отъ способа приготовленія и обработки препарата крови. Стоитъ замедлить высушиваніе крови—вакуоль появляется больше. Изъ двухъ препаратовъ крови одной и той же крови, изъ которыхъ одинъ медленно высушенъ на воздухѣ, а другой быстро надъ газовымъ или спиртовымъ пламенемъ, въ первомъ при анеміи вакуоль много, а во второмъ онѣ ссыхиваются съ трудомъ, между тѣмъ какъ пойкилоцитозъ въ томъ и другомъ выражеть въ одинаковой степени. То же самое наблюдали мы при маляріи и другихъ болѣзняхъ, съ тою лишь разницею, что какъ будто не во всѣхъ случаяхъ одинаково скоро наступаютъ подобныя измѣненія. Отсюда очевидна осторожность, съ какою надо высказываться и нежелковывать вакуолизацию и съ какою надо готовить препараты крови.

Занимаясь изученіемъ малярійнаго паразита, заключеннаго въ красномъ кровяномъ шарикѣ, намъ надо было избрать такой методъ, при которомъ прежде всего хорошо сохранялся бы самый шарикъ, такъ какъ иначе его измѣненія могли бы маскировать строеніе содержащагося въ немъ паразита.

Мы не будемъ говорить объ изслѣдованіи крови въ жидкомъ ея состояніи, а изложимъ методику изслѣдованія кровепаразита маляріи по сухимъ препаратамъ крови.

Въ виду того, что анатомическіе элементы крови представляютъ собою тѣла крайне нестойкія, легко подвергающіяся измѣненіямъ формы подъ влияніемъ высыхаша и другихъ условий, если не приняты соответствующія мѣры предосторожности при изготовленіи препарата, мы прежде всего скажемъ нѣсколько словъ о приготовленіи микроскопическихъ препаратовъ крови по старинному Велькеровскому способу.

При быстромъ и аккуратномъ изготовленіи препаратовъ

крови по этому способу анатомическіе элементы крови вполне удерживаютъ свою форму, и—что тоже важно—препаратъ можетъ сохраняться неопредѣленно долгое время.

Сухіе препараты крови даютъ возможность изслѣдовать ихъ въ любое время, принимать къ нимъ различныя красящія вещества, собирать коллекціи. Слой крови, конечно, долженъ быть на столько тонокъ, чтобы шарики лежали по возможности изолированными одинъ отъ другаго, не образуя кучъ и монетныхъ столбиковъ.

Для приготовленія требуемыхъ препаратовъ необходимы слѣдующіе моменты: 1) добыть кровь, 2) размазать ее тончайшимъ слоемъ на стеклѣ и 3) фиксировать на послѣднемъ.

Обыкновенно кровь добывается уколомъ иглой (граненой или ланцетовидной) изъ мякоти пальца руки, а нѣкоторые авторы въ послѣднее время стали брать ее изъ мочки уха. Палецъ удобенъ уже потому, что мы можемъ его легко дезинфицировать какъ до, такъ и послѣ изслѣдованія и при многократныхъ изслѣдованіяхъ соблюдать тождество условій, такъ какъ на десяти пальцахъ гораздо легче найти нетронутое уколомъ мѣсто, чѣмъ на небольшихъ мочкахъ ушей.

3-й фалангъ какого-нибудь пальца, предварительно вымытого, крѣпко обтирается тряпкой сначала спиртомъ, потомъ эфиромъ. Этимъ достигается, кромѣ чистоты и сухости кожи, нѣкоторый усиленный приливъ крови къ ней и уничтоженіе венознаго застоя въ кожѣ пальца. Не мѣшаетъ такимъ способомъ вычистить и пальцы изслѣдователя. Далѣе—иглой, предварительно прокаленной и охлажденной, дѣлается въ мякоть пальца довольно глубокой уколъ, изъ котораго быстро появляется капля крови. Обыкновенно первую каплю мы удаляемъ сильнымъ стираніемъ совершенно чистой тряпкой и пользуемся слѣдующею, беря такимъ образомъ новую каплю для каждаго препарата крови. Въ случаѣ же, если кровь переставала вытекать, мы заставляли изслѣдуемаго субъекта сильно двигать рукой, послѣ чего кровотеченіе возобновлялось; выдавливаніе мы примѣняли въ случаѣ крайней слабости больнаго (анемичнаго и брюшно-тифознаго). Послѣ приготовленія препаратовъ палецъ снова обмывается спиртомъ, и кровотеченіе быстро оста-

навивается; если же итѣть, то достаточно поднять руку кверху на минуту, чтобы края ранки слиплись и кровь перестала сочиться. При каждомъ слѣдующемъ приготовленіи препаратовъ мы брали кровь изъ другого пальца, что, по нашему мнѣнію, можетъ имѣть значеніе при изслѣдованіи крови на содержаніе въ ней бѣлыхъ шариковъ.

Высушившая капля воспринимается на стекло, на которомъ она должна быть распространена на столько тонкимъ слоемъ, чтобы шарики лежали по возможности изолированными одинъ отъ другаго. Для этой цѣли Науеш\*) размазываетъ маленькую каплю крови по предметному стеклу (которымъ прикасается къ слегка выдавленной капелюшкѣ) стеклянной палочкой. «L'agitateur ne doit passer qu'une fois sur le sang. On fouette alors fortement l'air avec la lame couverte de sa petite couche de sang et en quelques secondes la dessiccation est obtenue». (4).

Точъ въ точъ тоже совѣтуетъ Вѣрюжскій\*\*). Kruse размазываетъ кровь платиновымъ шпательемъ, при чемъ, по его мнѣнію, красные шарики лучше сохраняются и при высушиваніи на воздухѣ они располагаются болѣе равномернымъ слоемъ, чѣмъ при быстромъ фиксированіи. Надо замѣтить, что при неосторожномъ высушиваніи надъ пламенемъ, кровь пузырится и даетъ кучки измѣненныхъ шариковъ.

Pfehn размазываетъ каплю крови шпательемъ изъ слюды также на предметномъ стеклѣ; Сахаровъ размазываетъ кровь краемъ гладко обрѣзанной бумаги; Dolega размазываетъ кровь на предметномъ стеклѣ стеклянной палочкой или краемъ полированного стекла; Lavegan приготовляетъ сухіе препараты крови по Науен'у, а въ послѣднее время между двумя покровными. Нѣкоторые авторы не говорятъ о приготовленіи сухихъ препаратовъ крови, считая это достаточно извѣстнымъ. Уже à priori можно заключить, что этотъ грубый способъ приготовленія препаратовъ крови недостоинъ подражанія. Какъ бы не было иѣжко давленіе шпателя или палочки, все-таки оно огромно въ сравненіи съ иѣжкимъ кровянымъ шарикомъ. Въ этомъ мы убѣдились, разсматривая подобнымъ образомъ при-

\*) Du sang etc.

\*\*) Волѣнки крови и методы климическаго ея изслѣдованія. 1890 г. Слб.

готовленные сухіе препараты крови, на которыхъ самое частое явленіе—это обломки красныхъ шариковъ, расположенныхъ по направлению движенія размазываемой крови, кучи грануляцій бѣлыхъ шариковъ и голыя ядры послѣднихъ.

Гораздо лучше, по нашему мнѣнію, способъ размазыванія крови между двумя покровными стеклышками уже потому, что, исключивъ надавливаніе, допускаемое нѣкоторыми авторами, у насъ дѣйствуетъ болѣе или менѣе равномерная давящая сила тяжести покровнаго стеклышка, а двигателемъ для крови является капиллярное пространство, образующееся между стеклышками. Въ лучшей формѣ это достигается способомъ Ehrlich'a.

Но прежде чѣмъ говорить о самомъ способѣ, мы позволимъ замѣтить, что для полученія хорошихъ препаратовъ крови необходимы по возможности абсолютно чистыя \*) покровныя стекла, которыя обыкновенно сильно загрязняются при ихъ производствѣ и таковыми поступаютъ въ продажу.

Тщательно вымывъ и перетеревъ стеклышки чистой тряпкой и помѣстивъ въ плоскую чашечку, употребляемую для культуръ, мы нагреваемъ ихъ нѣкоторое время въ сухой банѣ выше 140° С., главнымъ образомъ для полного осушенія; затѣмъ закрываемъ названную чашечку такою же большою и такимъ образомъ сохраняемъ стеклышки до изслѣдованія, вынимая пинцетомъ только необходимое количество ихъ.

Методъ Ehrlich'a хорошо изложенъ Gollasch'емъ \*\*), который совѣтуетъ при изготовленіи препаратовъ крови держать стекла обязательно пинцетами, чтобы устранить дѣйствіе влажности пальцевъ препаратора, которая значительно искажаетъ форменные элементы крови.

Но находя разницы при многократныхъ контрольных изслѣдованіяхъ между препаратами, приготовленными при держаніи стеклъ пинцетами и держаніи ихъ голыми руками, мы болѣею частью держали стекла прямо пальцами, что считали

\*) О чистотѣ см. у Гейденрейха въ его «Прибавленіи ко II изданію методъ изслѣдованія живыхъ организмовъ», 1887 г. стр. 33.

\*\*) Friedländer, Microscopische Technik, IV. Auf. стр. 158 и 159.

для себя болѣе удобнымъ, такъ какъ съ пинцетами тратится гораздо болѣе времени.

Покровное стекло срединной поверхности прикладывается къ верхушкѣ маленькой свѣжее-высушившей капли крови, которая къ нему поэтому прилипаетъ, и быстро опускается на другое стекло, при чемъ кровь расплывается между стеклами тонкимъ слегка лучистымъ слоемъ. Порѣдко можно замѣтить, что при приближеніи стекла къ каплѣ крови, оно отпотѣваетъ съ нижней поверхности, туманится, чего не бываетъ съ нагрѣтыми стеклами или если кровь пробудетъ нѣсколько секундъ на пальцѣ.

Для ускоренія этого расплыванія Ehrlich допускаетъ легкое надавливанье на верхнее стекло. Надо помнить, что при накладываніи стекломъ не надо вполне покрывать одно другимъ, а такъ сказать череницеобразно, оставляя свободные края, за которые можно захватить стеклышки. Затѣмъ по прекращеніи расплыванія крови, они раздвигаются, скользя одно по другому. На обоихъ стеклахъ такимъ способомъ получаются два тонкихъ слоя крови, быстро высыхающихъ на воздухѣ, чѣмъ избѣгается появленіе «Phänomene der Agonie der Zellen» \*).

Для цѣлей фиксаціи послѣ высушиванія на воздухѣ препараты по Ehrlich'у «прокалываются» при 120° С. въ продолженіи 2 часовъ на металлической пластинкѣ, нагрѣваемой газовымъ пламенемъ.

Авторы, работавшіе съ этимъ методомъ, многообразно измѣняли его и лучшей модификаціей его для нашихъ цѣлей является, по нашему мнѣнію, видоизмѣненіе Ускова \*\*), которымъ мы пользовались при нашихъ изслѣдованіяхъ. Этотъ авторъ, раздвинувъ стекла руками, моментально высушиваетъ полученные препараты, помещая ихъ далеко надъ пламенемъ.

«Прокалываніе» происходитъ въ сухой банѣ. Хенциевскій принималъ кровь между нагрѣтыми покровными стеклами и, раздвинувъ ихъ, тоже высушивалъ надъ пламенемъ.

Нагрѣваніе или «прокалываніе» по нѣмецкой терминологіи

\*) Schwarze. Ueber eosinophile Zellen. Diss. Berlin. 1880 г.

\*\*\*) Кровь какъ ткань. 1890 г. Спб.

(наилучшее для наших цѣлей при 105—110° С. не менѣе 30 минутъ), какъ фиксація необходимо: 1) чтобы кровь не смылась со стекла какъ при обработкѣ ея различными красящими веществами, такъ и при отмываніи послѣднихъ, 2) чтобы гемоглобинъ не вымывался изъ красныхъ шариковъ. Пѣкоторые авторы для фиксаціи предпочитаютъ химическіе агенты: Dolega и Plehn для этой цѣли погружаютъ препараты въ алкоголь на 5—10 минутъ, Kruse—въ концентрированный растворъ сублимата, Rosin и пѣкоторые другіе довольствуются трехкратнымъ проведеніемъ препарата черезъ пламя.

Нагрѣваніе мы избрали какъ наилучшій способъ фиксаціи, не вводящій ничего посторонняго въ препаратъ, не измѣняющій элементовъ крови и не мѣшающій окраскѣ ея.

Полученные тѣмъ или инымъ способомъ сухіе препараты малярійной крови многіе авторы подвергали различной окраскѣ, чтобы рельефнѣе выдѣлать паразита, трудно отличимаго отъ вакуоля и въ живой, а тѣмъ болѣе сухой крови, когда вакуолизация получается и искусственно.

Глугогал примѣнялъ для окраски главнымъ образомъ кармиль, примѣшивая его прямо къ крови, и остался недоволенъ окраской паразита.

Авторъ полагаетъ, что вещества, красящіе бактерій, на паразита маляріи не дѣйствуютъ.

Marchiafava и Celli (1885 г.) употребляли главнымъ образомъ насыщенный спиртовой растворъ метиленовой синьки, хотя по ихъ изслѣдованіямъ паразита окрашиваютъ, кромѣ того, и другія краски: везувинъ, эозинъ, сафранинъ, Methylgrün, Martius gelb.; другія же краски, напр. гематоксилинъ, тропеолинъ, ализаринъ, нигрозинъ, Magdalaroth, паразита не окрашиваютъ.

Хенцинскій первый употреблялъ двойную послѣдовательную окраску: насыщенный водный растворъ метиленовой сини, разведенный наполовину дистиллированной водой, и спиртный растворъ эозина въ слѣдующей пропорціи:  $\frac{1}{2}$  грамма эозина, 60 граммъ алкоголя и 40 граммъ воды. Впослѣдствіи авторъ сталъ примѣнять смѣсь равныхъ объемовъ вышеуказанныхъ растворовъ, при чемъ окрашивание наступало чрезъ 4—5 минутъ.



Титовъ примѣнилъ этотъ же способъ. Kruse и Rosin употребляли концентрированный водный растворъ метиленовой синьки, считая двойную окраску излишнейю.

Сахаровъ окрашивалъ паразита «крѣпкимъ воднымъ растворомъ метиленовой синьки». Двойной окраски эозиномъ и метиленовой синькой онъ не употребляетъ, «находя, что это усложняетъ изслѣдованіе, а иногда производитъ въ препаратахъ путаницу». Dolega и Plehn примѣняли двойную окраску Хенцинскаго.

Все авторы, работавшіе надъ сухими препаратами крови, не исключая Celli и Guarneri, Grassi и Feletti, не видали никакого строенія у паразита маляріи, не смотря на примѣненіе самыхъ разнообразныхъ окрасокъ, почему и относили его къ монерамъ, существамъ безъядернымъ.

Для изученія строенія разсматриваемаго паразита мы много разъ примѣняли краску Ehrlich'a, рекомендованную для нейтрофильныхъ грануляцій бѣлыхъ шариковъ, и остались недовольны получаемыми результатами, такъ какъ паразитъ окрашивается въ слабо зеленоватый цвѣтъ, равномерно, безъ всякихъ структурныхъ отличій, какъ и при способѣ Хенцинскаго и другихъ авторовъ, примѣнявшихъ двойную окраску метиленовой синькой и эозиномъ со спиртомъ.

Воспользовавшись теоріей Ehrlich'a, его «Farbenanalyse», и замѣчая, что ядра большинства клѣтокъ красятся главнымъ образомъ основными и нейтральными красками, мы стали искать нейтральной комбинаціи между метиленовой синькой и эозиномъ.

Уже à priori можно было ожидать нейтральной краски при смѣшеніи растворовъ вышеупомянутыхъ—разъ одна изъ красокъ представляется щелочною, другая кислотою. Чтобы устранить моменты, могущіе вліять на растворимость смѣшиваемыхъ красокъ и смѣси, мы брали исключительно водные растворы.

Путемъ многочисленныхъ опытовъ мы нашли, что если смѣшивать профильтрованные водные растворы метиленовой синьки и эозина, то наступаетъ моментъ, когда, при избыткѣ послѣдняго, выпадаетъ нерастворимый въ смѣси осадокъ, причемъ смѣсь пріобрѣтаетъ фіолетовый оттѣнокъ.

Это выпадение было, вѣроятно, и раньше, но осадокъ растворялся въ избытокѣ синьки.

Подыскивая постоянныя объемныя количества для опредѣленныхъ растворовъ, мы нашли, что осадокъ начинаетъ ясно появляться при смѣшеніи одной части концентрированнаго раствора метилевого синьки и двухъ частей 1% воднаго раствора эозина, въ водѣ растворимаго.

Смѣсь въ этотъ моментъ обладаетъ сильнѣйшею окрашивающею способностью, особенно ядра хорошо окрашиваются, при чемъ краска не теряетъ своей избирательной способности; но, кромѣ входящихъ красокъ, въ смѣси получается какая-то третья краска, имѣющая совершенно особый цвѣтъ и наибольшее сродство къ ядрамъ или—точнѣе—къ ихъ хроматиновой сѣти.

Начало выпаденія осадка—времени наибольшей ядрокрашивающей способности смѣси—узнается слѣдующимъ простымъ способомъ, для практики необходимымъ, ибо краски разныхъ фирмъ не одинаковы, въ чемъ мы убѣдились опытами.

Въ градуированный (на 10 куб. см.) цилиндръ наливается растворъ синьки (напр. 2 куб. см.) и къ нему осторожно приливается растворъ эозина.

Первое время смѣсь остается темно-синею, но когда наступаетъ нейтрализація (напр., въ нашемъ случаѣ по прилитіи 4 куб. см. эозина) эозинъ перестаетъ вполне смѣшиваться съ синькой и остается надъ поверхностью смѣси въ видѣ прозрачнаго слоя раствора эозина, небольшой избытокъ котораго, впрочемъ, не вредитъ окрашиванію.

Полученная такимъ образомъ смѣсь красокъ тщательно размѣшивается стеклянной палочкой, но не фильтруется, какъ и вообще краски Ehrlich'a, потому что онѣ при фильтраціи почему-то теряютъ свою избирательную красящую способность.

Для окрашиванія мы наливаемъ полученную смѣсь въ часовое стеклышко, куда опускаемъ плавать сухіе препараты крови, приготовленные вышеизложеннымъ способомъ.

Такъ какъ для окраски употребляется крѣпкій растворъ, легко дающій и самостоятельно осадокъ при концентраціи отъ высыханія, то для устраненія послѣдняго мы покрываемъ ча-

совое стеклышко другимъ, а при окраскѣ въ нѣсколькихъ часовыхъ стеклышкахъ, покрываемъ ихъ общимъ стеклян-нымъ колпакомъ, внутреннюю поверхность котораго смачиваемъ водою.

Препаратъ крови окрашивается хорошо уже черезъ  $\frac{1}{2}$  — 1 часъ, но самая отчетливая и интенсивная окраска требуетъ времени больше — часа 2 — 3. Въ последнее время мы употребляемъ слѣдующую смѣсь, дающую меньше осадка, но требующую для окраски около сутокъ: равные объемы  $\frac{1}{2}\%$  возина и разведеннаго на половину водою насыщеннаго раствора синьки. Такъ какъ перекрашиваніи препарата не наступаетъ, то мы обыкновенно оставляемъ препараты въ краскѣ на сутки; при изслѣдованіи ежедневно изо дня въ день многихъ препаратовъ, это значительно сохранило намъ времени, такъ какъ дано возможность изслѣдовать препараты сегодня тѣ, которые были опущены въ краску вчера, а завтра опущенные сегодня и т. д.

Вынутый изъ краски препаратъ, темнаго розово-фіолетоваго цвѣта, промывается тщательно въ водѣ, въ которой и изслѣдуется.

Можно оставить сильно окрашенный препаратъ плавать въ дистиллированной водѣ часъ—два, отчего онъ только выигрышаетъ въ чистотѣ и ясности, не теряя своей дифференціальной окраски. Если же надо имѣть болѣе прозрачный, слабѣе окрашенный препаратъ, то достаточно ополоснуть его въ спиртѣ и затѣмъ въ водѣ.

Нерѣдко изъ краски къ препарату крѣпко пристасть черный осадокъ, мѣшающій изслѣдованію, а главное, демонстративности самого паразита. Для избѣжанія этого, прежде всего препаратъ надо опускать въ краску *lege artis*, не покрывая имъ металлическаго налета, иногда очень быстро образующагося на поверхности, а если осадокъ получился, то слѣдуетъ смывать препаратъ сильною струею воды, въ крайнемъ же случаѣ можно прибѣгнуть къ обмыванію кисточкой, которая хорошо фиксированныхъ препаратовъ почти не портитъ.

Составляющія краски не готовятся *ex tempore* и потому приготовленіе смѣси не занимаетъ болѣе 1—2 минутъ. Лучше всего синька начинаетъ красить, когда на поверхности ея

раствора появится плѣсень, что узнается по бѣлому налету на ней. Мы имѣли постоянную большую бутылку съ насыщеннымъ до осадка растворомъ метиленовой синьки, по мѣрѣ убыли котораго мы приливаемъ воды, избалтываемъ и, давши отстояться, отфильтровываемъ для употребленія.

Во избѣжаніе развитія плѣсени въ 1% растворѣ эозина, мы растворяемъ послѣдній въ нагрѣтой до кипѣнія дистиллированной водѣ.

Надо замѣтить, что старый растворъ метиленовой синьки для своего насыщенія требуетъ меньше эозина, а потому не лишне хоть разъ въ два мѣсяца повторять вышеуказанную пробу на начало выпаденія осадка, такъ какъ у насъ чрезъ 9 мѣсяцевъ 1 объемъ синьки требовалъ уже не 2, а 1½ объема эозина.

Для сохраненія препаратовъ, послѣ высушиванія, заключались въ канадскій бальзамъ съ каялоломъ (1 : 3) и изслѣдовались микроскопомъ Zeiss'a (Homog. immers. achrom.  $\frac{1}{12}$ , apert. 1,20. Comprens. ocul. № 8—12, также см. ниже). Для рисованія мы пользовались, большою моделью микроскопа Zeiss'a съ подвижнымъ столикомъ и его апохроматами (Homog. immers apochr. 2,0 mm. 1,30 Apert. comp. oc. № 12, труба на 18 мм.) и рисовальной камерой послѣдней конструкціи Zeiss'a \*).

Рисовальный столикъ мы помещали на уровнѣ микроскопаго, что увеличиваетъ рисунокъ и тѣмъ даетъ возможность изобразить детали, очень трудныя и даже невозможныя при мелкомъ увеличеніи.

Надо замѣтить, что видъ нарисованнаго зависить отъ угла наклоненія зеркала рисовальнаго прибора къ оси микроскопа. Если этотъ уголъ больше 45°, то рисуемые предметы выходятъ удлинеными, а такъ какъ при рисовальномъ приборѣ нѣтъ приспособленія для опредѣленія угла наклоненія зеркала, то приходится устанавливать на глазъ, а потому и рисунки всегда немного грѣшатъ; изъ этого, конечно, не слѣдуетъ, что ихъ надо подправлять потомъ безъ прибора. Очень важно,

\*) Этими прекраснымъ микроскопомъ я имѣлъ возможность пользоваться въ Институтѣ для пречей Великой Княгини Елены Павловны, благодаря любезному разрѣшенію проф. М. И. Афанасьева.

чтобы во время рисования сила освѣщенія бумаги, на которой производится рисунокъ, была меньше силы освѣщенія препарата, для чего въ приборъ вставляются дымчатые стекла. Если бумага освѣщена сравнительно слишкомъ ярко, то виденъ одинъ карандашъ, если наоборотъ, то не видно его кончика. Соответствующаго освѣщенія мы достигали тѣмъ, что на рисовальную бумагу помѣщали коробочку (шир. отъ напирость), передвигая которую, можно вызывать различной силы тѣни и тѣмъ достигнуть желаемаго освѣщенія и препарата, и кончика рисующаго карандаша. По изготовленіи карандашного рисунка, тутъ же отмѣчались красками цвѣта препарата, а иногда и весь препаратъ рисовался красками, за что я много обязанъ художнику-архитектору Н. А. В. Изъ болѣе чѣмъ сотни рисунковъ мы выбрали, по нашему мнѣнію, наиболѣе подходящіе и объясняющіе послѣдовательный ростъ и размноженіе паразита, и помѣстили на приложенной таблицѣ.

Въ заключеніе технической части мы скажемъ о получаемыхъ цвѣтахъ въ препаратахъ крови, окрашенныхъ предлагаемого нами смѣсью, которой мы пользовались при изученіи морфологій паразита маляріи.

Красные кровяные шарики окрашиваются въ розовый эозиновый цвѣтъ.

Если въ препаратѣ встрѣчаются ядродержащіе красные шарики, то протоплазма ихъ тоже окрашивается въ розовый, а ядро въ сильный темнофіолетовый цвѣтъ; красные шарики, содержащіе паразита маляріи, тоже окрашиваются въ розовый цвѣтъ, но тѣмъ блѣднѣе, чѣмъ больше въ паразитѣ пигмента, такъ что розовый цвѣтъ шарика, содержащаго споруляционную форму паразита, едва отличимъ на свѣтломъ безцвѣтномъ фонѣ препарата.

Протоплазма эозинофильныхъ бѣлыхъ шариковъ окрашивается въ насыщенный фіолетовый цвѣтъ и дѣйствительно напоминаетъ землянику. Протоплазма многоядерныхъ нейтрофильныхъ лейкоцитовъ принимаетъ слабо фіолетовый цвѣтъ съ темно-фіолетовыми грануляціями.

Протоплазма лимфоцитовъ окрашивается въ равномерно голубой, а «взрослыхъ» бѣлыхъ шариковъ въ синій цвѣтъ.

Протоплазма откормленныхъ клітокъ представляется темно-синяго цвѣта. Ядра всѣхъ видовъ бѣлыхъ шариковъ окрашиваются въ темно-фіолетовый цвѣтъ, но различныхъ оттѣнковъ; молодыхъ лимфоцитовъ въ болѣе синій, эозинофиловъ въ болѣе красный.

Кровяныя пластинки являются темно-красно-фіолетовыми.

Если слѣдить за всевозможными оттѣнками протоплазмы бѣлыхъ шариковъ, то можно найти весь послѣдовательный рядъ отъ голубаго до красно-фіолетоваго, отъ совершенно прозрачной протоплазмы до биткомъ набитой грануляціями; но объ этомъ мы скажемъ подробнѣе при изложеніи нашихъ изслѣдованій о строеніи бѣлыхъ шариковъ.

Здѣсь замѣтить, что мы видали зерна бураго пигмента незначительно въ голубой протоплазмѣ одноядерныхъ бѣлыхъ шариковъ—лимфоцитовъ или «взрослыхъ».

Въ паразитѣ маляріи, какой бы ни былъ онъ величины и формы, при окрашеніи нашего смѣсью всегда можно отличить двѣ части: окрашенную въ синій цвѣтъ (*bleu de prusse*) неправильную и неокрашенную правильно овальную или круглую, въ которой замѣчаются разнообразной формы образованія фіолетоваго цвѣта, расположенную въ центрѣ или на периферіи окрашенной.

На основаніи того, что эта фіолетовая часть присуща каждому паразиту, окрашивается въ цвѣтъ ядеръ бѣлыхъ шариковъ, а главное — въ ней иногда замѣчаются фигуры волокнистаго метаморфоза ядра, мы заключили, что это есть хроматиновая часть ядра паразита, которое состоитъ, какъ и всѣ ядра, изъ ядерной (хроматиновой) сѣти и ядернаго сока, въ нашемъ случаѣ представляющагося въ видѣ вышеуказанной безцвѣтной части (ободка).

Изложивъ примѣнявшійся нами методъ изслѣдованія крови малярийныхъ больныхъ, мы переходимъ къ изложенію результатовъ этихъ изслѣдованій.

Приступая къ изложенію нашихъ изслѣдованій крови малярийныхъ больныхъ, мы позволимъ себѣ кратко передать результаты нашихъ контрольныхъ изслѣдованій крови какъ здоровыхъ людей, такъ и одержимыхъ другими болѣзнями.