



## Кох вводит в практику лабораторной работы заражение белых мышей, которые как раз вошли в моду в качестве домашних животных для детей.

способности Коха к методической деятельности, в которой, однако, точность и педантизм были не движущей силой (как это случается у некоторых исследователей), а опорой для логически безупречной научной мысли. Эпидемия мильцбранда (немецкое название сибирской язвы) свирепствовала несколько лет, убив за четыре года около 56 000 сельскохозяйственных животных и 528 человек. Сам факт инфекционной природы этой болезни был установлен до Коха, более того, в литературе описывались нитчатые структуры, появляющиеся в крови животных незадолго до смерти. Но были ли эти нити причиной или следствием болезни? И как объяснить феномен «проклятых пастбищ», которые оставались опасными для скота даже через несколько лет? Кох быстро и элегантно разгадывает эти загадки, попутно создавая совершенно новую методологию исследований. Впрыскивание крови больных животных способно передавать болезнь? Хорошо, значит, можно попробовать провести ее через множество пассажей в лабораторных условиях, когда влияние исходного полевого материала уже точно сойдет на нет.

Кох вводит в практику лабораторной работы заражение белых мышей, которые как раз вошли в моду в качестве домашних животных для детей и, видимо, привлекли исследователя свои опрятным «медицинским» видом. Затем следуют впечатляющие опыты по инокуляции глаза кролика, приведшие к появлению нитей (цепочек сибирезвенных бацилл) в глазной жидкости. Это навело Коха на мысль, что жидкость из глаза животных, которая сама по себе стерильна, может служить хорошей средой для развития бактерий. И действительно, вскоре ему удалось получить чистую культуру возбудителя вне организма, в капле жидкости на покровном стекле, помещенным над стеклом с лункой (так называемый препарат «висячая капля»), что позволило наблюдать за ростом микробов с помощью микроскопа и завершить эксперименты путем заражения животных не материалом от больного животного, а искусственно культивируемым заразным началом. Искусственное заражение приводило к появлению характерной патологоанатомической картины сибирской язвы, что было первой демонстрацией связи

конкретного вида микроорганизма с определенной болезнью. Разрешил Кох и загадку «проклятых пастбищ». Он отметил, что внутри клеток бацилл развиваются округлые преломляющие свет шарики - эндоспоры. Эти споры оказались весьма устойчивы к высушиванию и нагреванию и могли сохранять способность к прорастанию в обычные клетки в течение длительного времени. Статья Коха о жизненном цикле возбудителя сибирской язвы, вышедшая в 1876 году, имела большой успех. «Если мои усилия привели к большому успеху, чем обычно, - впоследствии писал Кох, - то, я полагаю, это связано с тем, что во время моих странствий в области медицины я сбился с пути, где золото все еще лежало на обочине. Немного удачи, чтобы отличить золото от шлака, но это все». Так начался золотой век бактериологии.

В дальнейшем Кох быстро совершенствует методологию бактериологической работы. Основным своим инструментом он считал микроскоп. Но в обычных препаратах бактерии было очень трудно разглядеть, поскольку они очень мелкие, полупрозрачные и двигаются в жидкости, а микроскопы того времени обеспечивали неважное освещение поля зрения, что сильно осложняло работу с сильным увеличением. И Кох нашел решения всех этих технических проблем. Он научился фиксировать бактерии на стекле путем высушивания и прогревания, после чего, пробуя различные анилиновые красители, которые химик как раз научились синтезировать в тот период, разработал методы окраски препаратов. Наконец, он начал взаимодействовать с производителями микроскопов и оказался первым, кто использовал в биологических исследованиях иммерсионные объективы и светособирающий конденсор, а также первым смог наладить фотосъемку с микроскопа и в 1877 году опубликовал первые микрофотографии бактерий.

В 1879-м Кох переехал в Берлин, где по приглашению имперского правительства начал работать в службе здравоохранения. Здесь он создает наиболее известный из своих методов - метод плотных питательных сред. Он решил попробовать добавить к жидкому питательному бульону, на различных разновидностях которого бактерии выращивали со времен открывшего их в конце XVII столетия А.Левенгука, вещество, превращающее бульон в прозрачный студень. Тогда вместо того чтобы образовывать в бульоне мутную взвесь или осадок, попавшие на поверхность студня бактерии образуют компактные бугорки - колонии. Кох осознал, что, если нанести на такую плотную среду сильно разбавленную бактериальную взвесь, то крупные и хорошо видимые невооруженным глазом колонии могут развиваться из отдельных клеток. И действительно, тщательное изучение под микроскопом получающихся колоний показало, что большинство из них состоит из совершенно однородных бактерий. Это был грандиозный прорыв! В руках исследователей оказался чрезвычайно простой и великодушный по эффективности метод, позволяющий получать чистые культуры определенных видов бактерий, даже если в исходном материале интересующая разновидность сохранилась лишь в относительно

Полезное чтение

# Отличить золото от шлака

К 180-летию Роберта Коха

Андрей ЛЕТАРОВ

► Творческие пути гениев, будь то люди искусства, инженеры или ученые, сложно втиснуть в рамки любой классификации - на то они и гении. Но возьмем смелость утверждать, что среди них есть те, чье творчество поражает и озадачивает, а есть такие, чей путь, наоборот, кажется кристально ясным. Истории первых заставляют задуматься над их загадками, биографии же вторых как будто приглашают нас критически посмотреть на самих себя: если гениальность понятна и прозрачна, то что мешает нам самим достичь невероятных успехов?

Научная микробиология началась с парадоксального и противоречивого творчества Луи Пастера, чье 200-летие мы отметили год назад (Поиск №1, 2023), но вскоре получила мощное развитие благодаря работе прусского врача и бактериолога Роберта Коха и его сотрудников. Роберт Кох родился 11 декабря 1843 года в семье горного инженера. Уже в детстве он увлекался наукой и техникой, что поощряли его дед и дядя, познакомившие юного Роберта с микроскопом и с о входившей в моду фотографией. В 1862-м Кох поступил на медицинский факультет Геттингенского университета, где учился у нескольких знаменитых ученых и даже по-

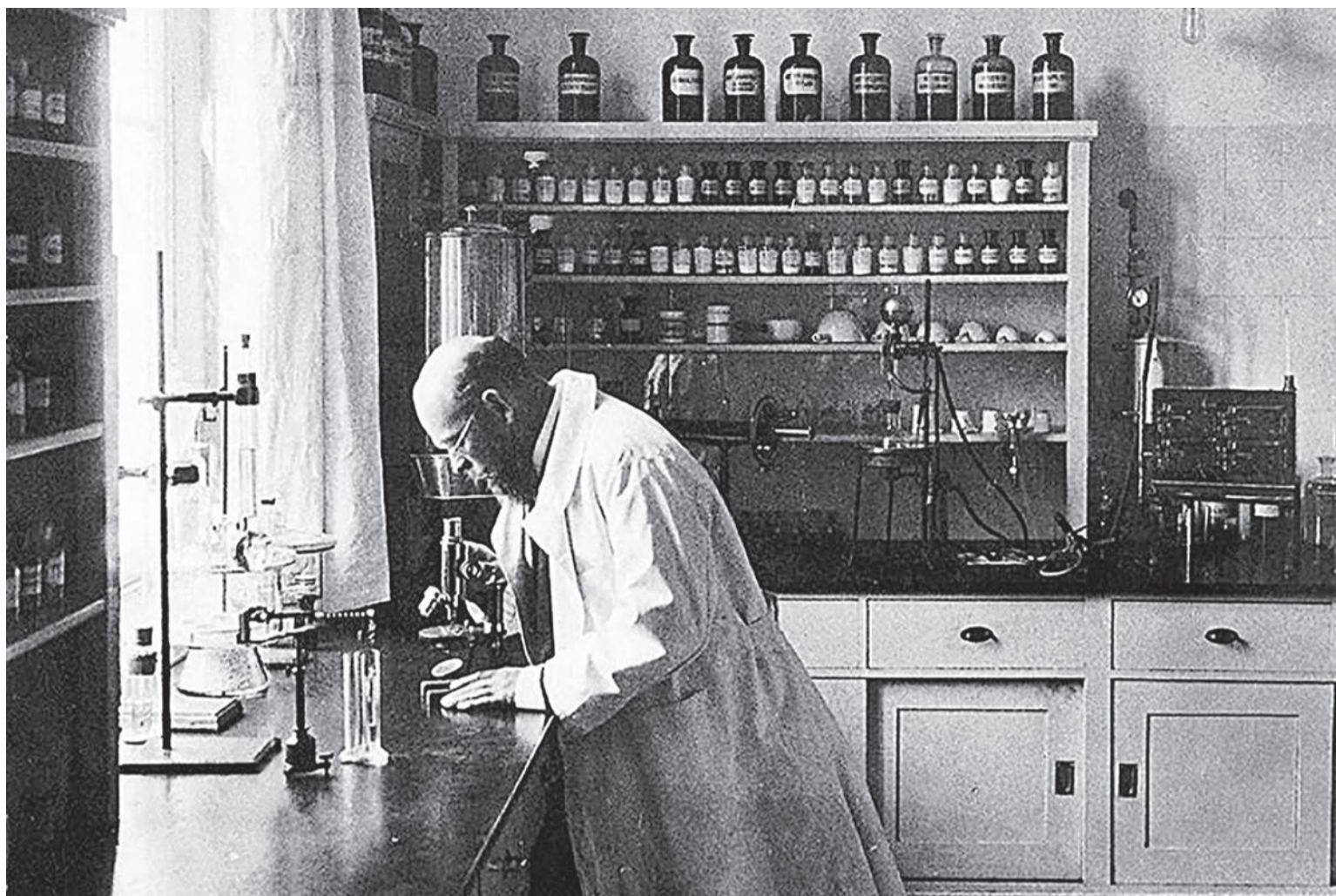
знакомился с самым титулованным немецким физиологом Рудольфом Вирховым. В 1866 году Кох закончил университет - со степенью доктора. В 1870-1871 годах он служит военным врачом во время Франко-прусской войны, и лишь около 1875-го после небольшого путешествия по германским научным центрам Кох увлекся изучением микробов.

Свое первое исследование, закончившееся открытием и детальным описанием «жизненного цикла» возбудителя сибирской язвы, он провел в небольшой комнате в своем доме в Вольштейне (ныне - польский Вольштын), где получил место районного медицинского инспектора. В этой работе сразу проявились выдающиеся

небольшом количестве. До появления этого метода выделение чистых культур и даже их поддержание в чистом виде считались очень сложной работой, требующей большого экспериментального мастерства и удачи. Метод плотных сред был очень быстро усовершенствован. По совету Анжелины Гессе, жены В.Гессе, сотрудника Коха, вместо неудобного в работе желатина стали использовать агар-агар, который применяется в кондитерском деле. А вместо сложных устройств для заливки агаровых пластин Юлиус Рихард Петри, другой коллега Коха, предложил плоскую емкость, известную в наши дни под названием «чашка Петри». Интересно, что сама идея выращивания колоний на твердой среде не была изобретена Кохом, - этим приемом пользовались микологи, культивируя плесневые грибы на срезе картофеля. Но увидеть в этой лабораторной хитрости метод получения чистых культур, способный произвести настоящую революцию в науке о микробах, удалось именно ему. Метод плотных сред практически в неизменном виде дошел до наших дней и составляет основу ежедневной практики во многих микробиологических и молекулярно-биологических лабораториях. Именно получение бактериальных клонов (клон - потомство одной клетки) создало предпосылки для изучения мутаций микроорганизмов, а уже 1970-е годы и для создания генной инженерии. В некотором смысле Роберта Коха можно назвать отцом процедур клонирования.

Введенные Кохом методики фиксации и окраски препаратов бактерий также дожили до наших дней с небольшими изменениями, и лишь в последние десятилетия их сильно потеснили, хоть и не вытеснили до конца, иные методы световой микроскопии.

Итак, в руках микробиологов школы Роберта Коха оказались принципиально новые инструменты, позволяющие сначала увидеть микроорганизм в его естественной среде обитания, а затем и поймать его, выделив в чистую культуру. Во многом принципы «охоты на микробов» остаются именно такими и сегодня. Кох и его сотрудники не замедлили продемонстрировать мощь созданной методологии на реальных примерах. В 1881 году Кох сумел выделить и описать возбудитель туберкулеза - болезни, косившей жителей городов того времени. Эта задача не была бы легкой и для современного охотника за микробами, если представить, что ее надо решать с нуля. Во-первых, как мы сейчас знаем, микобактерии туберкулеза покрыты воскоподобным слоем (так называемая микобактериальная мембрана), из-за чего они очень плохо окрашиваются анилиновыми красителями. Кох применил метод двойного окрашивания, придуманный его студентом Паулем Эрлихом (впоследствии нобелевским лауреатом, создателем гуморальной теории иммунитета и первых антибактериальных химиопрепаратов), в котором бактерий окрашивают в синий цвет метиленовым синим, а окружающие ткани для контраста - коричневым красителем. Но лишь после нескольких сотен попыток ему удалось разглядеть искомого возбудителя. Получить культуру микобактерий оказалось также не просто. В качестве плотной среды



biographie.ru

для этого весьма привередливого к условиям роста микроба использовали свернувшуюся под нагреванием сыворотку крови. Но и в этих условиях появления еле заметных чешуйко-образных колоний ждать нужно было несколько недель. Помимо терпения, которого исследователю было, очевидно, не занимать, тут требовалось догадаться, что столь длительное ожидание может иметь смысл. Это открытие полностью изменило подходы к профилактике туберкулеза и лишило чахотку романтического ореола,

победы над заразными болезнями, и Кох испытывал большое общественное давление, толкавшее его перейти от открытия возбудителей к поспешным поискам способов лечения инфекций. Подливало масла в огонь еще и соперничество французской и прусской науки после недавно отгремевшей Франко-прусской войны, в ходе которой и Пастер, и Кох занимали патриотические позиции каждый со своей стороны фронта. В итоге в 1890 году Кох объявил об изобретении им препарата для лечения туберкуле-

ся в 1893-м разводом с его женой Эмми, с которой он прожил 26 лет. Это был по-своему смелый шаг, поскольку развод был разрешен в Пруссии лишь за 15 лет до этого и репутация ученого подверглась еще большему удару. Однако в том же году Кох женится во второй раз на 20-летней художнице Хедвиге Фрайберг, с которой он познакомился за три года до этого. Новая жена с радостью поддерживала желание Коха путешествовать и сопровождала его в нескольких поездках, включая довольно тяжелые и опасные экспеди-

его здоровье оказалось подорвано несколькими тропическими болезнями, которые он перенес во время своих экспедиций, и в 1910 году Роберт Кох скоропостижно скончался во время поездки в санаторий, где рассчитывал поправить здоровье и продолжить работу.

Я полагаю, что, несмотря на трудности и конфликты (инициатором многих из которых был он сам), Кох был счастлив на протяжении всей своей жизни, включая как моменты своих замечательных открытий, так и годы трудной и менее благодарной практической деятельности. Главное наследие Коха и его школы состоит в строгости и логичности всей методологии - от эксперимента до осмысления результата. Коховская техника работы с микробами, позволявшая проследить все стадии их «жизненных циклов», существенно понизила порог входа в бактериологию для новичков, в том числе исследователей из других областей науки, а концепция работы только с чистыми культурами стала золотым стандартом микробиологии на несколько десятилетий. Вплоть до 1920-х годов, скорее, культура, нежели микробная клетка, воспринималась учеными в качестве индивидуального организма. Эффективность методологии Коха оказалась настолько высока, что ряд микробиологов XX века даже утверждали, что она замедлила развитие экологической ветви микробиологии (истоки которой во многом связаны с нашим соотечественником Сергеем Николаевичем Виноградским), направив внимание большинства ученых на те микроорганизмы, которые хорошо растут в чистых культурах на чашках Петри. Но без этой «чашечной» микробиологии невозможно было бы рождение молекулярной биологии, которая теперь составляет важнейшую основу всей биологической науки. ■

## “ В 1883 году Кох во время своей экспедиции в Египет и Индию, где свирепствовала эпидемия холеры, успешно выделил возбудитель этой болезни.

который окутывал эту патологию в первой половине XIX века, - из модной болезни туберкулез превратился в стигму.

Методология, разработанная Кохом, быстро принесла успех в установлении и других возбудителей опасных инфекций. В 1883 году Кох во время своей экспедиции в Египет и Индию, где свирепствовала эпидемия холеры, успешно выделил возбудитель этой болезни. В 1884-м ученики Коха Г.Гаффки и Ф.Леффлер выделили микробы брюшного тифа и дифтерии. Менее чем за 30 последующих лет были установлены возбудители подавляющего большинства бактериальных инфекций.

Однако самого Р.Коха ждало тяжелое испытание. Эйфория, подогреваемая успехами Пастера в создании вакцин против некоторых заболеваний, порождала у людей преувеличенные ожидания скорой

за - туберкулина, представлявшего собой экстракт культуры возбудителя болезни. Но, к сожалению, это средство, вызывавшее тяжелые побочные реакции, оказалось совершенно неэффективным в качестве лекарства, хотя впоследствии улучшенные версии туберкулина нашли свое применение для кожной пробы на туберкулез, известной в России как реакция Манту.

«Туберкулиновый скандал» тяжело ударил по репутации Коха, тем не менее в 1891-м правительство создает для него Прусский институт инфекционных болезней, которым Кох будет руководить вплоть до выхода на пенсию в 1904 году, но при назначении на должность ему было поставлено условие, что патенты на его новые открытия будут принадлежать правительству Пруссии. В это же время в семейной жизни Коха наступил кризис, окончивший-

ции по исследованию тропических болезней. В оставшиеся 17 лет своей жизни Кох не сделал выдающихся открытий. Более того, он совершил и ряд серьезных ошибок, в числе которых - вторая попытка лечения туберкулеза с помощью улучшенного варианта туберкулина, а также упорное отрицание риска передачи туберкулеза от зараженных им животных. В то же время кипучая деятельность Коха по борьбе с распространенными в Европе холерой и тифом, а также с малярией, сонной болезнью и другими инфекциями приносила важные практические результаты, а его многочисленные ученики совершили едва ли ни большинство прорывов в медицинской бактериологии 1880-х-1910-х годов.

В 1905-м Коху была присуждена Нобелевская премия за открытие возбудителя туберкулеза. Однако