

SZCZEPY *MYCOBACTERIUM* O WZROŚCIE ATYPOWYM

Stanisława Zawadzka, Anna Wąsowicz

Wojewódzka poradnia Przeciwgruźlicza w Krakowie
Dyrektor: dr K. Mulak

IV Dzielnicowa Poradnia Przeciwgruźlicza w Krakowie
Kierownik: lek. med. J. Malinowski

Celem pracy było zidentyfikowanie szczepów atypowych, które wyizolowano w 1971 r. z materiałów diagnostycznych. Klasyfikację szczepów oparto na wynikach badań bakteriologicznych oraz biochemicznych.

W wielu pracowniach mikrobiologicznych diagnostyki gruźliczej w kraju i za granicą izoluje się szczepy prątków atypowych. W oparciu o badania autorów zagranicznych i krajowych [1—8, 10] opracowano uzyskane szczepy.

W 1971 r. w toku rutynowych badań diagnostycznych w kierunku obecności prątków gruźlicy, wyizolowano w pracowni bakteriologicznej WPP oraz w pracowni IV Dzielnicowej Poradni Przeciwgruźliczej w Krakowie, obok typowych szczepów Tbc, szczepy *mycobacterium* o wzroście atypowym. Z uzyskanych 2020 dodatnich szczepów gruźliczych wyizolowano 50 szczepów prątków atypowych co stanowi 2,48%.

Szczepy atypowe pochodziły od 46 chorych zarejestrowanych w poradniach przeciwgruźliczych w różnych grupach poradnianych: 12 szczepów izolowano od 12 chorych nowo zarejestrowanych, 38 szczepów pochodziło od chorych już uprzednio leczonych w poradniach. Wśród tych 46 chorych, 4 chorych prątkowało wydalając typowe prątki gruźlicy i prątki atypowe.

Powyższe materiały opracowywano metodą fosforanową oraz metodą ługu sodowego. Posiewy wykonywano na pożywce Loewensteina-Jensen.

Wyizolowano: 44 szczepy z płwociny, 5 szczepów z rozmazów krtaniowych, 1 szczep z wydzieliny ropnej.

Celem klasyfikacji szczepów atypowych przeprowadzono następujące badania:

- wygląd makroskopowy hodowli,
- cechy morfologiczne komórek w preparacie mikroskopowym,

- tworzenie układów łańcuchowych,
- szybkość wzrostu primokultury oraz subkultury,
- zdolność wzrostu na podłożu agarowym zwykłym,
- zdolność fotosyntezy,
- oporność na tuberkulostatyki (SM, INH, PAS, CS, VM, ETA),
- obecność enzymu katalazy i peroksydazy,
- obecność katalazy i peroksydazy po ogrzaniu w temp. 70°C (metoda Andrejewa),
- obecność niacyny,
- testy biochemiczne: redukcja azotanów na azotyny (NO_3/NO_2),
- hydroliza Tween 80, arysulfataza, utlenienie Fe i reakcja czernienia PAS.

Wśród szczepów mykobakterii o wzroście atypowym wyizolowano 32 szczepy o zabarwieniu żółto-pomarańczowym, 14 szczepów o zabarwieniu kremowym oraz 4 szczepy o zabarwieniu różowym. Wszystkie szczepy posiadały powierzchnię gładką.

W preparatach mikroskopowych barwionych metodą Ziehl-Neelsena stwierdzono we wszystkich szczepach prątki kwaso- i alkohooporne, które posiadały komórki albo kuliste, lub w niektórych szczepach bardziej wydłużone.

W preparatach mikroskopowych nie stwierdzono układów łańcuchowych.

W primokulturach wzrost obserwowano średnio po 3 tygodniach inkubacji, natomiast w subkulturach w 4 szczepach wzrost wystąpił szybko — po 4 dniach inkubacji, w pozostałych 46 szczepach po 10—14 dniach lub później.

Na pożywce agarowej zwykłej rosło jedynie 5 szczepów. Nie stwierdzono wzrostu w 45 szczepach.

Inkubowano szczepy rutynowo w 37°C. W badaniach dodatkowych w temp. 45°C stwierdzono wzrost jedynie w 3 szczepach.

Jedynie 2 szczepy wykazały dodatni test fotosyntezy.

Badania lekooporności (rys. 1) wykazały całkowitą oporność na:

INH w 100% badanych szczepów

PAS w 94% „ „

SM w 76% „ „

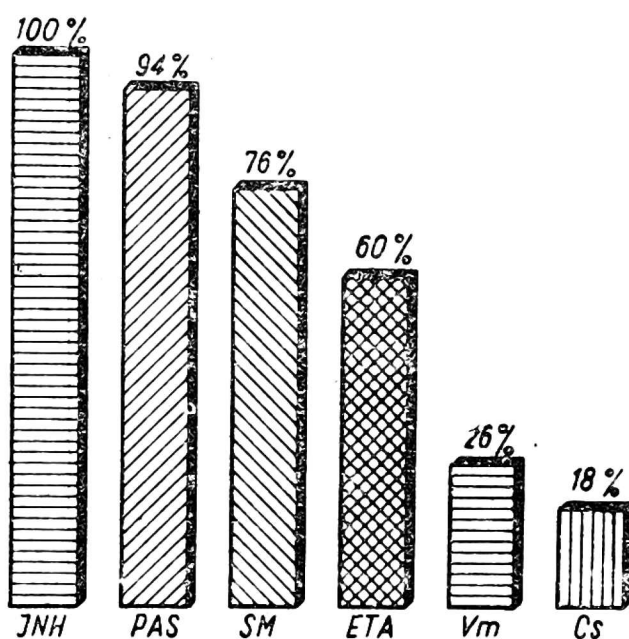
ETA w 60% „ „

VM w 26% „ „

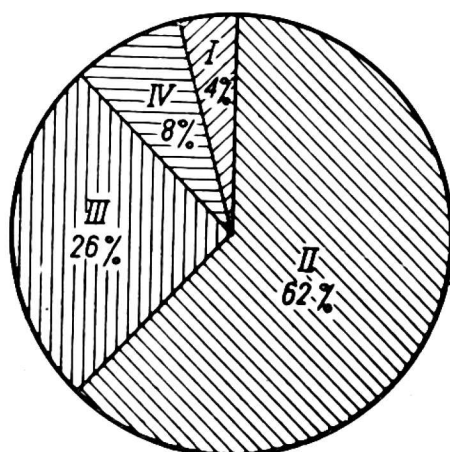
CS w 18% „ „

Obecność silnej katalazy stwierdzono w 45 szczepach tj. w 90%, brak katalazy w 5 szczepach. Obecność peroksydazy stwierdzono w 41 szczepach co stanowi 82%.

Po ogrzaniu zawiesiny bakteryjnej w temp. 70°C stwierdzono silną katalazę w 94%, peroksydazę natomiast w 68%.



Rys. 1. Wyniki badań lekkooporności szczepów atypowych



Rys. 2. Podział szczepów atypowych wg grup Runyona

Stwierdzono brak testu niacynowego we wszystkich 50 szczepach.

Badania biochemiczne: redukcja azotanów, hydroliza Tween 80, aryl-sulfataza, utlenienie Fe i reakcja czernienia PAS-u — zostały wykonane dzięki współpracy i uprzejmości Dr med. Edwina Paryskiego w pracowni mikrobiologicznej Sanatorium im. Chałubińskiego w Zakopanem.

Badania te pozwalają na zaliczenie badanych szczepów do odpowiednich grup Runyona.

Analizując otrzymane wyniki stwierdza się:

W preparatach mikroskopowych brak istotnych różnic morfologicznych między szczepami prątków.

Wygląd makroskopowy hodowli prątków atypowych różni się zasadniczo od typowych hodowli prątków gruźlicy.

Dodatni test fotosyntezy wykazano w 2 szczepach.

Charakterystyczna oporność na podstawowe tuberkulostatyki oraz obecność silnej katalazy, nawet po ogrzaniu w temp. 70°C, zmiennej peroksydazy i ujemny test niacynowy.

Wyizolowane szczepy prątków atypowych stwarzają zawsze zagadnie-

nie diagnostyki mikrobiologicznej, lecz wydaje się, że jedynie brak typowych prątków Tbc oraz wielokrotne wyhodowanie tego samego szczepu od chorego ma kliniczne znaczenie i może być uznane za czynnik patogenny.

Wyhodowane szczepy pochodziły w większości przypadków od pacjentów leczonych — można się zatem liczyć ze zmianami mutacyjnymi w komórkach prątków.

Wyniki badań bakteriologicznych i biochemicznych pozwalają na następujący podział szczepów:

2	szczepy	do I	grupy	Runyona	(fotochromogenne)
31	„	do II	„	„	(skotochromogenne)
13	„	do III	„	„	(niefotochromogenne)
4	„	do IV	„	„	(szybko rosnące).

Wśród zidentyfikowanych szczepów 3 są prawdopodobnie chorobotwórcze (2 szczepy *M. kansasii*, 1 szczep *M. xenopei*). Powyższe szczepy wyhodowano kilkakrotnie od tych samych pacjentów w pracowni bakteriologicznej WPP. Pozostałe szczepy są to saprofity niechorobotwórcze należące do *M. aquae* i odmian — 35 do *M. flavum* — 2, do *M. „Radish”* — 4 i saprofity szybko rosnące — 2 szczepy, oraz *M. fortuitum* — 4.

Klasyfikacja szczepów atypowych jest trudna, czasochłonna, ale mimo trudności zasługuje na dalsze opracowanie laboratoryjne.

LITERATURA

1. Andrejew A.: I'Institut Pasteur, 1967, t. 112
2. Chwalibóg B., Janowiec M., Maliszewska Z., Michałowska D., Żbikowski H.: Gruźlica, 1971, XXXIX, 2, 95
3. Gawęda Z., Maliszewska Z.: Wiad. o gruźlicy i chorobach płuc oraz ich zwalczaniu. 1967, XII
4. Gernez-Rieux, Ch., Tacquet A., Devulder B. et Tison F.: Archives de l'Institut Pasteur de Tunis, 1965, 1—2
5. Janowiec M., Pichula K., Zwolska Z.: Wiad. o gruźlicy i chorobach płuc oraz ich zwalczaniu, 1967, XII, 78
6. Paryski E.: Wiad. o gruźlicy i chorobach płuc oraz ich zwalczaniu, 1967, XII
7. Paryski E.: Gruźlica, 1969, XXXVII, 5
8. Tacquet A., Tisson F., Devulder B.: Annales de l'Institut Pasteur, 65, 108
9. Tacquet A., Tisson F., Plancot Th., Devulder B. et Rosse Ph.: Bulletin de l'Union Internationale contre la Tuberculose.
10. Tacquet A., Tisson F., Devulder B., Ross Ph.: Organisation et activites du Laboratoire Central d'identification de mycobacteries, 1967
11. Wąsowicz A.: Gruźlica, 1965, XXXIII, 1960

S. Zawadzka, A. Wąsowicz

ATYPICAL MYCOBACTERIAL STRAINS

Summary

At the microbiological laboratories of the Provincial and IVth District dispensaries in Cracov, in 1971 fifty atypical mycobacterial strains were isolated, constituting 2,4% of 2.020 strains of acidfast bacilli. Atypical strains were isolated from 45 patients, including 4 who were also excreting typical tubercle bacilli.

Of the atypical strains, 31 were pigmented orange, 14 were cream-colored, and 4 were pink. All the strains produced smooth colonies. Ninety-six per cent of the strains were resistant to SM, INH and PAS and 68% also to CS, VM and ETA. The strains were strongly catalase positive, even after heating to 70°C, variably peroxidase-positive, and niacin-negative.

Bacteriological and biochemical identification permitted classification of the strains as follows into Runyon groups: Group I (photochromogens) 2 strains, group II (skotochromogens) 31 strains, group III (nonphotochromogens) 13 strains, group IV (rapid growers) 4 strains. Three strains were probably pathogenic (2 strains of *M. kansasii* and 1 strain of *M. xenopei*). The remaining strains were nonpathogenic saprophytes (*M. aquae* and variants: *M. flavum* "Radish" group, *M. gastrii*, *M. terrae*).