

## BADANIA NAD ROZMIESZCZENIEM W NARZĄDACH ŚWINEK MORSKICH PRĄTKÓW *M. AVIUM*, *M. KANSASII*, *M. XENOPEI* I *M. FORTUITUM* ZNAKOWANYCH $^{32}\text{P}$

*Zofia Łukjan, Franciszek Rogowski, Marian Kunda*

Klinika Gruźlicy Płuc AM w Białymstoku

Kierownik: doc. dr Wł. Pręgowski

Wobec niejasności co do chorobotwórczości oraz znaczenia dla organizmów żywych typów prątków gruźliczych oraz prątków atypowych prześledziliśmy w kolejno wykonywanych doświadczeniach rozprzestrzenianie się kilku szczepów znakowanych radioaktywnym fosforem  $^{32}\text{P}$  w narządach świnek morskich.

Początkowo ustalono czas największego gromadzenia  $^{32}\text{P}$  w badanych narządach (płuca, wątroba, śledziona, nerki oraz krew) od chwili podania dosercowo zawiesiny znakowanych prątków  $\text{H}_{37}\text{Rv}$ . Największe gromadzenie się szczepu  $\text{H}_{37}\text{Rv}$  stwierdzono w płucach po 45 minutach od momentu zakażenia. Czas ten uznano za najwłaściwszy do wykonywania dalszych prób. Archipowa i Uwarowa [1] w swoich badaniach 30 minut przyjęły za czas największej koncentracji szczepów w płucach.

W organizmie świnek morskich przeanalizowano rozmieszczenie szczepu  $\text{H}_{37}\text{Rv}$  oraz szczepów INH-opornych katalazo- i peroksydazo-dodatnich i ujemnych, zwracając również uwagę na to, czy zachodzą różnice w przenikaniu poszczególnych szczepów do płuc i narządów z przenikaniem fosforu radioaktywnego.

W ostatnich latach coraz częściej stwierdza się choroby płuc spowodowane prątkami atypowymi tzw. mykobakteriozy [2, 3, 5]. Dlatego też w kolejnym doświadczeniu badaliśmy rozmieszczenie wybranych gatunków prątków atypowych, a więc ich inwazyjność podczas początkowej bakteremii i następnie porównano z uprzednio badanymi szczepami prątków INH-opornych różniących się zawartością enzymów.

Użyto następujących szczepów:  $\text{H}_{37}\text{Rv}$ , *Mykobakterium avium*, *kansasii*, *xenopei* i *fortuitum*. Obecne doświadczenie przeprowadzono na 40 świnkach morskich hodowli wrocławskiej, tuberkulino-ujemnych.

*M. xenopei* i *fortuitum* zostały wyizolowane od chorych leczonych w Klinice Gruźlicy Płuc AMB, zaś pozostałe dwa (*kansasii* i *avium*) uży-

skano z kolekcji drobnoustrojów prowadzonej w Zakładzie Mikrobiologii Instytutu Gruźlicy w Warszawie, za co wyrażamy podziękowanie.

Szczep  $H_{37}Rv$  służył jak porównanie przy zakażeniu szczepami atypowymi.

Znakowania prątków dokonywano przy pomocy radioaktywnego ortofosforanu potasu  $^{32}P$  dodanego do pożywki w ilości 300  $\mu Ci$  na 10 ml hodowli. Do hodowli stosowano podłoże płynne Youmansa zachowując podobne warunki jak w poprzednim doświadczeniu z prątkami INH-opornymi [6].

Świnkom morskim podawano dosercowo 1 ml zawiesiny znakowanych prątków (1 mg prątków w 1 ml wody destylowanej) o aktywności całkowitej od 10 do 15  $\mu Ci$ . Po 45 minutach od momentu zakażenia wykonywano dekapitację i dokładnie skrwawiano zwierzęta [7].

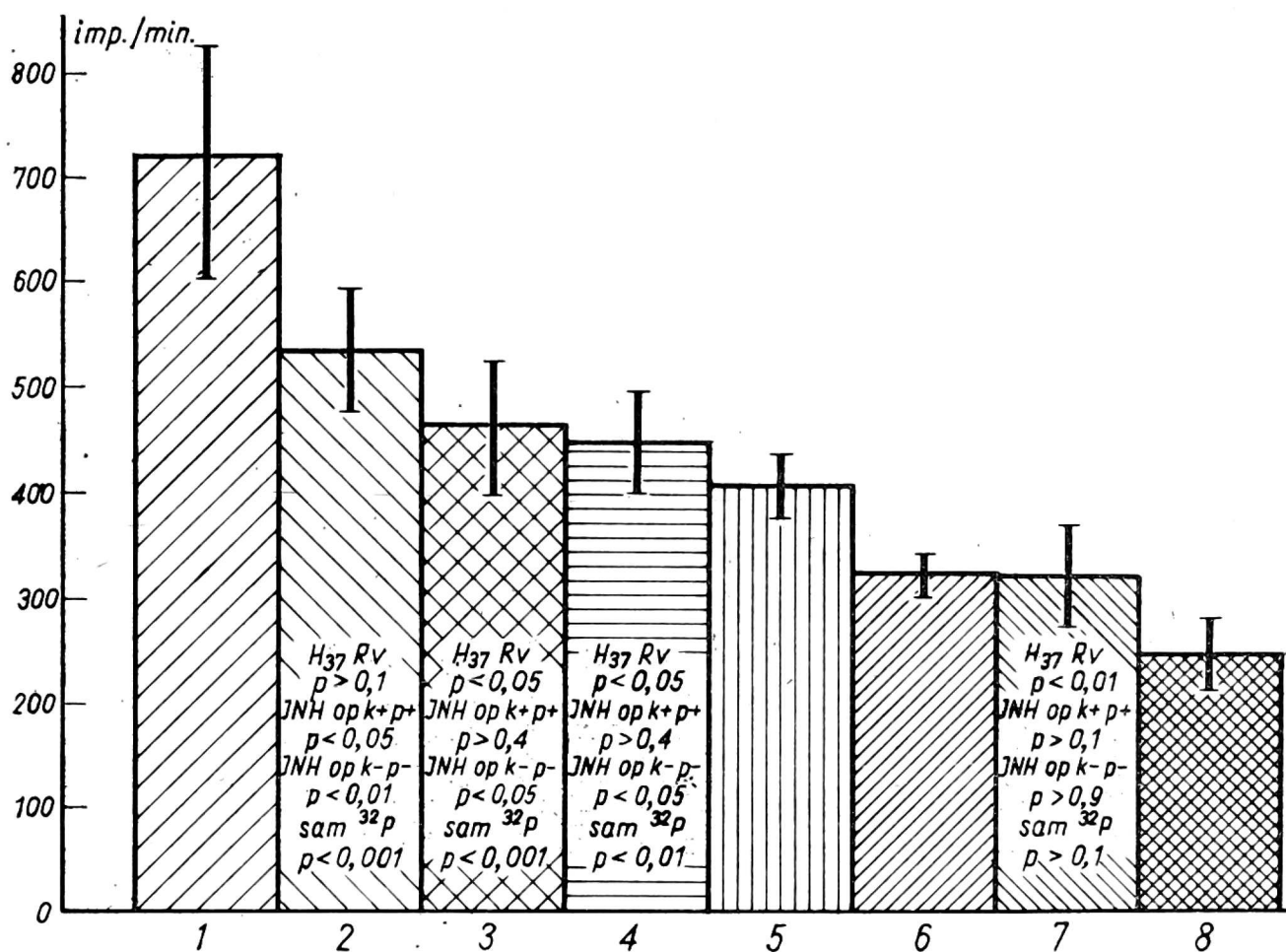
Krew i preparowane narządy (płuca, wątroba, śledziona i nerki) pobierano do małych tygielków, ważono, rozdrabniano mechanicznie i wstawiano do suszarki elektrycznej o temp. 50°C. Po wysuszeniu materiał proszkowano mechanicznie. Uzyskany proszek umieszczano na miseczkach aluminiowych o średnicy 2 cm. Aktywność preparatów mierzono licznikiem okienkowym GM typu AAH w ciągu 2 min. Uzyskane wyniki w imp./min. przeliczano na 100 mg suchej tkanki. Otrzymane wartości opracowano testem Studenta odnosząc uzyskane wartości przy zakażeniu poszczególnymi szczepami atypowymi do wartości stwierdzonych przy użyciu samego fosforanu, szczepu  $H_{37}Rv$  oraz szczepów INH-opornych katalazo- i peroksydazo-dodatnich i ujemnych.

Jak wynika z rysunku 1 największe gromadzenie względnej radioaktywności w obrębie płuc stwierdzono kolejno przy zakażeniu szczepem  $H_{37}Rv$ , następnie *M. avium*, *kansasii*, *xenopei*, INH-oporny katalazo- i peroksydazo-dodatni, INH-oporny katalazo- i peroksydazo-ujemny i *M. fortuitum*. Najniższą kumulację wykazała pożywka z samym fosforem  $^{32}P$ .

Przy porównaniu ze szczepem  $H_{37}Rv$  statystycznie istotne różnice stwierdzono przy zakażeniu szczepem: *kansasii*, *xenopei* i *fortuitum*. Przy porównaniu ze szczepem INH-opornym katalazo- i peroksydazo-dodatnim różnice statystycznie istotne stwierdzono przy zakażeniu *M. avium*, przy porównaniu zaś ze szczepem INH-opornym katalazo- i peroksydazo-ujemnym i pożywką z samym fosforem, różnice istotne statystycznie stwierdzono przy zakażeniu *M. avium*, *kansasii* i *xenopei*.

W przeprowadzonym doświadczeniu zauważono, że największe gromadzenie radioaktywności prątków atypowych, stwierdzano po zakażeniu szczepem *avium* i *kansasii* co zgodne jest ze zdaniem Meissner [4], Zduńczyk-Pawełek i współprac. [11].

W wątrobie największe gromadzenie względnej aktywności stwierdzono przy zakażeniu *M. kansasii*, następnie *M. avium*, INH-opornych katalazo- i peroksydazo-ujemnych,  $H_{37}Rv$ , INH-opornych katalazo- i peroksy-



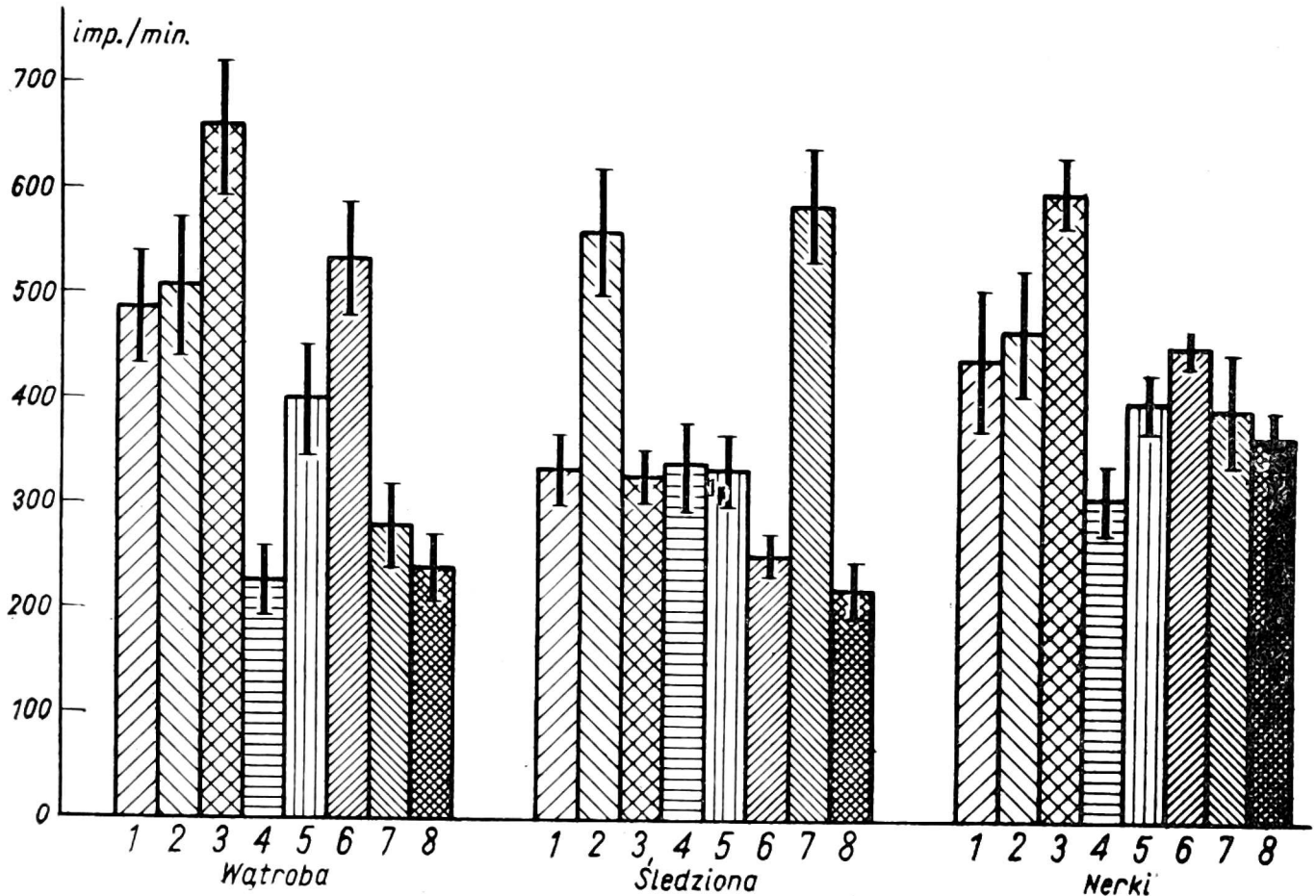
Rys. 1. Porównanie względnych aktywności w płucach świnek morskich po podaniu dosercowo hodowli szczepów znakowanych <sup>32</sup>P oraz pożywki z samym fosforem z uwzględnieniem rozrzutu oraz istotności statystycznej wobec: H<sub>37</sub>Rv, INH-oporny kat (+) per (+) i kat (-), a samym fosforanem

1 — H<sub>37</sub>Rv, 2 — *M. avium*, 3 — *M. kansasii*, 4 — *M. xenopei*, 4 → INH op kat (+) per (+), 5 — INH op kat (-) per (-), 6 — *M. fortuitum*, 7 — pożywka z samym <sup>32</sup>P

dazo-dodatnich, *M. fortuitum*, pożywka z samym <sup>32</sup>P i najmniej przy zakażeniu *M. xenopei*.

Różnice istotne statystycznie przy porównywaniu ze szczepem H<sub>37</sub>Rv stwierdzono przy zakażeniu: *M. kansasii*, *xenopei* i *fortuitum*; przy porównaniu ze szczepem INH-opornym katalazo- i peroksydazo-dodatnim przy zakażeniu: *M. kansasii*, *xenopei*; przy porównaniu ze szczepem INH-opornym katalazo- i peroksydazo-ujemnym przy zakażeniu: *M. xenopei* i *fortuitum*; przy porównaniu z samym <sup>32</sup>P w przypadku *M. avium* i *kansasii*.

W śledzienie największe gromadzenie radioaktywności wykazał szczep *M. fortuitum*, następnie *avium*, *xenopei*, H<sub>37</sub>Rv, *kansasii*, INH-oporny katalazo- i peroksydazo-dodatni, INH-oporny katalazo- i peroksydazo-ujemny oraz pożywka z samym <sup>32</sup>P. Porównując ze szczepem H<sub>37</sub>Rv i INH-opornym katalazo- i peroksydazo-ujemnym różnice istotne statystycznie stwierdzano przy zakażeniu *M. avium* i *fortuitum*; w stosunku do szczepu INH-opornego katalazo- i peroksydazo-ujemnego przy zakażeniu *M. avium*, *kansasii* i *fortuitum*. Porównując z samym <sup>32</sup>P stwierdzono istotność statystyczną w każdym z badanych szczepów.



Rys. 2. Porównanie rozmieszczenia radioaktywności w narządach świnek morskich po podaniu dosercowym hodowli szczepów znakowanych  $^{32}\text{P}$  oraz pożywki z fosforem  $^{32}\text{P}$  z uwzględnieniem rozrzutu. Objasnienia cyfr 1-7 — jak na rys. 1

W nerkach największe gromadzenie aktywności wykazał szczep *M. kansasii*, następnie *avium*, INH-oporny katalazo- i peroksydazo-ujemny,  $\text{H}_{37}\text{Rv}$ , INH-oporny katalazo- i peroksydazo-dodatni, *fortuitum*, pożywka z  $^{32}\text{P}$  oraz *M. xenopei*. Istotność statystyczną stwierdzono porównując ze szczepem  $\text{H}_{37}\text{Rv}$  w przypadku *M. kansasii* przy porównaniu z INH-opornym katalazo- i peroksydazo-dodatnim i ujemnym przy zakażeniu *M. kansasii*, *xenopei*, porównując z samym  $^{32}\text{P}$  wyłącznie przy *M. kansasii*.

Szczepy atypowe w zakresie badanych narządów wykazały większe gromadzenie radioaktywności niż pożywka z samym fosforem.

Szczepy: *M. avium*, *kansasii*, *xenopei* i *fortuitum* w płucach wykazały mniejsze gromadzenie radioaktywności istotne statystycznie w porównaniu ze szczepem  $\text{H}_{37}\text{Rv}$  o różnicy nieistotnej statystycznie w porównaniu z *M. avium*.

Porównując prątki atypowe w płucach między sobą z prątkami INH-opornymi katalazo- i peroksydazo-dodatnimi i ujemnymi stwierdziliśmy iż najwięcej radioaktywności wykazał szczep ptasi, następnie *M. kansasii*, *xenopei* a najmniej *M. fortuitum*. *M. fortuitum* wykazał przenikanie niemal jednakowe z INH-opornymi katalazo- i peroksydazo-ujemnymi prątkami.

Porównując ze szczepem  $\text{H}_{37}\text{Rv}$  oraz szczepami INH-opornymi katalazo- i peroksydazo-dodatnimi i ujemnymi w wątrobie i nerkach naj-

większe przenikanie wykazał szczep *M. kansasii* i *avium* zaś w śledzionie *M. fortuitum* i *avium*.

Badane szczepy atypowe wykazały większe gromadzenie względnej radioaktywności w wątrobie, śledzionie i nerkach niż szczep H<sub>37</sub>Rv.

#### LITERATURA

1. Archipowa O. P., Uwarowa O. A.: Probl. Tuberk. 1962, XL, 74
2. Janowiec M.: Gruźlica, 1968, 36, 11
3. Karczewska L., Łukjan Z.: Gruźlica, 1969, 37, 9, 864
4. Meissner G.: Beitr. Klin. Tuberk. 1955, 113, 280
5. Michalik M.: Gruźlica, 1966, 34, 7, 613
6. Łukjan Z., Rogowski Fr., Kunda M.: Mikr. Med. Dośw. — w druku
7. Łukjan Z., Rogowski Fr., Oleński J.: Gruźlica, 1969, 37, 10, 893
8. Paryski E.: Gruźlica, 1965, 33, 12, 1355
9. Paryski E.: Gruźlica, 1969, 37, 5, 401
10. Wąsowicz A.: Gruźlica, 1965, 33, 10, 1060
11. Zduńczyk-Pawełek H., Blitek-Golc D., Kostrzewska K.: Gruźlica, 1964, 32, 11

Z. Łukjan, F. Rogowski, M. Kunda

#### EXPERIMENTS ON THE DISTRIBUTION IN THE ORGANS OF GUINEA PIGS OF *M. KANSASII*, *M. FORTUITUM*, *M. XENOPEI* AND *M. AVIUM* LABELED WITH RADIOACTIVE PHOSPHORUS <sup>32</sup>P

##### Summary

The distribution of H<sub>37</sub>Rv *M. kansasii*, *M. xenopei*, *M. avium* and *M. fortuitum* in the lungs, liver, spleens, kidneys and blood of guinea pigs has been studied by measuring radioactivity with a Geiger counter of the organs of guinea pigs inoculated with bacilli grown on media containing radioactive phosphorus <sup>32</sup>P in the form of sodium orthophosphate. In view of the brief half-life of <sup>32</sup>P (14,3 days) Youmans medium was used which gives rapid growth of the bacilli.

Experiments were carried out with 51 tuberculin-negative guinea pigs. In preliminary experiments time of highest concentration of <sup>32</sup>P in the organs was determined after intracardiac injection of the labeled suspension. Activity was determined 15, 30, 45, 60 and 120 min. after introduction of labeled H<sub>37</sub>Rv bacilli. Highest concentration of H<sub>37</sub>Rv was found in the lungs after 45 min. Further experiments were performed at this time. The control group consisted of guinea pigs in which radioactive sodium orthophosphate of the same activity as the labeled mycobacteria was injected intracardially.

In the main experiment 1 ml of suspension of bacilli labeled with <sup>32</sup>P with activity of 10-15 Ci was injected intracardially, and 45 min later the guinea pigs were killed by decapitation. Blood and internal organs (lungs, liver, spleen and kidneys) were secured for examination.

Results were calculated for 100 mg of tissue. Final results were expressed as percentages of blood activity.

The experiments were designed to show differences between the penetration of <sup>32</sup>P and H<sub>37</sub>Rv respectively atypical mycobacteria.

Differences between the various species of mycobacteria and H<sub>37</sub>Rv were also studied. The results were analyzed statistically by Student's test.

Spread of H<sub>37</sub>Rv labeled with <sup>32</sup>P po the lungs was about 3 times to the liver 2 times, and to the spleen 1,5 times greater than orthophosphate alone. H<sub>37</sub>Rv labeled with <sup>32</sup>P also spread to the kidneys in larger amounts than labeled orthophosphate, but the difference was not statistically significant.

Various strains of atypical mycobacteria were compared with H<sub>37</sub>Rv. All four groups of atypical mycobacteria accumulated in the lungs in significantly smaller amounts than H<sub>37</sub>Rv. In the remaining organs (liver, spleen, kidneys) the opposite was observed, i.e. significantly greater accumulation of atypical strains than H<sub>37</sub>Rv.