

RÓŻNICOWANIE PRĄTKÓW KWASOOPORNYCH WYHODOWANYCH OD TRZODY CHLEWNEJ

Władysław Kostrzeński, Hanna Paklerska-Pobratyn

Instytut Gruźlicy w Warszawie

Dyrektor: doc. dr J. Leowski

Celem pracy było różnicowanie 149 nieokreślonych szczepów prątków kwasoopornych wyhodowanych z 240 morfologicznie zmienionych węzłów krezkowych lub podszczękowych pochodzących od trzody chlewnej.

Do klasyfikacji wyhodowanych szczepów zastosowano następujące testy różnicowania:

- ustalenie wzrostu prątków w zależności od temperatury,
- obserwacje charakteru wzrostu prątków na pożywkach płynnych i stałych oraz oznaczenie wielkości komórek bakteryjnych,
- oznaczenie oporności na leki przeciwprątkowe (TB₁, INH, SM i PAS),
- obserwacje wzrostu badanych szczepów na pożywce agarowej różniącej się procentową zawartością peptonu oraz pH,
- oznaczenie kwasu nikotynowego w hodowlach płynnych,
- badanie zdolności reakcji błękitu metylenowego oraz absorpcji czerwieni obojętnej,
- ustalenie zjadliwości 12 wybranych szczepów dla świnek morskich, królików i gołębi.

Królikom i gołębiom wstrzykiwano dożylnie zaś świnkom morskim podskórnice po 1 mg zawiesiny wybranych szczepów.

Zwierzęta usypiano po 60 dniach od chwili zakażenia (jeśli wcześniej nie padły) i określano makroskopowo zmiany gruźlicze w narządach wewnętrznych, wykonywano również preparaty mikroskopowe ze zmienionych tkanek a narządy posiewano na pożywki jajowe.

U części szczepów (ok. 60%) w preparatach mikroskopowych wykonanych z primokultur często występowały pałeczki niekwasooporne. Natomiast w preparatach wykonanych z subkultur tych samych szczepów stwierdzono wyłącznie komórki kwasooporne. Badane szczepy charakteryzowano na podstawie cech hodowlanych.

Badane szczepy podzielono według temperatury wzrostu na 4 grupy. Stosunkowo dużą tolerancję na temperaturę hodowli wykazało 20 szcze-

pów. Szczepy te wyrastały obficie zarówno w temperaturze 20° jak i 45°. Największa liczba szczepów (110) wyrastała w temperaturze 37 i 45°, zaś 7 szczepów rosło tylko w temperaturze 45°.

Wszystkie szczepy rosły na bulionie cukrowym w postaci osadu (46,3⁰/o) lub osadu i mętu (52,4⁰/o). Natomiast na podłożu Lockemanna zarówno w warunkach tlenowych jak i pod płynną parafiną większa liczba szczepów (85,9⁰/o) wyrastała w postaci osadu.

W hodowli płynnej 6 szczepów tworzyło charakterystyczne wiązki, pozostałe szczepy wykazywały wzrost rozproszony. Na podłożu jajowym u większości szczepów kolonie były gładkie (96⁰/o) śluzowate zaś suche szorstkie występowały tylko u 6 szczepów.

Wszystkie badane szczepy wykazywały w różnym stopniu aktywność katalazową i peroksydazową mimo oporności na INH. Natomiast obecność kwasu nikotynowego stwierdzono tylko w hodowlach 3 szczepów.

Podziału badanych szczepów dokonano na podstawie zdolności wzrostu na podłożu agarowym różniącym się procentową zawartością peptonu i pH podłoża. Wszystkie badane szczepy wyrastały na podłożu agarowym o pH 7 bez względu na stężenie, natomiast 51,7⁰/o wyrastało przy pH 8 (szczepy grupy A). Do grupy B zaliczono szczepy, które nie wyrastały przy pH 8 na pożywce zawierającej 0,5⁰/o do 1⁰/o peptonu. Zwiększenie zawartości peptonu w podłożu o pH 8 do 1⁰/o wywierało niekorzystny wpływ na wzrost niektórych szczepów. W tych warunkach nie uzyskano wzrostu kolonii 16 szczepów.

Szczepy grupy A, B i C scharakteryzowano na podstawie testów biochemicznych. Większość badanych szczepów wykazywało wysoką lub obniżoną aktywność dehydrogenazową (27 szczepów). Natomiast 5 szczepów nie redukowało błękitu metylenowego do leukozwiązku nawet po 20 godzinnej obserwacji.

Obecność kwasu nikotynowego w podłożu płynnym stwierdzono u 3 szczepów a 4 szczepy absorbowały czerwień obojętną na powierzchni komórek bakteryjnych.

Skontrolowano wrażliwość wyizolowanych szczepów na leki przeciwpłatkowe. Większość szczepów wykazywała oporność na INH, PAS i Tb₁. Około 90⁰/o szczepów wykazywało oporność na 50 mcg/ml PAS lub Tb₁. Natomiast tylko jeden szczep był oporny na 50 mcg/ml SM, pozostałe szczepy były wrażliwe na 10 mcg/ml w 1 ml podłoża.

W badaniach *in vivo* wybrano 12 szczepów jako przedstawicieli poszczególnych grup szczepów. Dwa szczepy, które na podstawie testów *in vitro* oznaczono jako ludzkie, również w badaniach *in vivo* zachowywały się jak prątki gruźlicy typu ludzkiego. W narządach wewnętrznych świń morskich i królików stwierdzono makroskopowo typowe zmiany gruźlicze a w preparatach mikroskopowych i w hodowli z narządów stwierdzono prątki gruźlicy.

Trzy szczepy bydlęce, które nie wytwarzały kwasu nikotynowego w

hodowli płynnej były zjadliwe dla królików i świnek morskich. W niektórych przypadkach mimo braku zmian gruźliczych w narządach wewnętrznych świnek morskich hodowle z narządów były dodatnie. Obniżona zjadliwość tych szczepów dla świnek morskich wiąże się prawdopodobnie z opornością na INH.

Stosunkowo duża grupa szczepów, które oznaczono jako prątki gruźlicy typu ptaków wykazywała małą zjadliwość dla królików a szczególnie dla świnek morskich. W nielicznych przypadkach stwierdzano pojedyncze ogniska w śledzionie lub wątrobie. Hodowle z narządów były często ujemne. Szczepy te nie wywoływały również zmian gruźliczych u gołębi.

Pozostałe szczepy, które w testach *in vitro* różniły się od pozostałych szczepów były niezjadliwe dla zwierząt laboratoryjnych. Być może, że szczepy te stanowią odrębny gatunek *M. suis*. Wydaje się, że grupa tych szczepów wymaga dalszych badań, szczególnie serologicznych i biochemicznych.

Wyhodowane szczepy na podstawie zastosowanych testów *in vitro* i *in vivo* określono jako szczepy gruźlicy typu ludzkiego (2 szczepy), bydłęcego (3 szczepy), ptasiego (71 szczepów) oraz prątków szybko rosnących — saprofitycznych (1 szczep).

Niektóre cechy wyróżniające je spośród znanych typów prątków z rodzaju *Mycobacterium* wykazywało 56 szczepów i możliwe, że należy je uznać za nowy gatunek — *M. suis*. Szczepy te charakteryzują się brakiem wzrostu na podłożu agarowym z wyciągiem ziemniaczanym zawierającym 0,5 lub 1,0% peptonu i pH 8 a dla zwierząt laboratoryjnych zazwyczaj są zupełnie niezjadliwe. Jedynie hodowle z narządów w niektórych przypadkach mogą być dodatnie.

W. Kostrzeński, H. Paklerska-Pobratyn

DIFFERENTIATION OF ACID-FAST BACILLI ISOLATED FROM PIGS

Summary

149 unidentified acid-fast bacilli grown in morphologically altered mesenteric lymphatic or submaxillary nodes in pigs were differentiated.

In the investigations a number of *in vitro* and *in vivo* tests such as are usually applied for classification was carried out.

These tests allowed to determine 3 strains of tubercle bacilli of human type, 2 of bovine type, 71 of avian type, and 1 strain of rapid growing saprophytic bacteria. 56 strains revealed different features from those of all known types of bacilli of *Mycobacterium* species. It is possible that they belong to a different species of *M. suis*. The strains of this group were characterized by lack of growth on agar culture of pH 8,0 containing 0,5 or 1 per cent of peptone.

These strains can cause slight lesions in the organs of guinea pigs or rabbits.