МИКРОБИОЛОГИЯ

А. О. МИРЗАБЕКЯН

ОБ ИЗМЕНЧИВОСТИ ДИЗЕНТЕРИЙНЫХ БАКТЕРИЙ

При наших исследованиях этиологии дизентерийных заболеваний в Армении, очень часто, одновременно с патогенными бактериями, обладавшими нормальными свойствами, в лаборатории микробиологии Института эпидемиологии и гигиены Министерства здравоохранения Армянской ССР, мы высеивали из организма больных дизентерией штаммы, которые по тем или другим своим свойствам отклонялись от типичных бактерий данного вида. Эти отклонения касались чаще всего биохимических и серологических свойств бактерий.

Немало было случаев, когда свежесделанная культура давала хорошо выраженную реакцию агглютинации с гетерогенными сыворотками. Так, например, штамм № 26—III из сахаров сбраживал только глюкозу (как маннит не ферментирующая группа), а агглютинировался только Зонне сывороткой в разведении 1:400.

Штамм 26—II, выделенный из кала одного и того же больного, ни один сахар не сбраживал, а агглютинировался также Зонне сывороткой в разведении 1:200. Штамм № 135 в свежесделанном состоянии ферментировал глюкозу, маннит и мальтозу, с образованием кислоты, не сбраживал лактозу и сахарозу, агглютинировался агглютинирующими сыворотками Флекснера в разведении 1:400, сывороткой Григорьева-Шига в разведении 1:200, сывороткой Зонне также в разведении 1:200. Через несколько месяцев этот штамм потерял свои ферментативные свойства, продолжая почти в таких же титрах агглютинироваться вышеуказанными сыворотками.

Штаммы за №№ 9, 1, 170, непосредственно после своего выделения, сбраживали глюкозу и маннит, а через несколько месяцев, при повторных исследованиях, утратили свойства разлагать глюкозу и маннит, стали вести себя как кишечный щелочеобразователь, один из них (170) с такой биохимией агглютинировался сывороткой против Ньюкестля в разведении 1:800.

На страницах нашего лабораторного журнала много подобных фактов. Очевидно, патогенные и условно-патогенные бактерии, при долгом симбиозе с различными сапрофитами кишечника, приспособляясь к условиям питания, теряют те или другие свойства, или приобретают новые, а при более глубоком и продолжительном действии внешних факторов, меняют и свои антигенные свойства. В результате этого резко затрудняется их идентификация и бактериологическая

диагностика дизентерийных заболеваний. Отсюда происходит позднее выявление распадников инфекции, со всеми проистекающими из этого последствиями. Приведем несколько примеров. Больной Т. Др. страдал в течение двух лет хроническим поносом, с частыми обострениями, с наличием в кале слизи и крови. Повторные исследования кала и крови на дизентерию, произведенные при обострениях болезни в городских лабораториях, не давали положительных результатов. Однако при исследовании нами кала этого больного, в посевах на бакто-агаре „Ж“ и эндо-агаре, через 24 часа роста в термостате при 37°, были обнаружены бесцветные колонии, с несколько неровными краями и нехарактерной для дизентерийных бактерий поверхностью. Мазки, сделанные из этих колоний, показали наличие мелких грам-отрицательных палочек, похожих на бактерии кишечнотифозной группы. Через 48 часов в этих колониях появился желто-бурый пигмент. При повторном микроскопировании мазков из этих колоний изменений в морфологии не было обнаружено. Для дальнейшего изучения были произведены отколы из колоний на косой мясо-пептонный агар (рН=7,4) и на мясо-пептонный бульон с таким же рН. Через 24 часа на косом агаре рост был в виде бело-сероватого налета, через 48—96 часов появился буро-коричневый пигмент, а культура имела неровную поверхность. На мясо-пептонном бульоне рост был на поверхности в виде морщинистой пленки. С этих сред снова были произведены пересевы на пластинки эндо, бакто-агара „Ж“ и Левина. На мясо-пептонном агаре колонии через 24—48 часов бесцветные, тоже на эндо-агаре, на агаре Левина и бакто-агаре „Ж“. Однако через 48—96 часов характер колоний на этих средах изменился, появился коричневатобурого цвета пигмент, хорошо выраженный на пластинках мясо-пептонного агара.

Мазки, сделанные из колоний с различных сред, показали наличие грам-отрицательных палочек, причем со среды Левина, бакто-агара „Ж“ и эндо-агара наряду с бактериями нормальной величины и формы были и длинные нити. С кровяного агара бактерии были несколько толще, чем таковые с прочих сред, а иногда встречались и кокковые формы.

Культура эта, помещенная под № 87—1, была подвергнута подробному биохимическому и серологическому исследованию.

Больной Т. Др. исследовался нами еще три раза при обострении болезни с патологической примесью в кале. Второе исследование, произведенное 12 января 1951 г., дало отрицательный результат. Третье исследование было произведено 24 января 1951 г., четвертое — 24 февраля того же года. Третий и четвертый посева кала Т. Др. дали положительный результат: на чашках элективных сред были получены подобные описанным выше колонии. Полученные при повторных исследованиях кала больного Т. Др. культуры обозначены нами №№ 87—III и 87—IV. Эти культуры также были подвергнуты многократному подробному морфологическому, биохимическому и

серологическому исследованию. Оказалось, что отдельные штаммы выделенных культур разнятся между собой в отношении тех или других свойств. Соответственно этому, как варианты культуры 87, были выделены штаммы: 87—I а, 87—I б, 87—III а.

Результаты изучения всех штаммов, выделенных от больного Т. Др., отражены в таблицах 1 и 2.

Штаммы 87—I, 87—III и 87—IV сбраживали из сахаров глюкозу, с образованием кислоты, другие углеводы, указанные в таблице, не сбраживались в течение 10—14 дней. Индола и сероводорода они не образовывали, не давали положительной реакции на каталазу. Наряду с этим, выделенные при I и III посевах штаммы 87—I а, 87—I б, 87—III а сбраживали глюкозу и мальтозу с образованием кислоты без газа, а в остальных свойствах вели себя одинаково с первыми, т. е. желатины не разжижали, молока не створаживали, на лакмус-молоке образовывали щелочь, на твердых средах давали одинакового характера колонии.

Культура 87—I при испытании с эталонными агглютинирующими сыворотками дала хорошо выраженную положительную агглютинацию мелко зернистого характера: с сывороткой Григорьева-Шига в разведении 1:3200; с местной сывороткой № 15 (против местного штамма Григорьева-Шига № 15) в разведении 1:1600; при титрах агглютинирующих сывороток 1:6400.

Эта же культура давала групповую реакцию агглютинации в разведении 1:400 с сывороткой Флекснера.

Штамм 87—I а, разлагающий глюкозу и мальтозу, дал положительную реакцию агглютинации с сывороткой Флекснера в разведении 1:800.

Штамм 87—I б не агглютинировался ни с какой из примененных сывороток.

Штамм 87—III слабо, в разведении 1:800, агглютинировался с эталонной сывороткой Григорьева-Шига и в разведении 1:400 с местной сывороткой № 15.

Штамм 87—III а, сбраживающий из сахаров глюкозу и мальтозу, положительно реагировал с сывороткой Флекснера в разведении 1:800, с сывороткой Зонне—1:400.

Штамм 87—IV дал хорошо выраженную реакцию агглютинации с эталонной сывороткой Григорьева-Шига в разведении 1:3200, а с местной сывороткой № 15—1:400.

Штаммы №№ 87—I, 87—III, 87—IV, 87—I а исследовались также методом адсорбций агглютининов из специфических агглютинирующих сывороток Григорьева-Шига, местной сыворотки № 15 и из сыворотки 87—I.

Эталонная сыворотка Григорьева-Шига, адсорбированная культурами 87—I, 87—III, 87—IV, одноименной эталонной культурой, а также местной культурой № 15, при постановке реакции агглютинации дала отрицательный результат с только что перечисленными культу-

Таблица 2

Результаты реакции агглютинации штаммов с эталонными агглютинирующими сыворотками

Дата выделения культуры	Дата исследования	Название штаммов	Флекснера титр сыв. = 1 : 12.800							Григорьева-Шига титр = 1 : 6400						Шмитца-Штуцер титр = 1 : 6400			Зонне титр = 1 : 3200			Местн. сыв. Григор.-Шига № 15. титр = 1 : 6400			
			1 : 200	1 : 400	1 : 800	1 : 1600	1 : 3200	1 : 6400	1 : 12.800	1 : 200	1 : 400	1 : 800	1 : 1600	1 : 3200	1 : 6400	1 : 200	1 : 400	1 : 800	1 : 200	1 : 400	1 : 800	1 : 200	1 : 400	1 : 800	1 : 1600
6 X 50 г.	12 X 50 г.	87 — I	2+	1+	—	—	—	—	3+	3+	3+	3+	2+	1+	—	—	—	—	—	—	3+	3+	2+	1+	
.	.	87 — I a	3+	2+	1+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
.	.	87 — I б	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
24 I 51 г.	12 II 51 г.	87 — III	—	—	—	—	—	—	3+	2+	1+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3+	2+	—	—	
.	.	87 — III a	3+	2+	1+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2+	1+	—	—	—	—	—	
27 II 51 г.	1 III 51 г.	87 — IV	1+	—	—	—	—	—	3+	3+	3+	2+	1+	—	—	—	—	—	—	—	2+	1+	—	—	

Примечание: агглютинации имели мелкозернистый характер.

+ — положительная реакция агглютинации.

— — отрицательная реакция агглютинации.

Цифры показывают интенсивность реакции.

рами, что указывает на специфичность агглютининов эталонной сыворотки Григорьева-Шига к рецепторам испытуемых культур.

В этих опытах результаты реакции агглютинации с культурой Григорьева-Шига и № 15 оказались положительными в разведении 1 : 400—1 : 800 и отрицательными с теми же культурами после адсорбции ими агглютининов из одноименной сыворотки.

Данные адсорбции агглютининов из сывороток № 15 и 87—I теми же культурами дают почти аналогичные с первыми результаты. Эти данные, данные реакции агглютинации с неадсорбированными агглютинирующими сыворотками Григорьева-Шига, № 15, 87—I, 87—III с испытуемыми 87—I, 87—III, 87—IV, Григорьева-Шига и № 15 культурами дали положительные результаты реакции с гаптенем, полученные с культурой 87—I и с преципитирующей сывороткой Григорьева-Шига; культура 87—I а с сывороткой Флекснера, а также чувствительность этих штаммов к дизентерийному бактериофагу указывают на принадлежность изучаемых штаммов к бактериям дизентерии.

Таким образом, на основании подробного изучения штаммов 87—I, 87—III, 87—IV, 87—I а, 87—I б и 87—III а, выделенных из проб кала больного Т. Др., мы приходим к заключению, что первые три штамма резко отличаются от дизентерийных бактерий своими культуральными свойствами—образованием через 48—96 часов роста весьма не характерных для дизентерийных бактерий, грубых, шероховатых форм колоний и коричневато-бурого растворимого в бульоне пигмента; а по своим остальным признакам и свойствам—морфологией бактерий, биохимическими и серологическими свойствами эти штаммы подходят к бактериям Григорьева-Шига. Штаммы же 87—I а, 87—I б и 87—III а относятся к бактериям Флекснера, от которых отличаются также формой колоний, образованием пигмента и еще несбраживанием маннита.

Наблюдения за штаммами 87—I, 87—II и 87—IV велись с 1950 г. до настоящего времени, и в течение этого периода изменений в вышеописанных свойствах и признаках мы не отмечали.

На этом основании можно полагать, что в результате долгого симбиоза с сапрофитами кишечника больного, в результате особых условий обмена веществ и прочих внешних условий существования в организме больного, получился вариант бактерий Григорьева-Шига, отличающийся от исходного типа своими культуральными качествами.

Что же касается штаммов №№ 87—I а, 87—I б и 87—III а, то можно сделать предположение, что эти бактерии являются вариантами бактерий Флекснера, доказательством чему служит положительная реакция агглютинации с сывороткой Флекснера 1 : 400—1 : 800, положительные результаты реакции с гаптенем и положительные результаты опыта с фаголизисом. В таком случае нужно допустить, что больной Т. Др. был инфицирован двумя видами дизентерийных бактерий: Григорьева-Шига и Флекснера, измененными под влиянием длительного воздействия особых условий в кишечнике больного.

Таблица 3

Результаты морфологических и биохимических исследований штамма № 5-Гр.

Дата выделения	Дата исследования	Характер роста на			Рост на мясо-пептонном бульоне	Морфология бактерий и окраска по Граму	Подвижность	Сбраживание углеводов					Рост на			Образование:		
		эндотре	мясо-пептонном агаре	бакто-агаре Ж*				глюкоза	мальтоза	маннит	сахароза	лактоза	молоке	лакус. молоке	желатине	индота	сероводорода	каталазы
15 III 51 г.	17 III 51 г.	Бесцв. колон.	Большинство в s ^s форме, через 48—72 часа появляется желтый пигмент	Бесцветн. колонии больше в s ^s форме, через 48 часов изменение цвета	Диффузный	Палочки с закругленными концами, спор и капсул не образуют. По Граму—отрицат.	Неподвижны	к	к	к			Не створоживаются	Чуть краснеет, затем синее	Не разжижается	Не образует		
12 IV 51 г.	15 IV 51 г.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.

Таблица 4

Результаты реакции агглютинации штаммов №№ 5-Гр. с агглютинирующими сыворотками против дизентерийных бактерий

Дата выделения	Дата исследования	Название штамма	Флекснера титр=1:12800							Григорьева-Шига титр=1:6400					Штуцер-Шмитца титр=1:6400			Зонне титр=1:3200												
			1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:6400	1:12800	1:200	1:800	1:1600	1:3200	1:6400	1:200	1:400	1:800	1:200	1:400	1:800										
15 III 51 г.	19 III 51 г.	№ 5-Гр.	3+	3+	3+	3+	2+	1+	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
2 IV 51 г.	12 IV 51 г.	№ 5-Гр.	3+	3+	3+	3+	3+	2+	1+	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Приводим еще один случай, подобный описанному.

Из кала больного М. Гр. при остром поносе с наличием в кале слизи и крови 15 марта 1951 г. была выделена на эндо-агаре культура, помеченная № 5, которая в первый день (через 24 часа) дала бесцветные, гладкие колонии. Через несколько дней характер колоний сильно изменился: поверхность их стала неровной, появилась радиальная исчерченность в виде складок с темножелтым пигментом. Пигмент этого штамма был хорошо выражен на пластинках мясо-пептонного агара. Форма колоний была очень похожа на описанную выше форму штамма № 87. В остальных признаках и свойствах штамм № 5 подходил к бактериям дизентерии Флекснера. Эта культура состояла из палочек; спор и капсулы не образовывала, по Граму красилась отрицательно, из сахаров сбраживала глюкозу, мальтозу и маннит, образуя кислоту; лактозу и сахарозу не сбраживала, лакмусовое молоко сначала чуть краснело, затем синело. Реакции на индол и сероводород были отрицательны.

При постановке реакции агглютинации с агглютинирующими сыворотками обнаружили положительную реакцию мелко зернистого характера с сывороткой Флекснера в разведении 1:6400. Данные эти приводятся в таблицах 3 и 4.

Исследования этого штамма проводились также опытами адсорбции агглютининов по Кастеллани и реакцией с гаптенем.

С этой целью агглютинирующая сыворотка Флекснера и сыворотка № 5-Гр. „своя“, полученная против местного штамма № 5-Гр., подверглись адсорбции культурой № 5-Гр. и эталонной культурой Флекснера.

Агглютинирующая сыворотка Флекснера, адсорбированная культурой № 5-Гр., дала отрицательную реакцию агглютинации с культурой № 5-Гр., вследствие полной адсорбции специфических для нее агглютининов; с культурой же Флексера в этих опытах реакция агглютинации получилась положительной в разведении 1:800, что показывает наличие некоторого количества специфических агглютининов в сыворотке Флекснера, не адсорбированных культурой № 5-Гр. Перекрестная адсорбция из сыворотки № 5-Гр. культурой Флекснера дала аналогичную картину—после адсорбции получилась отрицательная реакция агглютинации с культурой Флекснера и положительная, в разведении 1:400 с культурой № 5-Гр., т. е. эталонная культура Флекснера при адсорбции сыворотки № 5-Гр. полностью извлекла специфические для себя агглютинины (отрицательный результат), оставив агглютинины специфические только для культуры № 5-Гр. (положительный результат 1:400).

Другой ряд опытов адсорбции, проведенный с сывороткой № 5-Гр. и культурой № 5-Гр., показал извлечение специфических для культуры № 5-Гр. и Флекснера агглютининов.

Параллельно с опытами адсорбции агглютининов, нами ставились реакции агглютинации с неадсорбированными агглютинирующими сы-

воротками № 5-Гр. и Флекснера с культурами № 5-Гр. и Флекснера прямым и перекрестным путем в порядке контроля.

Культура № 5-Гр. исследовалась нами также на наличие специфического гаптена методом реакции с гаптенем. Полученный положительный результат с сывороткой Флекснера, а также положительный фаголизис в опытах проверки чувствительности культуры № 4-Гр. к дизентерийному бактериофагу, вместе с данными реакции адсорбции агглютининов, дали нам основание считать культуру № 5-Гр., выделенную из проб кала больного Гр., вариантом бактерий дизентерии Флекснера.

Этиологическая роль штамма № 5-Гр., как и штаммов №№ 87—I, 87—III и 87—IV, была установлена путем реакции агглютинации этих штаммов с сыворотками крови больных Т. Др. и М. Гр. Положительная реакция агглютинации у Т. Др. со „своей“ культурой 87 была получена в разведении 1:800, а с эталонной культурой Григорьева-Шига 1:400.

С сывороткой крови М. Гр. положительный результат со своей № 5-Гр. культурой был получен в разведении 1:400, а с эталонной культурой Флекснера 1:200.

Исходя из всего сказанного относительно исследований штаммов, нужно предположить, что эти штаммы являются измененными формами дизентерийных бактерий, которые, как это было выше изложено, в результате долгого симбиоза в кишечнике больного или вне его с другими микроорганизмами, приобрели свойства образовывать пигмент и давать форму колоний, очевидно, характерные для последних микроорганизмов.

Институт эпидемиологии,
микробиологии и гигиены
Министерства здравоохранения
Армянской ССР

Поступило 9 IV 1955 г.

Ա. Հ. ՄԻՐՉԱՐԵԿՅԱՆ

ԴԻՉԵՆՏԵՐԻԱՅԻ ԲԱԿՏԵՐԻԱՆԵՐԻ ՓՈՓՈԽԱԿԱՆՈՒԹՅԱՆ ՄԱՍԻՆ

Ա մ փ ո փ ու մ

Դիզենտերիա հիվանդութեան էթիոլոգիական պատճառների ուսումնասիրութեան ընթացքում հիվանդների կղանքներից հաճախակի մեկուսացվել են այնպիսի բակտերիայի շտամներ, որոնք իրենց մի շարք հատկութուններով տարրերվում են հայտնի դիզենտերիային բակտերիաներից: Այս աշխատութեան մեջ նկարագրում ենք մեր կողմից մեկուսացրած դիզենտերիայի բակտերիաների մորֆո-ֆիզիոլոգիական հատկանիշները:

№ 87—I, № 87—III և № 87—IV և № 5 դիզենտերիայի բակտերիաները, որոնք մեկուսացվել են սուր լուծի ընթացքում և էնդո-ազարի ուրակոտ-ազարի «Փ»-ի վրա, առաջին 24 ժամվա ընթացքում աճելով, առա-

ջացնում են անհարթ եզրերով և կնճոռտ մակերևսով անդույն դադուիթներ:

Այդ գադուիթներից պատրաստված քսուկներում միկրոսկոպի տակ նկատվում են աղետիֆային բակտերիաներին նման գրամ բացասական ցուպիկներ: Նշված գադուիթներում 48—96 ժամից հետո առաջանում է գորշ-շականակագույն պիգմենտ: Այդ բակտերիաներից ստացված կուլտուրան մսապեպտոնային ագարի վրա 24 ժամից հետո տալիս է անդույն փառի ձևով աճ, իսկ 48—96 ժամից հետո՝ գորշ շագանակագույն պիգմենտ: Հիշյալ շտամների հետ միաժամանակ մեկուսացված № 87—I-a, № 87—I-6 և № 87—III-a ցուպիկները կապսուլա ու սպոր չեն առաջացնում և գրամ բացասական են: Էնդոսպորի և մսապեպտոնային ագարի վրա աճելիս առաջին 24 ժամում առաջացնում են անդույն գադուիթներ, իսկ 48—96 ժամից հետո՝ գորշ-շագանակագույն պիգմենտ:

Ելնելով № 87 և № 5 շտամների ուսումնասիրության տվյալներից, կարելի է ասել, որ այդ շտամները հանդիսանում են դիզենտերիայի բակտերիաների փոփոխված ձևերը, որոնք սապրոֆիտ բակտերիաների հետ երկարատև համակեցության հետևանքով, ապա գտնվելով նյութափոխանակության նոր պայմաններում, ձևաբան բերել պիգմենտ և կնճոռտ գադուիթներ առաջացնելու հատկություն, որ բնորոշ չէ դիզենտերիայի բակտերիաների համար: