

МИКРОБИОЛОГИЯ

А. М. Диланян

Лактозоферментирующие колонии В. Shiga

(Представлено В. О. Гулканяном 24 VI 1946)

Возбудители бациллярной дизентерии, как и другие патогенные представители микроорганизмов кишечного-тифозной группы, относятся к лактозонегативной группе бактерий, однако, в литературе имеется ряд указаний (^{1,2,3,4}) о том, что в жидкой среде лактоза незначительно расщепляется дизентерийными палочками.

Нами были изучены различные штаммы бактерии Шига, выделенные в различных местностях Союза, в различное время. Мы изучали их морфологические, культуральные и биологические свойства.

По тинкториальным свойствам все штаммы оказались грамнегативными палочками, наблюдался полиморфизм, что характерно для дизентерийных бактерий.

Культивируя дизентерийные штаммы на среде Эндо при температуре 37°C, мы получили отдельные колонии гладкой формы—S варианты, на поверхности которых наблюдалась зональная ферментация лактозы в виде красного кольца, центральная часть выпуклая, почти бесцветная, наподобие пуговчатого образования, края колонии также бесцветны (Л 14—39_{1,2}, Л 14—281_{1,2}, Л 14—331_{1,2,3}, Т 569—5₃, Т 720).

У некоторых штаммов ферментация лактозы была выражена в центральной части в виде круглых, красных пятен (Л 14—311, Л 14—341, Т 139—1, Т 389—8, Т 441, Т 451₁, Т 567—2_{1,2} и Т 723).

Из выделенных лактозоферментирующих колоний три имели белые края с красным ободком, но желтоватым центром (Т 451₂, Т 419_{1,2}), одна была розоватая (Т 520), другая — с двумя красными зонами (Т 569—5₁).

Ферментация лактозы была настолько ясно выражена, что можно было заметить невооруженным глазом.

Микроскопирование слабым увеличением показывало следующую картину: колонии имели совершенно гладкие белые края и красный „корнеподобный“ центр. От центра радиально отходили с многочисленными разветвлениями красные полосы. На одном и том же предметном

стекле делали мазок как из лактозоферментирующих участков, так и лактозонерасщепляющих, затем, красили по Граму. При бактериоскопии препаратов нам не удалось отметить разницу в тинкториальных и морфологических свойствах. Все они оказались грамнегативными палочками.

Расщепление лактозы в жидкой среде не обнаруживалось так, как расщепление лактозы имело место на твердой среде, весьма вероятно, что при ферментации лактозы столь незначительна кислота, которая и нейтрализуется аммиаком, образующимся вследствие распада белковых веществ питательной среды. Возможно также, что на среде Эндо при размножении бактерий в периферической части колонии, где имеется меньше микробных тел, образовавшаяся в незначительном количестве кислота нейтрализуется аммиаком, а в центральной части, где бактериальный рост более пышный, молочная кислота накапливается в достаточном количестве и, поэтому, восстанавливает фуксин из лейкобазы среды Эндо, окрашивая соответствующий участок колонии в красный цвет.

Все изученные штаммы ферментируют глюкозу с образованием кислоты, а Л 14—311, Л 17—331, Т 139—1 и Т 441—3 расщепляют кроме глюкозы и мальтозу. У одного и того штамма наблюдались мальтозопозитивные и мальтозонегативные колонии (Т 419_{1,2}, Л 14—331_{1,2,3}). Все штаммы не расщепляли сахарозы, за исключением Т 441—3, который разлагал сахарозу с образованием кислоты в течение 24 часов, после чего произошло восстановление щелочной реакции, которая сохранилась в течение 3-недельного наблюдения.

Все наши культуры дизентерийных палочек Шига не свертывали молока, не образовывали индола и сероводорода, оказались каталазонегативными и неподвижными, давали равномерную муть в бульоне.

Серологические свойства изучаемых штаммов проверялись эталонными агглютинирующими сыворотками Шига Производственного Сектора ЦИЭМ, Мечниковского областного Института (Москва) и сывороткой антишига собственного изготовления путем иммунизации кроликов вакциной, приготовленной из Ленинградского штамма 14--281.

Имея мальтозоразлагающие колонии дизентерийных палочек, мы включили в ассортимент наших сывороток еще агглютинирующую сыворотку антифлекснер. Результаты изучения серологических свойств приведены в таблице.

Изучение серологических свойств лактозоферментирующих культур показало следующее: во-первых, имеются культуры, которые не агглютинируются примененными агглютинирующими сыворотками (Т 139₁, Т 451₂, Т 569—5_{1,2}); во вторых, большинство культур значительно слабее агглютинируется сывороткой антишига Мечниковского Института, что, повидимому, можно объяснить вариабельностью культур, связанной с изменением антигенной структуры. Реакция агглютинации была отрицательна с сывороткой антифлекснер, за исключением одного штамма—Т 451, который агглютинировался только в разведении 1/100.

Серологические свойства лактозоферментирующих штаммов б. Шига

Бактерии Шига	Сыворотка антишига ЦИЭМ, Т.1600					Сыворотка антишига Мечни- ковского Ин-та, Т.10000							Кроличья сыворотка Л14-231, Т.6400							Сыворотка антифлексер ЦИЭМ, Т.5000						Контроль
	1/100	1/200	1/400	1/800	1/1600	1/100	1/200	1/400	1/800	1/1600	1/3200	1/6400	1/100	1/200	1/400	1/800	1/1600	1/3200	1/6400	1/100	1/200	1/400	1/800	1/1600	1/3200	
Л14-331	++	++	++	+	-	+	+	+	+	-	-	-	++	++	++	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Л14-341	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	++	++	++	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Т139-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Т419,	++	++	+	-	-	++	+	+	-	-	-	-	++	++	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Т441-3	++	++	++	++	-	++	+	+	-	-	-	-	++	++	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Т451 ₁	++	++	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	++	++	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Т451 ₂	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Т569-5 ₁	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Т569-5 ₂	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Т569-5 ₃	++	++	++	++	+	++	++	++	++	++	+	-	++	++	++	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-

Интересные данные получились при чтке результатов реакции агглютинации от двух колоний ташкентского штамма 451. Колония 451₁ имела на среде Эндо гладкую форму, красное пятно в центральной части. Культура, полученная из этой колонии, агглютинировалась сывороткой кролика, иммунизированного ленинградским штаммом дизентерийных палочек Шига 14—281 и значительно слабее агглютинировалась сыворотками ЦИЭМ и Мечниковского Института. Другая же колония этого же штамма выявила некоторые серологические особенности, но биохимически не отличалась от первой. Она отличалась также по внешнему виду: имела белые края, при микроскопии слабым увеличением центральная часть была желтовата. На поверхности колонии расщепление лактозы обнаруживалось в виде красного кольца — ободком. Вышеописанная колония не обладала агглютинабельными свойствами, вернее с данными сыворотками не агглютинировалась. Подобное явление наблюдалось у ташкентских штаммов 139—1 и 569—5_{1,2}.

Наиболее выраженными агглютинабельными свойствами обладала лактозоферментирующая колония Т 569—5₃, что можно объяснить серологической общностью.

Нами изучалась вирулентность и токсичность лактозоферментирующих культур. Среди них имеются вирулентные и токсические штаммы (Л 14—281, Т 139—1), сильно вирулентные-менее токсические штаммы (Л 14—311), авирулентные-менее токсические (Л 14—341), менее вирулентные и менее токсические (Т 389, Т 419), и менее вирулентные, но токсические штаммы (Т 451).

Имея вышеуказанные показатели изучаемых культур, нас интересовал вопрос, не является ли феномен ферментации лактозы на Эндо следствием адаптации дизентерийных культур на данной среде? Поэтому, мы пассировали один из наших штаммов дизентерийных бактерий Шига на отечественном и импортном мясопептонном агаре (рН=7,3).

Методика нашей работы была следующая: культура засеивалась на среду Эндо, инкубировалась в термостате при температуре 37° С. После 24-часового бактериального роста, путем селекции, мы эмульгировали лактозоферментирующие колонии в 1 см³ мясопептонного бульона (рН=7,3), затем, петлей пересевали на толстом слое отечественного и импортного агара, оставляя посевы при температуре термостата.

На следующий день выделяли наиболее гладкую, круглую выпуклую, прозрачную колонию и снова пассировали на отечественном и импортном агаре. После пяти генераций делали посев на среду Эндо. Эту работу мы проводили три раза. В результате наблюдения оказалось, что через 24 часа на указанной дифференциальной среде опять обнаруживалась ферментация лактозы. При этом необходимо отметить, что культивирование дизентерийных палочек на различных сортах агара показало одинаковые результаты.

Выводы. 1. На твердой среде нами обнаружен феномен ферментации лактозы дизентерийными бактериями Шига.

2. Среди изучаемых бактерий Шига, некоторые обладали биохимическими и серологическими особенностями.

3. Лактозоферментирующие культуры бактерии Шига оказались вирулентными-менее токсическими, авирулентными-менее токсическими, менее вирулентными-менее токсическими, менее вирулентными, но токсическими.

Москва, 1939, февраль.

Ա. Մ. ԴԻԼԱՆՅԱՆ

В. Shiga-ի լակտոզաֆերմենտացիոն գաղութները

Դիզենտերիայի Շիգա բակտերիաների տարբեր շտամների ուսումնասիրության քննարկում, որոնք մեկուսացված էին Միուլթյան տարբեր վայրերում և տարբեր ժամանակամիջոցներում, մենք հայտարարեցինք Լենինգրադի և Տաշկենտի շտամների միջև լակտոզատարրությամբ գաղութներ, որոնց հետազոտության արդյունքները բերված են այս աշխատանքում:

Դիզենտերիայի ցուպիկների տարբեր շտամները աճեցնելով էնդո ազարի վրա, մենք ստացանք S ձևի գաղութներ, որոնց մի մասն ունենին հարթ սպիտակ եզրեր՝ «տրամատանման» կարմիր կենտրոնով՝ շառավիղաձև տարածվող բազմաթիվ ճյուղավորված կարմիր գծերով: Նույն գաղութի լակտոզատարրությամբ և չտարրաբաշխող մասերից պատրաստված քսուկների քակտերիոսկոպիական պատկերը, Դրամի ներկման եղանակով, միատեսակ էր, այսինքն՝ բոլորը զբաղացուցական պոլիմորֆ ցուպիկներ էին:

Հեղուկ միջավայրում մեզ հաջողվեց հայտարարել լակտոզի տարրաբաշխման երևույթներ: Հավանորեն այդ կարելի էլինի բացատրել նրանով, որ միջավայրում առաջացած կաթնաթթվի քանակն այնքան քիչ է, որ չեզոքանում է իր շրջապատում:

Բիոքիմիական հատկությունների ուսումնասիրության ժամանակ մեզ հաջողվեց որոշել, որ միևնույն շտամի տարբեր գաղութներ ունեն մայրոգանեզատիվ և մայրոգապոդիատիվ հատկություններ: Բոլոր հետազոտվող շտամները չէին մակտրոպում կաթը, չէին առաջացնում ինդոլ և ծծմբաջրածին, կատալազանեզատիվ էին և անշարժ, մասպակատոնային բուլիոնում առաջացնում էին պրոտրոկյուն:

Բացի մորֆոլոգիական, կուլտուրալ և բիոքիմիական հատկությունների ուսումնասիրությունից, մենք հետապնդել ենք նաև այդ շտամների շինուկաբանական հատկությունները, վիրուլենտությունը և տոքսիկականությունը: Շինուկաբանական հատկությունների ուղղակի ընկերակցությունը ևն այս աշխատանքի մեջ զետեղված աղյուսակում, իսկ վիրուլենտությունը և տոքսիկականությունը ամփոփված են մեր եզրակացության մեջ:

Եզրակացություն.

1. Դիզենտերիայի Շիգա բակտերիաների միջոցով հայտարարված են, կարծր օնդոգային միջավայրում, լակտոզատարրությամբ գաղութներ:

2. Ուսումնասիրված Շիգա բակտերիաների որոշ շտամներ ունեն բիոքիմիական և շինուկաբանական առանձնահատկություններ:

3. Շիգա բակտերիաների լակտոզատարրությամբ կուլտուրաներն ի հայտ եկան իրենց վիրուլենտությամբ և տոքսիկականությամբ, բարձր վիրուլենտությամբ-թույլ տոքսիկականությամբ, ավիրուլենտությամբ-թույլ տոքսիկականությամբ, թույլ վիրուլենտությամբ-թույլ տոքսիկականությամբ, բայց տոքսիկականությամբ:

Lactose-Fermentating Colonies of Shiga Bacteria

Studying various strains of Shiga bacteria, isolated in different areas of the Soviet Union at different time, lactose-fermentating colonies among the Leningrad and the Tashkent strains have been found out.

The results of these studies are given in the present paper.

Conclusions

1. The phenomenon of the fermentation of lactose by Shiga dysentery bacteria, on the hard Endo medium has been found out.

2. Among the strains of Shiga bacteria, being studied, some of them have been found to possess biochemical and serological properties.

3. The lactose-fermentating cultures of Shiga bacteria appeared to be virulent and toxic, much virulent—less toxic, avirulent—less toxic, less virulent—less toxic, and less virulent but toxic.

ЛИТЕРАТУРА

1. Р. О. Луиц, Моногр., стр. 1—119, 1913. 2. W. E. Fitz-Gerald & Ch. B. Edin. The Lancet, 2, 1051, 1921. 3. O. Lentz. Handb. der path. Microorg. Koll. u. Wasserman, 2 Aufl., Bd. 111, 899, 1913. 4. Winter. Ztschr. f. Hyg., 70, 273, 1911.