

Др. Н. Мазена (Прага).

ХРОМОГЕНІЗМ У *B. COLI*.

Державний Інститут Здоровля ((Státni Zdravotni Ustav).

B. coli жовтого кольору описали 1894 р. Lehman і Levy під назвою *Bacterium coli variant luteolique facient*, котре на агарі і желатині давало жовтяві і жовті колонії і розпускало желатину на 7—11 день. Ph. Eisenberg в 1918 році описав також шість варіантів жовтого *b. coli*, що розпускало желатину. Находив він їх в стільці (faeces) хорих на черевний тиф та дизентерію а також у повітрі (*b. coli*, що живе на траві).

По формі колоній, інтенсивності пігменту, що йшов від жовтого до оранжевого, та розположенні його в колоніях він розрізняє шість гатунків жовтого *coli*. По його описуванні і фотографіям, які він подає в своїй праці, пігмент в колоніях бактерій розкладається нерівномірно і часто дає різні фігури.

Як жовте *b. coli* описане Lehman'ом і Levy'м так і *b. coli* описане Eisenberg'ом не є типовим *coli*, бо вони розпускають желатину; а група *b. typhi-coli* не має властивости розпускати желатини.

Stutzer і Kwaschnina в 1929 році нашли жовте *b. coli* в стільці хорого на черевний тиф. Це *b. coli* по своїм біологічним властивостям було типове. По термінології Bergey'a вони його зачислили до роду *Escherichia* і назвали *Escherichia flava*. Свіжі колонії цього мікроба витворювали золотожовтий пігмент; старші колонії втрачали в певній мірі цю здібність. На доданих до цієї праці фотографіях видно колонії з гладкими рівними краями, а також з вирізаними, зубчастими краями.

В 1927 році я також виростила жовтий штам *b. coli* зі стільця пацієнта хворого на черевний тиф. Це *coli* на початку було цілком звичайне без жадного пігменту і як типовий штам

його залишено для бактерійного музею. Тільки при пересіванні 4 місяці пізніше було помічено, що воно витворює золотожовтий пігмент, як *staphylokokkus aureus*. Висіяне на миски Petri'го з звичайним агаром чи желатиною це *b. coli* давало два ґатунки колоній: 1) звичайного розміру без барви з рівними краями і 2) більші з зубчатими краями, котрі на 3—4 день діставали жовтий пігмент, що здебільшого розпреділявся нерівномірно; на семий-десятий день в цих колоніях чергувалися безбарвні і жовті сектори, давали різні фігури, подібні до фігур на малюнках у Ph. Eisenberg'a. При довшій вирощуванні інтенсивність барви збільшувалася доходячи до оранжової. Цим наше *b. coli* відрізняється від *coli* описаного Stutzner'ом і Kwaschnin'ою в якому інтенсивність барви свіжих колоній з часом слабшала.

При пересіві жовтої колонії нашого *coli* на миски зі звичайним агаром виростали 1) звичайні безкольорові колонії і 2) більші зубчаті жовті колонії.

При висіванні безкольорової колонії перший час виростали тільки безкольорові нормальні колонії; і що йно за два-три місяці межи звичайними безбарвними зачинали знов з'являтися більші жовті.

Це явище повторювалося при кожному пересіві.

Безкольорові і жовті колонії були ізольовані кожна окремо і слідувалося за ними на протязі трьох років.

За цей час інтенсивність пігменту жовтих колоній значно збільшилася доходячи до темнооранжевого. При висіванні такої жовтої колонії на Petri — миски зі звичайним агаром на протязі цих трьох років кількість жовтих колоній все збільшувалася, а нормальних безбарвних все зменшувалася; а після трьох років нормальні безкольорові колонії з жовтого штама зовсім перестали рости при звичайних умовах вирощування.

З виділеного на початку з нормальної безкольорової колонії *b. coli* протягом цих трьох років нормальні колонії потрохи стали зникати і тепер ростуть колонії з зубчатими краями, котрі за кілька днів дістають блідожовтий пігмент.

Для пояснення еволюції розвинення цих двох типів з одного штама додаю схематичний образок з фотографій колоній. (табл. ч. 3.)

Пігмент цих бактерій розпускається помалу і слабо в алькоголю і ацетоні, але скоро і добре в алькалічних розчинах. (1% *Na OH*, *KOH* і др.)

Форма колоній нашого *b. coli* з зубчастими краями, їх більший розмір від звичайних колоній, а також жовтий пігмент показали мені, що маю перед собою явище диссоціації бактерій.

Відомо, що багато гатунків мікробів, висіяних на твердих поживних підложах, часто дають форму колоній, котрі значно різняться своїм виглядом від тих, що прийнято називати нормальними. Багато дослідників працювало над різними бактеріями, що дають такі аномальні форми, і помітили, що вони різняться від звичайних не тільки морфологічно, але також продукцією пігменту, слизі, ферментаційними реакціями, серологічними діланнями та різною віруленцією.

Arkwright в 1921 році в праці про диссоціацію бактерій групи тифу — коли — дизентерії описані раніш різні варіанти підвів під два типи, котрі він назвав smooth („S“) тип рівний і rough („R“) тип стряпаний.

Між одним і другим зустрічаються переходові форми „O“.

Ці назви тепер вживаються всіми. „S“ це тип нормальний, має колонії менші що-до розміру ніж тип „R“, круглі, гладенькі, з рівними краями, випуклі, блискучі, часом опалізуючі чи флюоризуючі, бульйон рівномірно мутять; суспензію з них зробити легко; рухливі у родів бактерій з активною рухливістю, патогенні у патогенних родів бактерій. „R“ форми мають колонії звичайно більші, неправильної форми з зубчастими краями, плоскі, стряпаті, гранульовані або зморщені, неблискучі, сипьоваті, чи прозорі, часом прилипли до поживного підложа. При рості на бульйоні дають на дні осад, тяжко зробити з них гомогенну суспензію, бо випадають клаптями. Втрачають рухливість і патогенність.

Бактерії „R“ типу мають нахил витворювати жовтий чи гнідуватий пігмент.

Так Philip Hadley перераховує ряд дослідників, що помітили пігмент у різних бактерій, а саме: *Vibrio cholerae*, *b. diphtheriae*, гнідуватий варіант *micrococcus citreus*, жовтуваті форми *b. typhi*, жовті і жовтуваті форми II і IV типу *meningococcus*, жовті форми *b. malleus*, *b. mesentericus*, *b. proteus*.

Про жовтий пігмент „R“ форм *b. coli* в доступній мені літературі я нічого не найшла. Тому я стала робити досліди над виділеним мною жовтим *b. coli*, щоб підтвердити свою гадку, що маю перед собою явище диссоціації. Результати моїх дослі-

дів були позитивні і показали мені, що виділене мною жовте b. coli це хромогенна „R“ форма b. coli.

Подаю морфологічні і біологічні властивості виділеного мною мікроба.

1) Бактерії як з безкольорових так і з жовтих колоній це Gram негативні палички. В жовтих колоніях палички різної довжини — від кокуватих до довгих, що тягнуться в довгі нитки. Це явище не відповідає описаному попередніми дослідниками, котрі кажуть, що „R“ форми b. coli мають бути коротші і ширші ніж „S“ форми і можуть бути прирівняні до кокоїдів. (A. V. Dulenay).

2) Бактерії з безкольорових колоній рухливі, з жовтих здебільшого нерушливі, тільки окремі екземпляри в полі зору під мікроскопом виявляють слабу здібність руху.

3) Желатини не розпускають ні безкольорові ні жовті колонії.

4) І ті і другі дають позитивну реакцію на індол.

5) Обоє редукують нітрати в нітріти.

6) Обоє дають позитивну р. з Methyl red.

7) Обоє дають негативну р. Foges Proskauer'ovu.

8) На поживних підложах Endo і Drigalsk'ого ростуть як типові b. coli і тільки дуже рідко на старих мисках (4—5 день) з'являється жовтий пігмент в деяких колоніях.

9) Молоко квасять одні і другі, утворюють кислоту і газ; молока не пептонізують.

10) Бульйон безкольорові колонії мутять рівномірно; жовті перший день дають також рівномірну муть, але за 48 годин бульйон прояснюється долі випадає седимент, а на поверхні утворюється жовта плівка. Це яскравіше помітно в малій кількості бульйону 2—5 см³; в 100 см³ довший час залишається рівномірна муть.

11) На поживнім підложу з Eosin - methylenblau і ті і другі дають темні колонії з металевим полиском як типове b. coli.

12) Поживне підложе з цитратом обоє не змінюють.

13) На агарі з plumbum aceticum ні безкольорове ні жовте coli не дає чорної барви.

14) Стара агарова культура має запах фекалій.

15) На картоплі росте добре. Безкольорове дістає блідо-жовту барву, жовте виробляє темно-жовтий пігмент.

16) Льфлерову сироватку не пептонізують обоє; жовте утворює інтенсивно жовтий пігмент.

17) На Russel-овім поживнім підложу обоє дають червоне забарвлення і газ.

18) Слідуючі цукри обоє однаково квасять і витворюють газ: лактозу, декстрозу, мальтозу, рамнозу, манніт, саліцин.

19) Сахарози не квасять ні одні ні другі.

20) В лакмусовій сироватці і жовте і безкольорове зміняє фіолетну в червону барву, котра залишається.

З цього перераховування видно, що культурні реакції за винятком бульйону однакові як у безкольорової так і у жовтої форми мого *b. coli*.

Аналогічні наслідки спостерігала A. Dulenau в своїх дослідах над „S“ і „R“ формами *b. coli*.

Серологічно також як безкольорові так і жовті форми нашого *b. coli* не відрізнялися одна від другої. Певне тому, що кожна в собі мала також елементи другої. Було імунізовано по два крілики безкольоровими і жовтими формами загрітими одну годину на $56^{\circ} C$. Сироватки від усіх кріликів мали однаковий титр а саме: аглютинувала жовте *coli* 1:500, безкольорове 1:500, інше *coli communis* 1:100, інше *coli communior* 1:100. Вірулентність обох форм нашого *b. coli* безбарвного і жовтого була однакова: морщаки загинули після 24 годин по інтраперітонеальній ін'єкції одних і других бактерій. В організмі морщика жовте *coli* свого пігменту не втратило: з крові загинувшої тварини була вирощена жовта культура.

Що впливає на творення пігменту? Найголовнішу ролю тут грає старість. Чим скорше і інтенсивніше росте культура, тим раніше з'являється пігмент. На поживних підложках, що мають в собі багато виживи, як агар з асцитом, з сироваткою, Лівфлєрова сироватка, пігмент з'являється дуже скоро.

На поживних підложках з 1% фенолу а також на так званих голодних поживних підложках ріст культури іде дуже помалу, пігмент з'являється пізніше і дуже блідий. Голодні виживні підложка були слідуючі: бульйон приготовлений з Лібіг-ового екстракту без пептону і соли, 2% агар на цім самім бульйоні, 2% агар на воді без пептону і соли, просто вода як звичайна так і дестильована.

На останніх не було помітно жадного пігменту. І навіть коли з цієї води пересівалася культура на звичайний агар, то деякий час пігмент був блідий. Виняток з голодних поживних підлож робить вивар зі свіжого мяса: як на ньому самому так

і на агарі приготовленому з нього без пептону, без соли і не нейтралізованому, пігмент витворюється надзвичайно швидко і буває оранжової аж цеглясто-червоної барви.

На агарі з 1% лактози ростуть як з безкольорового так і з жовтого штаму виключно безбарвні „S“ форми і залишаються такими на завше.

На агарі з 1% декстрози, мальтози і манніту ростуть з початку безкольорові „S“ форми, котрі за кілька день починають переходити в „R“ форми зі зубчастими краями і утворюють пігмент, котрий чим далі тим темнішає, доходячи до цеглясто-червоного.

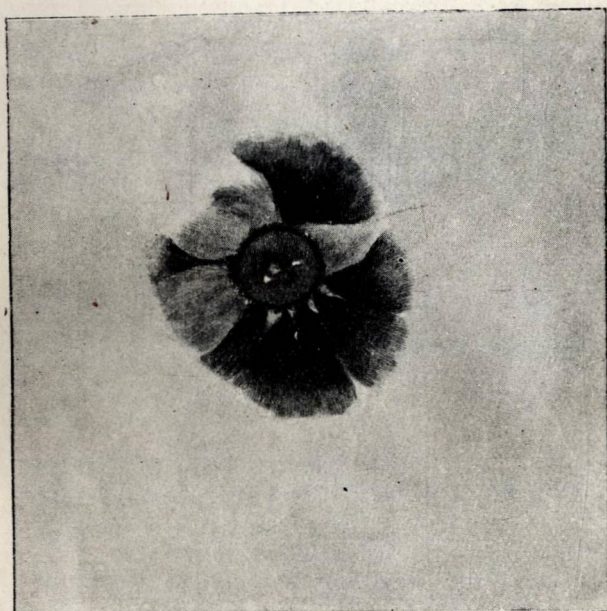
Реакція поживного підложка має вплив на силу пігменту. На алькалічному агарі *PH* 8,5 пігмент буває блідший ніж на кислім. Оптимум кислотности є між *PH* 5—6. При цій кислотности жовті колонії творять пігмент оранжовий аж цеглясто-червоний, безкольорові — дають жовті сектори. При *PH* 4,8 часом де-котрі колонії виробляють багато слизі.

Температура також впливає на творення „S“ і „R“ форм та пігмент в них. При 37° *C* пігмент з'являється вже за 24—48 годин, але буває не такий сильний, як при вирощуванні в кімнатній температурі, де ріст іде помаліше а барва пігменту густіша. При 40' до 46° *C* ростуть виключно колонії „S“ форми без жадного пігменту. Коли-ж виняти цю культуру з високої температури і залишити її при кімнатній температурі на кілька днів, то в ній знов з'явиться пігмент.

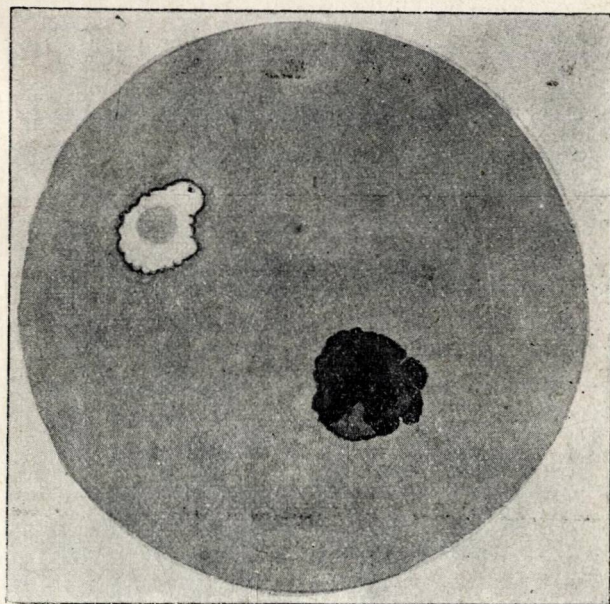
Робила я також описаний раніше експеримент зі засіванням культури на велику кількість бульйону, 200 до 300 см³. В цих умовах, як пишуть, можна дістати перехід „R“ форми в „S“ (A. Dulenau). Позитивних вислідів я не дістала.

Висіваючи на миски Petri-го з агаром засіяного бульйону, 200 см³ чи 5 см³ я діставала на протязі 20 днів зі засіяного жовтим *b. coli* тільки жовті колонії, а зі засіяного безкольоровим *b. coli* тільки колонії без пігменту. Експеримент зі засіванням на бульйон з 10% гомологічної аглютинуючої сироватки був переведений мною двічі. В перший раз я дістала тільки різниці в силі пігменту. Висіяне на агарові миски жовте *b. coli* з бульйону з 10% аглютинуючої сироватки крілика, імунізованого культурою жовтого *b. coli*, давало пігмент блідший ніж звичайно; а безкольорове *b. coli*, висіяне на агар з бульйону з 10% аглютинуючої сироватки крілика, імунізованого безколіровими

ТАБЛИЦА Ч. 2.

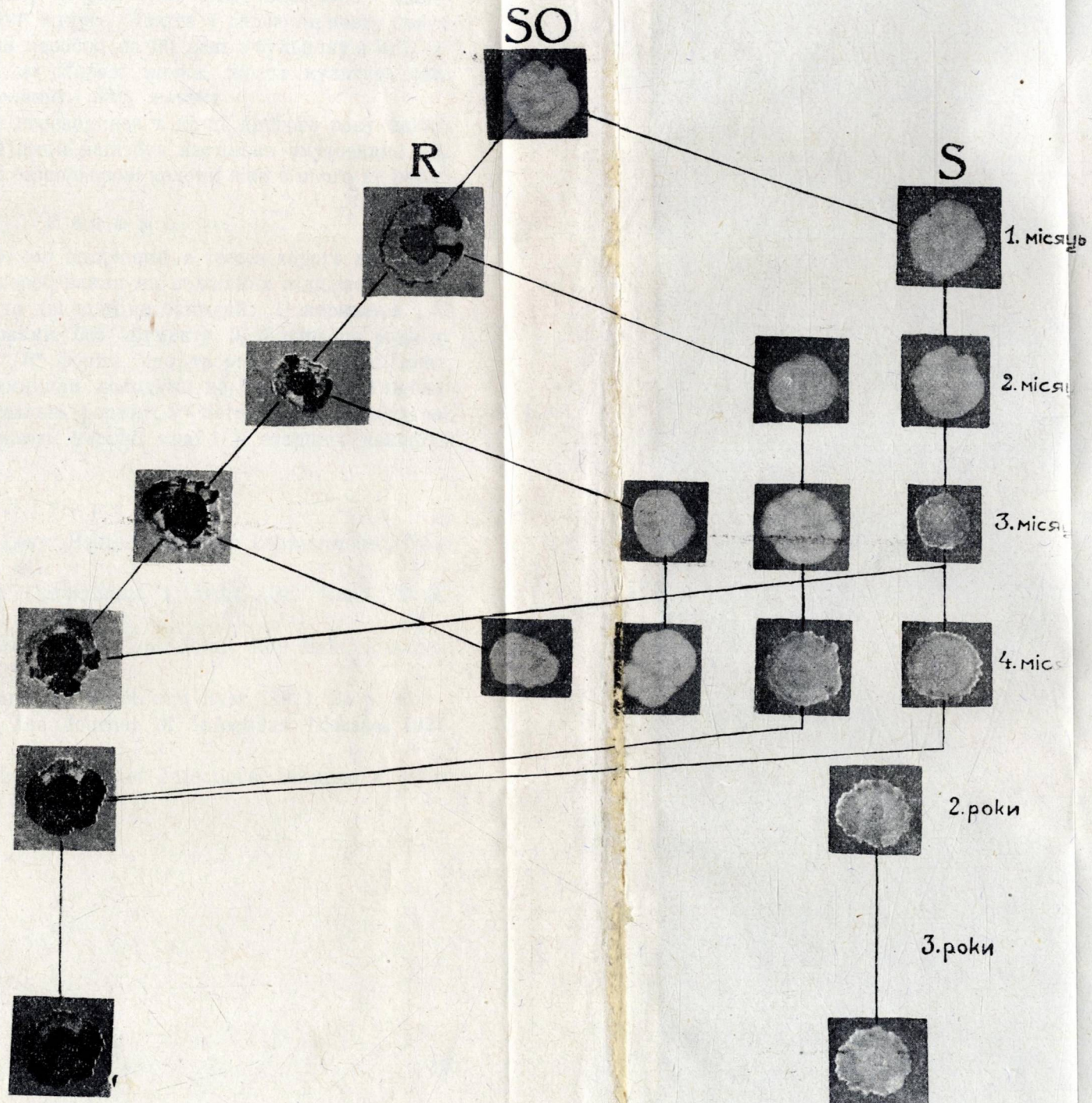


a)



б)

ТАБЛИЦЯ Ч. 3.



колоніями нашого штаму *b. coli*, було трохи нажовкле. Експеримент був переведений вдруге. Явище з силою пігменту повторилося а крім того при пересіві на 20 день з бульйону з 10% гомологічної сироватки на агарові миски, жовта культура дала 37% безкольорових колоній і 63% жовтих.

Експеримент цей переводився в кінці другого року наших дослідів, коли жовтий штам наш був настільки змутований, що при звичайних умовах безкольорові колонії вже з нього не росли

Резюме.

Типовий штам *b. coli* виділений з faeces хорого на черевний тиф за 4 місяці перебування на поживних підложах змутовався, розпадаючися на дві відміни бактерій: 1) нормальні „S“ форми з рівними краями без пігменту 2) більші по розміру з зубчастими краями „R“ форми, що творили жовтий пігмент, котрий з часом все темнішав, доходячи до оранжового і цеглясто-червоного. 3) Нормальні форми „S“ потрохи також змутовалися і за три роки мають нерівні краї і в старших колоніях блідо-жовтий пігмент.

Література.

- 1) Lehmann und Levy. Bakteriologie von Lehmann und Neumann II. Band 1927 S. 441.
- 2) Ph. Eisenberg Centralblatt f. Bakt. Or. Band 80 S. 399—400. 1918.
- 3) Stutzer und Kwaschnina. Centralblatt fuer Bakt. I. Abteilung Or. Band 113, 1929.
- 4) Arkwirght. Journ. of Pathol. and Bakt., 1921, 24 p. 36.
- 5) Philip Hadley. The Journal of Infectious Diseases 1927 v 40 p. 61.
- 6) A. Dulenay. The Journal of Infectious Diseases v 42 p. 576. 1928.
- 7) idem p. 582.