

KLASYFIKACJA MYKOBAKTERII WYHODOWANYCH Z WODY Z KOPALNI WĘGLA

Zdenka Mikova, Vlasta Chladkova, Milan Pelikan

Instytut Higieny i Epidemiologii w Pradze
Dyrektor: prof. F. Janda

W latach 1968—1970 w okręgu karwińskim w 18 przypadkach schorzenia płuc wykryto *Mycobacterium kansasii*, co stanowi 8,5% wszystkich nowo wykrytych przypadków schorzenia dróg oddechowych z wydalaniem prątków. W tym czasie izolowano *M. scrofulaceum* i *M. aquae* od 25 osób i *M. intracellulare* od 2 osób.

Badania te wykazały, że mykobakterie oportunistyczne występują w środowisku zewnętrznym tego geograficznego regionu. Przeprowadzono więc badania 300 próbek wody z miejsc, w których pracują górnicy zakażeni *M. kansasii*.

Próbki wody powierzchniowej i podpowierzchniowej pobrano w różnych kopalniach. Próbki te o objętości 2000 ml sedymentowano, następnie dekantowano górny płyn a osad badano zmodyfikowaną metodą Tacqueta z użyciem siarczanu laurylowego w połączeniu z 1% NaOH i zobojętniano przez dodanie jałowej wody destylowanej. Otrzymany materiał wirowano (3000 obr./min), płyn odlewano a osad posiewano na 3 podłoża z płynną pożywką Suli i 3 podłoża z pożywką Loewensteina-Jensena. Wobec dużego zanieczyszczenia pożywki płynnej, w dalszym ciągu posiewano tylko 4 próbki pożywki jajowej. Posiane próbki inkubowano w temp. 37° przez okres 9 tygodni, sprawdzając je co 3 tygodnie. Zbadano 89 cech wyhodowanych szczepów.

Cechy oznaczono na podstawie następujących testów *in vitro*:

- mikromorfologia,
- kwasooporność w preparatach barwionych metodą Ziehl-Neelsena,
- morfologia kolonii i wzrost na pożywce Loewensteina-Jensena i pożywce Suli,
- pigmentacja makrokolonii,
- wrażliwość na antybiotyki (INH, SM, PAS, Conteben, cykloseryna, etionamid, pyrazinamid),
- aktywność katalazy,
- termostabilność katalazy przy 68°,

- wrażliwość na TCH,
- wzrost na półpłynnym agarze,
- wzrost w obecności 5⁰/₀ NaCl,
- hydroliza Tween 80,
- arylsulfataza i galktozydaza,
- szybkość wzrostu (3 dni inkubacji) w temp. 22, 37, 42 i 45°C,
- aktywność amidaz.

Obliczenie wartości podobieństwa szczepów i ich zgrupowanie wykonano metodą opisaną przez Lochart i Listona (1970) przy pomocy komputera Mińsk 22. Program w języku FORTRAN pozwala na obliczenie 8 różnych wskaźników korelacji (Sokala Sneath, 1963). Dwa z tych wskaźników zanalizowano w obecnej pracy. Był to współczynnik Jacarda (wykluczający ujemne pary w liczniku) i według Sokala i Michenera (łącznie z ujemnymi parami w liczniku). Przy pomocy obu współczynników obliczono podobieństwo na poziomie 95, 90, 80... 50⁰/₀ i sporządzono wykresy na komputerze.

Przeprowadzono różnicowanie 38 szczepów atypowych wyhodowanych ze 100 próbek. *M. kansasii* wykryto w 2 próbkach wody użytkowej pobranych z łaźni w kopalniach, gdzie pracowali górnicy, od których poprzednio wyhodowano podobne szczepy. Pozostałe 36 szczepy były to saprofityczne mykobakterie, głównie należące do grupy IV i II Runyona, w tym 14 wyhodowanych z wody z łaźni w kopalniach. Tylko 1 szczep wyhodowano z użytkowej wody z kopalni i 1 — z wody ściekowej odprowadzanej przez te same rury. Najwięcej szczepów wyhodowano ze zbiorników ściekowych (14 szczepów).

Tę zamkniętą grupę atypowych szczepów przebadano metodą Sneatha taksomonii numerycznej (współczynnik Jacarda). Na poziomie 70⁰/₀ podobieństwa wyróżniono 5 wyraźnych grup, do których zaliczono 30 szczepów spośród badanych. Pozostałych 8 szczepów nie można było zaliczyć do żadnej grupy, 2 z nich należały do grupy III Runyona, a 6 były to skotochromogenne mykobakterie o właściwościach na pograniczu obu gatunków tworzących tę grupę.

Pierwsza grupa obejmuje 6 szczepów *M. aquae (gordonae)*. Druga grupa, najliczniejsza (14 szczepów) to *M. fortuitum*; trzecia grupa — *M. kansasii*, czwarta — 3 szczepy III grupy Runyona i piąta — 5 szczepów *M. scrofulaceum*. W dalszej serii próbek wody wyhodowano 33 atypowe szczepy, ale żaden z nich nie był *M. kansasii*. Jest ciekawe, że saprofityczne szczepy wyhodowano również z wody chlorowanej.

Równocześnie obliczono współczynnik Sokala i Michenera, odpowiadający współczynnikowi Jackarda ale obejmujący również ujemne pary. Wartości podobieństwa były wyższe i grupy tworzyły się już na poziomie 85⁰/₀ podobieństwa. Przy użyciu tego współczynnika tylko 5 szczepów nie udało się zaklasyfikować; dwa szczepy (nr 228 i 254) zaliczono do grupy V (*M. scrofulaceum*).

Celem pracy było wykrycie źródeł zakażenia atypowymi mykobakteriami w obszarze endemicznym dla potencjalnie chorobotwórczych mykobakterii. Szczepy wykryto w środowisku kapalnianym, dlatego można przypuszczać, że zapylenie jest czynnikiem sprzyjającym ich występowaniu. Dotychczas nie stwierdzono bezpośredniego przenoszenia tego zakażenia z człowieka na człowieka. Zamierzamy w dalszych badaniach na większej liczbie próbek wykazać, czy oportunistyczne mykobakterie występują w różnych kopalniach.

Z. Mikova, D. Chladkova, J. Pelikan

CLASSIFICATION OF MYCOBACTERIA ISOLATED FROM WATER IN COALMINING AREA

Summary

In the years 1968—1970 in the district of Karvina 18 pulmonary cases due to *M. kansasii* representing approximately 8,5% of all notified bacillary tuberculosis cases of respiration organs were found.

Those cases were clear indicators of presence of opportunist mycobacteria in the environment of that geographical region. For that reason were examined 200 samples of water from localities where the miners, from whom atypical mycobacteria that is *M. kansasii* had been isolated used to work.

From the first half of samples of different investigated pits of the Karvina district 38 atypical strains were isolated whose differentiation has already been completed. In most cases these were saprophytic mycobacteria represented by *M. aquae (gordonae)*, *M. fortuitum* and sporadically representatives of the Runyon group III, and in two cases only *M. kansasii*. In all isolated strains 89 characters were established and subsequently evaluated on the Minsk 22 computer using Sneath's method for numerical taxonomy. Thus, the organisms studies could be differentiated into 5 clusters at 70—75% level of the marginal value of the similarity coefficient.