

KLASYFIKOWANIE SKOTOCHROMOGENNYCH ATYPOWYCH MYKOBAKTERII METODĄ PRECYPITACYJNĄ W ŻELU

Erika Karczag i J. Gyula Weiszfeiler

Zbadano 11 szczepów skotochromogennych mykobakterii wyhodowanych z różnych źródeł. Strukturę antygenową skotochromogennych i innych mykobakterii badano metodą immunodyfuzji [1].

Szczepy i surowice odpornościowe użyte w doświadczeniach przedstawiono w tabeli 1, a biochemiczne właściwości badanych szczepów skotochromogennych w tabeli 2.

Szczepy hodowano na pożywce Sautona oraz na ziemniaku z gliceryną. Po przemyciu, komórki rozbijano mechanicznie i następnie dodawano 1,0 ml soli fizjologicznej na 1,0 g bakterii (waga mokra). Po odwirowaniu, zawartość białka w wyciągu poprawiono do 1% posługując się reakcją biuretową. Wszystkie etapy postępowania wykonano w temp. 4°C.

Surowice odpornościowe uzyskano przez hiperimmunizację owiec i królików. Otrzymane surowice absorbowano kolejnymi antygenami heterologicznymi dodawanymi w ilościach wzrastających aż do uzyskania surowic swoistych. Immunodyfuzję wykonano techniką Ouchterlony'ego w modyfikacji własnej [2].

Rysunki 1—3 ilustrują wyniki immunodyfuzji znanych gatunków skotochromogennych mykobakterii w homologicznym i heterologicznym systemie.

Rysunek 10 przedstawia wyniki porównawczej immunodyfuzji i pokrewieństwa antygenowego. *M. gordonae* ATCC, *M. scrofulaceum* i *M. flavescens* w stosunku do innych znanych gatunków mykobakterii. Widoczne jest bliskie pokrewieństwo *M. gordonae* ATCC z *M. H₃₇ Rv*, *M. avium*, *M. simiae* i *M. asiaticum*.

Natomiast *M. scrofulaceum* jest bliżej spokrewnione z *M. H₇₃ Rv*, *M. simiae* i *M. asiaticum* niż ze skotochromogenem *M. gordonae*.

M. flavescens, szybko rosnący skotochromogen, różni się znacznie pod względem budowy antygenowej od powoli rosnących, natomiast jest blisko spokrewniony z saprophytycznymi mykobakteriami: *M. phlei* i *M. smegmatis*.

Wyniki te wydają się dowodzić, że szybkość wzrostu jest cechą bardziej odpowiednią dla celów klasyfikacji niż pigmentacja.

Tabela 1

Wykaz użytych w badaniach szczepów i surowic odpornościowych

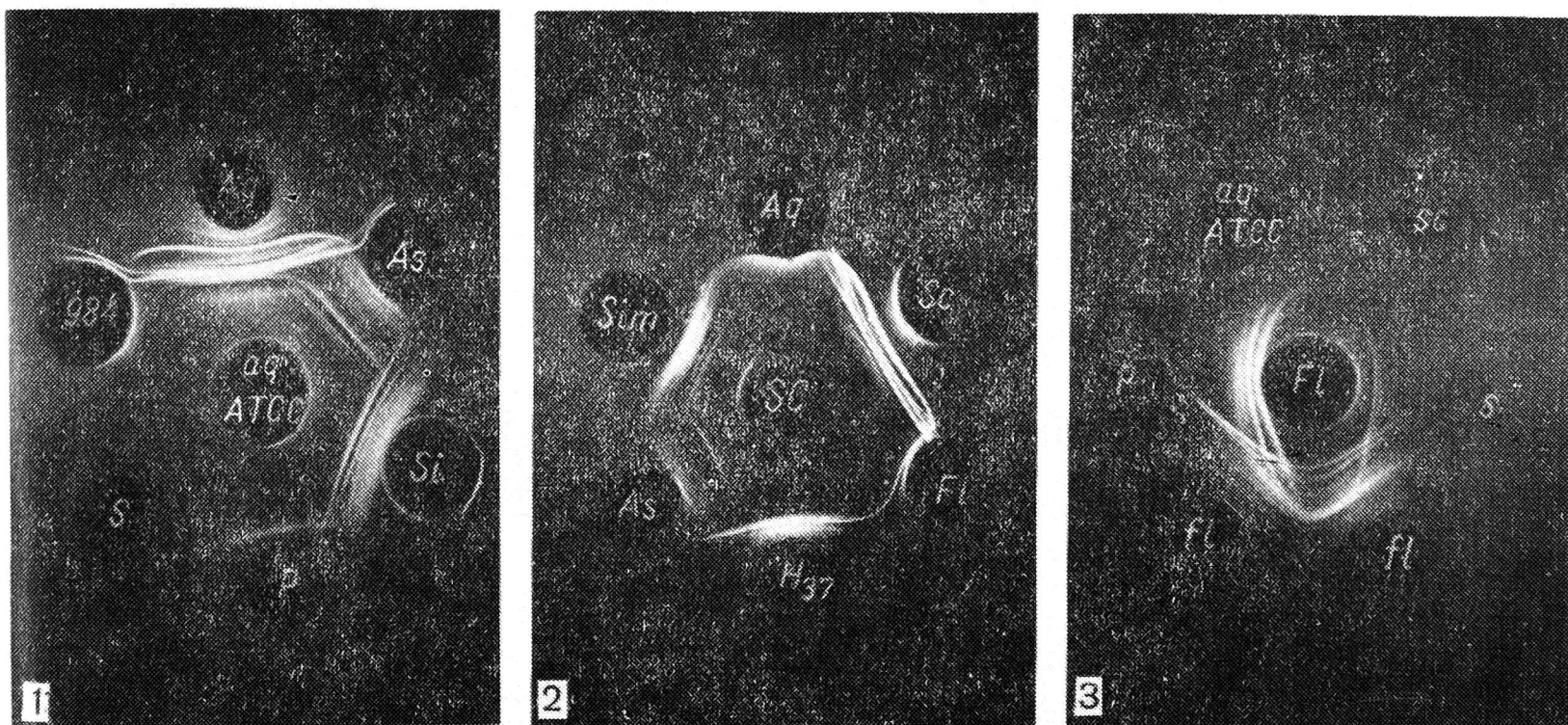
Szczepy prątków skotochromogennych	Izolowane przez	Pochodzenie	Pochodzenie szczepu i immunosurowicy
<i>M. gordonae</i> ATCC 19277 (var. <i>nonureolyticum</i>)	Bönicke	kran wodny	<i>M. tuberculosis</i> H ₃₇ R _v USA <i>M. avium</i> ATCC 15769
<i>M. gordonae</i> Sn 632 (var. <i>ureolyticum</i>)	Bönicke		<i>M. kansasii</i> ATCC 12478 <i>M. gordonae</i> ATCC 19277
<i>M. scrofulaceum</i> 12115	Prissick i Masson		<i>M. scrofulaceum</i> 12115
<i>M. flavescens</i>	Bojalil et. al.	świnka morska	<i>M. flavescens</i>
<i>M.</i> 918 sp. Orange	Pollak	człowiek	<i>M. simiae</i> ATCC 25275
<i>M.</i> 919 sp. Orange	Pollak	człowiek	<i>M. asiaticum</i> ATCC 25276
<i>M.</i> 1118 sp.		człowiek	<i>M.</i> sp. 984 Thailand
<i>M.</i> 1120 „S”		człowiek	<i>M. phlei</i> ATCC 19249
<i>M.</i> sp. 984 Thailand		człowiek	<i>M. smegmatis</i> ATCC 14468
<i>M. bovinus</i> 8 pigment	Dichno	mysz	
<i>M.</i> 52	Karasseva	małpa	

Tabela 2

Biochemiczne właściwości prątków skotochromogennych

Szczepy prątków skotochromogennych	Niacyna	Szereg amidazowy	Redukcja azotanów	Arylosulfataza	Lipaza	Morfologia kolonii	Pigment
<i>M. gordonae</i> syn. <i>aquae</i> ATCC 19277	—	0	—	+	+	S	+
<i>M. gordonae</i> syn. <i>aquae</i> Sn. 632	—	3	—	—	—	S	+
<i>M. scrofulaceum</i> 12115	—	3,5,6	—	+	—	S	+
<i>M. flavescens</i> Lousanne 2409	—	3,5,6	+	+	+		+
<i>M.</i> 918 Orange	—	0	—	+	+	S	+
<i>M.</i> 919 Orange	—	0	—	+	+	S	+
<i>M.</i> 1118 sp. Hauduroy	—	3,5,6	—	—	±	S	+
<i>M.</i> 1120 sp. Hauduroy	—	3,5,6	—	±	—	S	+
<i>M. bovinus</i> 8 pigment	—	3,5	—	+	—	R	+
<i>M.</i> 984 Thailand	—	3,5	+		+	R	+
<i>M.</i> 52	—	0	±	+	+	S	+

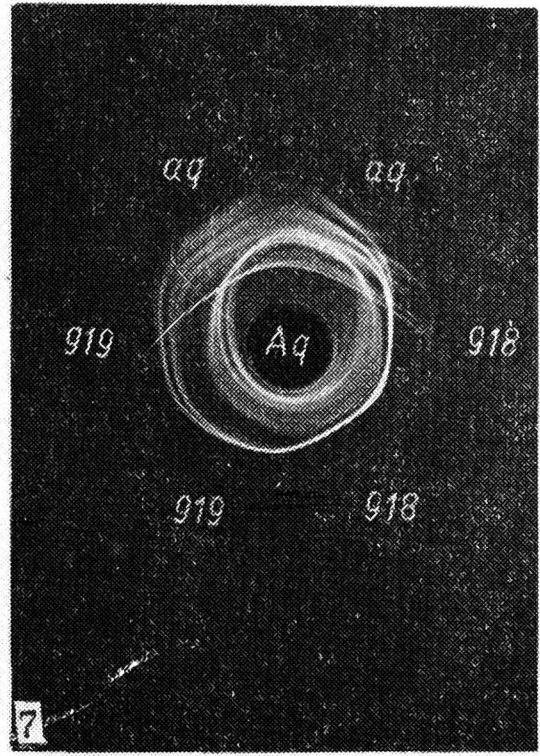
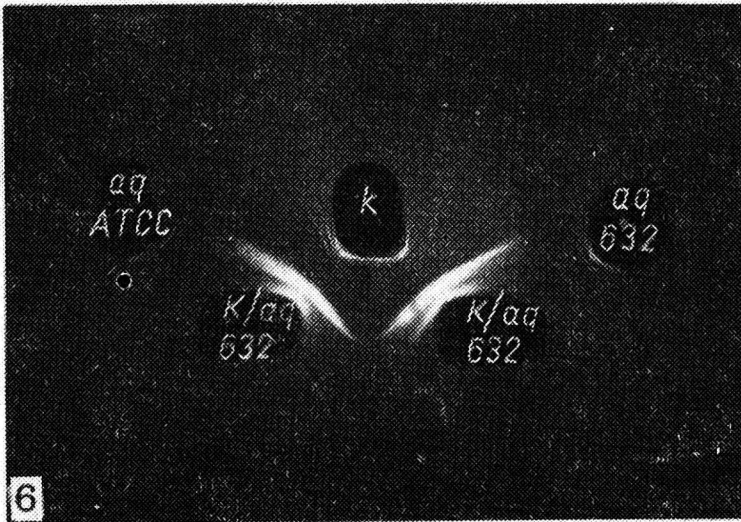
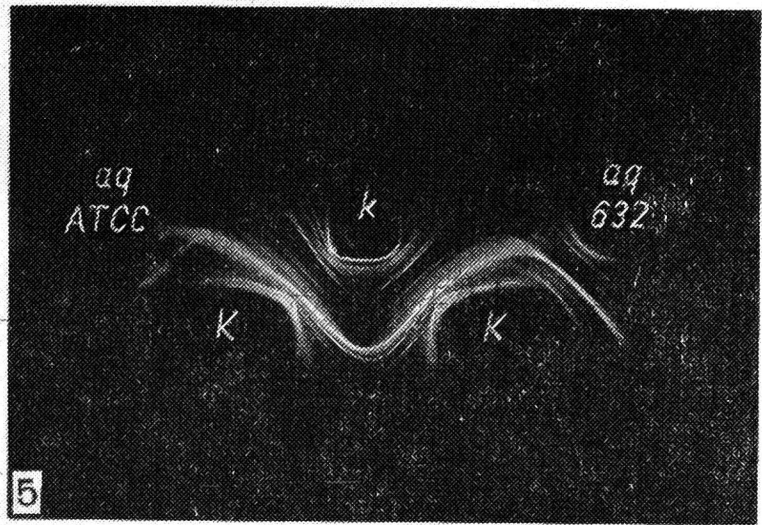
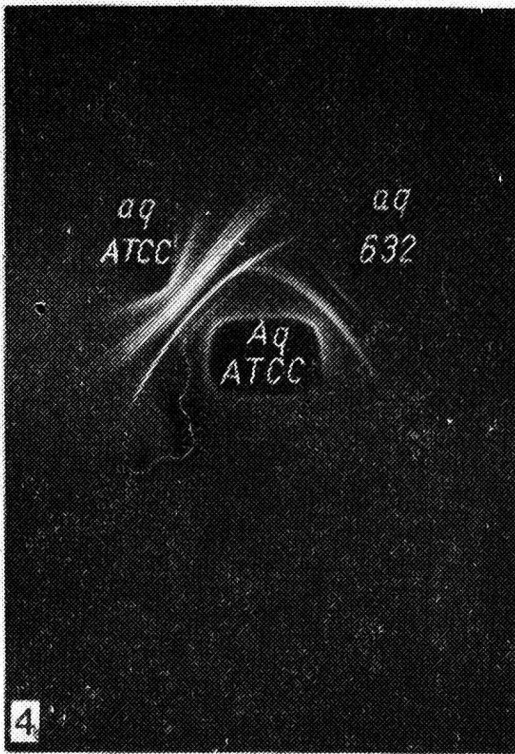
Porównanie dwóch szczepów *M. gordonae*, mianowicie *M. gordonae* ATCC var. *non ureolyticum* i *M. gordonae* SN *ureolyticum* 632—a, wykazało duże różnice w budowie antygenowej (rys. 4). *M. gordonae ureolyticum* posiada więcej komponentów antygenowych wspólnych z *M. kansasii* niż *M. gordonae* ATCC. Spostrzeżenie to potwierdziły wyniki doświadczeń absorbcyjnych, w których surowicę *anti-kansasii* absorbowano antygenem *M. gordonae* SN 632. System absorbowany zawierał tylko 3



Rys. 1. Porównawcza immunodyfuzja *M. aquae* ATCC
 aq ATCC (środkowe zagłębienie) — *M. aquae* ATCC antygen, Aq — *M. aquae* ATCC, surowica odpornościowa, As — *M. asiaticum*, surowica odpornościowa, Si — *M. simiae* ATCC, surowica odpornościowa, 984 — *M. 984*, surowica odpornościowa, S — *M. smegmatis*, surowica odpornościowa, P — *M. phlei*, surowica odpornościowa

Rys. 2. Porównawcza immunodyfuzja *M. scrophulaceum*
 sc — (środkowe zagłębienie) — *M. scrophulaceum*, antygen, Sc — *M. scrophulaceum*, surowica odpornościowa, Aq — *M. aquae* ATCC, surowica odpornościowa, H₃₇ — *M. tuberculosis* H₃₇Rv — surowica odpornościowa, As — *M. asiaticum* ATCC, surowica odpornościowa, Sim — *M. simiae* ATCC, surowica odpornościowa

Rys. 3. Porównawcza immunodyfuzja *M. flavescens*
 Fl (środkowe zagłębienie) — *M. flavescens*, surowica odpornościowa, fl — *M. flavescens*, antygen, Aq ATCC — *M. aquae* ATCC, antygen, p — *M. phlei* antygen, s — *M. smegmatis*, antygen, sc — *M. scrophulaceum*, antygen



Rys. 4. Porównawcza immunodyfuzja *M. aquae* ATCC i *M. aquae* SN 632
M. aquae ATCC (środkowe zagłębienie) — *M. aquae* ATCC, surowica odpornościowa, aq. ATCC — *M. aquae* ATCC, antygen, aq 632 — *M. aquae* SN 632, antygen

Rys. 5. Porównawcza immunodyfuzja *M. aquae* ATCC, *M. aquae* SN 632 i *M. kansasii* ATCC

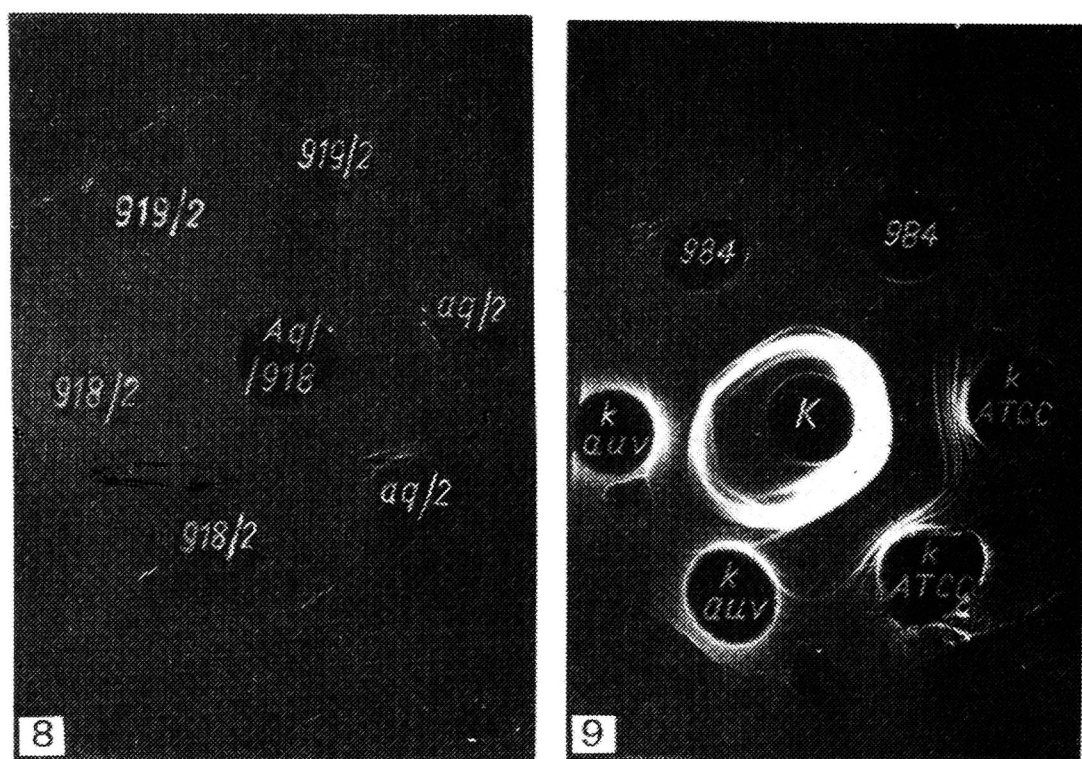
K (dolne zagłębienie) — *M. kansasii* ATCC, surowica odpornościowa, aq ATCC — *M. aquae* ATCC, antygen, k — *M. kansasii* ATCC, antygen, aq 632 — *M. aquae* SN 632, antygen

Rys. 6. Próba immunoabsorpcji

K/aq 632 (dolne zagłębienie) — *M. kansasii*, surowica odpornościowa absorbowana *M. aquae* SN 632, antygen, aq ATCC — *M. aquae* ATCC, antygen, k — *M. kansasii* ATCC, antygen, aq 632 — *M. aquae* SN 632, antygen

Rys. 7. Porównawcza immunodyfuzja

Aq (środkowe zagłębienie) — *M. aquae* ATCC, surowica odpornościowa, aq — *M. aquae* ATCC, antygen, 918 — *M. 918*, antygen 919 — *M. 919*, antygen



Rys. 8. Próba immunoadsorpcji

Aq/918 (środkowe zagłębienie) — *M. aquae* ATCC surowica odpornościowa absorbowana przez *M. 918*, antygen, aq/2 — *M. aquae* ATCC antygen rozcieńczony do $\frac{1}{2}$ pierwotnego stężenia, 919/2 — *M. 919* antygen rozcieńczony do $\frac{1}{2}$ pierwotnego stężenia

Rys. 9. Porównawcza immunodyfuzja

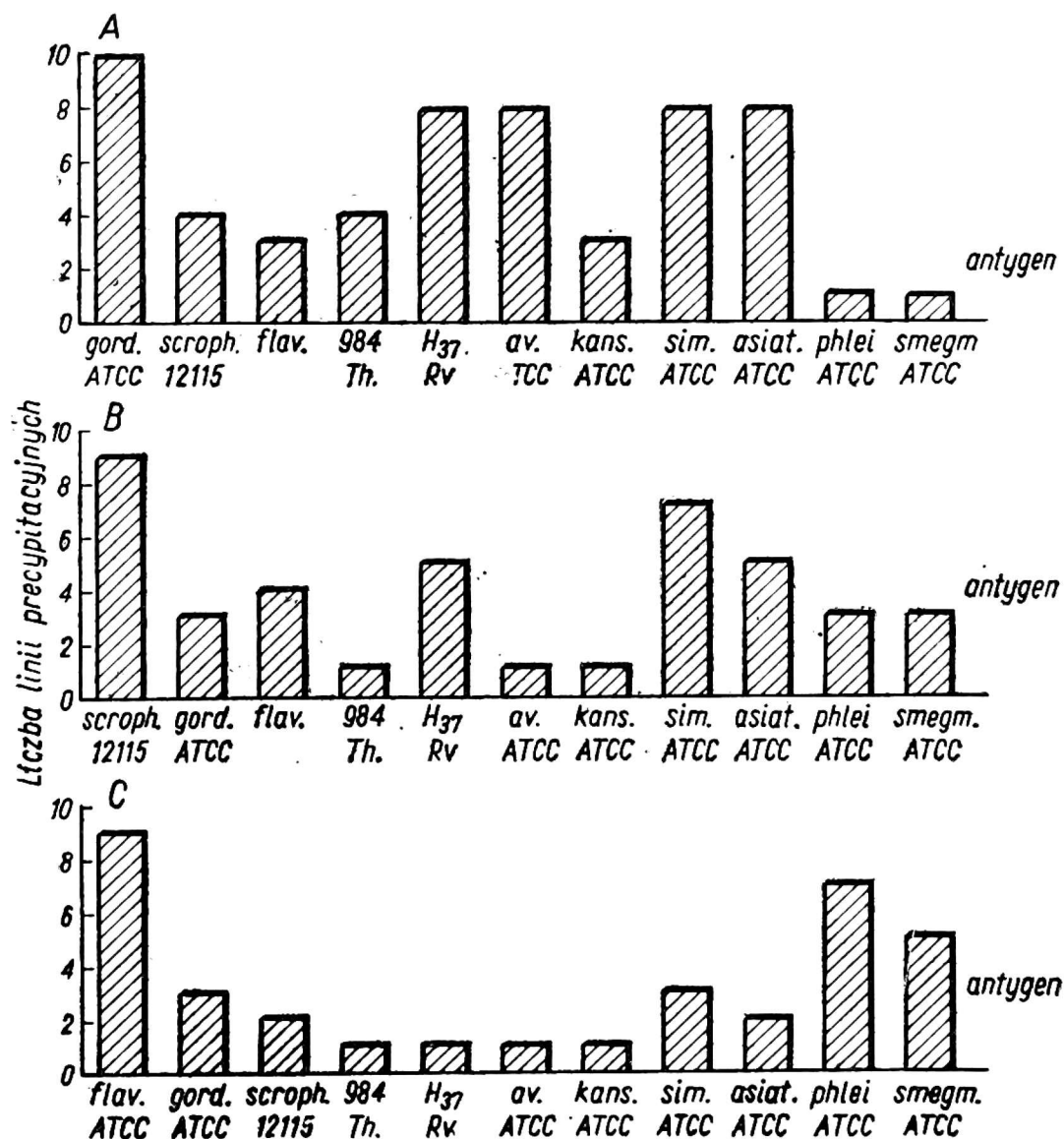
K (środkowe zagłębienie) — *M. kansasii* ATCC, surowica odpornościowa, k ATCC — *M. kansasii* ATCC, antygen, k aur — *M. kansasii aurantiacum*, antygen, 984 — *M. 984* Thailand, antygen

komponenty antygenowe, których nie było w *M. gordonae* SN 632 (rys. 5 i 6). Zatem szczep *M. gordonae* pod względem swej struktury antygenowej, wydaje się być raczej *M. kansasii* niż *M. gordonae* ATCC.

Zbadano również skotochromogenne szczepy nr 918 i 919 izolowane przez Pollaka od chorych ludzi. Pod względem swej struktury antygenowej, szczepy te okazały się identyczne lub bardzo podobne do *M. gordonae* ATCC (rys. 7). Absorpcja surowicy *anti-M. gordonae* ATCC przy pomocy antygeny szczepu nr 918 wykazała tylko dwa komponenty antygenowe w systemie homologicznym (rys. 8).

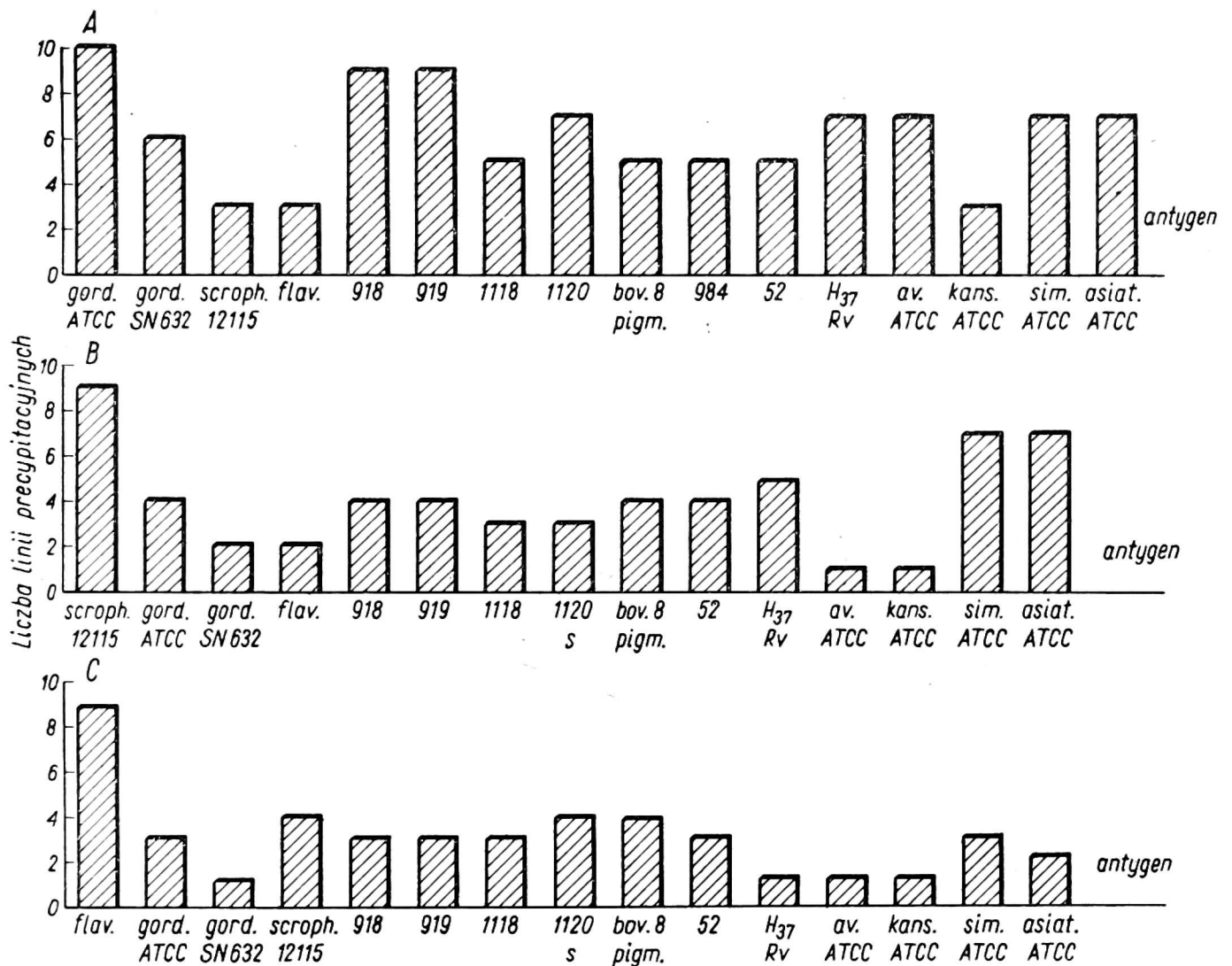
Niezidentyfikowane szczepy skotochromogenne nr 1118 i 1120 otrzymane od Hauduroy różniły się od wszystkich znanych gatunków, zaś na podstawie komponentów antygenowych wykazywały największy stopień pokrewieństwa z *M. gordonae* ATCC, *M. 984 Thailand* i *M. avium*.

Nie udało się zidentyfikować szczepu oznaczonego „bovinus 8 pigment” otrzymanego z ZSRR. Szczep ten posiadał najwięcej komponentów



Rys. 10. Porównawcza immunodyfuzja znanych skotochromogennych szczepów mykobakterii

A — swoista surowica odpornościowa dla *M. gordonae* ATCC, B — swoista surowica odpornościowa dla *M. scrofulaceum* 12115, C — swoista surowica odpornościowa dla *M. flavescens*



Rys. 11. Ogólne wyniki porównawczej analizy immunologicznej skotochromogennych szczepów mykobakterii. Objasnienia jak do rys. 10

antygenowych wspólnych z *M. kansasii*, *M. asiaticum*, *M. simiae* i *M. marinum*, ale nie był identyczny z żadnym z nich.

Następny szczep był izolowany od chorego w Thailandzie. Szczep ten (nr 984) wykazywał największe podobieństwo antygenowe do *M. simiae*. Na podstawie cech biochemicznych szczep ten był identyczny z *M. kansasii aurantiacum*, ale badania immuno-chemiczne tego nie potwierdziły (rys. 9).

Struktura antygenowa *M. kansasii* ATCC i *M. kansasii aurantiacum* jest prawie identyczna, zaś struktura antygenowa *M. 984* znacznie się od nich różni.

Zbadano również strukturę antygenową szczepu (nr 52) izolowanego przez Karasseva i Weiszfeilera [3] od małąp azjatyckich. Szczep ten nie odpowiadał żadnemu gatunkowi mykobakterii badanemu w niniejszej pracy. Pod względem antygenowym, wykazywał on pewne podobieństwo do *M. gordonae* ATCC, *M. simiae*, *M. asiaticum*, *M. 984*, *M. avium* i *M. kansasii*.

E. Karczag, J. G. Weiszfeiller

CLASSIFICATION OF ATYPICAL MYCOBACTERIA BY GELPRECIPITATION
METHOD

S u m m a r y

The antigenic structure of 11 scotochromogenic, atypical mycobacterium strains was investigated by immunodiffusion and immunoabsorption technics.

It was established that known scotochromogenic species (*M. gordonae*, *M. scro-phulaceum*, *M. flavescens*) can be differentiated from each other and from the other wellknown mycobacterial species on the basis on their antigenic structure. On the other hand the degree of antigenic relationship was determined among scotochromogenes and other species of mycobacteria. Of the scotochromogenic strains investigated two strains proved to be *M. gordonae* and 5 strains differed in their antigenic structures from the known scotochromogenic species.