

c. 200. 4062/618.

ANNALES  
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE SKŁODOWSKA  
LUBLIN—POLONIA

VOL. VI, 8

SECTIO C

28.II.1952

---

Z Zakładu Mikrobiologii Wydziału Lekarskiego Akademii Medycznej w Lublinie  
Kierownik: prof. dr Ludwik Fleck  
i z Zakładu Produkcji Serników i Szczepionek Państwowego Zakładu Higieny w Lublinie  
Kierownik: dr Wacław Mirkowski

Włodzimierz NICEWICZ

**Szczepy prątków kwasoodpornych wyizolowanych  
z nornika zwyczajnego (*Microtus arvalis*)**

**Штаммы кислотоупорных туберкулезных  
палочек, выделенных из обыкновенной полевки  
(*Microtus arvalis*)**

**Acid-fast strains isolated from the field vole  
(*Microtus arvalis*)**

Myszowate uważane były przez długi czas za zwierzęta o dużej odporności na prątki gruźlicze wszystkich 3-ch typów. Szereg ostatnich prac wykazał jednak, że odporność ta jest zależna od gatunku zwierzęcia, sposobu zakażenia i typu prątków. Przy podskórnym wstrzyknięciu żywych prątków gruźlicy typu ludzkiego, lub bydłęcego — jedynie bardzo duże dawki dają efekt dodatni. Zakażenie dootrzewnowe myszy dawką 1 mg typu *hominis* lub *bovis* doprowadza po 4—5 tygodniach do zmian gruźliczych w narządach; zakażenie dożylnie dawką 0,2 mg daje podobne zmiany po 2—3 tygodniach. Zmiany te polegają na ukazaniu się gruzelków na płucach, czasem wątrobie i nerce ze znacznym powiększeniem śledziony. W preparatach mikroskopowych większe, lub mniejsze ilości prątków kwasoodpornych (25).

W wyniku innych doświadczeń, po zastosowaniu bardzo małych dawek prątków typu bydłęcego, myszy przeżywały wiele miesięcy, przy czym u niektórych z nich po zabiciu stwierdzono poważne zmiany w płucach. Zjadliwość typu ludzkiego dla myszy wydaje się prawie ta sama (Lange, 1922, Stamatina, 1939). Według Topley'a i Wilsona typ ptasi jest mniej zjadliwy dla myszy, aniżeli typy ssaków.

Wszystkie te spostrzeżenia i prace dotyczyły wrażliwości przeważnie myszy domowych (*Mus musculus*) oraz myszy doświadczalnych — laboratoryjnych (białych), na prątki gruźlicy typu *hominis*, *bovis* i *avium*. Na podstawie prac późniejszych badaczy, a szczególnie prac Dubos'a, Stamatina, Patnoda, Langa, Middlebrooka, Pierce'a i innych (5, 6, 7, 8, 9, 10) stwierdzono, że myszy pigmentowane są wrażliwsze na infekcję gruźliczą, niż myszy białe.

Podobne obserwacje poczyniono w naszej pracowni w pracy nad diagnostyką szczepów ludzkich i bydłych na myszach. Wrażliwość ta okazała się zależna od gatunku. Nieliczne jednak jak dotąd są doniesienia o bakteriach kwasoodpornych wyizolowanych z myszy żyjących dziko w przyrodzie.

W książce P. Hauduroy'a (21) szczep oznaczony nr 56 został znaleziony przez Galli-Valerio (13) w gruczolach szurzych (*Mus rattus*) i został nazwany *Mycobacterium smegmatis* var. *muris*. Jest to bakteria kwasoodporna zachowująca się w hodowlach, jak cały szereg saprofitów.

Do niezjadanych saprofitów zaliczono również szczep nr 101 Olchanetsk'y'ego (14) znaleziony w organach *Mus decumanus* oraz szczep wykryty przez Simmonsa w 1927 r. (16) w myszach domowych (*Mus musculus*) i oznaczony nr 129. Wszystkie te szczepy rosły na podłożach zwykłych w temperaturze poniżej 30°C.

W 1941 roku C. R. Saenz (15) wyizolował z myszy szczep kwasoodporny umieszczony przez Hauduroy'a pod nr 124. Szczep ten wywołał u myszy domowych powiększenie węzłów szyjnych bez serowacenia, oraz znaczne powiększenie śledziony.

N. A. Krasilnikow (23) w rodzaju *Mycobacterium* umieszcza 49 gatunków bakterii, z których 11 należy do prątków kwasoodpornych. Jeżeli chodzi o pochodzenie tych jedenastu gatunków, to tylko jeden z nich wyizolowany był z gruźliczków gruźliczych myszy. Szczep ten Krasilnikow nazywa *Mycobacterium pseudotuberculosis murium* (Bongert—Krasilnikow, 1941).

W 1937 r. A. Q. Wells (1) wykrył nowy typ kwasoodpornego zarazka na nornikach — *Microtus agrestis* — przy tym zarazek ten wywoływał u norników epizooceje ściśle związane z gruźlicą. Ohalono za tym pogląd, że zwierzęta żyjące całkowicie dziko wolne są od gruźlicy. Nowy typ zarazka nazwano *Vole-bacillus*.

W. S. Brook (1941) — (4) opisał zarazek Wellsa podając najważniejsze cechy.

1. Dysgoniczność. Najlepszym podłożem okazało się podłoże Dorseta bez gliceryny. W pierwszej kulturze kolonie stawały się widoczne dopiero po 28 dniach, a czasem nawet po 60-ciu dniach. W kulturach następnych uzyskiwano wzrost po 14-tu dniach.

2. Pleomorfizm. Wielopostaciowość zarazka większa niż u innych typów. W preparatach obserwowano prątki proste różnej długości, formy haczykowate i esowato wygięte.

3. Ten sam stopień kwasoodporności w porównaniu z prątkiem ludzkim i bydłym.

4. Wywoływanie samoistnych epizooceji u małych gryzoni, szczególnie u norników i myszy polnych.

5. Ścisłe podobieństwo pomiędzy vole bacillus a typem ludzkim i bydłym w reagowaniu na tuberkulinę Kocha (przestudiowane na świnkach morskich).

6. Możliwość uodparniania szczepem vole bacillus przeciw typowi ludzkiemu i bydłęcemu (na świnkach morskich).

Analiza serologiczna vole—bacillus metodą absorpcji przeciwiała nie stwierdziła wyraźnej różnicy pomiędzy vole bacillus, a typem ludzkim i bydłęcym, odróżniając go jednocześnie od typu ptasiego, od trądu szczurzego, od *Mycob. phlei* i *Mycob. smegmatis*. Inne cechy odróżniły go od *Mycob. leprae* i od *Johnie bacillus*.

Na podstawie wszystkich tych danych W. S. Brook proponuje nazwę dla vole—bacillus: *Mycobacterium tuberculosis varietas muris*.

W obszernej pracy na temat swego zarazka (1946) A. Q. Wells (1) podaje, że około 1/3 złowionych zwierząt miała zmiany gruźlicze w gruczołach chłonnych, płucach, śledzionie, wątrobie, nadnerczu i nerkach. Zwierzęta zakażają się, zdaniem Wellsa, przez przewód pokarmowy, pożerając padłe lub chore norniki. Nie obserwowano zasadniczych różnic w obrazie zmian chorobowych pomiędzy vole—bacillus, a prątkiem typu bydłęcego, chociaż typ bydłęcy wywołał bardziej gwałtowną chorobę. Dla świnek morskich vole—bacillus okazał się zjadliwy tylko w dużych dawkach (powyżej 5 mg).

W 1940 r. Griffith i Dalling przebadali szczep Wellsa na cielętach. Zwierzęta uodpornione i następnie zakażone prątkiem typu bydłęcego nie wykazały żadnych zmian gruźliczych lub zmiany te były bardzo nieznaczne. We wszystkich wypadkach zarazek myszy dawał wczesny odczyn tuberkulinowy. Wykonano również próby uodparniania ludzi prątkiem mysim. Próby te, zdaniem Wellsa, wypadły zadawalająco. Jednak wielka i zrozumiała trudność w planowej kontroli osób poddanych doświadczeniu nie pozwala autorowi wysnuć żadnych konkretnych wniosków.

Z przytoczonych badań wynika, że zarazek Wellsa ma charakterystyczne cechy morfologiczne i patogenetyczne, nie różni się serologicznie od typu ludzkiego i bydłęcego, wywołuje zmiany charakterystyczne dla gruźlicy i daje dodatni odczyn tuberkulinowy. Może być więc uważany za trzeci typ prątka gruźliczego ssaków. Wydaje się bezsporne, że typ myszy wywołuje odporność na infekcję powtórna.

Na podstawie obserwacji ludzi uodpornionych prątkiem mysim, A. Q. Wells przeprowadza porównanie ze szczepionką B. C. G. i wyciąga następujące wnioski:

1. Vole—bacillus jest nieszkodliwy dla człowieka podobnie jak B. C. G.
2. Podobnie jak B. C. G. przy szczepieniu śródskórnym daje łagodny odczyn miejscowy, po wprowadzeniu podskórnym wywołuje zwykle trudno gojące się ropnie.
3. B. C. G. wywołuje czasem zmiany w sąsiednich węzłach chłonnych, czego nie obserwowano przy użyciu zarazka mysiego.
4. Stan alergii po szczepieniu wytwarza się wcześniej i jest silniejszy po typie mysim, niż po B. C. G.

### Badania własne

Celem pracy było poddanie bakteriologicznej analizie najpospolitszego u nas z rodzaju *Microtus*, nornika zwyczajnego (*Microtus arvalis*) i porównanie wyników z danymi ogłoszonymi przez autorów Brytyj-

skich i Skandynawskich. Nornik zwyczajny, podobnie jak i użyty przez Wellsa nornik bury (*Microtus agrestis*) należą do identycznego rodzaju norników (*Microtus*) i do rodziny Myszowatych (33, 34, 35, 36). Sprawa nosicielstwa prątków gruźliczych u pospolitych u nas gryzoni posiada poważne znaczenie zarówno ze względów bakteriologicznych jak i epidemiologicznych. W literaturze polskiej nie spotyka się na ten temat żadnych prac ani doniesień. Zbadanie w tym kierunku zwierząt dzikich, ale żyjących blisko człowieka, posiadać może znaczenie jako poznanie jeszcze jednego rezerwuaru zjadliwych prątków gruźliczych.

### I. Materiał zwierzęcy i metody badania

Norniki pochodziły z najbliższych okolic Lublina (Ośrodek P. Z. H. Wola Sławińska i Państwowy Majątek Sławin) chwymane przez rolników podczas robót polnych, letnich i jesiennych, lub przy rozbieraniu stert ze zbożem zimą i na wiosnę. Do poszukiwania prątków kwasoodpornych użyto około 200 sztuk norników. Zwierzęta usypiano eterem i po odkażeniu powłok brzusznych otwierano wyjałowionymi narzędziami jamę brzuszną i klatkę piersiową. Badano następujące organa wewnętrzne: wątrobę, płuca, śledzionę, nerki i węzły chłonne. Ze zmian makroskopowych w rzadkich tylko wypadkach znajdowano powiększenie śledziony, inne narządy z reguły nie posiadały żadnych zmian. Zwierzęta padłe w hodowli były również poddawane sekcji, o ile oczywiście nie upłynęło zbyt wiele czasu między śmiercią, a możliwością wykonania sekcji. U norników padłych nie stwierdzono makroskopowych zmian gruźliczych. Organa norników rozcierano w jałowych moździerzach porcelanowych, zalewano małą ilością 10% —  $H_2SO_4$  — rozcierano powtórnie i po 15 minutach wirowano przez pół godziny przy 3.500 obrotach. Po zlaniu roztworu kwasu, osad zawieszano w płynie fizjologicznym i wirowano powtórnie. Płyn wylewano, a osad z roztartej tkanki wysiewano na podłoża I. ö w e n s t e i n a i D o r s e t a i korki próbek zalewano parafiną. Wysiano materiał ze wszystkich sekcjonowanych myszy w liczbie 196 sztuk. Celem zbadania mikroskopowego na obecność prątków w roztartych organach, sporządzano preparat z osadu i barwiono metodą Z i e h l — N e e l s e n a. Podłoża z posiewami trzymano w cieplarni w temperaturze 37°C przynajmniej dwa miesiące, licząc się z tym, że pierwsze kolonie typu mysiego mogą pojawić się dopiero po 40—60 dniach. Na 196 wykona-

nych sekcji uzyskano w jedenastu wypadkach wyniki pozytywne, to jest wyodrębniono na wymienionych wyżej podłożach 11 szczepów kwaso- i alkoholoodpornych.

Wszystkie szczepy hodowano w różnych temperaturach (od 22°C do 48°C) i na różnych, powszechnie stosowanych dla tych organizmów podłożach (38). Do podłoży dodawano różne ilości glicerolu. Preparaty z poszczególnych hodowli barwiono — poza metodą Ziehl—Neelsena, również metodą Grama, oraz błękitem metylenowym, po którym odbarwiano ostrożnie alkoholem, ażeby wyraźniej uwidocznić ziarnistości.

Celem stwierdzenia zjadliwości szczepów zakażano przede wszystkim norniki dootrzewnowo dwoma ilościami bakterii: 0,1 mg i 0,01 mg; drobnoustroje odważano na wadze analitycznej. Świnki morskie zakażano podskórnie w prawe udo dawkami: 10 mg, 5 mg, 1 mg i 0,1 mg, króliki dożylnie dawką 0,1 mg oraz gołębie dożylnie 0,1 mg. Świnki morskie po upływie 1 miesiąca od zakażenia poddawano próbie tuberkulinowej. Każde zwierzę padłe poddawano sekcji, badając przyczynę zgonu i ewentualne makroskopowe zmiany gruźlicze. Zwierzęta, które przeżywały zabijano w różnych odstępach czasu, poddając je sekcji i notując zmiany gruźlicze w poszczególnych narządach jak: płuco, wątroba, śledziona, nerki, gruczoły chłonne, a przede wszystkim miejsce iniekcji. Skrawki każdego narządu bez względu na jego zmiany makroskopowe oddawano do Zakładu Patologii Ogólnej i Anatomii Patologicznej Wydziału Weterynaryjnego U. M. C. S. — gdzie wykonano preparaty histologiczne pod kierunkiem dr. F. Stańskiego, który również określił histologiczne zmiany w preparatach mikroskopowych. Poza tym w pracowni naszej sporządzano bezpośrednio preparaty mikroskopowe barwione metodą Ziehl—Neelsena celem stwierdzenia obecności prątków. Tkanki badanych organów zakwaszono, wiorano oraz posiewano na podłożach Löwensteina i Dorseta. We wszystkich wypadkach pozytywnej reakcji na zwierzętach prątki wyrastały na podłożu Löwensteina, nie zmieniając swoich własności hodowlanych.

Wszystkie wyżej opisane doświadczenia pozwoliły stwierdzić, że dziewięć wyizolowanych szczepów należy do saprofitów kwasoodpornych, dwa zaś z nich (nr 44 i 47) należą do prątków zjadliwych.

## Morfologia szczepów zjadliwych

Szczep nr 44: wyhodowany z organów nornika na podłożu Löwensteina. Kolonie ukazały się po 62 dniach. Na Dorsecie wzrostu nie uzyskano. Wśród wyrosłych kolonii łatwo można było odróżnić dwie postacie: 1) duża 2--3 mm średnicy, wysoka jasno żółta z dużym, wysokim garbem w środku. 2) kolonia mała, o średnicy 1 mm, gładka i okrągła. W preparatach Ziehl--Neelsena, drobne krótkie pałeczki (0,3 x 1,5 mikrona) kwasoodporne. Wyraźnie Gram -- dodatnie. Pozytywny stosunek do metody Grama utrzymuje się w hodowlach starszych. Odporne na działanie 25% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> przez pół godziny. Preparaty Ziehl--Neelsena z hodowli starych (40-dniowych) nie wykazują zmiany kształtu prątków. Wyraźnie występuje ziarnistość, oraz częste formy maczugowate z silnie barwiącymi się ciałami polarnymi. Na podłożach płynnych (Sauton i bulion glicerynowy) szczep wykazuje zmiany kształtów. W preparatach mikroskopowych widoczne są pałeczki długie, półkolisto, albo esowato wygięte, z licznymi, mocniej zabarwionymi ziarenkami. Są też pałeczki krótkie i prawie owalne. Ziarna występują w środku, lub na biegunach. Utrzymuje się wyraźna kwasoodporność.

Również znaczny polimorfizm szczepu obserwuje się po pasażach przez zwierzęta. W preparatach z poszczególnych organów obecne są formy krótkie, owalne, czasem prawie kuliste. Jednocześnie widoczne są prątki długości do 4  $\mu$ , proste i wygięte, poprzerywane, układające się równolegle jeden przy drugim, lub splecione ze sobą w małe skupienia. Podobne zmiany w kształtach prątków stwierdzono również w preparatach z organów zakażonych świnek morskich, oraz w organach mysich.

Szczep nr 47: wyhodowany na podłożu Löwensteina po 34 dniach inkubacji. Wyrosły kolonie małe, okrągłe i wypukłe, w postaci gładkiej. Na Dorsecie kolonie nie ukazały się. W preparatach mikroskopowych stwierdzono kwasoodporność szczepu i pozytywne barwienie się Gramem. W preparatach barwionych Ziehl--Neelsenem widoczne są pałeczki małe, pojedyncze, bez rozgałęzień, różnej grubości, osiągające 1,5  $\mu$  długości. Podobnie jak w szczepie nr 44 występuje znaczna różnorodność kształtów. Zarówno w kulturze 10-cio dniowej, jak i 40-sto dniowej widoczne są również pałeczki wygięte, owalne, lub formy prawie kuliste. Morfologia prątków nie ulega zmianie w miarę starzenia się hodowli. Kultury różnego wieku wykazują jedna-



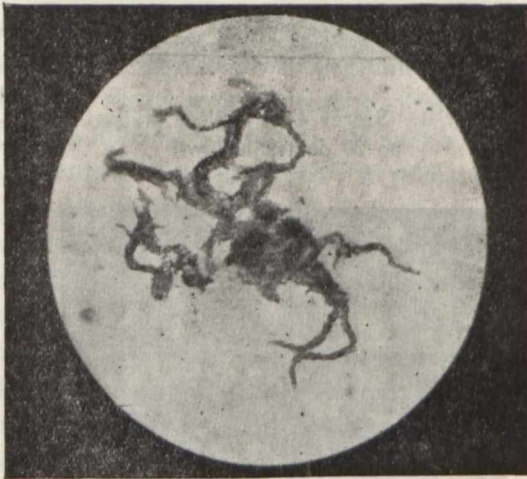
Fot. 1. Szczep 44 z podłoża stałego  
po 20 dniach hodowli



Fot. 2. Szczep 44 z podłoża płynnego  
po 40 dniach hodowli

kowo wyraźną odporność na działanie 25%-go  $H_2SO_4$ . Barwione mocno błękitem metylenowym (20 min.) i odbarwiane krótko alkoholem, jedynie w starych kulturach (30 dni) wykazują ziarnistości. W starych hodowlach barwionych metodą Grama można stwierdzić część komórek odbarwionych. Po 40-dniowej inkubacji na podłożu płynnym (Sauton i bulion glicerynowy) szczep wykazuje polimorfizm podobnie jak szczep Nr 44. W preparatach mikroskopowych obecne są prątki długie, o wyraźnie zaznaczonej ziarnistości, w różny sposób powyginane.

Stopień kwasoodporności pozostał ten sam. Podobnie jak w szczepie 44 postać prątków ulega zmianie po spasażowaniu przez zwierzęta doświadczalne. W preparatach z wątroby, lub innych organów myszy białych i norników, obecne są pałeczki smukłe, długie, posiadające ziarnistości rzekomo zarodnikowe, nieodporne na kwasy i alkohol, wymiary 0,5 x 2—4 mikrona, często pozaginane. Podobne zmiany w postaci prątków obserwowano w preparatach z organów zakażonych świńek morskich.



Fot. 3. Mikrokolonie szkiełkowe szczepu 47 oglądane pod imersją po 7-miu dniach inkubacji (100 x 6)

Dla obu szczepów zastosowano również metodę hodowli szkiełkowych. Na jałowych szkiełkach rozcierano tkanki zakażonych zwierząt, używając taki materiał, w którym trudno było wykryć prątki metodą mikroskopową. Jako podłoże użyto podłoże Kirchnera (38) z dodatkiem 10% surowicy bydlęcej i 0,02% „Tween 80“. Po 7 i 14 dniach preparaty barwiono i oglądano pod imersją. Zarówno jeden jak i drugi szczep wykazał „serpentykowy“ układ komórek charakterystyczny dla prątków zjadliwych.

Hodowle szczepów 44 i 47. Szczepy wymagały podłoży stosowanych dla prątków gruźliczych. Na podłożu Löwensteina wyrastały po 8—12 dniach, na ziemniaku nieco później. Na podłożach płynnych pojawiała się początkowo (podłoże Sautona) cienka błona



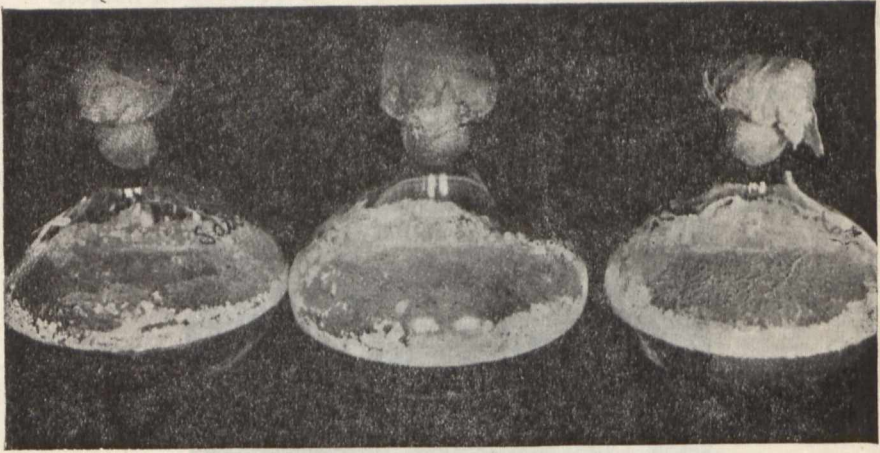


Fot. 4. Mikrokolonie szkiełkowe szczepu 47 oglądane pod imersją po 14-tu dniach inkubacji (część kolonii 100 x 10)

wolno rozprzestrzeniając się po powierzchni płynu. Po paru tygodniach ukazywał się gruby kożuch złożony z dużych, pofałdowanych grud. Pożywka przejrzysta, osadu brak. Kożuch nie wchodził na ściany naczynia. Na bulionie glicerynowym wzrost był powolniejszy. Po 3-ich tygodniach pojawiał się również gruby, grudkowy i pofałdowany kożuch, który po kilku tygodniach (około 40-stu dni) pokrywał prawie całą powierzchnię. Kożuch nie wchodził na ściany naczynia. Bulion lekko zmnącony, na dnie trochę delikatnego osadu.

Dla porównania charakterów wzrostu na podłożach płynnych podane są fotografie: 5) — 7-mio dniowej hodowli trzech saprofitów na Sautonie, i 6) — 40-sto dniowej hodowli na Sautonie szczepów 44, 47 oraz prątka typu ludzkiego. Wszystkie przedstawione na zdjęciach szczepy były hodowane w 37°C.

Stosunek szczepów 44 i 47 do glicerolu. Obydwa szczepy przez cały czas trwania doświadczeń hodowano na podłożu Löwensteina i podłożu jajecznym Dorseta bez gliceryny. Już po pierwszych przeszczepieniach stwierdzono dodatni wpływ glicerolu. Obserwacje te potwierdzały się przez cały pięciomiesięczny okres badań szczepów. Na podłożu Löwensteina uzyskiwano po każdym przeszczepieniu wyraźny wzrost po 8—12 dniach. W tym sa-



Fot. 5. Szczepy saprofityczne, nr 27, nr 18, nr 6 hodowane na Sautonie przez 7 dni w temperaturze 37°C.



Fot. 6. Od lewej: typ ludzki, szczep 47 i 44. Hodowla na Sautonie po 40-tu dniach inkubacji w temperaturze 37°C.

mym czasie na podłożu D o r s e t a wzrost był bardzo znikomy, w postaci delikatnego, matowego nalotu i ukazywał się dopiero w kilka dni później (po 14—18 dniach). Ażeby potwierdzić eugoniczność wzrostu sporządzono podłoże D o r s e t a dodając różne ilości glicerolu 20%,



Fot. 7. Szczep 47. Z lewej na Sautonie, z prawej na bulionie glicerynowym po 40-tu dniowej inkubacji w 37°C.

5% i 10%. Hodując na tych podłożach oba szczepy stwierdzono, że już dodanie 2% glicerolu wzmagą wzrost, przy 5% wzrost jest równie obfity jak i na Löwensteinie, a 10% glicerolu wykazał działanie hamujące, częściowe, lub nawet zupełne. Charakter eugoniczny zachował się po pasażach szczepów przez zwierzęta. Podobnie nie zmienił się czas wyrastania szczepów.

**Temperatura.** Dla określenia granic temperatury, hodowano wszystkie szczepy w różnych temperaturach (od 18 do 48°C). Dla wszystkich wyizolowanych szczepów, temperaturę 37°C można przyjąć jako optymalną. Dla szczepów saprofitycznych granica wzrostu leżałaby pomiędzy 18°C—41°C za wyjątkiem 3-ch szczepów (nr 26, nr 27 i nr 31), które rosły jeszcze w 45°C i 47°C, a nawet przeżywały 60°C przez jedną godzinę. Dla szczepów 44 i 47 minimum temperatury wynosi 34—35°C, optimum 37°C, maksimum 41°C.

**Odporność:** Szczepy 44 i 47 giną w 60°C mniej więcej po 20—30 min. Po inaktywacji w 50°C przez 20 min. szczepy te wyrastają z opóźnieniem. 5% fenol zabijał szczepy 44 i 47 po upływie 5—10 min., 0,5% fenol po jednej dobie. Kwasoodporność w preparatach Ziehl—Neelsena zachowywała się po pół godzinnym działaniu 25% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> w alkoholu.

## Zjadliwość szczepów dla zwierząt doświadczalnych

Celem stwierdzenia stopnia zjadliwości szczepów 44 i 47, zakażano przede wszystkim norniki i myszy a następnie świnki morskie, króliki i gołębie. Zarazki ze świeżej hodowli odważano na wadze analitycznej i rozbijano starannie w kolbach z perełkami. Stosowano 3 rodzaje iniekcji: nornikom i myszom dootrzewnowe, świnkom podskórne, królikom i gołębiom dożylnie. Dawki: norniki i myszy 0,1 mg i 0,01 mg — świnki od 0,1 mg do 10 mg, króliki 0,1 mg, gołębie 0,1 mg. Czas obserwacji pomiędzy zakażeniem a sekcją wynosił od kilkunastu dni do 3-ch miesięcy.

Szczepy oznaczone jako saprofity nie wywołały żadnych zmian makroskopowych u norników zabitych po 45 ciu dniach od zakażenia. W preparatach bezpośrednich z organów nie stwierdzono obecności prątków kwasoodpornych. Posiewy z organów były ujemne po upływie 2-ch miesięcy.

Stopień zjadliwości szczepów 44 i 47 dla nornika zwyczajnego okazał się mniej więcej taki jak typu *bovinus* (Ravenel). Na sekcjach zwierząt zakażonych tymi szczepami starano się stwierdzić rozprzestrzenienie zarazka. Niezależnie od obecności lub braku zmian makroskopowych w organach badano je również mikroskopowo: histologicznie — szukając zmian chorobowych i bakteriologicznie — szukając zarazka w tkankach organów. Metoda taka konieczna jest ze względu na istnienie bezgruzelkowej formy gruźlicy (posocznicowej) jako tzw. typ *Yersina*. Na sekcjach badano miejsce iniekcji, ażeby stwierdzić, że zmiany są wynikiem doświadczeń, a nie gruźlicy samoistnej.

W tablicach podanych niżej przyjęto następującą zasadę dla określania zmian makroskopowych i mikroskopowych u sekcjonowanych zwierząt:

### a) Z m i a n y   m a k r o s k o p o w e

[do opisu użyto skali podanej przez Weelsa (1)].

- + powiększenie węzłów limfatycznych bez zserowacenia.
- ++ zserowanie węzłów limfatycznych, obecność gruzelków w śledzionie, wątrobie lub płucach.
- +++ to samo w stopniu większym.
- ++++ bardzo silna ogólna gruźlica.

## b) Preparaty mikroskopowe bakteriologiczne:

- + pojedyncze prątki, nie w każdym polu widzenia.
- ++ od 1 do 10 prątków w każdym polu widzenia.
- +++ od 1 do 20 prątków w każdym polu widzenia.
- ++++ każde pole usiane prątkami.

Ze wszystkich badanych organów robiono posiewy na podłożu Löwensteina, wychodząc z założenia, że przy małej ilości prątków w tkance nie można ich wykryć w preparacie bezpośrednim. Probówki z posiewami trzymano w cieplarni przez okres dwóch miesięcy. Wyizolowane ze zwierząt szczepy rosły w postaci kolonii drobnych, wypukłych, okrągłych i wilgotnych. Kolonie przeszczepiano na podłoża proste i glicerynowe (Löwenstein), hodując w różnych temperaturach. Własności morfologiczne i hodowlane nie zmieniły się. Wirulencja również nie uległa zmianie, co zostało potwierdzone w dalszych doświadczeniach na świnkach morskich.

Dla celów porównawczych podaję reakcję norników na zakażenie prątkami typu ludzkiego i bydlęcego.

Spośród innych gatunków należących do rodziny Myszowatych użyto do doświadczeń myszy domowe, myszy białe laboratoryjne oraz w pojedynczych wypadkach mysz zaroślową (*Apodemus sylvaticus*) i mysz polną (*Apodemus agrarius*). Reakcja tych zwierząt na szczep 44 i 47 podane są w tabeli III.

Z tabel podanych wyżej wynika, że obydwa badane szczepy wykazują jednakowy stopień zjadliwości. Spośród Myszowatych użytych do doświadczeń najwyższą wrażliwość stwierdzono u norników, u których w czasie nieprzekraczającym 20 dni wystąpiły zmiany makroskopowe większe i bardziej charakterystyczne, aniżeli u myszy białych i polnych po czasie mniej więcej trzykrotnie dłuższym. Wskazywałoby to na większą zjadliwość tych szczepów dla nornika zwyczajnego niż dla myszy polnych i białych. Na sekcjach myszy białych widziano nieznaczne zmiany w płucach w postaci małych szklistych ognisk, powiększenie śledziony, w której jednak mikroskopowo nie stwierdzono obecności prątków. W rozmazach z wątroby i nerki na ogół prątków nie widziano, natomiast znaczną ilość zarazków zawierała ropa z dużych ognisk ropnych (często wielkości grochu) znajdujących się w wątrobie. Ropni takich nie spotkano u myszy domowych i polnych, u których charakter zmian makroskopowych przypominał zmiany u norników.

**Tablica I.**  
Zmiany gruźlicze u *Microtus arvalis* zakazonych dootrzewnowo szczepami 44 i 47

Nr szczepu	Nr nor- mika	Wielkość dawki	Czas obserwacji do zabicia	Rozezestwienie zarazka		Wyzolowanie zarazka	U w a g i
				zmiany mikrosko- powe	preparat mikroskopowy		
44	1	0,1 mg	18 dni	+++	++ wątroba, śledziona nerka, płuco	po 38 dniach	padła
44	2	0,1 mg	19 dni	+++	++ wątroba, śledziona, płuco	po 40 dniach	zabita
44	3	0,1 mg	19 dni	++	+++ wątroba, śledziona płuco	po 38 dniach	zabita
44	4	0,01 m g	13 dni	+	+ płuco śledziona	po 42 dniach	padła
44	5	0,01 mg	13 dni	+	+ śledziona	po 26 dniach	zabita
47	6	0,1 m g	10 dni	++	++ płuco	po 21 dniach	padła
47	7	0,1 mg	18 dni	+++	++ wątroba, śledziona, płuco	po 25 dniach	zabita
47	8	0,1 mg	18 dni	+++	++ śledziona, płuco	po 39 dniach	zabita
47	9	0,01 mg	13 dni	+	+ śledziona	po 42 dniach	zabita
47	10	0,01 mg	13 dni	+	+ płuco	po 40 dniach	zabita

U w a g a: objaśnienia znaków podano w tekście

**Tabela II.**  
Zmiany gruczołce u *Microtus arvalis* zakazonych dootrzewnowo prątkami gruczołowymi typu ludzkiego i bydłowego

Nr szczepu	Nr zwierzęcia	Wielkość dawki	Czas obserwacji do zabitia	Rozprzestrzenienie zarazka		Wyzolowanie zarazka	U w a g i
				zmiany makroskopowe	preparat mikroskopowy		
typ <i>bomivinus</i> Rebenel	1	0,1 mg	29 dni	+	+ gruczoły, nerka	po 23 dniach	zabita
typ bydłocy z perlicy	2	0,1 mg	19 dni	+++	+++ gruczoły limfatyczne, wątroba, śledziona, nerka,	po 31 dniach	padła szczerpiona typem bydł. z perlicy
typ <i>bovinus</i> Rebenel	3	0,1 mg	19 dni	++	++ gruczoły, śledziona, nerka	po 19 dniach	zabita
typ <i>humanus</i> H 37 Rv	4	0,1 mg	29 dni	++	+ płuca, wątroba, nerki	po 18 dniach	zabita
	5	0,1 mg	29 dni	+	—	—	zabita
	6	0,1 mg	27 dni	—	—	—	padła

U w a g a: objaśnienia znaków podano w tekście

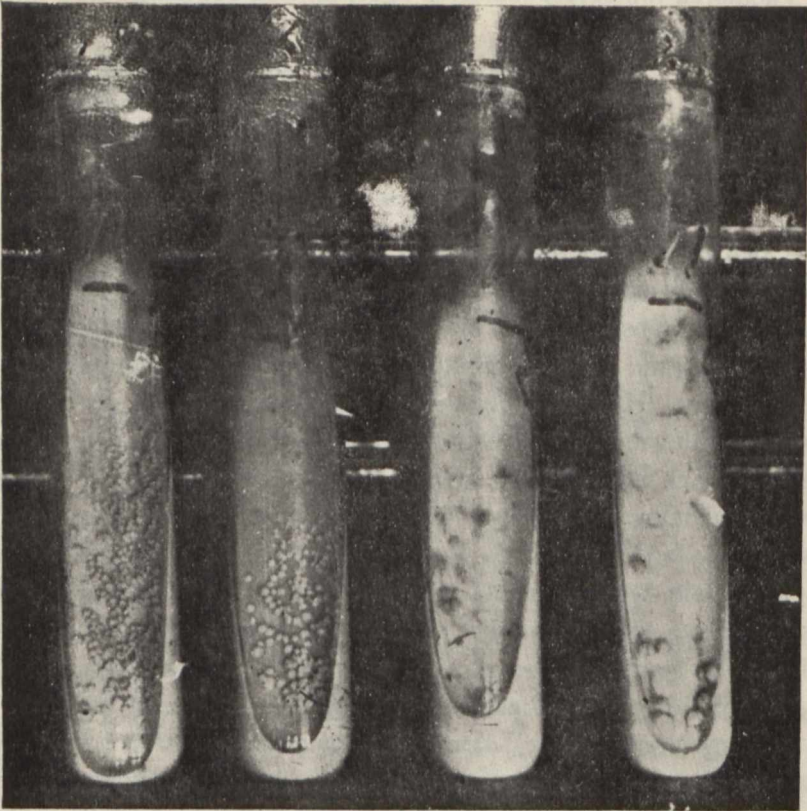
Tabela III.

Zmiany gruźlicze u myszy białych, domowych i polaych zakażonych dootrzewnowo szczepami 44 i 47

Nr szczepu	Nr. myszy	Gatunek myszy	Wielkość dawki	Czas od infekcji do zabi- cia	Rozezstreuung zarażka		Wyzolowanie zarażka	U w a g i
					zmiany makroskopowe	preparat mikroskopowy		
47	1	biała	0,1 mg	72 dni	++ śledziona, płuco	+	po 17 dniach	
47	2	biała	0,1 mg	72 dni	++ gruczoły, płuco	+	po 18 dniach	
47	3	biała	0,1 mg	73 dni	+ ropień na wątrobie	++ z ropy	po 22 dniach	zarażek wyizolowany z ropy
47	4	biała	0,1 mg	73 dni	++ guz serowaty na wątrobie, płuco	++ z guza na wątrobie	po 20 dniach	
44	5	domowa	0,1 mg	70 dni	++ płuco	+	po 23 dniach	
44	6	domowa	0,1 mg	70 dni	++ płuco, wątroba	+	po 20 dniach	
44	7	domowa	0,1 mg	70 dni	++ wątroba, śledziona	+	po 21 dniach	
44	8	<i>Apodemus sylvaticus</i>	0,1 mg	55 dni	++ płuco, śledziona	+	po 18 dniach	z płuca
44	9	<i>Apodemus agrarius</i>	0,1 mg	57 dni	+ płuco	+	po 21 dniach	z płuca

U w a g a: objaśnienie znaków podano w tekście





Fot. 8. Szczep 44; hodowle na Löwensteinie po pasażu przez:  
 1. *Apodemus agrarius* (2 probówki od lewej). 2. *Apodemus sylvaticus*  
 (2 probówki od prawej). Kolonie wyrosły: 1. po 21 dniach, 2. po 18 dniach.

Preparaty histologiczne z organów myszy  
 polnych zakażonych badanymi szczepami  
 (wg Dr. F. Stańskiego)

Mysz polna *Apodemus agrarius* zakażona dawką 0,1 mg zabita po 57 dniach:

płuco: przekrwienie, ogniskowe nacieki, drobnookrągłomórkowe;

wątroba: ogniskowe nacieki okołonaczyniowe, układające się w wyraźnych grupach, a nie dokoła naczynia. Drobne ogniska

komórek limfocytopodobnych spotykane są również wśród mięszu wątrobowego;

śledziona: rzadko występujące drobne ogniska martwicze. Szczepy wyizolowane z zakażonych myszy nie zmieniły w hodowlach swego dawnego charakteru.

#### Zjadliwość dla świnek morskich

Świnki zakażono dawkami: 10 mg, 5 mg, 1 mg i 0,1 mg po 5 świnek na każdy szczep. Zastosowano iniekcję podskórną w prawe udo. Po miesiącu obserwacji oraz sprawdzaniu wagi zwierząt, poddano wszystkie świnki próbie tuberkulinowej, używając do tego starej tuberkuliny Kocha 1:100. Po upływie różnych okresów czasu po zakażeniu, świnki poddawano sekcji. Określono szczegółowo zmiany w organach wewnętrznych sporządzono preparaty bezpośrednie z rozrartych organów i wykonywano posiewy. Organa wewnętrzne względnie ich wycinki przesyłano do Zakładu Patologii Ogólnej i Anatomii Patologicznej Wydziału Weterynarii U. M. C. S., gdzie wykonywano preparaty histologiczne. Ogólne wyniki tych doświadczeń są zestawione w tabeli IV. W ciągu pierwszych dwóch tygodni od zakażenia, u świnek pojawiały się ropnie. Wielkość ich w miejscu zastrzyku zależna była od wielkości dawki. Przy dawkach największych (10 i 5 mg) ropnie otwierały się w głębokie owrzodzenia skóry, z których wypływała ropa. Przy dawkach mniejszych (1 i 0,1 mg) ropnie przechodziły w lekkie owrzodzenia, które po upływie 40—80 dni zablizniały się. Miało to miejsce przy dawce 0,1 mg. Po upływie jednego miesiąca świnki poddano próbie tuberkulinowej, używając przy tym starej tuberkuliny Kocha. Wszystkim świnkom wstrzyknięto śródskórnie 0,1 ml tuberkuliny rozcieńczonej 1:100. Reakcja była wyraźna, lub wybitna za wyjątkiem tych świnek, które dostały najwyższą dawkę prątków tj. 10 mg zarazka. W tych wypadkach można było stwierdzić niewyraźny odczyn tuberkulinowy, lub odczynu nie było. Mieliśmy więc do czynienia z anergią. Przez pierwszy miesiąc obserwacji świnki ważono w jednakowych odstępach czasu i jak wykazano w tabeli IV świnki zakażone dawką 10 lub 5 mg traciły na wadze, natomiast po dawce 0,1 mg waga raczej wzrastała we wszystkich wypadkach. Najdłuższy czas życia wynosił 102 dni dla świnki zakażonej dawką 0,1 mg. Wszystkie inne ginęły wcześniej.

**Tabela IV.**  
Zmiany gruźlicze u świnek morskich zakażonych podskórnie szczepami 44 i 47

L. p.	Szczep	Wielkość dawki	Odczyn tuberkulinowy po 1 miesiącu	Zmiany w wadze w okresach 6 dniowych	Czas między iniekcją a śmiercią	Zmiany makroskopowe	Preparat mikroskopowy	Wyzolowanie zarazka
1.	44	10 mg	+	360 g 355 g 350 g 330 g	45 dni z.	++++	— śledziona — płuco + wątroba	po 14 dniach
			—					
2.	44	5 mg	+	320 g 308 g 315 g 320 g	45 dni z.	++++	— wątroba — śledziona + płuco	po 14 dniach
3.	44	1 mg	+	340 g 330 g 330 g 335 g	60 dni p.	++++	— płuco — wątroba — śledziona	po 17 dniach
4	47	0,1 mg	+	385 g 380 g 380 g 420 g	45 dni z.	++++	— wątroba + płuco + śledziona	po 14 dniach
5.	44	0,1 mg		380 g 390 g 405 g 400 g	65 dni p.	++++	— wątroba + płuco + śledziona	po 19 dniach

U w a g i: z — zabita

p — padła

++++ — rozległe zmiany gruźlicze we wszystkich organach

## Opis zmian makroskopowych u świnek morskich stwierdzonych na sekcjach

Jak już było powiedziane iniekcje 10 mg zarazka wywołały głębokie owrzodzenia z ubytkiem skóry na podbrzuszu (na przestrzeni 2—3 x 1 cm) i uwidocznieniem powięzi. Z przetok wydzielala się serowata, ropna treść. Węzły chłonne pachwinowe z obu stron znacznie powiększone, łatwo wyczuwalne przez skórę. Po otwarciu jamy brzusznej stwierdzono powiększenie gruczołów pachwinowych do wielkości grochu lub fasoli, na ich przekroju w niektórych wypadkach stwierdzono ropną treść. W miejscu klucia drobne abscesy. Po stronie iniekcji nacieki z owrzodzeniem, skóra w okolicy owrzodzenia zrośnięta z głębszymi powłokami brzucha. Węzły iliakalne w okolicy rozwidlenia vena iliaca — duże i twarde bez mas serowatych. Liczne węzły limfatyczne na krezce wielkości ziarna grochu.

**Wątroba:** Po 40 dniach od zakażenia — rozmiar normalny, powierzchnia gładka, rysunek zrazików nieco wyraźniejszy. Gruzelków brak. Po mniejszej dawce (0,1 mg), a po dłuższym czasie widoczne rozsiane gruzelki. U świnki padłej po 86 dniach (dawka 0,1 mg) stwierdzono rozsiane ogniska martwicze. Wątroba znacznie powiększona, o mozaikowej powierzchni i postrzępionych brzegach.

**Płuco:** Wielkość odpowiednia, zasiane ogniskami nacieków, powierzchnia chropawa. Płuca partiami niepowietrzne. Po 86—102 dniach od iniekcji stwierdzono rozsiane ogniska martwicze, liczne również ogniska ropne wielkości ziarna soczewicy.

**Sledziona:** Wyjątkowo duża o rozmiarach 2,5 x 5 cm, powierzchnia gładka, wypukła, mocno przekrwiona, gruzelków nie widać na powierzchni, ani na przekroju. Przy najmniejszej dawce obecne były gruzelki.

**Nerka i nadnercze:** Brak zmian makroskopowych. W niektórych wypadkach stwierdzono zwyrodnienie narządów mięszo-  
wych.

### Obrazy mikroskopowe i posiewy

W preparatach mikroskopowych sporządzonych z rozartych organów świnek znaleziono nieznaczna ilość prątków kwasoodpornych. W niektórych wypadkach w preparatach bezpośrednich nie widziano prątków wcale. Wszystkie badane na sekcjach organa były wysiewane na podłoże Löwensteina i Dorseta. Posiewy dały wyniki

dodatnie po 14—20 dniach. Kolonie wyrastały prawie wyłącznie na Löwensteinie. Do zakażenia świnek użyto w dwóch wypadkach zarazków spaszowanych uprzednio na nornikach. Sekcje tych dwóch świnek wykazały taki sam obraz chorobowy, co i sekcje świnek pozostałych. Po wyizolowaniu prątków nie stwierdzono u nich żadnych różnic ani w kształcie, ani w hodowli w porównaniu z prątkami wyizolowanymi z organów pozostałych świnek.

#### Opis preparatów histologicznych z narządów świnek morskich (wg Dr. F. Stańskiego)

**Węzły chłonne:** W węzłach pachwinowych stwierdzono znaczny przerost tkanki łącznej, cechującej się różnokierunkowym przebiegiem pasm. Przerost siateczki węzła, w oczkach których mieszczą się liczne elementy obronne ustroju. Namnożenie komórek histiocytarnych. Obrzęk i mierne przekrwienie. W węzłach iliaikalnych zmian nie stwierdzono.

**Płuca:** Na znacznej przestrzeni niepowietrzne z powodu obecności gruzelków częściowo zlewających się ze sobą. Mierne przekrwienie. Naczynia wypełnione mierną ilością krwi, przy brzęznym ustawieniu białych ciałek krwi, z których część przenika przez naczynia tworząc naciek okołonaczyniowy. Podobne nacieki występują wokół drobnych oskrzelików. Skupienia komórek limfocytopodobnych w sąsiedztwie naczyń względnie oskrzelików były w szeregu wypadków bardzo wyraźne, duże i dobrze odgraniczone. Przerost tkanki łącznej z komórkami limfocytopodobnymi ma charakter ogniskowy. W guzkach w ten sposób utworzonych nie stwierdza się oznak rozpadu. W pewnych partiach płuc stwierdzono rozlaną ziarninę zapalną, wysięk surowicy w pęcherzykach i silniejszy stopień przekrwienia.

**Wątroba:** Budowa komórek lekko zatarła, miejscami obraz daleko posuniętych zmian wstecznych. Dokoła naczyń krwionośnych nacieki komórkowe tworzące skupienia wyraźnie odgraniczające się od sąsiadującej tkanki. Skupienia komórek układają się kulisto, a nie okołonaczyniowo, występują w każdym polu widzenia. Liczne ogniska z komórek limfocytopodobnych.

Niektóre komórki o znacznie większych wymiarach posiadają pierścieniowo lub biegunowo ułożone jądra przypominając tym komórki olbrzymie L a n g h a n s a.

**Sledziona:** Wypełniona większą ilością krwi o budowie zachowanej. Brak cech rozplenu histocyтарnego. W jednym preparacie widziano drobne ognisko martwicze.

**Nerka:** Na ogół nie stwierdzono żadnych odchyień od budowy prawidłowej. W preparacie z nerki świnki nr 7 widziano przekrwienie oraz wysięk surowiczowo-włóknisty przemawiający za stanem zapalnym nerki.

#### Zjadliwość szczepów badanych dla królików

4 króliki zakażano dożylnie szczepami 44 i 47, stosując dawkę 0,1 mg w żyłę brzezną ucha. Króliki przez trzy i pół miesięczny okres obserwacji czuły się dobrze. Ubytku w wadze nie stwierdzono. Zabite po 105 dniach od zakażenia wykazały w niejednakowym stopniu zmiany w płucach, wynaczyńnienia podoplucnowe wielkości główki szpilki, liczne gruzelki wielkości maku (u innego królika) gdzie niegdzie zlewające się do wielkości ziarn pszenicy i lokując się w dolnych częściach płuc. W innych organach zmiany nieznaczne: powiększenie węzła węzłowego, nieznaczny obrzęk śledziony, zmleczenie i zgrubienie worka osierdziowego. Króliki nie reagowały na tuberkulinę Kocha 1:100, natomiast uzyskano słaby odczyn przy rozcieńczeniu 1:10.

W preparatach mikroskopowych z rozlartych tkanek znaleziono pojedyncze zarazki co kilka pól widzenia. W preparatach z gruzelków płucnych widziano prątki w każdym polu widzenia. Zarazek z wysianych organów wyhodowano po 22 dniach.

U gołębi zakażonych dożylnie dawką 0,1 mg żadnych zmian makroskopowych nie stwierdzono. Gołębie nie wykazały reakcji na tuberkulinę Kocha w rozcieńczeniu 1:10.

#### Wyniki i wnioski

Spośród jedenastu szczepów kwasoodpornych wyizolowanych z *Microtus arvalis*, dwa szczepy (Nr 44 i 47) okazały się zjadliwe, resztę zaliczono do kwasoodpornych saprofitów. Szczepy chorobotwórcze badano za pomocą hodowli na podłożach charakterystycznych dla prątków gruźliczych oraz za pomocą doświadczeń na zwierzętach laboratoryjnych i nornikach. Obydwa szczepy badane nie wykazały żadnych różnic pomiędzy sobą, ani w hodowlach, ani w wirulencji dla zwierząt.

Na podstawie wykonanych doświadczeń należy stwierdzić, że:

- 1) szczepy te nie są identyczne z typem prątka mysiego Wellsa,
- 2) nie wykazują takiego zespołu cech morfologicznych, fizjologicznych i biologicznych, na podstawie których można by je było niewątpliwie zidentyfikować z prątkiem gruźlicy typu ludzkiego, bydłęcego lub ptasiego.

W odróżnieniu od prątka mysiego (Wellsa) szczepy badane wykazują bardziej eugoniczną formę wzrostu, wcześniej wyrastają na podłożach stałych i płynnych, oraz posiadają znacznie wyższą zjadliwość dla świnek morskich i królików.

Pomimo zjadliwości dla morskich świnek, szczepy badane nie posiadają innych cech wspólnych z prątkiem typu ludzkiego. Są mniej eugoniczne niż prątek H37Rv, wykazują wyższą zjadliwość dla *Microtus arvalis*, rosną jeszcze w 41°C, wywołują gruźelkowe zmiany w płucach u królików zakażonych dawką 0,1 mg dożylnie. Jeśli chodzi o porównanie szczepów 44 i 47 z prątkiem typu bydłęcego, to obok podobieństwa w stopniu wirulencji dla świnki, królika i nornika, istnieją różnice morfologiczne i fizjologiczne nie ulegające zmianom w hodowlach i pasażach. Szczepy badane wykazują znaczny polimorfizm, który szczególnie wyraźnie daje się zaobserwować po pasażach i w starych 40 dniowych hodowlach płynnych.

Morfologiczne szczepy 44 i 47 podobnie jak i szczep mysy Wellsa nie przypominają ani prątków typu ludzkiego, ani prątków typu bydłęcego. Na podłożach stałych są one krótkie, często owalne, lub prawie kuliste. W tkankach lub w starych płynnych hodowlach przybierają kształty wydłużone, esowate, półkoliste, a czasem układają się palczasto. Takiego polimorfizmu nie obserwuje się u żadnego innego typu gruźlicy ssaków, poza typem nysim. Poza polimorfizmem w starych hodowlach szczepów badanych pojawiał się barwik żółty, lub jasno ceglasty. Stwierdzono również dodatni wpływ gliceryny co nie ma miejsca w hodowlach typu bydłęcego (Ravenel). Szczepy badane nie wywołały zmian makroskopowych i mikroskopowych u gołębi zaszczerpionych 0,1 mg dożylnie. Poza tym szczepy te różnią się od *Mycobacterium avium* hodowlą, nie rosnąc już w 45°C, oraz gruźelkową formą gruźlicy u świnek i królików. Cechy hodowlane i chorobotwórczość dla norników i świnek odróżniają badane szczepy od *Mycob. leprae* i *Mycob. johnei*. We wszystkich wypadkach uzyskano dodatnie odczyny tuberkulinowe na świnkach i królikach za wyjątkiem zwierząt

Tabela V. — Table V.

Porównanie zjadliwości i cech fizjologicznych prątków gruźliczych typów: ludzkiego, bydłowego, ptasięgo, i mysiego oraz szczepów badawczych nr 44 i 47.

The comparison of physiology and pathogenicity of tubercle bacilli: human, bovine, avian, vole bacillus and investigated strains Nr 44 and 47

Typ prątka Type of tub. bac.	Fiziologia (Physiology)						Zjadliwość (Pathogenicity)				
	Opt. temperat.	Charakter wzrostu Rate of growth	Barwik Pig- ment	Wpływ glicerynu Stim. by glycerol	Poli- morfizm	Świnka morska Guinea- pig	Królik Rabbit	Gołąb Pigeon	Nornik Vole		
Typ ludzki human H 37 Rv	37°C	eugon.	+	++	-	++++	+-	-	++		
Typ bydłowy bovine Ravenel	37°C	dysgon.	-	-	-	++++	++++	-	++++		
Typ ptasi avian	40—42°C	bujny rapid	+	+	+	+-	+-	++++	-		
Typ mysiej vole bac.	37°C	dysgon.	-	-	+	+-	+-	-	+++		
Szczepy badane investigated strains	37°C	eugon.	+	+	+	++++	++	-	+++		



zakazonych bardzo dużą dawkę (10 mg u świnek), po których stwierdzono anergię. W ciągu 6-cio miesięcznych przeszczepień oraz po parokrotnym pasażowaniu przez zwierzęta doświadczalne cechy podane wyżej nie uległy zmianie.

Przedstawione wyżej cechy morfologiczne, fizjologiczne i patogenetyczne, w zestawieniu z odnośnymi cechami znanych i zjadliwych szczepów gruźliczych, pozwalają przypuszczać, że opisane w tej pracy szczepy 44 i 47 stanowią odrębny wariant prątka gruźlicy. Wariant ten (jak wskazuje tabela porównawcza), własnościami fizjologicznymi oraz zjadliwością dla świnek morskich zbliża się najbardziej do typu ludzkiego, stopniem zjadliwości dla norników i królików zbliża się do typu bydłowego. Badane szczepy daleko posuniętym polimorfizmem przypominają typ prątka mysiego. Dokładne sklasyfikowanie szczepu gruźliczego wymaga wielokrotnych pasażów oraz długich obserwacji form uzyskanych z dysocjacji szczepów. Badania takie przekraczałyby ramy niniejszej pracy. Jeśli chodzi o szczepy saprofityczne, to celem umieszczenia ich w którejś z grup saprofitów kwasoodpornych oparto się na dwóch kluczach do oznaczania bakterii: Krasilnikowa (23) i Bergey'a (24).

Krasilnikow systematykę tych drobnoustrojów opiera na cechach morfologicznych (rozgałęzienia), fizjologicznych (pigment) i hodowlanych (charakter wzrostu). Bergey w schemacie podanym na str. 877 stara się sklasyfikować niezjadliwe *Mycobacteriae* na podstawie ich wytrzymałości na temperaturę (47—60°C) i rozkładaniu względnie nierozkładaniu sorbitolu.

Wszystkie szczepy przebadano według wskazówek obu autorów otrzymując następujące wyniki:

1. Zaden z omawianych szczepów niechorobotwórczych nie daje form rozgałęzionych.
2. Szczepy 26, 27 i 31 dają barwik pomarańczowy (po kilkunastu dniach), reszta szczepów -- żółty lub jasno żółty.
3. Wszystkie wykazały suchy charakter wzrostu.
4. Szczepy: 26, 27 31 wytrzymały ogrzewanie w 60°C i rosły w temperaturze 47°C. U reszty (Nr 20, 18, 6, 61, 65) tych własności nie stwierdzono.

Na podstawie wyżej podanych doświadczeń, których wyniki uzgadniano z charakterystyką szczepów podaną przez Krasilnikowa i Bergey'a, uznano szczepy 26, 27 i 31 albo za identyczne z *Mycobacteriae*

*bacterium phlei*, albo leżące w tej samej grupie *Mycobacterium* sp. Szczepy natomiast 20, 18, 6, 19, 61 i 65 wykazujące własności wspólne pozwalają się zaliczyć do *Mycobacterium friedmanii*, względnie do tego samego *Mycobacterium* sp., w którym umieszczone jest *Mycobacterium friedmanii*.

Tak jak podano w tytule pracy oraz założeniu badań własnych, analiza bakteriologiczna organów nornika zwyczajnego stwierdziła u tych gryzoni obecność prątków kwasoodpornych zjadliwych i niezjadliwych. Ze względów epidemiologicznych fakt ten należy specjalnie podkreślić jako dowód na istnienie zjadliwych zarazków gruźliczych u zwierząt dzikich, żyjących blisko mieszkań i gospodarstw ludzkich. Dla tak szeroko zakrojonej akcji państwowej jaką jest akcja zwalczania gruźlicy, roznosicielstwo gruźlicy przez najpospolitszy u nas gatunek małych gryzoni nie może być bez znaczenia. Tym bardziej, że zwierzęta te żyją gromadnie i wyróżniają się dużą rozrodcością. Pojawiając się masowo w „latach mysich“ na naszych polach i łąkach mogą stanowić niebezpieczeństwo nie tylko dla gospodarki człowieka ale i dla jego zdrowia.

W odróżnieniu od wyników uzyskanych przez Wellsa, nie stwierdzono w okresie badań, masowych zakażeń gruźliczych u norników. U zwierząt preparowanych bezpośrednio po schwytaniu nie obserwowano prawie żadnych zmian makroskopowych typowych dla gruźlicy, poza powiększeniem śledziony. Praca Wellsa, w której uzyskano 20% posiewów dodatnich dowodzi o masowej epizooji gruźliczej norników, na jaką napotkał się autor w latach 1936--39. Mimo, że w pracy niniejszej stwierdzono tylko 2% zakażeń, nie jest wykluczone, że masowe epizooje mogą pojawiać się i u naszych norników. Należałoby przebadać te gryzoni w okresach gwałtownego ich znikania, które zwykle następuje po maksymalnym rozmnażaniu („lata mysie“). Możliwe, że obok innych czynników odgrywają tu również rolę choroby zakaźne.

Fakt wyizolowania z norników 9 szczepów saprofitycznych potwierdza nieliczne dotąd doniesienia w literaturze obcej o obecności saprofitycznych prątków w organizmach zwierzęcych. W związku z tym nasuwają się pewne zagadnienia, które należałoby rozstrzygnąć:

- 1) jak często występują te drobnoustroje w organizmach zwierzęcych i czy mogą one być obecne w materiałach patologicznych człowieka?

- 2) czy należy je zaliczać do prostych saprofitów, czy też odgrywają one jakąś rolę w chorobach infekcyjnych jako organizmy towarzyszące? i wreszcie:
- 3) czy możliwe jest twierdzenie, że niektóre prątki paragruźlicze mogą w pewnych warunkach przejść w formy zjadliwe? (P. H a u d u r o y).

Potwierdzenie tego i szersze opracowanie postawionych zagadnień miałyby poważne znaczenie praktyczne.

### Streszczenie wyników

Opisano jedenaście szczepów kwasoodpornych wyizolowanych z organów nornika zwyczajnego (*Microtus arvalis*). Badania wykazały, że dziewięć szczepów należy do saprofitów kwasoodpornych, a dwa do typów zjadliwych. Posługując się metodami wskazanymi przez K r a s i l n i k o w a i B e r g e y'a podzielono szczepy saprofityczne następująco: nr 26, 27 i 31 identyczne lub bliskie z *Mycobacterium phlei*. Nr 20, 6, 18, 19, 61 i 65 — identyczne lub bliskie z *Mycobacterium friedmannii*.

Dalsze szczepy Nr 44 i 47 jako zjadliwe dla norników badano na zwierzętach laboratoryjnych, a mianowicie: świnkach morskich, królikach i gołębiach. Szczepy te okazały się identyczne i wykazały najwyższą zjadliwość dla świnek, słabszą dla norników i myszy polnych oraz najslabszą dla królików. U gołębi zmian gruźliczych nie stwierdzono. Szczepy badane nie są identyczne z żadnym ze znanych typów gruźlicy ssaków. Jak stwierdzono już w tekście szczepy te własnościami fizjologicznymi oraz zjadliwością dla świnek zbliżają się najbardziej do typu ludzkiego, natomiast daleko posuniętym polimorfizmem do typu mysiego. Stopień zjadliwości dla królików i norników zbliża oba szczepy do typu bydłęcego.

Różnią się również od typu ptasiego, *Mycobacterium johnei* i *Mycobacterium leprae*.

Wyniki z przeprowadzonych doświadczeń pozwalają uznać te szczepy za odrębny wariant prątka K o c h a, którego stosunek do znanych typów wymaga jeszcze dłuższej obserwacji.

### Podziękowanie

Poczuwam się do obowiązku złożenia serdecznego podziękowania Panu Prof. dr. Ludwikowi F l e c k o w i za wybrany temat oraz za wskazówki i opiekę podczas pracy.

Panu Doktorowi Waławowi Mirkowskiewu, Kierownikowi Zakładu Produkcji Surowic i Szczepionek, wyrażam wdzięczność za umożliwienie wykonania badań na terenie Zakładu Produkcji oraz — Panu Doktorowi Feliksowi Stańskiewu i kol. Lechosławowi Nieciowi, pracownikom Zakładu Patologii Ogólnej i Anatomii Patologicznej Wydziału Weterynaryjnego U. M. C. S. za wykonanie i odczytanie preparatów histologicznych z narządów sekcjonowanych zwierząt.

---

#### L I T E R A T U R A

1. Wells A. Q. — The Murine Type of Tubercle Bacillus. (the Vole Acid-Fast Bac.) M. R. C. Nr 259. London. 1946.
2. Grasset E. — Variante eugonique du type murin du bacille tuberculeux Avril 1950. Institut d'Hygiène Université de Geneve. Annales de L'Institut Pasteur, 1950.
3. Nedelkovitch J. — Mode de multiplication du bacille de Koch. Annales de L'Institut Pasteur Février, 1950.
4. Wallace S. Brooke — The Vole—Acid—Fast Bacillus. Experimental Studies on a New Type of Mycob. Tub. The Am. Rev. Tub. 1941, 43.
5. Patnode R. A., Cummings M. M., Splendove G. A. — The Adaptability of Mice to the Laboratory Diagnosis of Tuberculosis. Jour. Labor. a. Clinical Medicine. August, 1949, vol. 34, No. 8.
6. Long E. R. — Experimental Mouse Tuberculosis. J. Bact. 27, 1934.
7. Pierce C. J., Dubos R. J. and Middlebrook G. — Infection of Mice With Mammalian Tubercle Bacilli Grown in Tween—Albumin Liquid Medium J. Exper. Med. 86, 1947.
8. Dubos R. J. and Davis B. D. — Factors Affecting the Growth of Tubercle Bacilli in Liquid Media, J. Exper. Med. 83, 1946.
9. Milzer and Levine E. — A Rapid Mouse Test for Laboratory Diagnosis of Tuberculosis, Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. 69, 1948.
10. Bequington R. — Infection tuberculeuse de la souris blanche, par voie cérébrale, Compt. rend. Soc. de biol. 131, 1939.
11. Steenken W. — Dissociation of the Tubercul. Bacillus. The Am. Rev. of Tuberc. July, 1950.
12. Middlebrook G. and Dubos R. J. — The Effect of Tubercle Bacilli on the Antigenity of Synthetic Ester of Oleic Acid. The Jour of Immunology, August, 1947, vol. 56, Nr 4.
13. Galli—Valerio: — Centr. für Bakt. 1915, t. 75, p. 49 (cytowano z P. Hauduroy'a).
14. Olchanetsky — Centr. f. Bakt. Orig. 1902, t. 32, p. 16 (cytow. z P. Hauduroy'a).
15. Saenz C. R. — Soc. Biol. 1941, t. 135, p. 320 (cytow. z P. Hauduroy'a).

16. Simmons — J. Inf. Dis. 1927, t. 41, p. 1 (cytow. z P. Hauduroy').
17. Dubos R. J., Fenner F., Pierce C. H. — Properties of a culture of BCG in liquid media containing Tween 80 and the filtrate of heated serum. The Am. Rev. Tub. January, 1950, vol. 61, Nr 1.
18. Leszczyńska E. H. i Togunowa A. I. — Eksperymentalnoje izuczenje sztamow BCG. Problemy Tuberkuleza. Moskwa, 1950, 4.
19. Fanderflit E. P. — Eksperymentalnoje izuczenje wakcynacji S-i R-wariantami BCG. i byczego tuberkuleznoego sztama. Żurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunologii. Moskwa, 1945, 6.
20. 20. Nachimson L. I. i Fanderflit E. P. — Immunogennyje swojstwa suchoj wakcyny BCG. Żurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunologii. Moskwa, 1945, 6.
21. Hauduroy P — Inventaire et description des bacilles paratuberculeux. Masson, 1946.
22. Excerpta Medica, Medical Mikrobiology and Hygiene section IV, 1947, 1948, 1949, 1950.
23. Krasilnikow N. A. — Opredielitel Bakterii i Aktinomisetow. Akademia Nauk SSSR. Moskwa—Leningrad, 1949.
24. Bergey's — Manual of Determinative Bacteriology. Sixth edition, London, 1948.
25. Topley and Wilson's — Principles of Bacteriology and Immunity, third edition. London, 1947.
26. Calmette A. — L'Infection bacillaire et la tuberculose chez l'homme et chez les animaux. Paris, 1922.
27. Frobisher M. — Fundamentals of Bacteriology, 1949.
24. Kuzin A. M. — Chimja i biochimja patogennyh mikrobow. Moskwa, 1946.
29. Herxheimer O. — Grundlagen der pathologischen Anatomie. München, 1922.
30. Abrikosow A. I. — Osnovy czastnoj patologiczeskoj anatomii. Moskwa, 1950.
31. Calmette A., Boquet A., Nègre L., Bretey J. — Manuel technique de Microbiologie et de Serologie. Paris, 1948.
32. Jordan E. O. — Textbook of Bacteriology Philadelphia and London, 1947.
33. Dehnel A. i Kamiński E. — Najpospolitsze gryzonie i sposoby ich zwalczania. Warszawa, 1947.
34. Bobrinskij N. A., Kuzniecowa B. A., Kuzjakin A. P. — Opredielitel Mlekopitajuszczich. Moskwa, 1944 — SSSR.
35. Dehnel A. — Przyczynek do znajomości przedstawicieli rodzaju *Microtus* Schrank z Polesia i Wileńszczyzny. Fragm. Faun. Muz. Zool. Pol. Warszawa 1946.
36. Naumow N. P. — Oczerki sravnitelnoj ekologii myszewidnych gryzunow. Akad. Nauk. Moskwa—Leningrad, SSSR
37. Materiały po gryzunam — Fauna i ekologia gryzunow pod red. prof. A. N. Formozowa. Moskwa, 1947.
38. Przesmycki F., Ławrynowicz A., Legeżyński S. — Mikrobiologia Lekarska, zeszyt III. Eugenia Piasecka Zeyland (prątek gruźlicy).

## РЕЗЮМЕ

Из одиннадцати устойчивых по отношению к кислотам штаммов, выделенных из (*Microtus arvalis*) два штамма (Но. 44 и Но. 47) оказались ядовитыми, все остальные зачислены автором к сапрофитам. Для исследовательских целей автор культивировал эти болезнетворные штаммы на субстратах для туберкулезных палочек, а также заражал ними посредством прививок, лабораторных животных и обыкновенных полевков. Оба исследуемые штаммы не отличались друг от друга ни характером культур, ни вирулентностью к животным. На основании проведенных экспериментов автор устанавливает, что:

1. Эти штаммы не идентичны со штаммом мышинной палочки Уэльса (Wells);

2. У них не выступает такой комплекс морфологических, физиологических и биологических признаков, на основании которых можно бы их без никаких сомнений идентифицировать с туберкулезной палочкой, характерной для человека, скота или птиц.

В отличие от мышинной палочки (Wells), исследуемые штаммы проявляют преимущественно евгоническую форму роста, быстрее развиваются на плотных и жидких субстратах, а также обладают значительно сильнейшей ядовитостью по отношению к морским свинкам и кроликам.

Кроме вирулентности к морским свинкам, у исследуемых штаммов не наблюдается никаких признаков, выступающих у палочек человеческого типа. Они в меньшей степени евгоничны, чем палочка H 37 Rv, проявляют большую ядовитость к *Microtus arvalis*; развиваются еще при 41°C, вызывают бугристые изменения в легких у кроликов, зараженных введением внутривенно дозы в 0,01 мг.

Сравнивая штаммы 44 и 47 с палочкой, характерной для скота, наблюдаем, что параллельно со сходством в степени вирулентности по отношению к морским свинкам, кролику и обыкновенной полевке, выступают морфологические различия, не подвергающиеся никаким изменениям в культурах и пассажах.

У исследуемых штаммов проявился значительный полиморфизм, который особенно отчетливо можно наблюдать после пассажа в старых, 40 — дневных жидких культурах. В морфологическом отношении штаммы 44 и 47, аналогично мышинному штамму Уэльса, не похожи ни на палочки человеческого типа ни на палочки, характерные для крупного, рогатого скота. На плотных субстратах — короткие, нередко овальные или почти шаровидные. На тканях или в старых жидких культурах принимают форму продолговатую, S — видную, полушаровидную, а иногда укладываются пальцеобразно. Такой полиморфизм не наблюдается ни у одной туберкулезной палочки млекопитающих за исключением лишь мышинного типа.

Кроме полиморфизма в старых культурах исследуемых штаммов иногда появлялся пигмент желтого или светло-кирпичного цвета. Автором установлено также положительное влияние глицерина, что не встречается в культурах скотного типа (Ravenel).

Исследуемые штаммы не вызывали никаких макроскопических изменений у голубей после прививки внутривенно 0,1 мг. Кроме того эти штаммы отличаются от *Mycobacterium avium* тем, что не развиваются уже при 45°C, а также бугристой формой туберкулеза у морских свинок и кроликов.

Признаками культур и вирулентностью по отношению к обыкновенным полевым и морским свинкам отличаются исследуемые штаммы от *Mycobacterium leprae* и *Mycobact. Johnei*.

Во всех случаях были получены положительные туберкулиновые реакции на морских свинках и кроликах, за исключением животных, зараженных очень большой дозой (10 мг у морских свинок), у которых установлено анергию. После 6-и месячных прививок и после нескольких пассажей через лабораторные животные указанные выше признаки не подвергались никаким изменениям. Сопоставляя указанные выше морфологические, физиологические и патогенные признаки с соответственными признаками известных и ядовитых туберкулезных форм, можно с большой вероятностью предполагать, что описанные в нынешней работе штаммы 44 и 47 являются особым вариантом туберкулезной палочки.

Этот вариант (как указывает сравнительная таблица V) своими физиологическими свойствами и ядовитостью по отношению к морским свинкам больше всего сближается к человеческому типу, степенью же вирулентности к обыкновенным по-

левкам и кроликам сближается к типу, характерному для крог. скота.

Исследуемые штаммы своим большим полиморфизмом напоминают тип мышинной туберкулезной палочки. Точная классификация туберкулезного штамма требует многократных пассажей и долгих наблюдений штаммов полученных из диссоциации штаммов

Такие исследования превзошли бы далеко рамы настоящей работы. Что касается сапрофитных штаммов, то для зачисления их к какой — нибудь из сапрофитных кислотоупорных групп автор пользовался двумя определителями для обозначения бактерий: Краси льни ко ва (23) и Bergey (24). Руководствуясь указаниями этих определителей часть сапрофитных штаммов отнесена автором к *Mycobacterium phlei* (штаммы 26, и 27 и 31), а часть — к *Mycobacterium friedmanii* или к *Mycobacterium sp.*, к которой принадлежит *Mycobacterium friedmanii*.



## S U M M A R Y

Out of eleven acid-fast strains isolated from the field vole, two strains (No. 44 and No. 47) proved to be virulent and the remaining ones were classified, as acid-fast saprophytes. Pathogenic strains were examined in cultures on media, characteristic for *Mycobacterium tuberculosis*, in experiments on laboratory animals and on the field vole. There was no difference among the two examined strains neither in cultures, nor in virulence to animals.

On the basis of investigations it should be concluded that:

1. the strains are not identical with Wells' type of mice *mycobacterium*,
2. they do not present such a set of morphologic, physiologic and biologic characteristics on the basis of which they could be undoubtedly identified with *Mycobacterium tuberculosis* of the human, bovine, or avian type.

Differently from mice *Mycobacterium tuberculosis* (Wells) the examined strains present a more eugonic form of growth, the grow aerlier on solid and liquid substrata and are considerable more virulent for guinea pigs and rabbits.

Except the virulence for guinea pigs the examined strains possess no other characteristics, common with the human type of *Mycobacterium tuberculosis*. They are less eugonic than *mycobacterium* H37 Rv, exhibit higher virulence for the field, vole, grow even at 41°C, cause tubercle lesions in the lungs of rabbits infected itravenously with a 0,1 mg. dose.

As to the comparing of strains 44 and 47 with the bovine type of *Mycobacterium tuberculosis* there are besides the similarity in the degree of virulence for guinea pigs, rabbits and field voles, morphologic differences, which undergo no changes in cultures and passages.

The investigated strains showed considerable polymorphism, which can be particularly observed after passages and in old, 40 days counting liquid cultures.

Morphologically strains 44 and 47, similarly to Wells' mice strain, resemble neither the human, nor the bovine type of *Mycobacterium tuberculosis*. On solid media they are short, often oval, or almost spherical. In tissues, or old liquid cultures they appear as elongated forms, sigmoid, semispherical and sometimes they are arranged in

a digitate form. Such a polymorphism cannot be observed in any other of tuberculosis of mammals, except the mice type.

Besides the polymorphism in old cultures of the examined strains there appeared a yellow, or bright brick-coloured pigment. There was also observed a positive influence of glycerin, a fact, which takes no place in cultures of the bovine type (Ravenel).

The investigated strains caused no macroscopic, nor microscopic changes in pigeons, intravenously inoculated with a 0,1 mg. dose. Beside this the strains differ from *Mycobacterium avium* on cultures, stopping to grow at 45°C and producing tuberculous form of tuberculosis in guinea pigs and rabbits. These cultural characteristics and pathogenicity for field voles and guinea pigs form the difference between the investigated strains and *Mycobacterium leprae* and *Mycobacterium Johni*. In all cases positive tuberculin reaction was obtained on guinea pigs and rabbits, except animals infected with a large dose (10 mg. in guinea pigs), after which anergy was found. In the course of 6 months lasting reinoculations and several passages on experimental animals, the above mentioned characteristics did not change.

The above presented morphologic, physiologic and pathogenic characteristics in the computation table with the corresponding characteristics of the known and virulent strains of tuberculosis allow to assume, that the described in this paper strains 44 and 47 form a separate variate of *Mycobacterium tuberculosis*. This variation (as is shown on the comparison table V) as regards to its physiologic properties and virulence for guinea pigs stands close to the human type, as regards to its virulence for the field vole and rabbits it stands close to the bovine type. The examined strains resemble by their extended polymorphism the mice type. An exact classification of a given strains of tuberculosis requires numerous passages and long period observations of forms, obtained from the dissociation of strains. Such investigations would exceed beyond the frames of this work.

As regards to saprophytic strains two keys for their classification to any of the acid-fast saprophytes group were used: Krasilnikow's (23) and Bergey's (24). According to instructions in the mentioned keys a part of the saprophytic strains was classified as *Mycobacterium phlei* (strains No. 26, 27 & 31), and another part of the strains was classified as *Mycobacterium friedmanii*, or as the same *Mycobacterium* sp. in which *Mycobacterium friedmanii* is placed.

---