

ELIMINAREA PATOGENITĂȚII SPECILOR DE SHIGELLA CU ACRIDIN ORANGE* (Notă preliminară)

Maria H. Akszenyuk, L. Boér, E. Kiss

După descoperirea agenților cauzali ai dizenteriei s-au efectuat numeroase încercări pentru reproducerea tabloului clinic și a leziunilor morfopatologice ale dizenteriei umane, la diferite animale de laborator. Deși au fost infectate peste 18 specii de animale, pe căile cele mai variate, numai la maimuță s-a putut reproduce boala similară cu cea a omului.

Primii autori care au încercat inocularea shigelelor în sacul conjunctival la cobai, după o prealabilă sensibilizare a acestuia cu bilă, au fost Zoeller și Manoussakis (14). Deoarece numai la 50% din animale s-a putut declanșa keratoconjunctivită pe această cale, autorii n-au mai folosit metoda în experiențele ulterioare. Serény (11, 12) în cursul experiențelor sale privind imunitatea naturală a diferitelor specii de animale de laborator, a reluat metoda inoculării în sacul conjunctival al cobaiului, cu ajutorul căreia a reușit să producă keratoconjunctivită, cu tulpini de Shigella proaspăt izolate. În urma sugestiei lui Rauss, noul model experimental a fost denumit „keratoconjunctivită shige-loasă”. După descrierea testului, acesta a fost încercat și utilizat pe scară largă de diferiți autori, cu scopuri variate, ca: izolarea tulpinelor de Shigella (Bals, 2), păstrarea patogenității bacililor dizenterici în laborator, prin pasaje frecvente (Belata, 3), pentru selectarea tulpinelor atenuate, în vederea obți-

* Lucrare comunicată la U.S.S.M. Subfiliala Tg.-Mureş la şedința Secției de patologie infecțioasă, la 21 mai 1968.

nerii vaccinului viu (*Istrati*, 8) sau în scop de diagnostic în cazul tulpinelor atipice de *Shigella*.

În cursul utilizării extinse a testului pentru cercetarea patogenității sușelor de *Shigella*, s-a observat, că proprietatea acestora de a declanșa keratoconjunctivite se pierde la sușele menținute în condițiile de laborator. Fenomenul de pierdere spontană este cunoscut din literatura de specialitate, ca apărînd la diferiți factori episomali, mai ales în cazul factorilor R.

O altă caracteristică a episomilor este aceea, că ei pot fi eliminați cu ajutorul coloranților de acridină. Astfel *Hirota* a observat, că acriflavina convertează celulele de *E. coli* $K_{12}F^+$ în F^- , eliminînd factorul F, la fel pot fi eliminați și factorii colicinogeni (6, 7). Eliminarea factorilor R. a fost comunicată de mulți autori, ca *Watanabe*, *Mitsuhashi*, *Hashimoto*, *Kétyi*, *Boér*, (13, 10, 5, 9, 4).

Considerentele sus amintite ne-au sugerat, să cercetăm efectul acridin orangeului asupra patogenității unor tulpini de *Shigella*.

Material și metodă.

Am utilizat în cercetările noastre: 41 tulpini de *Shigella* (3 Sh. flexneri 1b, 12 Sh. flexneri 2a, 6 Sh. flexneri 3b, 19 Sh. sonnei și 1 sușă Sh. sachs.) provenind de la purtători de germeni. După determinarea structurii antigenice și a caracterelor biochimice, fiecare tulpină a fost inoculată în sacul conjunctival la cobai, după metoda descrisă de *Serény* (11, 12). Din cultura proaspătă de 24 ore de pe geloză lactozată, se depune un inocul abundent, cu ajutorul unei anse cu bucla de 4 mm diametru, în marginea auriculară a sacului conjunctival, apoi se trece ușor ansa de-a lungul sacului, în direcția marginii nasale, evitînd lezarea corneei. După o perioadă de incubație de 48—72 ore, apare keratoconjunctivita caracteristică.

În vederea cercetării efectului colorantului acridin orange asupra patogenității lor, cele 41 de tulpini au fost însămîntate în apă peptonată 1%, care conținea 50 mcg/ml acridin orange; pentru control am utilizat același mediu de cultură dar fără colorant. Din culturile obținute după o incubare de 48 ore a ambelor medii, am efectuat însămîntări pe geloză lactozată. Culturile de 24 de ore de pe acest mediu solid, au fost inoculate în sacul conjunctival al cobailor. Animalele inoculate au fost observate timp de 7 zile.

Rezultate și discuții.

În urma unui contact de 48 de ore cu acridin orange, un procent relativ mare al tulpinelor și-a pierdut capacitatea de a produce keratoconjunctivită la cobai, pe cînd aceleași sușe cultivate în apă peptonată fără colorant au rămas patogene. Din cele 41 sușe examinate și-au pierdut patogenitatea un număr de 12, ceea ce reprezintă un procentaj de 29,2%. Incidența eliminării pe serotipuri este următoarea:

- din 3 sușe de Sh. flexneri 1b la 1 tulpină
- din 12 sușe de Sh. flexneri 2a la 2 tulpini
- din 6 sușe de Sh. flexneri 3b la 2 tulpini
- din 19 sușe de Sh. sonnei la 6 tulpini
- din 1 sușă de Sh. Sachs la 1 tulpină.

În vederea stabilirii contactului minim necesar pentru eliminarea patogenității am încercat la 5 tulpini o incubare mai scurtă, de respectiv 6, 12 și 24 ore, în prezența colorantului, timp care după observația noastră n-a fost suficient pentru a produce efectul așteptat asupra patogenității. Menționăm însă că după incubare de 48 ore, la aceleași tulpini, am reușit să eliminăm patogenitatea.

Rezultatele sus amintite ne permit să emitem ipoteza că proprietatea speciilor de *Shigella* de a declanșa keratoconjunctivita la cobai (test de patogenitate recunoscut azi), poate fi legată de elemente genetice de natură episomală. Aceste elemente ar poseda proprietatea de a se pierde spontan, în cursul menținerii în condițiile de laborator și de a se elimina sub acțiunea colorantului de acridină, caracteristici descrise în literatură la factorii episomali bine cunoscuți, ca factorii R, factorul F și factorul colicinogen.

Pe baza rezultatelor sus menționate, se pune întrebarea dacă capacitatea patogenă nu este transferabilă de la o tulpină la alta, fapt dovedit în cazul elementelor episomale bine cunoscute. Pentru elucidarea acestei probleme, cercetările noastre vor fi continuate în viitor.

Sosit la redacție: 29 mai 1968.

Bibliografie

1. AKSZENYUK MÁRIA, KISS E.: Rev. Med. (1966), 12, 3, 314;
2. BALȘ M., LEONESCO M.: Arch. roum. Path. exp. Microbiol. (1961), 3, 365;
3. BELAIA I. A.: Zh. Mikrobiol. Epid. Immunobiol. (1962), 1, 18;
4. BOËR L.: Rev. Med. (1967), 13, 3—4, 248;
5. HASHIMOTO H., KONO K., MITSUHASHI S.: J. Bacteriol. (1964), 88, 261;
6. HIROTA Y., IJIMA T.: Nature (1957), 180, 655;
7. HIROTA Y.: Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. (1960), 46, 57;
8. ISTRATI G., ISTRATI MARIA, MEITERT T., CIUFECO C.: Arch. roum. Path. exp. Microbiol., (1965), 24, 4, 867;
9. KÉTYI I., VERTÉNYI ADELE: Acta microbiol. Acad. Sci. Hung. (1967), 14, 2, 181;
10. MITSUHASHI S., MORIMURA M., KONO K., OSHIMA H.: J. Bacteriol. (1963), 86, 162;
11. SERÉNY B.: Acta microbiol. Acad. Sci. Hung. (1955), 2, 293;
12. SERÉNY B.: Acta microbiol. Acad. Sci. Hung. (1957), 4, 367;
13. WATANABE T., FUKASAVA T.: J. Bacteriol. (1961), 81, 5, 679;
14. ZOELLER CHR., MANOUSSAKIS C. R.: Soc. Biol. (1924), 91, 257.