MED. DOŚW. MIKROBIOL., 2019, 71: 149 - 156 https://doi.org/10.32394/mdm.71.15

ARTYKUŁ HISTORYCZNY

Zagadnienie PPLO i zmienności typu L drobnoustrojów w patologii i mikrobiologii

PPLO and L-type variability of microbes in pathology and microbiology

Stanisław Kałużewski

WSTĘP

W marcu 1957 roku Komitet Mikrobiologiczny Polskiej Akademii Nauk zorganizował w Warszawie problemową sesję pt. „Zmienność i genetyka drobnoustrojów". Komitet Redakcyjny stanowili: Władysław Kunicki-Goldfinger, Roman Pakuła i Władysław T. Dobrzański. W sesji uczestniczyło około 350 osób.

W dwudniowej sesji kilkanaście zespołów mikrobiologów przedstawiało wyniki swoich badań. Wśród nich wystąpił trzyosobowy zespół pracowników Zakładu Bakteriologii Akademii Medycznej w Łodzi (H. Horoszewicz, J. Horoszewicz, S. Kałużewski). Ich badania dotyczyły wyłącznie zmienności typu L rodzaju *Klebsiella* – powstawaniu, przesiewach i typach kolonii L oraz morfologii, cechach biochemicznych, antygenowych i zjadliwości form L. W toku tych badań udało się prześledzić cały cykl tej zmienności. Szczegółowy opis tych badań opublikowano w Zeszytach Problemowych Nauki Polskiej (1958, 14, 183-200 i 201-217) materiałów sesji problemowej Komitetu Mikrobiologicznego PAN.

Nauka o zmienności typu L drobnoustrojów rozwija się od 1935 r. kiedy Klineberger, pracująca w Instytucie Listera w Londynie, dostrzegła w hodowli *Streptobacillus moniliformis* postacie drobnoustrojów przypominające PPLO. Izolowany szczep oznaczyła literą L od nazwy instytutu w którym pracowała. Z biegiem czasu okazało się, że indukowanie *in vitro* zmienności typu L penicyliną oraz niektórymi innymi antybiotykami i swoistymi surowicami nie przeszkadza zmienionym komórkom bakteryjnym w intensywnym namnażaniu się do stężenia 100 tys. jednostek w 1 ml pożywki.

Poniżej chciałbym przedstawić Państwu wykład jaki miał miejsce na posiedzeniu w Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. L. Hirszfelda 5.10.1957 roku we Wrocławiu. Do wykładu pozwoliłem sobie dołączyć prezentację pt. „Zmienność typu L bakterii w obserwacjach sprzed 50-lat, na przykładzie *Klebsiella pneumoniae",* która będzie dostępna w pełnej wersji na stronie kwartalnika Medycyna Doświadczalna i Mikrobiologia: www.medmikro.org.pl

Zagadnienie PPLO i zmienności typu L drobnoustrojów w patologii i mikrobiologii

Wykład na posiedzeniu w Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. L. Hirszfelda – 5.10.1957 r. - Wrocław

Stanisław Kałużewski

Mikroorganizmy, o których mowa będzie w niniejszym przeglądzie przechodzą przez filtry bakteryjne, nie są jednak wirusami. Wyrastają one na podłożach sztucznych, a pomimo tego do bakterii zaliczyć ich nie można. Stanowią one bardzo ciekawą formę życia, która będąc do niedawna domeną teoretyka - mikrobiologa ostatnimi czasy zaczyna, a przynajmniej powinna budzić zainteresowanie lekarzy praktyków. W Polsce niestety zagadnienia te są mało popularne ze względu na znikomą ilość badań oryginalnych i pojedyncze zaledwie publikacje o charakterze poglądowym, zamieszczane w pismach o profilu wybitnie specjalistycznym.

Na wstępie parę ogólnych, podstawowych danych z zakresu morfologii oraz właściwości hodowlanych interesujących nas zarazków. Mówiąc o morfologii zaczyna się zwykle od kształtu zarazka, który uzależniony jest od posiadania względnie sztywnej błony komórkowej. Zarazki, o których mówimy nie posiadają jednak żadnej wyraźnie zróżnicowanej warstwy zewnętrznej, dlatego pojęcie kształtu a nawet komórki nie ma tu właściwego odpowiednika. Podstawowymi formami, jakie możemy wyróżnić są:

1. Masy substancji plazmatycznej przybierające w zależności od czynników środowiskowych różną formę, najczęściej kulistą, rzadziej pierścieniowatą, niekiedy nitkowatą lub postać cienkich błon leżących na powierzchni pożywki. Wszystkie te same formy mają znaczną wielkość sięgającą kilkunastu a niekiedy nawet kilkudziesięciu mikronów średnicy. Dla przypomnienia - wielkość bakterii wynosi 3-5 mikronów długości oraz 0,6 -1,5 mikronów szerokości.
2. Drugą zasadniczą formą są drobne ziarenka zawierające stosunkowo dużo nukleoproteidów. Średnica ich waha się w granicach 0,15 - 0,17 mikrona, co tłumaczy przesączalność. Ziarenka te określają niektórzy autorzy jako „ciałka elementarne" lub „najmniejsze jednostki odtwórcze". Stanowić one mają wg wielu autorów podstawową najmniejszą jednostkę morfologiczną zdolną do życia i rozmnażania. Wzajemne przechodzenie jednych form w drugie stwarza wrażenie polimorfizmu nie spotykanego w takim stopniu u żadnego ze znanych mikroorganizmów. Zważywszy wielką plastyczność omawianych zarazków, wszystkie manipulacje związane z utrwalaniem i barwieniem w bardzo znacznym stopniu zmieniają ich kształt, będąc przyczyną szeregu artefaktów mogących potwierdzać przyjęte z góry koncepcje o ewentualnym przebiegu cyklu rozwojowego.

W/w elementy wchodzą w skład kolonii układając się w ten sposób, że centrum stanowią głównie „ciałka elementarne" wrastające silnie w pożywkę, (intensywność wrastania zależna jest w dużym stopniu od koncentracji agaru w podłożu) zaś jej obwód składa się z różnej wielkości elementów, najczęściej kulistych. Cała kolonia jest bardzo mała, rzadko osiąga 0,5 mm średnicy. Zrozumiałe więc, że obserwacje mogą się odbywać tylko przy użyciu mikroskopu z powiększeniem 50 - 100 x. Barwienie zarazka jest trudne. Źle chłonie on powszechnie używane barwniki anilinowe, a preparaty mazane składają się przeważnie

z artefaktów. Jedną z dobrych technik jest dość skomplikowane sporządzanie preparatów odciskowych, oddających wiernie kształt i ułożenie mikroorganizmu na pożywce. Najlepszą jednak techniką pozwalającą na stałą obserwację żywych drobnoustrojów na podłożu jest mikroskopia fazowo-kontrastowa. Większość ostatnio wykonywanych na całym świecie prac w tej dziedzinie opiera się właśnie na tej technice.

Podobnie jak cechy morfologiczne, właściwości hodowlane zarazków są dość charakterystyczne. Do ich wzrostu niezbędna jest obecność w pożywce 20-30% surowicy lub płynu puchlinowego oraz specjalnych czynników wzrostowych, np. cholesterolu. Przede wszystkim należy jednak zwrócić uwagę na konieczność stosowania podłoży miękkich, zawierających najwyżej 2% agaru, aby było możliwe wrastanie w głąb pożywki centrum kolonii. Przesiewanie, z powodu małej ilości kolonii oraz wrastanie w głąb pożywki nie może odbywać się przy pomocy ezy. Chcąc uzyskać przesiew należy wyciąć kostkę agaru z wzrostem drobnoustrojów i przesunąć ją po powierzchni pożywki. Ciekawie przedstawia się wzrost na pożywkach płynnych. Zmętnienie hodowli zwykle przyjmowane za kryterium wzrostu może tu być niedostrzegalne. Zmusza nas to do wykonywania „ślepych pasaży", aż do chwili uzyskania makroskopowo widocznego wzrostu.

Rzecz jasna, że drobnoustrój tak słabo rozmnażający się na podłożach sztucznych, o wielkich wymaganiach wzrostowych, wymagający wyszukanej techniki, nie jest łatwy do uchwycenia. Nie ma nawet mowy o tym, aby można go było wykryć w materiale przy poszukiwaniach prowadzonych standardową techniką. Zaciążyło to wybitnie nad historią tej grupy zarazków oraz nie przyczyniło się do zgromadzenia materiału doświadczalnego. Pierwszy przedstawiciel tej grupy drobnoustrojów został wykryty przez Nocard'a i Roux w roku 1898 jako czynnik etiologiczny zarazy płucnej bydła rogatego, tzw. bydlęcej pleuropneumonii (PPO).

W ciągu 25 lat, tj. do roku 1923, pozostawał on jedynym przedstawicielem drobnoustrojów przesączalnych dających, się zarazem hodować na pożywkach sztucznych, gdy Brede i Donatien stwierdzili, że drobnoustrój podobny morfologicznie do wykrytego przez Nocard'a i Roux wywołuje zakaźną bezmleczność kóz i owiec (AGO). l znów trzeba było czekać 11 lat by Schoetensack w Japonii w 1934 roku wyizolował dwa szczepy od psów. Dopiero w ciągu ostatnich 20 lat nastąpił intensywny rozwój nauki o grupie drobnoustrojów podobnych do zarazka wywołującego zarazę płucną. Powszechnie używana nazwa PPLO jest skrótem PleuroPneumonia Like Organism.

Znaleziono wiele gatunków tych drobnoustrojów różniących się między sobą budową antygenową i własnościami biochemicznymi w schorzeniach myszy, szczurów, bydła i innych zwierząt. Znaleziono też przypuszczalnie saprofityczne szczepy w glebie i w ściekach. Co nas jednak najbardziej interesuje wyhodowano PPLO z organizmu człowieka.

Dwadzieścia lat temu, w roku 1937, Dienes i Edsall izolowali pierwszy szczep PPLO pochodzenia ludzkiego od kobiety ze zropiałego gruczołu Bartholiniego. Uzyskana hodowla nie była zanieczyszczona przez inną florę bakteryjną. Już w 3 lata później, Dienes doniósł, że około 50% pacjentek cierpiących na stany zapalne narządów miednicy małej posiada w swych drogach rodnych PPLO. Uzyskano je z wydzieliny pochwowej, przy zapalnych stanach szyjki macicy, z wydzieliny gruczołu krokowego, z cewki moczowej, jajowodów. Bardzo często PPLO towarzyszy zakażeniu rzęsistkowemu pochwy. Należy jednak zaznaczyć, że w pochwie kobiet zdrowych PPLO występują jedynie sporadycznie. Beweridge wykazał je w 4 przypadkach na 24 w cewce moczowej kobiet, a Klieneberger-Nobel u 18 spośród 45 pacjentek leczonych w klinice wenerologicznej.

PPLO pojawiają się często i obficie razem z gonokokami. Wg Salamona można je znaleźć w 34% przypadków rzeżączki męskiej i w 60% w kobiecej. Okazało się nawet, że „czyste" hodowle laboratoryjne dwoinek Neissera mogą być zanieczyszczone PPLO.

Dużo zainteresowania budzą doniesienia o obecności PPLO w przypadkach tzw. nieswoistych, względnie bezbakteryjnych zapaleń cewki moczowej a mężczyzn. Cierpienie to jest stosunkowo częste (niektórzy autorzy uzyskiwali do 60% dodatnich wyników przy posiewach) i bardzo trudno poddaje się leczeniu będąc utrapieniem zarówno lekarza jak i chorego. Dość często można wykazać obecność PPLO w tzw. zespole Reitera, polegającym na zapaleniu stawów, spojówek oraz cewki moczowej. PPLO uzyskano z wysięku stawowego, co w tych przypadkach eliminuje raczej zanieczyszczenie. PPLO stwierdzono także i w schorzeniach innych narządów. Występują one obficie w plwocinie chorych na rozstrzenie oskrzeli, ropnie płuc i inne zmiany jamiste w płucach. W dwóch przypadkach wyhodowano PPLO z ropnia mózgu i zapalenia opon mózgowo rdzeniowych. Oddzielnie należy wspomnieć o szeregu przypadków stanów zapalnych stawów, z których wyhodowano PPLO. Ciekawe jest zwłaszcza uzyskanie PPLO ze stawów osób chorych na postać gośćca oporną na leczenie salicylatami. Niektórym autorzy chcą widzieć w PPLO czynnik mający jakiś związek z gościem. U ludzi zdrowych klinicznie także udaje się wykryć PPLO. Smith i Morton donieśli, że wśród 110 zdrowych studentów 51 zawierało zarazek w ślinie, zaś 32 w jamie nosowo-gardłowej. Trudno oczywiście rozstrzygnąć czy mamy tu do czynienia z nosicielstwem zarazków chorobotwórczych czy saprofitami.

By uniknąć nieporozumień należy zaznaczyć, że pojęcie PPLO może odpowiadać dziesiątkom, setkom, czy tysiącom gatunków, których my dzisiaj jeszcze nie jesteśmy w stanie rozróżnić. Czyni się obecnie próby typowania wyizolowanych szczepów. Typ jednak nie musi się wcale pokrywać z pojęciem gatunku biologicznego. Przy typowaniu bierze się podobnie jak u innych grup mikroorganizmów pod uwagę takie cechy jak morfologia wzrostu, aktywność biochemiczna, budowa antygenowa, chorobotwórczość dla zwierząt laboratoryjnych itp.

Nasze dane o występowaniu szczepów PPLO opieraliśmy dotąd jedynie na dodatnich wynikach hodowli, której uzyskanie należy niejednokrotnie jeszcze do rzeczy trudnych. Mając do czynienia z materiałem od chorego musimy się liczyć z obecnością obfitej flory bakteryjnej utrudniającej bardzo diagnostykę. Zmusza nas to do stosowania substancji hamujących rozwój bakterii, takich jak np. fiolet krystaliczny, telluryn potasu, czy najlepszy z nich octan talu. Niektóre z nich jednak mogą także upośledzać wzrost samych PPLO. Dokładniejsze obserwacje nad tymi drobnoustrojami utrudnia także fakt istnienia szczepów niemnożących się w przesiewach przy stosowanej obecnie technice.

W schorzeniach wywoływanych przez PPLO nie mamy w 100% pewnej metody wykrywania zarazka w chorych narządach. Trudna barwliwość, nieregularne kształty i częste podobieństwo do elementów tkankowych pozbawia nas możności śledzenia losów zarazka w ustroju. Nieznaczne osiągnięcia w tej dziedzinie wskazują jednak na powinowactwo zarazka do mezenchymy. Obserwowano występowanie PPLO wewnątrz lub na powierzchni leukocytów, komórek maziówki stawów, otrzewnej i opłucnej. Występowanie wewnątrzkomórkowo zarazka, obok przesączalności, zbliża go do wirusów.

Odnośnie występowania wewnątrzkomórkowego PPLO zasługują na uwagę prace Shepard z 1957 r. Opracowała ona metodę (wymagającą jednak dokładnego sprawdzenia na większym materiale) wykrywania PPLO w cytoplazmie komórek nabłonka z dróg moczowych.

Sama obecność zarazka w makroorganizmie i to przeważnie razem z różnorodną florą bakteryjną nie pozwala jeszcze ustalić jego chorobotwórczości, zwłaszcza w stosunku do człowieka. Dokonywano prób zakażeń ludzi zdrowych szczepami PPLO wyhodowanymi z przewlekłych bezbakteryjnych zapaleń cewki moczowej. Uzyskano jednak wyniki ujemne. Mimo tego, że trzeci postulat Kocha nie został spełniony nie upoważnia nas to do odrzucania chorobotwórczości szczepów PPLO.

W diagnostyce schorzeń, w których PPLO chcemy widzieć jako czynnik etiologiczny niektórzy badacze posługują się oprócz hodowli skórnymi odczynami alergicznymi i odczynem wiązania dopełniacza z antygenem poliwalentnym.

Dla naświetlenia specyfiki etiopatogenetycznej schorzeń wywoływanych przez tę grupę zarazków należy sięgnąć do doświadczeń wykonywanych na zwierzętach. Zatrzymamy się nieco na następujących momentach:

1. w drodze zakażenia
2. roli zakażeń utajonych
3. roli czynników dodatkowych.

Omówimy to na przykładach.

Ad. l. Iniekcja podskórna szczepu bydlęcej pleuropneumonii (100% śmiertelności w warunkach naturalnych) zwierzęciu wrażliwemu, nie wywołuje choroby lecz rozwój niewielkiej zmiany miejscowej i daje trwałą odporność. Sztuczne zakażenie można niekiedy wywołać tylko na drodze inhalacji rozpylonych tkanek chorego zwierzęcia.

Ad. 2. U myszy i szczurów choroba bardzo rzadko występuje bezpośrednio po zakażeniu. Przeważnie istnieje długi okres wylęgania, bądź też mamy do czynienia z zakażeniem utajonym. Ciekawe, że np. nie udaje się zakazić szczurów mających poniżej 2 lat życia.

Ad. 3. Jednym z bardziej istotnych faktów stwierdzonych doświadczalnie jest konieczność istnienia czynników wspomagających rozwój zakażenia. Jeżeli białej myszy (większość myszy jest nosicielami PPLO) wkroplić do nosa nieco toksyny błoniczej, to w ciągu krótkiego czasu rozwinie się u niej ostra infekcja, a ze krwi i tkanek uzyskamy hodowlę PPLO.

Drugi przykład jest nieco bardziej skomplikowany, jednak ma on duże znaczenie z punktu widzenia patologii chorób zakaźnych w ogóle, ilustrując stosunek między rolą organizmu a wpływem zarazka na rozwój choroby. Weźmy dwa szczepy PPLO - jeden zjadliwy, drugi nie. Wstrzyknięte myszy dootrzewnowo nie wywołują u niej żadnych objawów chorobowych. Jeżeli natomiast wstrzyknąć zjadliwy szczep PPLO łącznie z wirusem chorobotwórczym dla myszy (ektromelia) to zginie ona o wiele szybciej niż pod wpływem zakażenia samym tylko wirusem, a z narządów uzyskamy hodowlę PPLO. Gdy wprowadzimy niezjadliwy szczep PPLO i wirus, to śmierć zwierzęcia nie nastąpi szybciej niż myszy kontrolnej (sama infekcja wirusowa) a w organizmie nie wykryjemy mnożących się PPLO. Jak wynika z tego przykładu, nawet zjadliwy zarazek PPLO sam nie jest w stanie wywołać choroby. Musi dołączyć się czynnik osłabiający siły obronne organizmu. Z drogiej strony osłabienie sił obronnych organizmu nie jest jeszcze samo przez się wystarczające do rozwoju szczepu PPLO, jeżeli z natury swej szczep nie wykazuje odpowiedniej zjadliwości. Widzimy zatem odrębność przebiegu zakażeń wywoływanych przez drobnoustroje z grupy PPLO. Dla właściwej oceny chorobotwórczości tej grupy konieczne są inne kryteria niż dla pozostałych drobnoustrojów.

Należy sądzić, że w ciągu najbliższych kilku lat przybędzie wiele nowych danych pozwalających na odpowiednią interpretację mechanizmu zakażenia i patogenezy chorób wywoływanych przez PPLO. W chwili obecnej wysiłek badawczy winien się skoncentrować na dwóch kierunkach:

1. klinicznym - dla wyśledzenia i bliższego określenia natury i roli czynników dodatkowych,
2. laboratoryjnym - dla opracowania wartościowych metod uwidaczniania PPLO w tkankach oraz typologii i systematyki w obrębie tej grupy.

Chemioterapia i środki dezynfekcyjne.

Wrażliwość PPLO na środki dezynfekcyjne i wpływy środowiska jest na ogół większa niż bakterii. Sole metali ciężkich, a zwłaszcza sole złota, dały dobre wyniki w leczeniu chorych cierpiących na zespół Reitera. Z antybiotyków penicylina w praktyce nie działa, gdyż najbardziej wrażliwe szczepy rosną jeszcze przy stężeniu 1000 jedn. w jednym ml pożywki. Stosunkowo niezłe wyniki uzyskano stosując streptomycynę i tarramycynę. Dihydrostreptomycyna, chloromycetyna i aureomycyna wywierają wyraźnie słabsza działanie terapeutyczne.

Aby dać bardziej pełny obraz niespodzianek, jakie kryją w sobie mikroorganizmy zbliżone morfologicznie do zarazków pleuropneumonii, należy chociaż pokrótce omówić zmienność bakterii określaną jako L. Nauka o tym typie zmienności drobnoustrojów rozwija się od 1935 roku, kiedy to Klieneberger w instytucie Listera w Londynie zaobserwowała w hodowli *Streptobacillus monilifomis* postacie do złudzenia przypominające drobnoustroje PPLO. Wyizolowany szczep oznaczyła ona literą L - od nazwy placówki, w której przeprowadzała swe badania. Klineberger sądziła, że ma do czynienia z rzadkim przypadkiem PPLO żyjącego w symbiozie z pałeczką jaką jest *Streptobacillus moniliformis*. Późniejsze badania Dienesa, Tulasna i samej Klineberger doprowadziły do rewelacyjnego odkrycia, że organizm L nie należy do PPLO, a jest wynikiem naturalnej zmienności *Streptobacillus moniliformis*. Okazało się dalej, że większość, jeżeli nie wszystkie bakterie, mogą przechodzić w postać L a co zatem idzie stawać się przesączalnymi. Do postaci L bakterii zaliczamy drobnoustroje zmienione, bądź samorzutnie bądź to pod wpływem naszych zabiegów w ten sposób, że upodobniają się one pod względem cech morfologicznych i hodowlanych do zarazków zarazy płucnej, zachowując zasadniczo własności antygenowe i biochemiczne szczepu macierzystego, do którego postaci w pewnych warunkach mogą powrócić. Morfologicznie zarówno osobniki pojedyncze, jak i kolonie postaci L są jednakowe bez względu na gatunek bakterii, z którego powstały. Czynnikiem, którym indukujemy powstawanie zmienności typu L jest głównie penicylina. Formy L podobnie jak PPLO są na nią zupełnie niewrażliwe, rozwijają się nawet w stężeniu do 100.000 jednostek na l ml pożywki. Podobne działanie indukujące wywierają również inne antybiotyki, sole metali lekkich, wysokie stężenia niektórych aminokwasów (Dl-metionina). Niektóre cukry, bakteriofagi, swoiste surowice odpornościowe i dopełniacz, subletalne dawki środków dezynfekcyjnych, a niekiedy nawet takie cenniki jak oziębienie hodowli. Działanie to wywiera zatem większość wpływów biologicznych, fizycznych i chemicznych zdolnych wprowadzić zaburzenia w procesie rozmnażania przy jednoczesnym gromadzeniu produktów metabolizmu przez komórkę bakteryjną.

W wyniku prawie 20 lat badań formy L uzyskano u wielu drobnoustrojów z grupy *Shigella, Salmonella, Escherichia, Klebsiella, Neisseria, Haemophilus, Proteus, Pasteurella, Vibrio, Clostridium*. Ich główną cechą jest brak chorobotwórczości dla wrażliwych

zwierząt. W związku z tym wyłania się zagadnienie roli form L w procesie naturalnego i sztucznego czynnego uodparniania organizmu. Nie trzeba chyba podkreślać jak nęcącą dla nas byłaby perspektywa uodporniania żywymi, zupełnie nie chorobotwórczymi szczepami form L posiadającymi pełny garnitur antygenowy w porównaniu z bakteriami nie zmienionymi, z których je otrzymano.

Ciekawych obserwacji dokonali Grasset oraz Grasset i Bonifas, którzy uzyskali w jamie otrzewnowej białych myszy postacie L pałeczek odmieńca i pałeczek z rodzaju *Klebsiella* przez podskórne wprowadzanie penicyliny lub względnie swoistej surowicy. Nelson i Pickett uzyskali formy L z hemokultur przy brucellozie. Wyhodowane szczepy form L reagowały dodatnio z surowicą swoistą dla pałeczek *Brucella*. Wittlerova zakażała białe myszy na drodze inhalacyjnej 20 godzinnymi hodowlami *Haemophilus pertussis*. W płucach chorych myszy znajdowała ona charakterystyczne elementy dla postaci L.

Niektórym autorom udało się wykazać, że szczepy uważane za PPLO, a będące właściwie formami L względnie stabilnymi mogą odzyskać postać komórkową. I tak, Minck uzyskał z 5 szczepów L wyhodowanych z dróg rodnych kobiet szczepy podobne do maczugowców błonicy. Podobnie Moustardier i współpracownicy z 13 szczepów L wyhodowanych z bezbakteryjnych zapaleń cewki moczowej uzyskali na drodze wielokrotnych posiewów dwa szczepy *Streptococcus faecalis*, *Alcaligenes faecalis* i *Proteus mirabilis*. Interesującej obserwacji dokonano w jednym z amerykańskich laboratoriów. W pracowni wirusologicznej wyizolowano z dróg rodnych szczep PPLO oraz maczugowce błonicy. Ponieważ interesowano się w tym przypadku jedynie PPLO, a w szczególności wpływem ich na hodowlę tkanek typu HeLa w trakcie pasażowania ich, szczep maczugowca błonicy przekazano do pracowni bakteriologicznej. Po pewnej ilości pasaży PPLO na komórkach HeLa pojawiły się w hodowli maczugowce błonicy. Przy porównywaniu otrzymanego szczepu z pierwotnie wyhodowanym stwierdzono zupełną ich identyczność. Mieliśmy więc tu do czynienia z przypadkiem powrotu do postaci bakteryjnej z fazy L względnie ustalonej. Nie jest więc wykluczone, jak wynika to z przytoczonych wyżej przykładów, że większość znanych nam szczepów PPLO mogłaby się okazać przy zastosowaniu odpowiedniej metodyki tym, co nazywamy postaciami L względnie stabilnymi powstałymi w warunkach naturalnych.

Przyjęło się uważać, że między PPLO a formami L bakterii istnieje zasadnicza różnica. Fakt, że formy L bakterii na pożywce płynnej wracają do postaci morfologicznej szczepu wyjściowego nie może być to rozstrzygającym, gdyż opisano także formy L ustalone (stabilizacja sztuczna *in vitro*), które do postaci wyjściowej nie wracają. Trzeba o tym pamiętać przy izolowaniu szczepów PPLO z organizmu, gdyż odróżnienie PPLO od formy L ustalonej jest niekiedy niemożliwe. W związku z powyższymi danymi trudno jest dziś ostatecznie ustalić związek pomiędzy PPLO i formami L. Zwolennicy tezy, że PPLO stanowią jedynie ustabilizowaną postać L sklasyfikowanych obecnie lub nieznanych jeszcze drobnoustrojów, nie mają na razie wystarczających argumentów. Słusznie zatem jest rozpatrywać bakterie i PPLO jako grupy odrębne.

Także stosunek PPLO i form L do wirusów daleki jest do ostatecznego wyjaśnienia Cechą łączącą te obie formy życia jest podobna struktura chemiczna (duża zawartość nukleoproteidów) i wielkość ciałek elementarnych wirusów i najmniejszych jednostek odtwórczych PPLO. Obie te grupy drobnoustroj6w łączy również przesączalność przez filtry bakteryjne.

Same jednak rozmiary omawianych tworów, aczkolwiek wprowadzają istotne zmiany w utartych pojęciach o bakteriach i wirusach nie upoważniają nas jeszcze do rozpatrywania PPLO, form L i wirusów na jednej płaszczyźnie. Trzeba prześledzić ich losy w ustroju, procesy odpornościowe makroorganizmu, oraz zdolność do bytowania wewnątrz żywej komórki. W rozważaniach tych nie wolno pomijać morfologii zarazków. W zakażeniach wywoływanych przez PPLO główną rolę gra organizm i dodatkowe czynniki. Wiemy o względnej niechorobotwórczości form L powstałych ze szczepów o pełnej zjadliwości. Należy zatem sądzić, że ze strukturą komórkową bakterii może być związany mechanizm warunkujący większą zdolność wywoływania procesów patologicznych bez udziału czynników środowiskowych. Wskazywałoby to na istotny związek między niedocenianą na ogół strukturą a funkcją drobnoustrojów.

W dobie dzisiejszej, kiedy dysponujemy silnymi czynnikami przeciwbakteryjnymi, jakimi są antybiotyki, występują aż nazbyt często obserwowane w klinice i mikrobiologii zaburzenia równowagi w świecie mikroorganizmów. Zaczynają dochodzić do głosu drobnoustroje (niekiedy pozornie saprofityczne) niewrażliwe na stosowany lek. Obserwujemy wzrost częstości przypadków zakażeń wywoływanych przez pleśnie, grzyby i drożdże, słowem nie bakterie, będące wynikiem zaburzeń biocenotycznych.

Niewątpliwie, PPLO jako organizmy wybitnie oporne na działanie większości stosowanych antybiotyków, mogą stanowić czynnik etiologiczny różnych schorzeń i zaczynają w tym aspekcie nabierać poważniejszego znaczenia w patologii. Także i formy L nieprawdopodobnie wprost oporne na działanie penicyliny mogą świadczyć o tym, że wyścig między człowiekiem i zdolnością przystosowawczą mikroorganizmów daleki jest od pomyślnego zakończenia.

W tym krótkim przeglądzie nie było miejsca na marginesowe choćby omówienie tak istotnych momentów jak: struktury chemicznej zarazków, patologii zwierzęcej, badań serologicznych i biochemicznych mających na celu klasyfikację, pojęcia osobnika (mówimy o kolonii PPLO i L nie wspominając o osobniku jak to czynimy w przypadku komórek bakteryjnych). Zadanie swoje jednak jako referenta będę uważał za spełnione, gdy poruszone przeze mnie zagadnienia wywołają zainteresowanie i zostaną poruszone w dyskusji.

Wrocław, dnia 5.10.1957 r.