ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN — POLONIA
VOL. XIII, 13 SECTIO D 1958

Z Zakładu Mikrobiologii Lekarskiej Wydziału Lekarskiego Akademii Medycznej w Lublinie
Kierownik: prof. dr Józef Parnas

Czesława KWIATKOWSKA, Sabina LUTY,
Hanna TOMASZEWSKA

Charakterystyka szczepów własnych *Corynebacterium diphtheriae**)

Характеристика штаммов *Corynebacterium diphtheriae*

Characterization of Own Strains of *Corynebacterium diphtheriae*

Ze względu na rozprzestrzenienie błonicy, wszechstronne opracowanie mikrobiologiczne maczugowców błonicy stało się przedmiotem zainteresowania i badań różnych pracowni. Inicjatywę i kierownictwo tych prac objął Instytut Matki i Dziecka w Warszawie (L. Fleck i B. Narbutowicz).

Na Lubelszczyźnie zarówno w mieście, jak i na wsi aktualne jest również zagadnienie błonicy. Z tego względu zostały podjęte przez nas prace nad charakterystyką maczugowców błonicy w naszym terenie.

MATERIAŁ I METODY BADAŃ

Materiał do badań pochodził z Oddziału Zakaźnego Kliniki Pediatrycznej, z Kliniki Położniczej, Państwowego Szpitala Klinicznego nr 2, Państwowego Szpitala Kolejowego i Wojewódzkiej Stacji Sanitarno-Epidemiologicznej w Lublinie.

Zbadano 142 szczepy, w tym 121 pochodzących z przypadków chorobowych i 21 z przypadków nosicielstwa maczugowców błonicy.

Typy biologiczne wyosobnionych szczepów maczugowców błonicy określano na podstawie ogólnie stosowanych sposobów. Uzupełnieniem tych sposobów było wprowadzenie podłoża Brauna (2,5% i 3% agaru, 1% glukozy, 5% glicerolu, pH = 7,2). Rzadko wysiane kolonie maczu-

* Szczepy pochodzą z Klinik Akademii Medycznej w Lublinie.

gowców błonicy oglądano metodą Henry'ego w modyfikacji Parnasa (kolonie ogląda się przy świetle skośnym, rzuconym od dołu i góry pod kątem 45°, przy pomocy lupy dwuocznej). Badane przez nas szczepy maczugowców błonicy zachowywały się typowo na podłożach: agar z telluryneni potasu (podłoże Clauberga), agar z krwią.

OZNACZANIE TYPÓW BIOLOGICZNYCH MACZUGOWCÓW BŁONICY

Typ biologiczny oznaczony na podstawie wzrostu i wyglądu kolonii na wyżej wymienionych podłożach, był zgodny z typem biologicznym określanym w odczynach biochemicznych (podłoże Hissa).

Zachowanie się badanych szczepów na podłożu Hissa (1 część surowicy jałowej, 3 części wody destylowanej, 1% glukozy, fruktozy, maltozy, sacharozy, dekstryny i skrobi), przedstawiono na tab. 1.

Tabela 1.

Ilość szczepów	Typ biologiczny	Zachowanie się na podłożu Hissa					
		glukoza	fruktoza	maltoza	sacharoza	dekstryna	skrobia
od chorych							
61	*gravis*	+	+	+	—	+	+
23	*mitis*	+	+	+	—	+	—
37	*intermed.*	+	+	+	—	—	—
6	*c. xerosis*	+	+	+	—	±	—
od nosicieli							
5	*gravis*	+	+	+	—	+	+
8	*mitis*	+	+	+	—	+	—
8	*intermed.*	+	+	+	—	—	—

OKREŚLANIE JADOWITOŚCI SZCZEPÓW

Badanie jadowitości przeprowadzono na 64 szczepach, z których 49 pochodziło od chorych, a 15 od nosicieli. Jadowitość szczepu określano w sposób następujący: 24-godzinną hodowlę badanego szczepu spłukiwano płynem fizjologicznym z podłoża Loefflera. Zawiesiną tą szczepiono jednocześnie śródskórnie dwie świnki morskie. Świnka kontrolna otrzymała dootrzewnowo, na dwie godziny przed zaszczepieniem, 1500 jednostek surowicy przeciwbłoniczej. Każdą świnkę szczepiono 4 różnymi szczepami. Wyniki odczytywano przez 3 kolejne dni (świnki kontrolne nie wykazywały żadnych zmian skórnych). Wyniki ujęte zostały w tab. 2.

Tabela 2.

Ilość szczepów typu			Jadowitość
gravis	*mitis*	*intermedius*	
od chorych			
5	1	3	++++
16	—	4	++
8	6	2	+
—	—	4	—
od nosicieli			
2	2	3	+++
2	1	—	++
—	1	—	+
—	2	2	—

— brak odczynu, + obrzęk, ++ zaczerwienienie i obrzęk, +++ zaczerwienienie, obrzęk i naciek.

BADANIE WRAŻLIWOŚCI MACZUGOWCÓW NA NIEKTÓRE ANTYBIOTYKI

Badanie wrażliwości maczugowców błonicy na antybiotyki przeprowadzono metodą krążków bibułowych, nasyconych roztworem antybiotyków o odpowiednim stężeniu. Do badań użyto 6 antybiotyków o stężeniach: penicylina 200 j/ml, streptomycyna 2000 j/ml, terramycyna 600 j/ml, aureomycyna 400 j/ml, erytromycyna 2000 j/ml, chloromycetyna 1000 j/ml.

W badaniach wrażliwości na antybiotyki posługiwano się podłożem agaru z krwią. Na płytki wylewano zawieszone w 0,85% roztworze NaCl szczepy badane, po przesuszeniu umieszczano odpowiednie krążki bibuły nasycone antybiotykami. Wyniki wrażliwości ujęto w tab. 3.

OKREŚLANIE TYPÓW SEROLOGICZNYCH BADANYCH MACZUGOWCÓW

Dzięki uprzejmości Zakładu Mikrobiologii Instytutu Matki i Dziecka w Warszawie, otrzymaliśmy surowice zlepiające maczugowce błonicy serotypów określonych przez L. Flecka i B. Narbutowicz numerami: 24, 25, 49, 54, 65, 155 i 214.

Badanie serotypów przeprowadzono metodą aglutynacji próbówkowej. O zaliczeniu szczepu do danego typu serologicznego decydowała aglutynacja danego szczepu z określoną surowicą co najmniej do 50% miana surowicy. Wyniki badań ujęto w tab. 4.

Tabela 3.

Antybiotyki	Wrażliwość typów biologicznych					
	gravis		*mitis*		*intermedius*	
	ilość	%	ilość	%	ilość	%
Penicylina	23	22,14	8	100	18	89,47
Streptomycyna	27	96,42	72	87,99	16	84,21
Terramycyna	26	92,85	8	100	19	100
Erytromycyna	26	92,85	8	100	18	94,73
Aureomycyna	27	96,42	7	89,99	16	84,21
Chloromycetyna	25	89,28	8	100	19	100

Za 100% przyjęto przebadanych: 28 szczepów typu *gravis*, 8 szczepów typu *mitis*, 19 szczepów typu *intermedius*.

Tabela 4.

Surowica typowo — anti	Szczepy *C. diphtheriae agut.* do 50% miana i powyżej			
	Liczba szczepów od		% szczepów od	
	chorych	nosicieli	chorych	nosicieli
24	54	14	47,10	70
25	8	—	6,61	—
49	9	2	7,34	5
54	6	—	4,95	—
65	12	1	9,91	5
155	5	1	4,13	5
214	23	3	19,00	15
Suma	120	21	99,04	100
nie aglutynują z żadną surowicą	1	—	0,6	—
Suma wszystkich szczepów	121	21	100	100

WNIOSKI

Wśród 142 szczepów *C. diphtheriae*, wyosobnionych na terenie Lublina, 121 szczepów pochodziło od chorych, a 21 szczepów od nosicieli.

1. Stwierdzono wśród szczepów badanych następujące typy biologiczne:

a) w grupie chorych: 61 szczepów typu *gravis* — 50,41%, 23 szczepy typu *mitis* — 19%, 37 szczepów typu *intermedius* — 35,78%, 6 szczepów typu *C. xerosis* — 4,21%.

b) w grupie nosicieli 8 szczepów typu *mitis* — 38%, 5 szczepów typu *gravis* — 23%, 8 szczepów typu *intermedius* — 38%.

2. Na jadowitość przebadano 64 szczepy w tym 49 szczepów od chorych, a 15 szczepów od nosicieli.

a) w grupie chorych, szczepy *gravis* i *mitis* były zjadliwe w 100%. Szczepy typu *intermedius* były zjadliwe w 69,24%.

b) w grupie nosicieli: szczepy *gravis* były w 100% jadowite, szczepy *mitis* były w 66,67% jadowite, szczepy *intermedius* były w 60% jadowite.

3. Przebadano wrażliwość szczepów na antybiotyki: 28 szczepów typu *gravis*, 8 szczepów typu *mitis*, 19 szczepów *intermedius*. Wyniki zawiera tab. 5.

Tabela 5.

Typ biologiczny	Wrażliwość na antybiotyki					
	penicylina	streptomycyna	terramycyna	erytromycyna	aureomycyna	chloromycetyna
	% szczep.	% szczep.	% szczep.	% szczep.	% szczep.	% szczep.
gravis	82,14	96,42	92,85	92,85	96,42	89,28
mitis	100,00	89,99	100,00	100,00	89,99	100,00
intermedius	89,47	84,21	100,00	94,73	84,21	100,00

4. Wśród 142 szczepów stwierdzono następujące serotypy według nomenklatury L. Flecka i B. Narbutowicza.

a) w grupie chorych: 47,10% serotypu **24**
19.00% serotypu **214**
9,00% serotypu **65**
7,34% serotypu **49**
6,61% serotypu **25**

b) w grupie nosicieli: 70% serotypu **24**
15% serotypu **214**
5% serotypu **65**
5% serotypu **49**

РЕЗЮМЕ

Среди 142 штаммов *Corinebacterium diphtheriae*, обнаруженных в г. Люблине, 121 — было получено от больных, а 21 — от носителей.

Установлено среди исследуемых штаммов следующие биологические типы: в группе штаммов, полученных от больных, 61 — типа *gravis* (50%), 23 штамма типа *mitis* (19%), 37 штаммов типа *intermedius* (35,78%), 6 — типа *xerosis* (4,21%); в группе штаммов, выделенных от носителей: 8 штаммов типа *mitis* (38%), 5 штаммов типа *gravis* (23%), 8 штаммов типа *intermedius* (38%).

Ядовитость была исследована авторами у 64 штаммов, в том числе — у 49 штаммов, полученных от больных и у 15 штаммов, полученных от носителей. В группе штаммов от больных, штаммы *gravis* и *mitis* оказались ядовитыми в 100%, а штаммы типа *intermedius* — в 69,24%. В группе штаммов, полученных от носителей, штаммы типа *gravis* оказались ядовитыми в 100%, штаммы типа *mitis* — в 66,67% и типа *intermedius* — 60%.

Среди 142 штаммов обнаружено следующие серотипы по номенклатуре Л. Флека и Б. Нарбутович: в группе штаммов полученных от больных 47,1% серотипа 24; 19% серотипа 214; 9% серотипа 65; 7,34% серотипа 49; 6,61% серотипа 25; в группе штаммов выделенных от носителей 70% серотипа 24; 15% серотипа 214; 5% серотипа 65 и 5% серотипа 49.

Авторами была также исследована чувствительность некоторых штаммов к антибиотикам, а именно: 28 штаммов типа *gravis*, 8 штаммов типа *mitis*, 19 штаммов типа *intermedius*. Наиболее чувствительным ко всем антибиотикам оказался тип *mitis* (в 100% к пенициллину, террамицину, эритромицину и хлоромицетину).

SUMMARY

Out of 142 strains of *C. diphtheriae* isolated on the territory of Lublin, 121 strains came from the sick, and 21 from the carriers. The following biological types were found among the investigated strains: in the group of the sick 61 strains of the type *gravis* (50 per cent), 23 strains of the type *mitis* (19 per cent), 37 strains of the type *intermedius* (35.78 per cent) and 6 strains of the type *xerosis* (4.21 per cent); in the group of carriers 8 strains of the type *mitis* (38 per cent), 5 strains of the type *gravis* (23 per cent), 8 strains of the type *intermedius* (38 per cent). The virulence of 64 strains was examined, of which 49 came from the sick, and 15 from the carriers. In the group of the sick, the *gravis* and *mitis* strains were virulent in 100 per cent, strains of the type *intermedius* in 69.24 per cent. In the group of the carriers the *gravis* strains were virulent in 100 per cent, the *mitis* strains in 66.67 per cent, the *intermedius* strains in 60 per cent.

In all the 142 strains the following serotypes were found, according to the nomenclature of L. Fleck and B. Narbutowicz: in the group of the sick 47.1 per cent of the serotype 24; 19 per cent of the serotype 214; 9 per cent of the serotype 65; 7.34 per cent of the serotype 49; 6.61 per cent of the serotype 25. In the group of the carriers there were found: 70 per cent of the serotype 24; 15 per cent of the serotype 214; 5 per cent of the serotype 65; 5 per cent of the serotype 49.

The authors also tested the sensitivity to antibiotics of 28 *gravis* strains, 8 *mitis* strains, and 19 *intermedius* strains. The type *mitis* proved to be most sensitive to all antibiotics (100 per cent to penicillin, terramycin, erythromycin and chloromycetin).

Papier druk. sat. III kl. 90 g Format 70x100 Druku 7 str.
Annales U.M.C.S. Lublin 1958. Lub. Druk. Prasowa—Lublin, Unicka 4. Zam. 509. 2.II.59 r.
800 + 125 egz. E-1 Data otrzymania manuskryptu 2.II.59 r. Data ukończenia druku 9.VII.59 r.