

CONTRIBUȚIUNI LA STUDIUL FENOMENELOR DE BACTERIOFAGIE LA TULPINI DE NEISSERIA GONORRHOEAE Comunicare preliminară

M. Péter, I. László, B. Sebe, Iuliana B. Both

Studiile fenomenelor de bacteriofagie au căpătat o mare amploare în ultimele decenii, contribuind prin rezultatele lor la îmbogățirea cunoștințelor privind patogenia, diagnosticul, terapia și epidemiologia infecțiilor bacteriene, precum și genetica microbială.

Printre numeroasele aplicații practice ale fenomenului de bacteriofagie, o deosebită importanță are determinarea tipului fagic sau lizotipia, care face posibilă diferențierea în tipuri bacteriofagice a unor tulpini identice biochimic și serologic tocmai prin comportarea deosebită a acestora față de diferiți bacteriofagi. Această metodă, larg aplicată la salmonele și stafilococi, este extinsă la tot mai multe grupuri de bacterii: *Escherichia*, *Shigella flexneri*, *Sh. sonnei*, enterococi, *Corynebacterium diphtheriae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *B. anthracis*, micobacterii etc. (2, 3, 5).

În literatura de specialitate nu am găsit date referitoare la lizosensibilitatea sau lizogenitatea tulpinilor de *Neisseria gonorrhoeae* (N. go.) Acest fapt, precum și unele observații făcute în cursul anilor pe tulpinile izolate de noi ne-au sugerat abordarea acestei probleme. În prezenta lucrare vom expune primele noastre rezultate în acest domeniu.

Material și metodă

A. Studiul lizosensibilității:

1. Încercări de izolare a bacteriofagilor din produse patologice. Ca produs patologic am folosit secreția uretrală a persoanelor cu uretrită gonococică. Am însămîntat 1—2 picături de secreție în bulion glucozat 2% și în mediul Peizer Steffen (P. S.) lichid. După incubare timp de 18 ore la 37 grade, am filtrat cultura prin filtrul G 5 Jena. Filtratul nediluat l-am testat după metoda lui Craigie (5), concomitent față de 7 tulpini de N. go. în vîrstă de 2—4 ore, pe mediul P. S. precum și pe un mediu elaborat de noi, fără proteine native. (Agar-agar fein gepulwert 20 g, proteose pepton 10 g, NaCl 5 g, apă distilată 1000 ml, pH 7.4, Yeast extract 3 g, glucose 30% 3.5 ml Na₂HPO₄ 15% 40 ml.) Mediile au fost incubate la 37 grade în atmosferă de CO₂ timp de 6—12—24 ore.

Am folosit concomitent și procedeul de izolare al bacteriofagilor prin metoda de multiplicare polivalentă (3), folosind tulpini indicatoare de N. go.

2. Cercetarea sensibilității tulpinilor de N. go. față de bacteriofagi standard. nespecifici: în acest scop am folosit următoarele preparații fagice obținute de la Inst. Dr. I. Cantacuzino: fag Vi I. IV.; fag coli. conc.; fag tific A. 10X; fag anti-para-B 1010. 10X; și fag anti-Salmonella C 1. 10X. Testarea am efectuat-o cu bacteriofagi nediluți prin metoda descrisă anterior, pe 10 tulpini de N. go.

B. Studiul lizogenității.

În acest scop am folosit pe lîngă mediul P. S. lichid și un mediu fără proteine native elaborat de noi. (Proteose pepton nr. 3. Difco 1 g, NaCl 5 g, Bacto Beef extr. Difco 3 g, Yeast extract 4 g, Amylum solubile 2.5 g, glucoză 30% 3.5 ml, Na₂HPO₄ 15% 40 ml, apă distilată 1000 ml, pH 7.4. Sterilizare prin filtrare.)

* Lucrarea prezentată la U.S.S.M. Filiala Tg.-Mureș, în ședința din 31 III. 1967.

Tulpinile de cercetat — în total 19 — le-am însămînțat în 10 ml din fiecare din mediile descrise și le-am incubat la 37 grade timp de 18 ore. Culturile obținute le-am prelucrat după următoarele metode: filtrare prin filtru G 5 Jena; centrifugare la 4000 t/min. timp de 15 minute; inactivare cu cloroform (0,5 ml/10 ml); iradiere cu raze UV fiecare cultură în vîrstă de 18 ore, a fost turnată în cutii Petri sterile, într-un strat cu grosime sub 10 mm și apoi a fost expusă timp de 30 de secunde pînă la 3 minute, de la o distanță de 15 cm razelor UV (Lampă Sterisol F 1140 K 1. Orig. Hanau NN 15/44 Vk.).

Filtratele, supernatantele, respectiv culturile inactivate cu cloroform, nediluate, au fost testate pe mediul P. S. și pe mediul fără proteine, față de 7 tulpini indicatoare (N. go.).

Rezultate și discuții

A. 1. Din 12 încercări de izolare a unui bacteriofag specific din secreții uretrale am reușit o singură dată punerea în evidență a unui factor litic și anume din materialul 533/65, folosind metoda prin multiplicare polivalentă. În acest caz, am obținut o liză semiconfluentă la 3 din cele 7 tulpini indicate care folosite. Bacterioliza a fost reproducă timp de 3 zile consecutiv, după care a încetat să mai apară.

2. La examinările efectuate cu fagi heterologi, rezultatele, cu unele excepții, au fost negative. Este însă demnă de remarcat, acțiunea fagului tific A, Vi I și IV asupra a 3 din cele 10 tulpini testate (104, 881, 923), la care au apărut, pe o zonă de aproximativ 10 mm (locul testării) colonii mari, formate din gonococi umflați.

B. În cursul cercetărilor referitoare la lizogenitatea tulpinilor de N. go. am constatat următoarele: din cele 19 tulpini examinate prin metoda filtrării, centrifugării și sterilizării culturilor cu cloroform, nu am putut pune în evidență bacteriofagi.

Prin inducția cu raze UV, am obținut un factor litic dintr-o singură tulpină, care la testare pe 7 tulpini indicatoare, a dat la 3 dintre ele o liză umbrită, abia decelabilă. Rezultatele obținute la repetarea testării nu au fost concludente.

Cu toate că am efectuat numeroase încercări, modificînd mai mult sau mai puțin metodele descrise, nu am putut obține rezultatele așteptate. Acest fapt se datorește, probabil, printre alte cauze și următorilor factori: 1. dificultatea cultivării tulpinilor de N. go.; 2. necesitatea incubării culturilor în atmosferă de CO₂, respectiv la temperatura de 35—37 grade; condiții posibil nefavorabile dezvoltării fagilor; 3. durata lungă a fazei de lag la N. go. îngreunează folosirea culturilor tinere de 2 ore.

Se pare că în acest caz este vorba de un bacteriofag cu caractere neobișnuite, pentru izolarea căruia metodele clasice nu sînt satisfăcătoare. Aceste ipoteze par a fi confirmate și de unele cercetări recente. Astfel, Cary (1) izolează 5 bacteriofagi diferiți din tulpini de N. meningitidis folosind medii speciale și la o temperatură de incubare de 30 grade. Phelps (4) izolează 16 bacteriofagi din tulpini de N. perflava, ale căror plaje au avut un diametru de numai 0.1 mm

Concluzii

1. De la o persoană cu uretrită blenoragică am izolat un factor litic, față de care 3 din cele 7 tulpini indicatoare au prezentat semne de bacterioliză.
2. Cu inducția prin iradiere cu raze UV, la 1 din 19 tulpini de N. gonorrhoeae s-a pus în evidență un factor litic al cărui efect a fost inconstant.
3. În urma dificultăților ivite în cursul experiențelor noastre, sîntem de părere, că metodele uzuale nu sînt îndestulătoare pentru studiul fenomenelor de bacteriofagie la tulpini de N. go.

Sosit la redacție: 30 mai 1968.

Bibliografie

1. GARY S. G., HUNTER D. H.: *Excerpta Medica, Sect. 4. Microbiology, vol. 20, 12, 969*;
 2. MEITERT EUGENIA: *Arch. Roum. (1965), 24 2 439*;
 3. NESTOR-RESCU N.: *Bacteriologie Medicală, Ed. Med., București, 1965*;
 4. PHELPS I. N.: *J. Gen. Virol. (1967), 1, 4, 529*;
 5. VLĂDOIANU I. R.: *Microbiologia. (1959), 5, 385.*
-