

(1954). — 6. *Máté J.*: Katonaorvosi Szemle, 1953, No. 11. — 7. *Lóránd L., Nikodémusz I., Ormay L.*: Katonaorvosi Szemle, 1956, No. 2. — 8. *Bálint, Hegedűs*: Klinikai laboratóriumi diagnosztika, 1955.

Майор м/сл. д-р И. Никодемус:

К ОЦЕНКЕ ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИХ ЛАБОРАТОРНЫХ ДАННЫХ ПАРОТИТА

Автором кратко излагается оценка иммунобиологических проб паротита (в отношении подробной техники ссылается на специальные книги). Во время заболевания впервые проба связывания комплемента станет позитивной, далее гемагглютинационное торможение и наконец «V—связывание комплемента». Становление негативными этих проб идет в подобном порядке, но в длительное время. С точки зрения оценки наиболее целесообразно вывести заключение из результата всех трех проб.

Недавно наступавшее манифестное заболевание, или скрытое заражение уверенно выявляется из следующих: высокий S—титр, ниже гемагглютинационное торможение и V—титр, а также негативная кожная проба. На раньше протекавшую инфекцию и одновременно иммунитет указывает то, если гемагглютинационный и S—титр негативны, связывание комплемента V—антигеном в ниже титре является позитивным и аллергическая проба кожи выражено позитивна.

Dr. I. Nikodémusz, Major d. San.:

ZUR BEURTEILUNG DER IMMUNBIOLOGISCHEN LABORATORIUMSUNTERSUCHUNGEN BEI DER PAROTITIS EPIDEMICA.

Kurze Schilderung der immunbiologischen Reaktionen während und nach der Infektion mit dem Parotitis-Virus. (Bezüglich der Methodik wird auf Spezialarbeiten hingewiesen.) Während der Erkrankung wird der Reihe nach zuerst die mit dem S-Antigen angestellte Komplementablenkung, dann, die Haemagglutinationsprobe und schliesslich die V-Komplementablenkung positiv. Das Negativwerden der Reaktionen geschieht in derselben Reihenfolge, nimmt jedoch längere Zeit in Anspruch. Zur richtigen Beurteilung werden alle drei Untersuchungen einbezogen.

Die vor kurzem stattgefundene manifeste Erkrankung oder latente Infektion geht mit hohem S-Titer, mit niedriger Hämagglutination und mit niedrigem V-Titer, sowie mit negativer Kutanprobe einher. Bei vor längerer Zeit erfolgter Infektion und Immunität ist die S-Komplementablenkung und die Hämagglutination bereits wieder negativ, die mit dem V-Antigen angestellte Komplementablenkung mit niedrigem Titer positiv, während die Kutanprobe stark positiv ausfällt.

További vizsgálatok bélbaktériumok elkülönítésére alkalmas szintetikus táptalajjal.

Irtá: *Nikodémusz István dr. orvosőrnagy*

Régebbi közleményünkben¹ egyszerű szintetikus táptalajt írtunk le, amelyet alkalmasnak találtunk arra, hogy glicerin erjesztés alapján bélbaktériumokat egymástól elkülönítsünk. A Shigellák, amelyek glicerin bontó-enzimmel nem rendelkeznek, jól elkülöníthetők a bélbaktériumok nagyrésztétől, Coli, Proteus, Salmonella, Pseudomonas, (különösen fontosnak tartjuk a Paracoli-baktériumoktól való eldifferenciálást), továbbá a glicerin-negatív Paratyphus A törzsek is elkülöníthetők a Salmonella csoport többi tagjaitól.

Közleményünk végén megemlítettük az általunk használt közeg hátrányát, ami abban áll, hogy a differenciálás hosszabb időt vesz igénybe. (Biztos negatív eredmény kiadásához 72 h. szükséges.)

Tekintettel arra, hogy sok esetben (tábori, vagy háborús körülmények) fontos a laboratóriumi diagnosztika gyorsasága, szándékunkban volt a táptalajt úgy módosítani, hogy 24 h. alatt kapott eredményeink — beleértve a negatívakat is — értékelhetők legyenek.

Metodika: Az inokulum csiraszámának növelése általában elősegíti a szaporodás és a fermentatív működés gyorsaságát, de mi már előző vizsgálataink során is gyakorlatilag maximális csiraszámmal dolgoztunk, (1 normál kacs — 0.5 mg bakterium — szilárd táptalaj tenyészet, vagy 0.1 ml előírás szerint készült — 1 ferde agar tenyészet 5—6 ml sós vízben szuszpendálva — tömény bakterium szuszpenzió 2 ml táptalajra) s ezért ez a módszer nem jöhet számításba elméleti megfontolások alapján sem. Néhány tájékoztató kísérletünkben ezt sikerült is igazolni.

További vizsgálatainkban a táptalajhoz 1% élesztőkivonatot adtunk, amelynek pontos összetételét nem tudjuk ugyan, de ismeretes róla, hogy számos — főleg a B₂ vitamin csoportba tartozó — növekedési faktort tartalmaz.² Élesztő kivonat tartalmú táptalajon 64 bélbakterium törzssel végzett vizsgálatunk eredményéből a következőket állapíthatjuk meg: 1. A táptalajban jelenlévő növekedési faktorok az egyes fajok glicerín erjesztését nem befolyásolják. 2. A savképzés kimutatása az esetek többségében itt is 48 h.-n belül következett be. Régebbi vizsgálatainkkal összehasonlítva azonban több 24 és kevesebb 72 h.-n belül bekövetkező erjesztést figyeltünk meg.

Kétségtelen, hogy az élesztőkivonat gyorsítja a savképzést és emiatt alkalmazása előnyös, mégis önmagában nem elegendő ahhoz, hogy a tenyésztés idejét 24 h.-ra lecsökkentse. A diagnózis gyorsítására olyan növekedési faktorokat szándékoztunk kipróbálni, amelyek honvédkórházakban és tábori laboratóriumokban is könnyen hozzáférhetők. Elsősorban a vízben oldódó vitaminokra gondoltunk, melyeknek szénhidrát erjesztést fokozó hatása régóta ismeretes.³

B₁, B₂, C és N vitamin különböző koncentrációit adtuk táptalajokhoz, amelyekre E. Coli, A. aerogenes és B. proteus szuszpenziókat oltottunk le. Eredményeinket a következőkben foglalhatjuk össze:

B₁ vitamin 0.5, 1, 2 és 5 mg/ml-es koncentrációban a mikrobák növekedését és savtermelését a kontrollhoz viszonyítva nem fokozza.

B₂ vitamin 0.25, 0.5, 1 és 2 mg/ml-es töménységben meggyorsítja a savtermelést (0.025 mg/ml B₂ vitamin koncentráció nem fokozza kimutatható módon a glicerín erjesztést) valamennyi törzsnél 24 h alatt intenzív indikátor színváltozás volt tapasztalható. A laktoflavinnak hátránya azonban, hogy átható sárga színe miatt az indikátort elfedi s emiatt a pH csökkenés csak nagyobb indikátor mennyiséggel válik kimutathatóvá.

N vitamin 0.5, 1, 2 és 5 mg/ml koncentrációban nem fokozza a bakteriumok savképzését, sőt 1—2 Proteus törzsnél inkább késleltette az indikátor átcsapását.

C vitamin hasonló mennyiségekben ugyancsak hatástalannak bizonyult. Kísérletképpen beállítottuk a táptalajt metrokrinnal is, amiről szintén vannak adatok, hogy fokozza a bakterium növekedést.⁴

Kísérleteinkben a metrokrin 1, 2 és 5 mg/ml-es töménységben a mikrobák glicerín erjedését nem fokozta.

További vizsgálatainkat a B₂ vitaminnal szándékoztunk folytatni, azonban egy olyan eredményt kaptunk, amely kísérleteinket más irányba terelte. A táptalajhoz ugyanis könnyebb szállíthatóság kedvéért 2% agart adtunk. Az

agar tartalmú szintetikus táptalajon, mely ferdén volt kiöntve, a glicerint bontó baktériumok kivétel nélkül 24 órán belül intenzív savtermelést mutattak.

Ezen eredmények alapján először arra gondoltunk, hogy az agarban ismeretlen növekedési faktor lenne jelen s ezért további vizsgálatainkat tisztított agarral készült táptalajokkal végeztük.

Az agar szubsztanciát előírás szerint⁵ 10 napig kútvízben, majd 6 napig desztillát vízben áztattuk, a folyadékot naponta többször cserélve. Az így nyert anyag eredeti sárgás színét elvesztette, puhább konzisztenciájú lett, de táptalaj merevítő értéke nem csökkent.

Az elvégzett párhuzamos vizsgálatok nem mutattak különbséget a nyers és tisztított agarral készült táptalajok között s így nem látszott valószínűnek növekedési faktor jelenléte a szálas agarban.

Felmerült az a nézet is, hogy a ferde táptalajon levő felületi tenyészetekben az oxigénellátás bősége miatt következnek be hamarabb az erjedés. E feltevést támogatta azon megfigyelésünk is, amit régebben folyékony táptalajokon végeztünk. Ekkor ugyanis azt tapasztaltuk, ha a tenyészeteket 2—4 óránként ellenőriztük, hogy először a táptalajok felső része sárgult meg, az alsó rétegek csak később, jelezve, hogy fent a savképzés a dúsabb oxigénellátás miatt előbb bekövetkezik.

Ezért párhuzamosan végeztünk szilárd táptalajon felületi és szűrési tenyésztéseket. Míg a felületi tenyészetek 24 h alatt savanyú reakciót adtak, addig ugyanezen időn belül a szűrési tenyészeteknél csak a felső 2—3 mm-es rétegben jött létre savanyodás, amely naponta 2—3 mm-el terjedt lefele. Az egész táptalaj megsárgulásához az oszlop magasságától függően 3—4, esetleg 7 nap volt szükséges.

E kísérlettel igazolva láttuk, hogy a gyorsabb fermentáció a bővebb oxigén-ellátás miatt jött létre.

A továbbiakban a savtermelés biztosabb kimutatására a táptalajt kettős indikátor rendszerrel láttuk el. A fenolvörös oldaton kívül a táptalajhoz közvetlenül a kiöntés előtt csövenként késhegynyi kalciumkarbonátot (CaCO_3) kevertünk, amely vízben csak minimális mértékben oldódik és a közeget zavarossá, átlátszatlanná teszi. Savanyú milióban a kalciumkarbonát feloldódik és azon a helyen a táptalaj feltisztul. Ezt az eljárást egyébként számosan használják a savképzés kimutatására.⁶

Ezen a táptalajon különösen kifejezett különbségeket kaptunk a glicerint erjesztő és nem erjesztő mikrobák között. Savtermelés esetén a táptalaj megsárgul és feltisztul, ellenkező esetben piros és átlátszatlan marad. A diagnosztikában ennek ellenére nem célszerű a kettős indikátor rendszert bevezetni, főleg azért, mert a kalciumkarbonát a vegyhatást lúgos irányban erősen eltolja s ezért a savképzés csak 48—72 h után lesz kifejezett. Ha a tenyésztést pár órás időközönként megfigyeljük, akkor először a kalciumkarbonát feloldódását látjuk és csak azután az indikátor átcsapását.

Diskusszió: A glicerint erjesztés és ezzel kapcsolatban a diagnózis meggyorsítása végett több kísérletet végeztünk. Irodalmi adatok alapján először élesztő kivonattal, majd vízben oldódó vitamínokkal szándékoztunk a baktériumok savtermelését fokozni, ill. a diagnosztika idejét csökkenteni. Élesztő kivonattal, továbbá B_1 , C és N vitaminnal, valamint metrokriinnal nem sikerült az indikátor átcsapásának, ill. a táptalaj pH-jának savi irányba való eltolódásának átlagos idejét 48 h.-ról 24 h.-ra lerövidíteni. A B_2 vitamin

viszont alkalmasnak mutatkozott a savképzés gyorsítására. Itt látszólagos el-
lentmondás van, mert az élesztő, amely B₂ vitamint is tartalmaz, nem befo-
lyásolja annyira kedvezően a glicerinnel bontást. Ennek az oka az lehet, hogy
az 1% élesztő kivonat B₂ vitamin mennyisége kisebb, mint amennyi vitamint
mi tisztán a közeghez hozzáadunk. (Nem ismerjük pontosan az egyes élesztő
szériák B₂ vitamin tartalmát.) Előfordulhat azonban az is, hogy az élesztő
extraktum olyan faktort is tartalmaz, amely a B₂ vitamin fermentációt fo-
kozó hatását részben vagy egészen felfüggeszti.

B₂ vitamin alkalmazása, dacára jó eredményeinknek, technikai okokból
nem célszerű, mert erős — az indikátort elfedő — színe miatt több indiká-
torra és esetleg újabb pH beállításra lenne szükség közvetlenül leoltás előtt.

A táptalaj szilárd formában való előállítása (2% agar) a tenyésztés idejét
24 órára lerövidíti. Ez az időcsökkenés a felületi tenyészet bővebb oxigen
ellátásával magyarázható, amely a savképzést fokozza, olyan anyagot, amely
a savképzést meggyorsítja, a szálas agar nem tartalmaz, ahogy ez szűrési ten-
nyészeink során ki is derült. Kalciumkarbonát, mint második indikátor.
rendszer, alkalmazása nem célszerű, mert a savképzés, ill. az indikátor át-
csapásának idejét meghosszabbítja.

Eredményeink alapján a rutin vizsgálatok céljaira a következő összetételű
táptalajt javasoljuk: A régebbi közleményünkben leírt táptalajhoz literenként
20 g szálas agart adunk. Ügyelni kell arra, hogy a pH beállítás az agar fel-
oldódása után történjen. Az etanolt célszerű közvetlenül a csövekbe való le-
fejtés előtt hozzáadni, a glicerinnél, mivel ennek forrponjtja 290 fok, ez nem
lényeges.

Összefoglalás:

A régebbi közleményünkben leírt táptalajon vizsgálatokat végeztünk a
diagnózis meggyorsítása céljából. A vízben oldódó vitaminok közül csak a
B₂-nek van erjesztést fokozó hatása, de e vitamin alkalmazásának technikai
nehézségei vannak. Szilárd táptalajon, felületi tenyészetben a savképzés 24 h
alatt végbemegy, ezért a rutin vizsgálatok céljaira e szintetikus táptalajt szil-
árd formában fogjuk előállítani.

IRODALOM:

1. Nikodémusz I., Dózsán G., Kroell-Dulai I.: Katonaorvosi Szemle, No. 2, 172.
(1955.) — 2. Gastinel: Précis de microbiologie médicale. (Masson, 1949.) — 3. Prévot—
Taffanel: id. Nikodémusz J., Nikodémusz K.: OH. No. 34. (1951.) — 4. Fiam B.: Szemé-
lyes közlés. — 5. Kraus—Uhlenhuth: Handbuch d. mikrobiologischen Technik. (Urban
—Schwarzenberg, 1912.) — 6. Stanier, R. Y.: J. Bact. 54. 194, (1947).

Майор м/сл. д-р Никодемус:

ДАЛЬНЕЙШИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ СИНТЕТИЧЕСКОЙ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДОЙ ПРИГОДНОЙ К ИЗОЛЯЦИИ КИШЕЧНЫХ БАКТЕРИИ

Проводились исследования на описанных в прежней статье питательной среде с
целью ускорения диагноза. Среди растворимых в воде витаминов лишь B₂ имеет
влияние усиливающее брожение, но применение этого витамина препятствуют техни-
ческие трудности. На плотной среде, в поверхностной культуре кислотообразование
происходит в течение суток, поэтому для рутинных исследований эта синтетическая
питательная среда в будущем изготавливается в плотной форме.

Dr. I. Nikodémusz, Major d. San.:

WEITERE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE ZUR DIFFERENZIERUNG VON
DARMBAKTERIEN GEEIGNETEN SYNTHETISCHEN NÄHRBÖDEN.

Zur Beschleunigung der Diagnosestellung wurden die Untersuchungen mit dem durch den Verfasser bereits früher beschriebenen Nährboden fortgesetzt. Unter den wasserlöslichen Vitaminen besitzt nur das Vit. B₂ eine gärungssteigernde Wirkung, seine Anwendung stösst aber an technische Schwierigkeiten. Am festen Nährboden und bei oberflächlicher Züchtung findet die Säurebildung binnen 24 Stunden statt, weshalb der durch den Verfasser zusammengestellte synthetische Nährboden im festen Zustande zu Rutinezwecken verwendet wird.
