

Disciplina de microbiologie și inframicrobiologie (cond.: prof. dr. I. László,
doctor în medicină) a I.M.F. din Tirgu-Mureș

CONTRIBUȚIUNI LA STUDIUL NEISERIILOR SAPROFITE DIN CAVITATEA BUCALĂ

dr. M. Péter, dr. Hajnal L. Elekes, Sára Turóczy

Flora normală a organismului uman, deci și cea a cavității bucale este și azi insuficient cunoscută.

În ultimii ani se pune un accent din ce în ce mai mare pe studierea florei indigene a organismului sănătos, deoarece numai prin cunoașterea temeinică a acesteia putem înțelege o serie de fenomene patologice.

Literatura de specialitate oferă puține date privind frecvența neiseriilor în biocenoza bucală (15, 1, 11, 5, 14, 12 etc.). Caracterele lor culturale și biochimice descrise lacunar și cu multe controverse în manualele cele mai cunoscute (10, 11, 16 etc.), au fost studiate mai ales de Berger și colab. (1—9), care, în 1961 afirmă: „Însușirile caracteristice ale speciilor din genul *Neisseria* nici acuma nu sînt clar conturate“ (1). Această afirmație, în multe privințe, este și azi valabilă.

Datele privind rolul acestor germeni în diferite procese patologice ale cavității bucale sînt aproape inexistente.

Pornind de la aceste considerente, ne-am propus să studiem incidența și relațiile cantitative în biocenoza bucală, precum și unele însușiri ale acestor germeni.

Material și metodă

I. În scopul cercetărilor noastre am examinat 200 de persoane, repartizate în 4 grupe de cîte 50.

1. Prima grupă cuprinde persoane cu carii simple și complicate, cu igienă bucală scăzută și cu edentații intercalate. Vîrsta persoanelor a fost între 20—30 de ani (media 24 de ani). 2. În a doua grupă au fost înglobați copiii cu vîrsta între 6 și 15 ani (media 8 ani), dintre care 32 au avut 3—5 carii, iar 18, cîte 5—11 carii. 3. În grupa a treia s-au încadrat 50 de adulți, între vîrsta de 20—30 de ani (media 23 de ani), fără carii sau cu carii tratate. 4. Cei 50 de copii din grupa a 4-a erau fără carii, sau cu carii tratate și aveau vîrsta între 8—15 ani (media 7 ani).

De la aceste persoane, în aceeași oră a zilei, s-a recoltat salivă după un minut de mișcări de masticție (Kauspeichel). Saliva a fost însămîntată pe geloză sînge și incubată la 37°C timp de 24—48 ore.

Identificarea tulpinilor izolate am efectuat-o cu următoarele metode: frotiu colorat după metoda Gram, activitatea hemolitică, pigmentogeneza,

testul oxidazelor (Gordon-McLeod) fermentarea zaharurilor (glucoză, maltoză, fructoză, zaharoză, lactoză, manită), cercetarea producerii de indol, de H₂S, reducerea nitraților în nitriți și producerea de urează (1, 2, 3, 13). La 63 tulpini am efectuat și antibiograma.

II. Pentru cercetarea relațiilor cantitative ale neiseriilor în biocenoză bucală s-au examinat în continuare încă 65 de persoane, fără semne de boală, cu vârsta între 20—30 de ani. La 50 de persoane s-a efectuat o singură prelevare, la ora 13, înainte de prânz; la 10 s-au făcut prelevări de 3 ori pe zi, la orele 7, 13 și 19, timp de trei zile consecutiv, în condiții identice; în 5 cazuri recoltările s-au efectuat de 12 ori pe zi, din 2 în 2 ore.

Am determinat numărul neiseriilor și al streptococilor din grupa viridans, folosind metoda diluțiilor în plăci. Colonile au fost numărate cu ajutorul stereomicroscopului SM XX Jena, neiseriile după pulverizarea soluției de tetrametil-parafenilen-diamină 1%, iar streptococii pe baza hemolizei alfa.

Rezultate și discuții

I. Rezultatele obținute în urma studierii incidenței germenilor din genul *Neisseria* în cavitatea bucală, sînt cuprinse în tabelul nr. 1.

Tabelul nr. 1

G r u p e l e e x a m i n a t e											
Adulți			Copii			Adulți			Copii		
cu carii						fără carii					
Nr.	poz.	%	nr.	poz.	%	nr.	poz.	%	nr.	poz.	%
50	47	94	50	50	100	50	50	100	50	50	100

După cum reiese din tabelul nr. 1, la cele 200 de persoane examinate am găsit neiserii saprofite în 98,5% a cazurilor.

Am reușit să izolăm în cultură pură 178 tulpini care au fost studiate mai detaliat și identificate după posibilități. Rezultatele, privind ponderea procentuală a speciilor izolate, sînt cuprinse în tabelul nr. 2.

Tabelul nr. 2

Denumirea speciilor izolate	G r u p e l e e x a m i n a t e										Total	
	Adulți		Copii		Adulți		Copii					
	nr.	%	nr.	%	nr.	%	nr.	%	nr.	%	nr.	%
<i>N. sicca</i>	15	33,33	20	41,67	15	35,72	16	37,21	66	37,07		
<i>N. perflava</i>	14	31,31	16	33,33	13	30,95	14	32,56	57	32,03		
<i>N. subflava</i>	3	6,67	3	6,25	4	9,52	3	6,87	13	7,30		
<i>N. catarrh.</i>	4	8,89	2	4,17	3	7,14	1	2,33	10	5,62		
<i>N. flava</i>	2	4,44	2	4,17	1	2,38	1	2,33	6	3,37		
Neincadrate	7	5,56	5	10,41	6	14,29	8	18,60	26	14,61		
T o t a l	45	100,00	48	100,00	42	100,00	43	100,00	178	100,00		



Fig. nr. 1: Ob. 2,5; oc. 4



Fig. nr. 2: Ob. 0,63; oc. 4



Fig. nr. 3: Ob. 2,5; oc. 4



Fig. nr. 4: Ob. 2,5; oc. 4

Fig. nr. 1—4: Diferite forme de colonii ale neiseriilor saprofite

M. PÉTER ȘI COLAB.: CONTRIBUȚII LA STUDIUL NEISERIILOR SAPROFITE
DIN CAVITATEA BUCALĂ

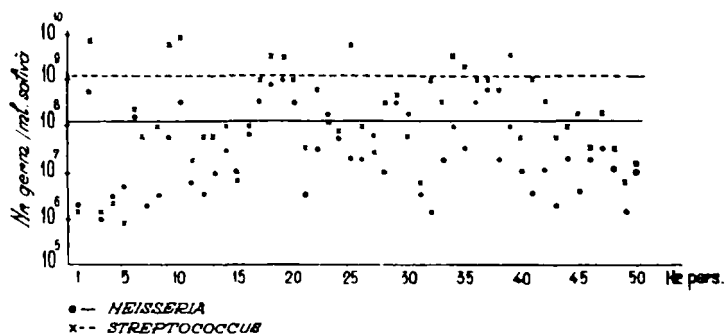


Fig. nr. 5: Numărul neiseriilor saprofite și al streptococilor viridans ml salivă la 50 de persoane, precum și media rezultatelor

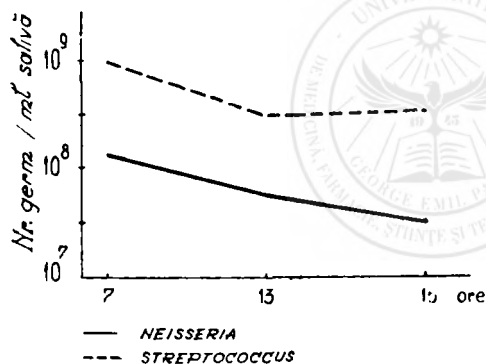


Fig. nr. 6: Evoluția valorilor medii, determinate de 3 ori pe zi, trei zile consecutiv la 10 persoane

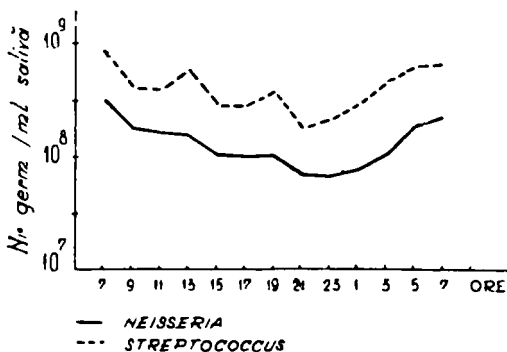


Fig. nr. 7: Evoluția valorilor medii, determinate din 2 în 2 ore în decursul unei zile la 5 persoane

Tabelul nr. 2, relevă că nu s-au înregistrat diferențe semnificative între grupele studiate. Cu ajutorul metodelor aplicate o bună parte a tulpinilor (14,61%) nu le-am putut încadra în conformitate cu manualul lui *Bergey* (10). Acest fenomen se explică prin faptul că însușirile caracteristice ale neiseriilor saprofite nu sînt suficient cunoscute precum și prin variabilitatea marcată a acestor specii. Pe baza acestor constatări ne permitem să prezentăm cîteva observații, privind caracterele de cultivare și biochimice ale acestora.

Studiind mai multe mii de colonii am putut constata că acestea se pot prezenta sub aspecte foarte diferite (vezi fig. nr. 1—4), care pot varia de la o replicare la alta. Prin urmare acest caracter este greu aplicabil la diferențierea speciilor.

Apresiasi activității hemolitice este dificilă, deoarece ea apare uneori tardiv (48—72 ore) sau este discretă. Dintre tulpinile studiate de noi, 20,3% (în special *N. perflava*) au prezentat o hemoliză evidentă pe geloză sînge cu hematii de oaie 10%.

Fermentarea zaharurilor, deși este metoda cea mai mult utilizată în diferențierea speciilor neexigente, este frecvent inconstantă. Cele 178 de tulpini examinate au acționat asupra celor 6 hidrocarbonate utilizate, sub 13 variante. Deci chiar la aceeași specie pot fi mai multe tipuri de fermentație, fapt ce constituie dificultăți considerabile.

Reacția indol a fost negativă în toate cazurile. Dintre metodele aplicate pentru studierea asimilării citratului, scindării ureei, producerii hidrogenului sulfurat și reducerii nitraților în nitriți, doar ultima pare a avea valoare diagnostică.

II. În continuare prezentăm rezultatele privind relațiile cantitative ale neiseriilor saprofite în biocenoza bucală, comparate cu cele ale streptococilor viridans.

În figura nr. 5 este redat numărul celor două grupe de germeni pe ml salivă, la 50 de persoane, precum și media rezultatelor.

Din această figură reiese că există oscilații individuale mari (1.10^6 — 2.10^9), iar valoarea medie a neiseriilor este apropiată celei obținute la *Streptococcus viridans*.

Figura nr. 6 cuprinde evoluția valorilor medii, determinate de trei ori pe zi (la orele 7, 9, 19), timp de 3 zile, la 10 persoane.

Se observă că numărul neiseriilor are o fluctuație mare în decursul zilei. Valorile cele mai ridicate s-au înregistrat dimineața și au arătat o tendință de descreștere în cursul zilei. Studiind separat aceste cifre la cele 10 cazuri, se poate constata că numărul neiseriilor și evoluția lor diferă de la o persoană la alta; chiar la aceeași persoană valorile și evoluția lor pot prezenta diferențe și de la o zi la alta. Menționăm însă că la unele persoane s-au înregistrat rezultate relativ constante.

Rezultatele obținute la cele 5 persoane la care am efectuat determinări din 2 în 2 ore timp de 24 ore sînt prezentate în figura nr. 7.

După cum se poate vedea numărul neiseriilor nu crește după mesele

principale, — așa cum se constată la *Streptococcus viridans* —, valorile inițiale restabilindu-se doar seara târziu și în timpul nopții.

Menționăm în încheiere că rezultatele obținute la determinările cantitative sînt în mare măsură dependente de metodele aplicate.

Concluzii

1. Frecvența neiseriilor saprofite în cavitatea bucală la cele 200 de persoane studiate de noi, este foarte ridicată (98,5%).

2. Cele 178 tulpini de neiserii, studiate mai detaliat au făcut parte din următoarele specii: *N. sicca* 37,07%, *N. perflava* 32,03%, *N. subflava* 7,30%, *N. catarrhalis* 5,62%, *N. flava* 3,37%.

3. 14,61% a tulpinilor nu au putut fi identificate conform manualului Bergey.

4. Caracterile culturale și unele însușiri biochimice ale neiseriilor saprofite sînt foarte variabile.

5. Media ponderii procentuale a acestor germeni în flora aerobă a sa-livei este apropiată de cea a streptococilor viridans.

6. Valorile cantitative ale neiseriilor saprofite în salivă, oscilează între limite largi nu numai în decursul zilei dar și de la o persoană la alta (1.10^6 — 2.10^9).

Sosit la redacție: 22 ianuarie 1974.

Bibliografie

1. Berger U., Wulf B.: Z. Hyg. Infekt.—Kr. (1961), 147, 257; 2. Berger U.: Z. Hyg. Infekt.—Kr. (1961), 148, 45; 3. Berger U.: Arch. Hyg. (1961), 145, 3, 190; 4. Berger U.: Arch. Hyg. (1962), 146, 1, 55; 5. Berger U., Paepcke E.: Z. Hyg. Infekt.—Kr. (1962), 148, 269; 6. Berger U.: Zbl. Bakt. I. Abt. Orig. (1962), 185, 439; 7. Berger U.: Die anspruchslosen Neisserien. Ergebn. Mikrobiol. (1963), 36, 97; 8. Berger U.: Z. med. Mikrobiol. u. Immunol. (1971), 156, 154; 9. Berger U., Issi R.: Arch. Hyg. (1971), 154, 5, 540; 10. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, Seventh Edition, Bailliere-Tindall and Cox, London 1957; 11. Burnett G. W., Scherp H. W.: Oral microbiology and Infections Disease, Williams-Wilkins Company, Baltimore 1962; 12. Gafar M., Ioniță Rodica, Vlădescu Ana, Ioniță S.: Stomatologia (Buc.), (1971), 6, 513; 13. Nestorescu N.: Bacteriologie medicală, Ed. med., București, 1965; 14. Rîndașu G. E.: Teză de doctorat, I.M.F., București, 1970; 15. Ritz H. L.: Arch. oral Biol. (1969), 14, 49, 1073; 16. Wilson G. S., Miles A. A.: Topley and Wilson's Principles of Bacteriology and Immunity., Fifth Edition, Edward Arnold LTD. London, 1966.