

Z Katedry i II Kliniki Położnictwa i Chorób Kobięcych Wydziału Lekarskiego
Akademii Medycznej w Lublinie

Kierownik: doc. dr med. Józef Tynecki

Z Zakładu Mikrobiologii Wydziału Farmaceutycznego Akademii Medycznej w Lublinie

Kierownik: dr biol. Włodzimierz Nicewicz

Zofia TYNECKA i Józef TYNECKI

Gronkowce w powikłaniach połogowych

Роль стафилококков в послеродовых осложнениях

Staphylococci in Purperal Complications

Szkodliwe czynniki, które osłabiają siły obronne ustroju kobiety rodzącej sprzyjają powstawaniu infekcji połogowej. Do nich należą w pierwszym rzędzie krwotoki okołoporodowe, przedłużające się porody, zabiegi operacyjne związane z porodem oraz błędy dotyczące aseptyki i antyseptyki (Nikołajew, Pietczenko, Martius). Do macicy mogą przedostać się drobnoustroje z dolnego odcinka dróg rodných w czasie porodu, drogą krwi z odległych miejsc zakażenia, nadto przez samozakażenie przy pomocy rąk z jamy nosowo-gardzielowej, a także wskutek zakażeń krzyżowych wewnątrzszpitalnych (Greenhill, Barber, Pakuła).

W wyniku postępu w zakresie położnictwa, celowego stosowania antybiotyków, oraz baczniejszego przestrzegania zasad aseptyki i antyseptyki, opanowano prawie groźne dla życia matek zakażenia połogowe (*sepsis puerperalis*), które niegdyś wydłaniało sale położnic. Czynnikiem etiologicznym w przeważającej liczbie przypadków był paciorkowiec. W ostatnich latach na czoło wysunęło się zagadnienie zakażeń gronkowcowych ze względu na stały wzrost liczby zachorowań oraz trudności lecznicze, spowodowane opornością szczepów na antybiotyki. Również w klinice położniczej spotyka się obecnie częściej schorzenia o tej etiologii. Jednym z nich jest posocznica połogowa, wywoływana zazwyczaj przez gronkowce odporne na antybiotyki, wskutek czego walka z chorobą jest ciężka i niezawsze pomyślna. Gronkowce odgrywają także rolę w innych powikłaniach połogowych o lżejszym przebiegu.

Celem naszej pracy jest określenie częstości występowania gronkowców w tych powikłaniach, przebadanie właściwości biochemicznych, będących wykładnikiem ich chorobotwórczości, oraz oznaczenie wrażliwości na antybiotyki.

BADANIA WŁASNE

Materiał pobrano w 3—4 dniu połogu z szyjki macicy od 103 położnic, u których wystąpiły objawy zakaźnego powikłania w narządzie rodnym w postaci wzrostu temperatury, przyspieszenia tętna, złego samopoczucia, słabego zwijania się macicy i obfitych brudnokrwawych odchodów. Położnice były w wieku 18—42 lat, 82 wieloródki, 31 pierwiastki. Urodziły normalnie dzieci żywe, w 3 przypadkach niedonoszone. Wykonano 16 nacięć krocza, 5 kontroli jamy macicy z powodu niecałkowitego odejścia popłodu, oraz 3 ręczne wydobywania łożyska. W jednym przypadku, przywiezionym z terenu po porodzie, doszło do posocznicy położkowej w związku z martwicą i rozległym ropieniem pękniętego przyporodowo krocza. Badanie bakteriologiczne wykazało we krwi obecność gronkowca złocistego, koagulazo-dodatniego, opornego na stosowane antybiotyki. Chora zmarła w trzecim tygodniu choroby. W pozostałych przypadkach, właściwy dobór leków dzięki badaniom odporności drobnoustrojów na antybiotyki dał pomyślny wynik leczniczy. Ograniczono w znacznym stopniu podawanie penicyliny i streptomycyny, na które większość szczepów była niewrażliwa.

Wymazy pobrane od chorych wysiewano na podłoża agarowe z dodatkiem krwi. Po 24 godz. inkubacji wyosobniono kolonie gronkowców złocistego oraz białego. Zdolności barwnikotwórcze wyosobnionych szczepów badano na podłożu Loefflera, wystawiając hodowlę po 24-godzinnej inkubacji na światło dzienne w temperaturze pokojowej. Z każdego materiału pobierano 1 kolonię. U 100 kobiet stwierdzono obecność gronkowców. Ogółem otrzymano 47 szczepów gronkowca złocistego i 53 gronkowca białego. Wszystkie szczepy w toku badań przechowywano w chłodni na agarach skośnych, przeszczepiając co dwa miesiące.

Szczepy poddano badaniom biochemicznym, celem określenia zdolności:

- 1) wytwarzania koagulazy na plazmie ludzkiej,
- 2) szybkiego wytwarzania fosfatazy,
- 3) rozrzedzania żelatyny,
- 4) hydrolizy mannitolu,
- 5) hemolizowania 2% krwinek baranich,
- 6) ścinania, względnie peptonizowania mleka.

Tabele 1 i 2 przedstawiają wyniki uzyskane z wykonanych prób.

Z tab. 1 wynika, że nie wszystkie szczepy gronkowca złocistego posiadają zdolność wytwarzania koagulazy (2 nie wytwarzają, 4 dają wynik wątpliwy) i odwrotnie, 2 spośród białych gronkowców dają dodatnią reakcję na koagulazę. Zgodność pomiędzy wytwarzaniem

koagulazy i barwnika wynosi 87,23⁰/. Wyniki dalszych prób porównywano ze zdolnością wytwarzania koagulazy (tab. 2).

Tab. 1. Wyniki badań na wytwarzanie koagulazy przez gronkowce złociste i białe
Results of investigations on the formation of coagulase by *Staphylococcus aureus* and *S. albus*

Barwa kolonii	Ilość szczepów		
	koagulazo-dodatni	koagulazo-ujemny	koagulazo-wątpliwy
złocista	41	2	4
biała	2	51	—

Tab. 2. Porównanie innych własności biochemicznych ze zdolnością wytwarzania koagulazy przez badane szczepy

Other biochemical properties of the studied strains compared with their ability to produce coagulase

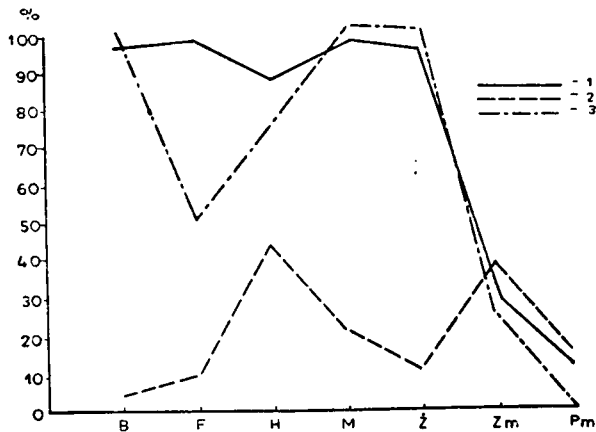
Szczepy koagulazo:	Fosfataza		Hemolizyna alfa		Mannitol		Żelatynaza			Mleko	
	+	—	+	—	+	—	+	—	ścięcie mleka	peptonizacja	nie zmienione
dodatnie	43	—	38	5	42	1	41	2	8	5	30
ujemne	5	48	23	30	12	41	6	47	20	8	25
wątpliwe	2	2	3	1	4	—	4	—	1	—	3

Porównując wyniki uzyskane z prób na fosfatazę, hemolizynę α , hydrolizę mannitolu, żelatynazę i mleko, obserwujemy zgodność pomiędzy wytwarzaniem koagulazy i fosfatazy w 100⁰/. Również 2 szczepy koagulazo wątpliwe i 5 koagulazo ujemnych były fosfatazo-dodatnie. Odnośnie żelatynazy 41 gronkowców na 43 koagulazo-dodatnich dawało dodatni wynik, co w ujęciu procentowym wynosi 95,35⁰/. Na uwagę zasługuje właściwość rozrzedzania żelatyny u szczepów koagulazo-wątpliwych i ujemnych, 6 koagulazo-ujemnych i wszystkie koagulazo-wątpliwe. Zdolność wytwarzania hemolizy posiadało 38 szczepów koagulazo-dodatnich, zgodność pomiędzy obu próbami wynosiła 88,34⁰/. Duża liczba, około 43⁰/ gronkowców koagulazo-ujemnych posiadało zdolność wytwarzania hemolizyny α , również 3 na 4 koagulazo-wątpliwe rozpuszczały czerwone krwinki baranie. Zdolność hydrolizy mannitolu wykazywały 42 szczepy na 43 koagulazo-dodatnich, co stanowi 96,67⁰/. Wszystkie szczepy rozkładały mannitol, a spośród koagulazo-ujemnych 12 posiadało tę właściwość. Tylko 8 szczepów koagulazo-dodatnich ścinało mleko, 5 peptonizowało, a 30 nie zmieniało wogóle.

Z ogólnej liczby gronkowców koagulazo-dodatnich, 38 wykazywało wysoką aktywność biochemiczną, dodając dodatnie wyniki we wszystkich przeprowadzonych próbach, a więc oprócz barwnika żółtostego wytwarzało fosfatazę, żelatynazę, hemolizynę α oraz rozkładało mannitol, 3 szczepy nie dawały jedynie dodatniej próby na hemolizynę α , 2 nie wytwarzały barwnika, hemolizyny α oraz żelatynazy, a 1 oprócz zdolności ścinania plazmy wytwarzał jedynie fosfatazę. Powyższe wyniki wskazują, że największą zgodność uzyskano pomiędzy wytwarzaniem koagulazy i fosfatazy, jak również koagulazy i mannitolu. Na trzecim miejscu znajduje się wytwarzanie żelatynazy a następnie hemolizyny α i barwnika.

Z wykresu (ryc. 1) obrazującego aktywność biochemiczną gronkowców wynika, że znaczna większość szczepów koagulazo-dodatnich wytwarzała fosfatazę, rozkładała mannitol, rozrzedzała żelatynę i tylko około 12% nie wykazywało obecności hemolizyny. Nieznaczny procent tych szczepów zakwaszał lub peptonizował mleko. Tę ostatnią próbę traktowaliśmy raczej jako marginesową.

Odnośnie gronkowców koagulazo-ujemnych zwraca uwagę duży odsetek dodatnich prób na obecność hemolizyn. Wśród tych ostatnich szczepów przeważają gronkowce białe (tylko dwa wytwarzały barwnik,



Ryc. 1. Wyniki badań biochemicznych przedstawione procentowo; 1 — koagulazo-dodatni, 2 — koagulazo-ujemny, 3 — koagulazo-wątpliwy, B — barwnik, F — fosfataza, H — hemolizyna α , M — mannitol, Ż — żelatynaza, Zm — ścięcie mleka, Pm — peptonizacja mleka.

Results of biochemical experiments expressed in the percentage; 1 — coagulase-positive, 2 — coagulase-negative, 3 — coagulase-doubtful, B — stain, F — phosphatase, H — α -haemolysinase, M — mannitol, Ż — gelatinase, Zm — milk coagulation, Pm — milk peptonization.

co wynosi 3,75%). Na ogół nie wykazują one aktywności biochemicznej; nie wytwarzają koagulazy (z wyjątkiem dwóch) oraz fosfatazy (tylko pięć reaguje dodatnio). Znaczny odsetek białych gronkowców rozkłada mannitol.

W dalszym toku określono odsetek kobiet, u których stwierdzono obecność gronkowców o cechach chorobotwórczych. W myśl badań Barber i Pakuły za chorobotwórcze uznaliśmy te szczepy, które wywoływały koagulację plazmy oraz charakteryzowały się szybkim wytwarzaniem fosfatazy. Pozostałe próby wykonywano celem zorientowania się we właściwościach biochemicznych badanych szczepów.

Procent gronkowców chorobotwórczych w przypadkach powikłań położowych wyniósł 41,74. U 43 kobiet bowiem stwierdzono obecność gronkowców koagulazo-dodatnich, które prawdopodobnie były czynnikiem etiologicznym powikłania. Jest to dość duży odsetek, wskazujący na istotne znaczenie gronkowców w schorzeniach zakaźnych w położu. Wyniki te powinny być czynnikiem mobilizującym do jeszcze ściślejszego przestrzegania zasad aseptyki i antyseptyki w czasie aktu porodowego i pielęgnacji w okresie położu.

Przeprowadziliśmy również badanie oporności wyosobnionych gronkowców na najczęściej stosowane antybiotyki. Do oznaczeń użyto standardowych krążków, produkowanych przez Warszawską Wytwórnę Surowic i Szczepionek, zawierających następujące antybiotyki: penicylinę, streptomycynę, chloromycetynę, aureomycynę i terramycynę. Aktywność krążków sprawdzano na szczepie wzorcowym *Micrococcus pyogenes* 209-P. Pomimo że krążkowa metoda oznaczania wrażliwości bakterii na antybiotyki nie jest zbyt dokładna, jest jednak dla celów klinicznych zupełnie wystarczająca, gdy chodzi o szybki i właściwy dobór leku. Opierając się na niej uzyskiwaliśmy pomyślne wyniki lecznicze.

Gronkowce podzielono na 3 grupy w zależności od zdolności wytwarzania koagulazy, co pozwoliło na zaobserwowanie stopnia zgodności pomiędzy opornością i chorobotwórczością szczepów. W tab. 3 zebrano uzyskane wyniki.

Analiza wyników przedstawionych w tab. 3 wykazuje, że szczepy koagulazo-dodatnie są w dużym stopniu odporne na penicylinę (74,41%) i streptomycynę (62,79%). Natomiast wśród szczepów koagulazo-ujemnych był mniejszy odsetek opornych na te antybiotyki, gdyż wynosił — na penicylinę 26,42% i na streptomycynę 43,39%. O znacznej zgodności pomiędzy opornością i chorobotwórczością możemy mówić jedynie w odniesieniu do streptomycyny i penicyliny, ponieważ na pozostałe antybiotyki jest niewiele szczepów opornych (od około 9% do 12%).

Tab. 3. Wrażliwość na antybiotyki szczepów koagulazo-dodatnich, koagulazo-ujemnych i koagulazo-wątpliwych

Sensitivity to antibiotics of coagulase-positive, coagulase-negative and coagulase-doubtful strains

Ilość szczepów	Koagulazoz-	Stopień wrażliwości	Penicylina	Streptomycyna	Chloromycetyna	Aureomycyna	Terramycyna
43	do-dodatnie	oporne	32 (74.41%)	27 (62.79%)	4 (9.30%)	3 (6.98%)	5 (11.63%)
		słabo wrażli.	4 (9.32%)	7 (16.28%)		1 (2.32%)	1 (2.32%)
		średnio wrażli.	1 (2.32%)	3 (6.98%)			
		wrażli.	6 (13.95%)	6 (13.95%)	39 (90.70%)	39 (90.70%)	37 (86.05%)
53	ujemne	oporne	14 (26.42%)	23 (43.39%)	6 (11.32%)	10 (18.86%)	12 (22.64%)
		słabo wrażli.	9 (16.98%)	6 (11.33%)	4 (7.75%)	2 (3.78%)	1 (1.89%)
		średnio wrażli.	7 (13.21%)	5 (9.43%)	2 (3.78%)	2 (3.78%)	1 (1.89%)
		wrażli.	23 (43.39%)	19 (35.85%)	41 (77.35%)	39 (73.58%)	39 (73.58%)
4	wątpl.	oporne	3 (75.00%)	1 (25.00%)	1 (25.00%)	1 (25.00%)	1 (25.00%)
		słabo wrażli.	1 (25.00)	2 (50.00%)			
		średnio wrażli.					
		wrażli.		1 (25.00%)	4 (75.00%)	3 (75.00%)	3 (75.00%)

Dosyć ciekawie przedstawia się oporność na chloromycetynę, aureomycynę i terramycynę wśród szczepów koagulazo-ujemnych. Podczas gdy u koagulazo-dodatnich odsetek gronkowców opornych dochodził tylko do 12%, to tu jest wyższy, osiągając przy terramycynie 22%. Wśród szczepów koagulazo-wątpliwych 3 są oporne na penicylinę, a 1 na wszystkie antybiotyki jednocześnie.

Wrażliwość szczepów przedstawia się następująco: wśród koagulazo-dodatnich obserwuje się niewielki procent na penicylinę oraz streptomycynę (13,95%), natomiast na pozostałe antybiotyki szczepy te były

wrażliwe w około 90,00%. Gronkowce koagulazo-ujemne były w znacznie większym stopniu wrażliwe na penicylinę (43,39%) oraz streptomycynę (35,85%), natomiast na pozostałe antybiotyki odsetek wrażliwych jest mniejszy niż obserwuje się to u szczepów koagulazo-dodatnich i wynosi około 75,00%. Tylko 1 szczep z koagulazo-wątpliwych jest wrażliwy na wszystkie antybiotyki z wyjątkiem penicyliny, a 2 wykazywały wrażliwość tylko w stosunku do chloromycetyny, aureomycyny oraz terramycyny.

Z powyższej analizy wynika, że badane szczepy zarówno koagulazo-dodatnie, jak i koagulazo-ujemne są w przeważającej liczbie wrażliwe na chloromycetynę, aureomycynę i terramycynę. Dzięki dużej wrażliwości na wspomniane antybiotyki uzyskano pomyślne wyniki lecznicze.

W toku badania oporności gronkowców na antybiotyki poczyniono spostrzeżenia odnośnie szczepów koagulazo-ujemnych, wśród których nieliczne, będąc odporne na antybiotyki, wykazywały dużą aktywność biochemiczną, co pozwoliłoby na uznanie ich za chorobotwórcze, gdyby nie brak własności koagulacyjnych.

W ostatnich latach zwrócono uwagę, że nabywanie oporności *in vitro* przez gronkowce, powoduje utratę niektórych ich właściwości biochemicznych. Doniesienia wielu autorów dotyczyły głównie koagulazy gronkowcowej, fermentu uważanego powszechnie za najistotniejszą cechę zjadliwości tego drobnoustroju (Wright i wsp. Mason, Meyer, Krzywy). Z prac wspomnianych autorów wynika, że szczepy koagulazo-dodatnie, a więc potencjalnie chorobotwórcze, pasażowane w obecności antybiotyków, tracą niektóre właściwości biochemiczne, najczęściej zdolność wytwarzania koagulazy, przez co stają się niezjadliwe.

Powstaje pytanie w jakim stopniu u szczepów przenoszonych biernie z jednego makroorganizmu do drugiego i narażonych bardzo często na intensywne traktowanie antybiotykami, zachodzą podobne zjawiska osłabienia, względnie utraty zjadliwości.

Z naszego materiału wyosobniono 5 szczepów, które pomimo że nie posiadały właściwości koagulacyjnych, wytwarzały fosfatazę, hemolizynę α , żelatynazę, rozszczepiały mannitol, a 2 z nich wytwarzały barwnik żółty, a więc wykazywały cechy odpowiedzialne zasadniczo za ich chorobotwórczość. Dlatego ciekawy wydaje się brak posiadania zdolności koagulacyjnych u tych 5 szczepów. Wszystkie były odporne na penicylinę, streptomycynę, aureomycynę i terramycynę, na chloromycetynę tylko 4, a 1 był słabo wrażliwy.

Biorąc za punkt wyjścia obserwacje wspomnianych autorów poczynione *in vitro*, nasuwa się pytanie, czy gronkowce koagulazo-ujemne, wycosobnione z materiału zakaźnego, reagujące dodatnio w wielu pró-

bach biochemicznych i wykazujące oporność na antybiotyki, posiadały zdolność ścinania plazmy przed leczeniem antybiotykami w organizmie żywym.

Nasze spostrzeżenia, dotyczące bardzo małej liczby szczepów, wyłonione podczas badania roli gronkowców w powikłaniach połogowych, dotyczą zagadnienia, które zasługuje na dokładne opracowanie na dużym materiale klinicznym, co będzie tematem oddzielnej pracy.

WNIOSKI

1. W zakaźnych powikłaniach połogowych stwierdza się dość często gronkowce chorobotwórcze (w około 40%).

2. Najwięcej szczepów opornych okazało się na streptomycynę i penicylinę zarówno wśród szczepów chorobotwórczych, jak i niechorobotwórczych. Na pozostałe antybiotyki odsetek szczepów opornych był niewysoki.

3. Duża wrażliwość gronkowców na chloromycetynę, aureomycynę i terramycynę (około 90%) pozwoliła na szybkie opanowanie powikłań.

PIŚMIENNICTWO

1. Barber M., Brooksbank B. W. L., Kuper S. W. A.: Staphylococcal phosphate glucuronidase and sulphatase. *J. of Path. and Bact.*, **33**, 57—62, 1951.
2. Barber M., Kuper S. W. A.: Identification of *Staphylococcus pyogenes* by the phosphatase reaction. *J. of Path. and Bact.*, **53**, 65—70, 1951.
3. Greenhill J. P.: *Obstetrics*. Ed. 11, Philadelphia 1957, 868—876.
4. Krzywy T., Stanecki J., Fast J.: Zmiany własności biochemicznych *staphylococcus aureus* uodparnianego *in vitro* na antybiotyki. *Med. Dośw. i Mikr.*, **2**, 185—189, 1958.
5. Martius H.: *Die Geburtshilfe*. V, Stuttgart 1956, 314—330.
6. Mason H. C.: Food-poisoning *Staphylococci* and the order of their resistance to penicillin. *J. Immunol.*, **51**, 307—312, 1945.
7. Meyer G., Drude A.: Experimenteller Beitrag zur Resistenzsteigerung bakterieller Erreger gegen Streptomycin und Aureomycin. *Zeitschr. f. Hyg.*, **136**, 233—243, 1953.
8. Meyer W.: Die endemische Verbreitung von Staphylokokken in Entbindungsanstalten. *Zentrbl. f. Bact.*, **168**, 542—554, 1957.
9. Nikolajew A. P.: *Praktičeskoe Akuszerstwo*. Gosmedizdat, USSR, Kijów 1958, 494—520.
10. Pakuła R., Rabczyńska F., Załęska H.: Fosfataza jako wskaźnik chorobotwórczości gronkowców. *Med. Dośw. i Mikr.*, **1**, 71—77, 1953.
11. Pakuła R., Rabczyńska F., Dobrzański Wł., Eysmontt I., Sosnowska A., Budzynowska J.: Wrażliwość na antybiotyki gronkowców izolowanych w różnych środowiskach. *Med. Dośw. i Mikr.*, **4**, 399—406, 1955.
12. Pietczenko A. I.: *Akuszerstwo*. Gosmedizdat, Kijów 1955. 414—430.
13. Wright S. S., Purcell E. M., Wilcox C., Broderick M. K.,

Finland M.: Antibiotic combination and resistance to antibiotic. J. Lab. Clin. Med. 42, 877—886, 1953.

Р Е З Ю М Е

Авторы в настоящей работе занялись рассмотрением частоты выступления стафилококков в случаях инфекционных послеродовых осложнений, их биохимических особенностей, имеющих значение для определения их болезнетворных свойств, а также их устойчивости к наиболее часто применяемым антибиотикам с помощью метода бумажных дисков.

Были взяты соскобки слизистой из шейки матки от 103 рожениц на 3—4-ый день после родового периода. На основании их анализа выделено 100 штаммов стафилококка, а в том числе 43 штамма с болезнетворными свойствами.

Стафилококки обладали большой устойчивостью к стрептомицину и пенициллину. Большая чувствительность к прочим антибиотикам имела несомненное влияние на благополучный исход лечения.

Произведенные исследования показывают, что стафилококки играют огромную роль в инвекционных осложнениях.

Табл. 1. Результаты исследований, доказывающие образования коагулазы золотистыми и белыми стафилококками.

Табл. 2. Сопоставление прочих биохимических особенностей со способностью образования коагулазы исследуемыми штаммами.

Табл. 3. Чувствительность к антибиотикам штаммов, продуцирующих коагулазу, не продуцирующих её и сомнительных в этом отношении.

S U M M A R Y

The authors studied the frequency with which *staphylococci* occur in septic puerperal complications and the biochemical properties which determine the virulence of these microorganisms. The resistance to the commonly used antibiotics was determined by the disc method.

Smears from the cervix of the uterus were taken from 103 women on the 3-rd or 4-th day after delivery and 100 *staphylococcus* strains were isolated, of which 43 were virulent. The microorganisms were highly resistant to streptomycin and penicillin. On the other hand, their great sensitivity to other antibiotics undoubtedly contributed to the successful conclusion of the therapy.

The authors conclude that *staphylococci* play an important part in septic puerperal complications.

