



ESTUDO COMPARATIVO REALIZADO COM 3 MEIOS DE CULTURA PARA DETECTAR AMOSTRAS DE **CORYNEBACTERIUM DIPHTERIAE** *

CLEOMENES REIS ** MÁRIO DINIZ *** AUGUSTO LUIZ F. BRAGA *** M. NADER M. KOLELAT ****

RESUMO

Estudamos 35 casos de pacientes internados no Hospital Oswaldo Cruz, em Goiânia, Goiás, de agosto de 1972 a março de 1973, com suspeita clínica de difteria. Em 4 casos a bacterioscopia pelo método de coloração de Albert Laybourn, não revelou a presença de bacilos portadores de grânulos metacromáticos, e um destes casos revelou crescimento de colônias de *Corynebacterium diptheriae* nos meios de cultura seletivos.

A comparação do tempo de crescimento colonial entre um meio de cultura recentemente elaborado (RDK) e os meios tradicionais de Hoyle e Gundel-Tietz, mostrou vantagens pronunciadas para o primeiro, que revelou nas primeiras 24 horas o índice de 60,2%, enquanto os meios acima revelaram, respectivamente, os índices de 15,6% e 12,5%.

Foram positivos 32 casos, apresentando morfologia colonial característica da espécie e dos tipos nos 3 meios observados até 72 horas.

Os exames das amostras de *Corynebacterium diptheriae* revelaram, entre os pacientes estudados, maior fre-

quência do tipo "mitis" (65,6%); menor frequência do tipo "gravis" (6,2%); frequência intermediária do tipo "intermedius" (28,1%).

INTRODUÇÃO

Trabalhos de investigação sobre meios de cultura para a detecção de amostras de *Corynebacterium diptheriae* não têm sido realizados frequentemente. Alguns meios são citados seguidamente, tais como o de Anderson¹, de Clauberg e Gundel-Tietz³, de Hoyle^{4,6} e outros.

Na prática, encontramos muitas vezes dificuldade em detectar, rapidamente, amostras destes microorganismos, principalmente nos meios de cultura tradicionais.

Tendo sido elaborado em 1972 um meio de cultura enriquecido e seletivo para a pesquisa de *Corynebacterium diptheriae*⁵, tivemos a intenção de compará-lo

* Trabalho realizado no Laboratório de Bacteriologia do Instituto de Patologia Tropical, da Universidade Federal de Goiás.

** Professor Titular — Departamento de Microbiologia — IPT - UFG.

*** Professores Assistentes — Departamento de Microbiologia — IPT - UFG.

**** Residente, Estagiário, Bolsista — Departamento de Microbiologia — IPT - UFG.

com alguns daqueles meios acima citados, e verificar a frequência dos tipos ou variedades desse bacilo toxigênico em nosso meio⁵.

Escolhemos os outros dois meios devido a ser atribuído aos mesmos, grande capacidade seletiva e velocidade de crescimento, bem como facilidade de preparação.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas placas de Petri, "Anumbra", de 100x20mm, contendo meios de cultura sólidos com telurito de potássio, de Hoyle^{4,6}, de Gundel-Tietz³ e de RDK⁵, sempre 3 placas para cada caso.

Foram usados "swabs" para coleta do material dos pacientes e, no prazo máximo de 40 minutos, foram levados a 0,5ml de água peptonada e manipulados nesse líquido, para melhor difusão do material colhido. Em seguida, os próprios "swabs" eram usados para os esfregaços em lâminas, para coloração pelo método de Albert-Laybourn.

Os resíduos em água peptonada eram diretamente semeados com alça de platina nos meios sólidos descritos, pela técnica do esgotamento. As placas eram levadas, em seguida, à estufa a 37°C e observadas após 16, 18, 24, 28, 32, 48, 56 até 72 horas.

RESULTADOS

Em 31 casos, num total de 35, conseguiu-se a visualização de

Corynebacterium morfológicamente semelhante ao bacilo diftérico. Semeados diretamente em RDK, Hoyle e Gundel-Tietz, e incubados em estufa a 37°C, ofereceram, até 24 horas, índices de crescimento satisfatório em RDK (60,2%), e insuficiente nos demais meios (Tabela I).

Observados até 32 horas, verificou-se melhor desenvolvimento dos microorganismos no meio de Hoyle (40,6%), mas os índices mais satisfatórios pertenceram ao RDK (78,1%). Até 72 horas os resultados foram ótimos nos três meios, uma vez que todas as amostras revelaram crescimento semelhante nas três placas.

Além da morfologia colonial foram estudados os caracteres bioquímicos de todas as colônias. Nenhuma apresentou variação apreciável.

A frequência dos tipos de *Corynebacterium diphtheriae* nas 32 amostras foi a seguinte: *mitis* 21 casos (65,6%); *intermedius* 9 casos, (28,1%); e *gravis* 2 casos (6,2%) (Tabela I).

COMENTÁRIOS

O meio RDK mostrou-se mais propício ao desenvolvimento mais rápido das amostras, devendo, pois, ser utilizado sempre, dado que, em todos os casos de suspeita de difteria deve haver maior urgência de informações ao clínico.

Sugerimos que o meio RDK seja usado mais amplamente, por maior número de pesquisadores e em número bem maior de casos,

TABELA I

ESTUDO COMPARATIVO DA CAPACIDADE DOS MEIOS RDK, HOYLE E GUNDEL-TIETZ
PARA ISOLAR O C. DIPHTHERIAE — I.P.T.-U.F.Go., 1973

N.º de Pacientes	Exames Bacterioscópicos Positivos	Culturas Positivas									Amostras Isoladas		
		Período de Incubação (Em horas)											
		R D K			HOYLE			GUNDEL-TIETZ			Mitis Intermed. Gravis		
		18/24	24/32	48/72	18/24	24/32	48/72	18/24	24/32	48/72			
35	31	20	25	32	6	13	32	4	12	32	21	9	2
100%	91,4%	60,2%	78,1%	100%	15,6%	40,6%	100%	12,5%	37,3%	100%	65,6%	28,1%	6,2%

a fim de que sua eficiência possa ser comprovada.

SUMMARY

COMPARATIVE STUDY OF 3 CULTURE MEDIA FOR DEFECTING *CORYNEBACTERIUM DIPHTERIAE*

35 inpatients of the Hospital Oswaldo Cruz in Goiânia (Goiás-Brazil) with clinical suspicion of diphtheria were studied from August 1972 to March 1973. In 4 cases, bacterioscopy with the Albert-Laybourn stain did not show the presence of rods with metachromic granules; one of these cases revealed growth of colonies of *Corynebacterium diphtheriae* in selective culture media.

In comparing the time of colony growth between a recently developed culture medium (RDK' and the traditional media of Hoyle and Gundel-Tietz, it was noted that corynebacteria grew much more readily in the former, showing an index of 60,2% in the first 24 hours, whereas the latter media revealed a growth index of 15,6% and 12,5%, respectively.

32 cases were positive, showing the typical colonial morphology of the organisms in all 3 culture media which were observed for 72 hours.

Examination of samples of *C. diphtheriae* in the present study revealed greater incidence of the the "mitis" type (65,5' followed by the "intermedius" type (28,1%), while the "gravis" type was seen in 6,2% of the cases.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANDERSON, P.M. — A simple medium for the detection of *Corynebacterium diphtheriae*. *Med. J. Aust.* 1, 213, 1944.
2. BBL — Manual of Products and Laboratory Procedures, 5.^a ed., Bio-Quet., Division of Becton, Dickinson and Co. 108, 1969.
3. BIER, O. — Bacteriologia e Imunologia, 11.^a ed., Editora Melhoramentos, S. Paulo, 773,774, 1963.
4. CRUICKSHANK, R. — Microbiologia Médica — F. Calouste Gubenkian, Lisboa, Trad. M. Serpa dos Santos, 2.^a ed., 785, 1968.
5. REIS, C.; DINIZ, M. & KOLEILAT, M. N.M. — Diagnóstico laboratorial da difteria realizado com um novo meio de cultura na complementação do Eugonagar. *Rev. Pat. Trop.* 1, 409-413, 1972.
6. YOUNG, M.I. — Diphtheria diagnosis with Hoyle's medium. Saponin and Sodium diethyl-sulpho-succinate as hemolyzing agents in the preparation of the medium. *J. Path. Bact.* 54, 253, 1942.