

628.3:576.851.49

PŘÍSPĚVEK K PRŮKAZU SALMONEL V ODPADOVÝCH VODÁCH

Kapitán MUDr. Dušan HUTÁK, major MUDr. František KYNTERA

Odpadové vody, jako častý vektor patogenních mikroorganismů, představují za dnešního, možno říci téměř katastrofálního stavu zneškodňování odpadových vod stálý pramen šíření infekčních nemocí. Při sledování obsahu patogenních zárodků v odpadových vodách se naráží na četné obtíže, z nichž největší jsou spojeny s přítomností nesčetného množství saprofytických bakterií, které svou masou, antagonistickým působením, rychlejším množením atd. při laboratorním vyšetření překrývají patogenní mikroorganismy a často znemožňují jejich poznání i tam, kde jejich přítomnost lze s jistotou očekávat.

Metody používané k izolaci patogenních mikroorganismů ze silně znečištěných prostředí se zakládají z největší části na použití elektivních kultivačních půd.

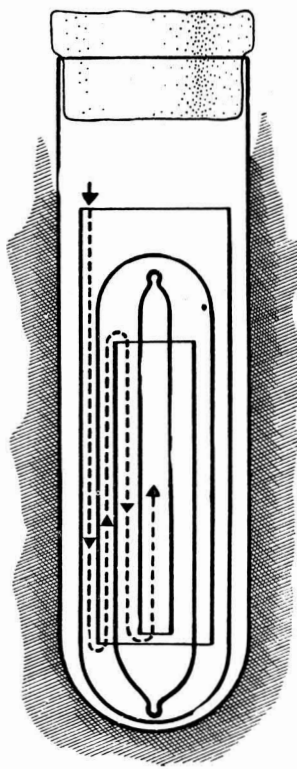
Berezov publikoval v r. 1935 svou metodu k izolaci salmonel z odpadových vod, zakládající se na skutečnosti, že salmonely jeví velmi rychlý pohyb a jsou tak schopny proniknout do vhodného prostředí dříve než většina přimíšených mikroorganismů. S touto metodou se seznámil a na Ústav hygieny VLA ji dovezl prof. Liškutín při svém posledním zájezdu do SSSR, kde byla znovu ověřována a zaváděna v Institutu obščeji gigieny u prof. Litvinova. Poněvadž chyběly bližší údaje o používání kultivačních půd i zpracování vzorků, provedli jsme řadu pokusů s uměle infikovanými odpadovými vodami a později s přirozeně zamořenými odpadovými vodami.

Popis metody

Berezovův systém se skládá ze 4 rourek různého průměru, které lze zasunout postupně do sebe. Roučky se skládají vždy otvorem proti sobě, aby se vytvořil labyrint. Celek se vkládá do větší bakteriologické zkumavky a plní se pomnožovací půdou.

Jako pomnožovací půdy jsme použili hovězí žluče, půdy se seleničtanem a půdy podle Kauffmanna. Půda podle Kauffmanna se nám neosvědčila pro mechanické ucpávání zkumavek uhličitanem vápenatým,

Pomnožovací půdy s Berezovými zkumavkami jsme očkovali odpadovou vodou arteficiálně infikovanou suspensí salmonel v množství 1 ml odpadové vody na 10 ml tekuté pomnožovací půdy. V pokusech jsme pracovali s těmito sbírkovými kmeny salmonel:



Salmonella typhi abdominalis, *S. paratyphi* B., *S. typhi* murium, *S. enteritidis*, *S. newport*, *S. infantis*, *S. berta*, *S. anatum*, *S. budapest*, *S. blegdam*, *S. oranienburg*, *S. lexington*, *S. cholerae* suis, celkem 13 druhů.

Příprava suspense

Z 24hod. kultury na šikmém sérovém agaru byla smyvem provedena suspence ředěná fyziol. roztokem. Suspensi jsme nefelometricky upravovali na přesné hodnoty. Základní suspence byla 1 miliarda zárodků v 1 ml. Z této výchozí suspence postupným ředěním přirozenou odpadovou vodou z městské kanalisace, bakteriologicky kontrolovanou na přítomnost salmonel jsme připravovali série vzorků s různým titrem salmonel.

Do zkumavek s 10 ml pomnožovací půdy jsme očkovali 1 ml odpadové vody se suspensí salmonel v titru od 1 miliónu (1 ml, do 0,0001) 1 mil. Naočkované zkumavky byly inkubovány při 37° C po dobu 24 hod. Po této době jsme vyočkovali obsah první (vnější) a páté (vnitřní) zkumavky na tuhé půdy podle Enda, Christensena, Wilsona-Blaira, na desoxycholátové půdy a na půdy navržené Kynterou (metoda publikována ve VZL č. 4, 1957).

Na Petriho misku s tuhou půdou jsme vyočkovali vedle sebe obsah první a páté zkumavky s cílem snazšího porovnání účinku Berezovovy metody. Při diagnostice salmonel na pevných půdách se nám dobře osvědčila metoda identifikace salmonel pomocí průkazníků, navržená Kynterou, pro svou názornost, jednoduchost, citlivost a úplné potlačení plavivého růstu kmenů *Protea*, který znehodnocuje výsledky kultivace na klasické Endově půdě. Po 24hodinové

kultivaci při 37° C jsme odečítali z tuhých půd makroskopicky a poměr salmonel k ostatním saprofytům jsme vyjadřovali v % odhadem. Podezřelé kolonie jsme identifikovali biochemicky, na cukrové řadě v tomto složení: laktosa, glukosa, indol, sirovo-dík, mannit, sacharosa, maltosa. Biochemické vlastnosti salmonel na cukrové řadě v pokusu jsme srovnávali s výsledky kontroly kvasných vlastností před pokusem.

Výsledky: Celkem jsme provedli 30 sérií pokusů v době od listopadu 1956 do května 1957. Do konečné sestavy výsledků bereme 20 pokusů po odečtení 8 úvodních pokusů a 2 pokusy s technickou závadou. V těchto pokusech bylo naočkováno infikovanou odpadní vodou celkem 159 Berezovových zkumavek. Z tohoto množství se nám podařilo 135krát izolovat zpětně salmonely, tj. v 84,9%. Vyočkováním z první a páté zkumavky jsme zjistili celkem 111krát signifikantní převahu salmonel v páté zkumavce ve srovnání s první zkumavkou, tj. 84,4 %. V 8 případech byl poměr salmonel a saprofytů přibližně stejný v první i páté zkumavce, tj. 5,1 %, a v 16 případech byla signifikantní převaha salmonel v první zkumavce, tj. 11,8 %. Ve 24 případech, tj. 17,7 %, jsme vyisolovali salmonely z 5. zkumavky v čisté kultuře.

Tabulka 1.

Poř. č.	Lokalita	Dat.	Počet vzorků			Počet vzorků pozitivních		
			voda	bahno	škeble	voda	bahno	škeble
1	Bohdaneč	26. 6. 57.	3	0	0	3	0	0
2	Bohdaneč	23. 10. 57.	7	1	2	0	0	0
3	Smiřice	30. 1. 58.	4	0	0	4	0	0
4	Dolní Dobrouč	27. 2. 58.	6	2	0	3	2	0

Po osvědčení Berezovovy metody v laboratorních pokusech jsme vyšetřili několik terénních vzorků vod, kde jsme předpokládali výskyt salmonel. Za tím účelem jsme odebírali vzorky ve Státní kachní farmě Bohdaneč, Dolní Dobrouč a ve Stát. výkrmně vepřů Smiřice v době mezi červnem 1957 a únorem 1958. Výsledky jsou shrnuty v tabulce 1.

Z tabulky vyplývá toto:

Zpracovali jsme celkem 25 vzorků suspektního materiálu z terénu. Z toho se podařilo vyisolovat salmonely Berezovovou metodou v 12 případech, tj. 48 %. Souběžně prováděná kontrolní vyšetření klasickou metodou sedimentace byla pozitivní ve 4 případech, tj. v 16 %.

V terénním pokusu se tedy Berezovova metoda přesvědčivě osvědčila, poněvadž záchytnost salmonel v přirozených odpadových vodách, prováděná metodou Berezovovou, byla o 32 % citlivější než metoda sedimentace s následným vyočkováním do pomnožovacích půd.

Diskuse

V současné literatuře (Tec, Symon a jiní) se k průkazu salmonel v odpadových a povrchových vodách doporučuje metoda přímého vyočkování sedimentu nebo filtrátu na pevné anebo pomnožovací půdy, tj. očkování koncentráty komplexu mikrobů obsažených ve vodě. Berezovova metoda umožňující elektivní koncentraci salmonel v páté zkumavce, snižuje antagonistické působení saprofytických bakterií, a tím vytváří příznivější podmínky pro přímou diagnostiku salmonel v odpadových vodách. Výsledky pokusů i terénní vyšetření ukazují přesvědčivě na vysoký stupeň záchytnosti salmonel se značným selektivním efektem. Metoda je jednoduchá, technicky, materiálně i personálně nenáročná. Vtipně využívá přirozené vlastnosti salmonel – rychlé pohyblivosti – k izolaci ze znečištěného prostředí. Metodu lze doplnit použitím koncentrace vzorků pomocí membránových filtrů, a tak vyšetřovat i povrchové vody.

*) Předneseno na II. Liškutinových pracovních hygienických dnech v Hradci Králové dne 10. dubna 1958.