

ZJIŠŤOVÁNÍ COLI-AEROGENES V PITNÉ VODĚ V POLNÍCH PODMÍNKÁCH

Prom. biolog Jaromír VEGER, Vojenský ústav hygieny, epidemiologie a mikrobiologie, Praha

Při zjišťování zdravotní nezávadnosti pitné vody bakteriologickým rozbořem v polních podmínkách je počítáno za předpokladu dostatečně přesného vyšetření s větším množstvím potřebného vyšetřovacího materiálu. Při našich terénních pracích jsme průběhem času zjednodušili celé vyšetření na nejnutnější míru potřebného materiálu při zachování co největší přesnosti a průkaznosti. Zjednodušení se dotýká: 1. vlastního zpracování vzorku a 2. průkazu hledaných mikrobů.

1. Vlastní zpracování vzorku

K zpracování vzorku používáme membránových filtrů a filtračního aparátu. Celé zařízení používáme ve formě příruční soupravy v koženém pouzdře, kde jsou jednotlivé části vhodně upevněny. Jednotlivé části soupravy: Seitzův filtrační aparát o 30 mm, kovový těsnicí kroužek, polyethylenová baby láhev, pinseta, lihový kahánek, krabička s filtry, zapalovač, Petri misky s Endovou půdou.

Popis práce: sterilizace sítky, nálevky, pinsety a těsnicího kroužku se provádí vyžeháním v plameni kahánku. Tento způsob sterilizace plně dostačuje. Těsnicí kroužek používáme kovový namísto běžně používaných prýžkových, majících četné nevýhody. Filtrace: po upevnění Seitze do hrdla láhve založíme filtr bez podložky, zašroubujeme nálevku až ke kovovému těsnění a nalijeme potřebné množství zkoušené vody. K tomu účelu je na vnitřní straně nálevky vyryta ryska, takže odpadá pipetování. Zmáčknutím plastické láhve se vypudí vzduch postranním vzduchovým otvorem u Seitzova aparátu. Takto získaný podtlak v láhvi udržíme přidržetím postranního otvoru prstem. Vzniklý podtlak v láhvi je natolik dostačující, že umožňuje filtrování vody přes filtry o střední velikosti pórů 700 mu. Nedostačuje-li jedno zmáčknutí, opakujeme dle potřeby (záleží na velikosti pórů a čistotě vody). Podle naší praxe dostačuje 1–2× u německých filtrů č. 3, vyvařených a uložených v 30% ethylalkoholu. Po filtraci vyjmeme filtr a přiložíme na Endovu půdu, kde se přebytečná vlhkost na povrchu filtru vsaje do agaru. Inkubace v termostatu, a ne-li, možno použít osobních inkubačních vest.

Vzhledem k tomu, že identifikování mikrobů skupiny coli-aerogenes na Endu není průkazně přesné a je zatíženo velkým počtem chyb, používáme identifikace přesnější, kterou jsme si na základě poznatků zjednodušili na reakci v 1 zkumavce, opět při zachování maximální přesnosti

a průkaznosti. Test je velmi spolehlivý, jednoduchý a pracovně nenáročný.

2. Průkaz coli-aerogenes v 1 zkumavce.

Podezřelé kolonie, vyrostlé na filtru na Endově půdě, přeočkujeme do zkumavky s tekutým médiem a po inkubaci zjišťujeme pomocí barevného indikátoru a tvorby plynu přítomnost mikrobů typu g. Escherichia, g. Aerobacter a ostatních ve vodě se vyskytujících mikrobů.

Rp. půdy: laktosa 5 gr, pepton 5 gr, K₂HPO₄ 5 gr, dest. voda 1000 ml, pH = 7,4. Půda se rozplňuje do zkumavek po 5 ml a 2× sterilizuje v proudící páře.

Očkovat nutno pouze gramnegativní nesporující tyčky, lehce na Endu odečítatelné, a po inkubaci 16–28 hod. při 37° C odečítáme tvorbu plynu a zjišťujeme výslednou pH hodnotu půdy přidáním barevného indikátoru.

Barevný indikátor:

A) bromthymolová modř 0,2 gr, dest. voda 500 ml. Barvivo se rozpustí ve vodě a po kapkách se přidává přesně 6,4 ml 0,05n NaOH.

B) methylčerven 0,2 gr, spiritus c. benzino 500 ml.

Indikátor k použití: A : B = 2 : 1. Základní barva je zelená. Do kultury přidáváme po inkubaci 5–10 kapek a ihned odečítáme.

Hodnocení:

g. Escherichia	červená s plynem
g. Aerobacter	žlutá až žlutozelená s plynem
anaerogenní Escherichia	červená bez plynu
ostatní mikroby	zelená (ev. žlutá) bez plynu

Popsaný vyšetřovací způsob byl s úspěchem vyzkoušen při řadě terénních akcí naší laboratoře. Jeho zásadní výhodu, mimo pracovní nenáročnost a materiálovou úspornost, shledáváme v možnosti okamžitého zpracování vzorku na místě. Vyšetření přímo u zdroje dává záruku získání co nejpřesnějších výsledků, protože vlivem transportu se může podle našich zkušeností a údajů z literatury složení vzorků kvantitativně i kvalitativně dosti značně změnit a výsledek vyšetření pak nemusí odpovídat skutečnému stavu vody ve zdroji. Tuto vyšetřovací metodiku je možno výhodně uplatnit u laboratoří HEO a zvláště HEČ.

Filtrační souprava, použití kovového těsnicího kroužku a jednozkumavkový průkaz mikrobů C-A je předmětem ZN v ÚVN Praha. Podrobný popis, zdůvodnění a získané výsledky s jednozkumavkovou identifikací coli-aerogenes budou publikovány zvláště. Literatura k tematice je k dispozici u autora.

Souhrn

Je popsán jednoduchý, materiálově a pracovně úsporný způsob vyšetření pitné vody na mikroby coli-aerogenes v polních podmínkách a pro hygienické účely dostatečně přesná metodika průkazu těchto mikrobů.