

# Použití membránových filtrů při sanitačně bakteriologických rozbořech

576.8 : 658.562.542 67

O. BENDOŤÁ

*Autorka podává zprávu o výsledcích porovnávacích zkoušek při zjišťování zárodků E. Coli ve vodě metodou membránových filtrů a Ficker-Partišovou metodou. Dokazuje, že použití membránových filtrů je jednodušší, rychlejší a hlavně přesnější.*

Potravinářský průmysl vyžaduje, aby jeho výroba odpovídala požadavkům hygieny. Proto se provádí bakteriologická kontrola výroby a výrobků samotných, při čemž jedním z ukazatelů jejich sanitálního stavu je zkouška na přítomnost zárodků E. Coli, jakožto indikátorů fekálního znečištění. Metody, kterých se při bakteriologické kontrole používá, je třeba neustále zdokonalovat, aby byl zachycen v žádaném směru přesný bakteriologický obraz vzorku. Dosavadní metodikou se stanoví počet zárodků E. Coli v menším množství vzorku. Obsahuje-li vzorek větší počet těchto zárodků, stávající metoda vyhovuje velmi dobře. Jinak je tomu, obsahuje-li vzorek nepatrné množství zárodků E. Coli. V tomto případě se může stát, že vzhledem k malému množství odměřovaného vzorku se shodou okolností zárodek nezachytí a neurčí, přestože se později při výrobě může jasně uplatnit. Tuto nedostatečnou citlivost metody odstraňuje v posledních letech v cizině zaváděná metoda membránových filtrů, která je velmi snadná a jednoduchá. Metoda spočívá k tomu, že se určité množství zkoumaného materiálu přefiltruje membránovým filtrem, který se přiloží na pevnou živnou půdu. Během inkubace v thermostatu difundují živné látky na povrch filtru, na němž vyrostou kolonie mikrobů. Předností této metody je nejen její rychlost, nýbrž i možnost provést analýsu většího množství vzorků i jejich počtu. To je zvláště významné, jak již bylo řečeno, v případě, kdy se jedná o vzorek, obsahující stopy fekálního znečištění. Při metodě Ficker-Partišové se pracuje se 20—40 ml vzorku, při čemž metoda je zdlouhavější. Je proto velmi výhodné, že membránovým filtrem můžeme přefiltrovat až 1 litr vzorku, čímž značně zvýšíme přesnost rozboru.

Již v letech před druhou světovou válkou, ale zvláště pak po jejím ukončení, našly membránové filtry široké uplatnění. Jsou to bílé elastické membrány, které dovedou na svém povrchu zachycovat různé druhy mikrobů podle prostupnosti svých pórů; po chemické stránce skládají se z esterů celulosy (nitrát, acetát). Vyrábějí se v SSSR, USA a v západním Německu s různou velikostí pórů od

5—5000  $\mu$  a s různými průměry od 20 do 300 mm. Lze jich použít k různým účelům, a to nejen k bakteriologické kontrole pitných a odpadních vod nebo různých potravinářských produktů, nýbrž i ke studiu vod povrchových, jejich fytoplanktonu, dále v lékařské mikrobiologii, na př. při zjišťování zárodků Tbc v infekčním materiálu, ve virologii, parazitologii, ve farmacii při přípravě sterilních filtrátů, injekčních roztoků, při filtraci pyrogenů a pod. Membránové filtry mají své použití i v koloidní chemii, neboť jimi může být prováděna i izolace některých bílkovinných frakcí. Podle literárních údajů vyrábějí se dnes v Německu i speciální filtrační membránové vrstvy, kterých může být použito ve farmaceutickém průmyslu a rovněž i při výrobě piva, vína, různých ovocných šťáv a moštů, při čemž neudělují výrobku žádnou příchut.

Vyzkoušela jsem filtry sovětské výroby č. 3 o  $\varnothing$  35 mm. Průměr jejich pórů je 0,7  $\mu$  a průměrná doba filtrace 500 ml čisté vody při tlakovém rozdílu 0,5 atm 2,25 min. Tyto filtry se nejlépe hodí pro zjišťování počtu zárodků E. Coli ve vodě nebo jiném materiálu. Před rozbořem je třeba filtry prohlédnout, nejsou-li snad zjevně porušeny, a tužkou označit číslicemi. Potom se filtry vloží do kádinky s destilovanou vodou, zahřejí na 50—60 °C, při čemž se voda 2—3krát vymění. Pak se filtry dvakrát po 15 minutách mírně povaří, při čemž je třeba vodu po každé vyměnit. Takto se z filtrů odstraní vzduch a zbytky rozpouštědel, kterých bylo použito k výrobě. Prudkým varem se filtry mohou poškodit, neboť bublinky vodní páry roztrhají póry filtrů, čímž je způsobeno, že filtry propouštějí bakterie. K filtraci bylo použito Seitzova přístroje, připojeného na vodní vývěvu. Aparát se může sterilovat v autoklávu. Při rozboru více vzorků se dosáhne rychlé sterilace tím, že se přístroj vytře vatovým tamponem, smočeným v lihu a ožehne. Po ochlazení přístroje se ožehnutou pinsetou položí na sítku kolečko sterilního filtračního papíru, předem smočeného ve sterilní vodě, a to proto, aby se membránový filtr kovovou sítkou nepoškodil. Poté se do přístroje vloží membránový filtr, utěsní gumovou



těsnicí vložkou a našroubuje se horní část Seitzova přístroje. Nejvhodnější je filtrovat vždy takové množství vzorku, aby na filtru nevyrostlo více kolonií než 50. Je však možné na filtru spočítat i více kolonií, a to 50–100 za současného použití lupy. Při příliš vysokém počtu vyrostlých kolonií je třeba počítat s tím, že výsledek bude nepřesný, neboť se zde může uplatňovat antagonismus mikrobů. Jedná-li se o vzorek se značným obsahem mikrobů, je proto třeba jej vhodným způsobem zředit. Při filtraci vzorků, které jsou mechanicky znečištěné, provádí se t. zv. dvojstupňová filtrace s použitím t. zv. předběžných filtrů. Těmito filtry prakticky projdou všechny bakterie, avšak zachytí se jimi mechanické nečistoty, které by ucpaním pórů membránových filtrů znesnadňovaly filtraci. Po skončené filtraci se sejme nálevka Seitzova přístroje, filtr se vyjme opálenou pinsetou a položí na pevnou živnou půdu tak, aby nikde nevznikaly vzduchové bubliny. Označená strana filtru se zachycenými bakteriemi je obrácena nahoru. Na Petriho misce o  $\varnothing$  9 cm je možno umístit vždy 3 filtry.

Při této metodě je výhodné, že filtr je možno uschovat jako dokument rozboru. Filtry se sejmou s živného agaru, položí na filtrační papír do Petriho misky a usuší v termostatu při 30 °C. Potom se několik hodin suší v sušárně při 80 °C.

Membránové filtry je možno uchovávat v suchu, avšak nedoporučuje se uchovávat je tak déle než rok, neboť se pak stávají křehkými a propouštějí bakterie. Při delší úschově mají podle údajů A. A. Preobraženského být uloženy v 30 % vodném roztoku alkoholu.

Vzhledem k tomu, že metoda membránových filtrů se proti metodě Ficker-Partišové vyznačuje přednostmi, které byly uvedeny na začátku tohoto článku, chtěla jsem zjistit, do jaké míry se kryjí hodnoty, získané oběma metodami. Proto bylo analysováno několik vzorků vod s různým obsahem zá-

rodků *E. Coli* oběma metodami současně. Při práci s membránovými filtry jsem postupovala tak, že filtry se zachycenými zárodky jsem přiložila na misky s endoagarem, které jsem uložila do termostatu při 37 °C. Po 24 hodinách vyrostly na filtrech červené kolonie *E. Coli* s typickým fuchsinovým leskem. Filtry byly růžově zbarveny a pod nimi v místě kolonií byla půda tmavě červená.

Z uvedené tabulky je zřejmé, že výsledky, získané oběma metodami, jeví určité rozdíly, které vynikají zvláště tam, kde je použito vzorku s nízkým obsahem zárodků *E. Coli*. U vzorku č. 3 a č. 4 jsou hodnoty, získané Ficker-Partišovou metodou, dokonce tak nízké, že mohou značně skreslovat představu o čistotě analysované vody.

Metodu membránových filtrů je možno považovat za přesnější, neboť se na filtru zachytí všechny zárodky z celého množství filtrovaného vzorku, zatím co při metodě Ficker-Partišové nemůžeme dobře nanést na endoagar veškerou ssedlinu se zachycenými mikroby, přestože pracujeme přesně podle předpisů.

Vzhledem k jednoduchosti a přesnosti metody a dále i k úspoře času je možno metodu doporučit. Jedinou překážkou je tu pouze skutečnost, že filtry dosud nevyrábíme, a že tudíž jsme odkázáni na jejich dovoz.

#### Literatura:

1. Beling A.: Die Anwendung der Membranfiltermethode im Brauereibetriebe. (Brauerei 32, [1952], 198–201.)
2. Klos H. u. Reimann R.: Die Anwendung der Membranfiltermethode in der praktischen biologischen Betriebskontrolle. (Brauwissenschaft 1, [1954], 10–12.)
3. Kuzněcov S. I. a Razumov A. S.: Zamečaniya k stat'je. Metod polučeniya membrannykh ultrafiltrrov dlya prjamoego sčeta, svobodnykh ot mikrobnnykh kletok. E. A. Rukina i V. I. Birjuzova. (Mikrobiologija [1952], č. 1, 60.)
4. Preobraženskij A. A.: Bakterii gruppy kišečnoj paločky v pivovarennom proizvodstve. (Trudy Vsjesojuz. naučnoissled. inst. pivov. prom., III. [1953], 85–94.)
5. Preobraženskij A. A.: Mikrobiologičeskij kontrol proizvodstva bezalkogolnykh napitkov. Piščepromizdat, Moskva, 1951.
6. Raible K.: Über die Anwendung der Membranfilter in dem biologischen Brauerei-Laboratorium. (Brauwissenschaft, 7, [1951], 105–108.)
7. Rukina E. A. a Tichonenko A. S.: Svravnitel'naja ocenka metoda poseva na plastinky v čaškach Petri i metoda proraščivaniya na membrannykh ultrafiltrach pri bakteriologičeskom analyse vody. (Trudy instituta mikrobiologii Akad. nauk SSSR II., 180–187, 1952.)
8. Zacharova G. S.: Rasprostranennost kišečnoj paločky v bezalkogolnom proizvodstve i bystryj metod jeho obnaruženiya. (Konsultacija i obměn opytom po pivovarennoj, bezalkogolnoj i drožževoj promyšlennosti I., [1940], 55–58.)
9. Silbereisen K.: Über Ultrafiltration und Elektro-Ultrafiltration. (Wochenschrift für Brauerei 36, [1931], 381–385.)
10. Šerý V.: Použití membránových filtrů v mikrobiologii. — Zpráva o standardisaci mikrobiologické diagnostiky, ÚEN, (1954), č. 78.

Čís. vzorku	Metoda	Počet ml vzorku	Počet zárodků <i>E. Coli</i>
1	membr. filtry	20 20	120 132 /24 hod.
	Ficker-Partiš	20 20	107 110 /24 hod.
2	membr. filtry	20 20	34 31 /24 hod.
	Ficker-Partiš	20 20	14 11 /24 hod.
3	membr. filtry	20	17
		20	15 /24 hod.
		20	13
4	Ficker-Partiš	20	0
		20	3 /24 hod.
		20	0
4	membr. filtry	20	15
		20	16 /48 hod.
		20	14
4	Ficker-Partiš	20	1
		20	2 /48 hod.
		20	0