

BOŻENA KROGULSKA, JADWIGA MALESZEWSKA, JACEK NOWORYTA,
HANNA STYPUŁKOWSKA-MISIUREWICZ, STEFANIA ZIEMIŃSKA

SELEKTYWNE PODŁOŻE DO WYKRYWANIA YERSINIA ENTEROCOLITICA W WODZIE DO PICIA

Z Zakładu Higieny Komunalnej Państwowego Zakładu Higieny w Warszawie
Kierownik: Prof. dr hab. Z. J. Brzeziński
oraz z Zakładu Bakteriologii Państwowego Zakładu Higieny w Warszawie
Kierownik: Doc. dr hab. S. Kałużewski

Praca wykonana w ramach problemu MR-12.

NOTATKA LABORATORYJNA

Po wykonaniu licznych doświadczeń*) zmierzających do uzyskania skutecznej metody wykrywania *Yersinia enterocolitica* w wodzie, opracowano skład podłoża selektywno-różnicującego oraz warunki hodowli.

Skład podłoża Endo-MLCe

Podłoże podstawowe:

Pepton proteose (lub inny równoważny)	— 20 g
K ₂ HPO ₄	— 7 g
Mannitol	— 20 g
Agar	— 12 g
Woda destylowana	— 1000 ml

Składniki uzupełniające:

Laurylosiarczan sodu 5% roztwór wodny	— 5 ml
Cefalotyna**) 1% roztwór wodny	— 5 ml
Fuksyna zasadowa 3% roztwór alkoholo- -wodny (1:1)	— 20 ml
Siarczyn sodu 10% roztwór wodny	— 20 ml
Alkohol etylowy 96%	— 20 ml

Przygotowanie podłoża podstawowego

Rozpuścić w wodzie destylowanej pepton, fosforan i agar. Doprowadzić pH do 7,6, zagotować, przesączyć przez watę, dodać mannitol i rozlać miarowo do butelek. Sterylizować w temperaturze 117°C w ciągu 10 minut. pH końcowe powinno wynosić 7,5. Podłoże przechowywać w chłodni.

Przygotowanie płytek do posiewu

Do rozpuszczonego i ostudzonego do temperatury około 45°C podłoża podstawowego dodać roztwór fuksyny, alkohol etylowy oraz świeżo przygotowane na jałowej wodzie destylowanej roztwory: siarczyn sodu do odbarwienia fuk-

*) Szczegółowe wyniki zostaną podane w oddzielnej publikacji.

**) Używano Cephalotin sodium BP f-my Glax. Lab. lub Keflin f-my Lilly Indianapolis USA.

syny, laurylosiarczanu sodu oraz cefalotyny. Podłoże dokładnie wymieszać i rozlać na płytki *Petriego*.

W zasadzie podłoże powinno być przygotowane bezpośrednio przed użyciem. Okres ewentualnego przechowywania w chłodni nie powinien być dłuższy niż 3 dni.

Wykrywanie *Yersinia enterocolitica* w wodzie

Badaną objętość wody przesączyć przez filtr membranowy Coli 5 i posiewy inkubować na podłożu Endo-MLCe w temperaturze 30°C w ciągu 48 h.

Na opisanym podłożu *Y. enterocolitica* rośnie w postaci czerwonych kolonii z intensywnym fuksynowym, metalicznym połyskiem. Charakterystyczny wygląd kolonii związany jest ze zdolnością fermentowania mannitolu i wytwarzaniem aldehydu.

Na podłożu Endo-MLCe w znacznym stopniu zostaje zahamowany wzrost mikroflory wodnej. Wzrost bakterii grupy *coli* jest tylko częściowo zahamowany. W przypadku wzrostu tworzą one charakterystyczne kolonie z metalicznym połyskiem wcześniej, bo już po 24 h.

Wskazane jest w celu odróżnienia od wyrastających później kolonii *Y. enterocolitica* zaznaczyć je jednym z następujących sposobów:

- 1) dermatografem na odwrocie płytki,
- 2) „uszkodzeniem” powierzchni typowych kolonii jałową eżą.

Do identyfikacji testami biochemicznymi należy wybierać kolonie typowe z metalicznym połyskiem wyrosłe dopiero po 48 h.

Stosując podłoże Endo-MLCe zbadano dotychczas 66 próbek wody pochodzących ze studni kopanych okolic Warszawy. Obecność *Y. enterocolitica* stwierdzono w około 50% badanych próbek, z których wyizolowano 58 szczepów *Y. enterocolitica* potwierdzonych testami biochemicznymi.