

Tapasztalatok az enterális bakteriofágok felhasználhatóságáról az ivóvíz egészségügyi minőségében

Bakteriofágokat felszíni vizekből már a jelenség felismerése után rövid idővel, az 1920-as évektől kezdve igyekeztek kitenyészteni. A bakteriofágok kimutatásának tényét hamarosan összefüggésbe hozták a víz szennyezett-ségével. Maga *d'Hérelle* is tanulmányozta a kérdést, majd nyomában számos szerző végzett munkát ezen a területen.

A higiénikus számára elsősorban a vízből kimutatható enterális baktériumokra ható bakteriofágok fontosak. A bakteriofágok a természetben meg lehetőségen elterjedtek. Azonban bélbaktériumokat, és pedig emberre kórokozó bélbaktériumokat oldó fágok csak emberi és olyan állati ürülékkel kapcsolatban jelentkeznek, melyek gazdaként szolgálnak ezen baktériumok számára. Mivel a vízben — főként az ivóvízben — a szennyező anyagok erősen felhígulnak, ezzel együtt a fágkoncentráció is nagymértékben csökken, a fágízist előzetes dúsítási fázis közbeiktatása után tanulmányozzuk. A módszert először *Nyberg* alakította ki, majd számos kutató módosította. *Guélin* (1948) félquantitatív eljárást dolgozott ki, az ún. legkisebb vízmenyiség módszerét, melynek segítségével a dúsítás előtti fágkoncentráció meghatározható. A különböző szerzők a fágthatás indikálására (és a dúsításra) egy, vagy több enterális baktériumtörzset használnak. Az indikátortörzsek számának emelése nehézkesebbé teszi az eljárást, de fokozza a pontosságot. Saját vizsgálatainkban hat indikátortörzset használtunk: egy-egy *S. typhi*, *S. paratyphi B*, *Sh. shigae*, *Sh. flexneri*, *Sh. sonnei* és *E. coli* törzset. A dúsítás után a fágthatást *Gratis* szerint lágyagar rétegben tanulmányozzuk, mely lehetővé teszi a tarfoltok morfológiája szerinti különválasztást.

A szerzők álláspontja arra vonatkozóan, hogy mi a kimutatott fágízis jelentősége, különböző. Az egyik gyakran hangoztatott vélemény szerint a megfelelő enterális baktériumtörzson tapasztalt fágízis a homológ baktérium jelenlétét jelzi. Feltűnő azonban, hogy míg az összefoglaló munkában imittamott ezt az állásfoglalást egészen általánosítva olvashatjuk, addig a konkrét kísérletes eredményekben csak a *S. typhire* vonatkozóan találkozzunk ilyen adatokkal, főként *Guélin* (1955) és *Leclerc* cikkeiben. *Guélin* azt találta, hogy nagy tarfoltot adó *Vi* fágok specifikusak, a kis tarfoltúak nem. A tarfolt nagyság viszont nemcsak a fágtörzs tulajdonsága, hanem sok más, fizikális és kémiai (táptalaj) tényezője eredője. Ezért az utánvizsgálók, így *Lenk* és *Ackermann* szerint a vízből kimutatott *Vi* fág specifikusát csak hosszas laboratóriumi analízissel lehet bizonyítani, mert a különböző morfológiájú *Vi* fágok között egyaránt lehetnek specifikusak és polivalensek. Ezen kívül lényeges *Hudemann* adata: *Vi* fág gyakran előfordul székletben, élelmiszerekben, normális körülmények között is, azaz negatív bakteriológiai lelet mellett. Állati faecesban viszont soha nem volt sem *Vi*, sem *O* fág.

Shigellákra vonatkozóan a specifikus fág gondolata fel sem merül. Ez természetes is, mert a béltraktusban a fágok — mint azt már 1952-ben

hangsúlyozta *Raetting* — csak igen ritkán monovalensek, a gyakori polivalens fágoknál pedig mindig van Shigella-lízis. Nem szabad figyelmen kívül hagyni az előzetes dúsítás jelentőségét sem, mely kétségkívül nemcsak a fágszám emelkedését jelenti, hanem egyben a fágok egyes tulajdonságainak, így a hatásspektrumnak bizonyos mértékű megváltozását, adaptálódást. Természetesen fel kell tételezzük, hogy a dúsítás során csak a rokon baktériumokra ható fágok adaptációja következik be és nem heterológ jellegű változás, mely a kérdést rendkívül bonyolulttá tenné. Az adaptáció eredményeként látszólag monovalens fágtörzs polivalenssé, polivalens fágtörzs pedig megváltozott hatás spektrumúvá lehet. *Marcuse* vizsgálatainál az adaptáció után az eredeti oldóképesség megmaradt, de ugyanakkor új, más törzseket oldó, eredetileg gyenge valenciák felerősödtek és az egész változás új *host range* formájában jelentkezett.

Vizsgálatainkban először külön választottuk az egyes mintáknál a különböző indikátor törzseken kimutatott eltérő és azonos morfológiájú tarfoltokat. Már akkor kiderült, hogy olyan tarfolttípus, mely egy mintánál csak egy indikátor törzsen fordulna elő, rendkívül ritka, 150 megfigyelésből mindössze három esett. Még meggyőzőbbek lettek az eredmények akkor, amikor a kiválasztott, különböző morfológiájú tarfoltot adó fágokat a homológ törzsen ötször passzáltuk, majd újból mind a hat baktériumtörzsen néztük a lízist.

504 vizsgálat alapján az alábbi következtetéseket vonhatjuk le:

— valódi monovalens fágot, mely csak a passzáló törzset lizálta volna, nem találtunk. Polivalensek a kis és nagy tarfoltú fágok, salmonelláknál, shigelláknál egyaránt,

— a passzálás után sokszor egészen eltérő *host range* volt kimutatható. Hasonló jellegű változás volt akkor is, ha az ivóvízmintákat egy vagy több hetes $+4\text{ C}^\circ$ -on történt tárolás után ismételten megvizsgáltuk. Azonos lízis-képet ugyanannál a mintánál ismételten soha nem kaptunk.

Nyilvánvaló tehát, hogy a tárolás, a laboratóriumi kezelés során az ivóvízben előforduló „nyers” fágokban változások zajlanak le, melyek a gazdaspektrum megváltozásában közvetlenül is lemerhetők. A passzálás során lezajlanak olyan változások, melyeknél a lízis a salmonellák, vagy shigellák keretén belül maradt, de számos esetben túllépte azt. Nem kétséges, hogy ezek a változások nemcsak a megfigyelési időszakban, laboratóriumi körülmények között zajlanak le, hanem várhatóan sokkal intenzívebbek természetes körülmények között, az állandóan változó millióhatás, biocoenotikus tényezők miatt.

Éppen ezért túlhaladottnak tekinthető az a felfogás, hogy a vízből a szokásos egyszerű eljárással kimutatott fágok utalnak a homológ baktérium, salmonellák és shigellák jelenlétére. Annál inkább alátámasztható viszont az az álláspont, mely szerint ezek az enterális baktériumokra ható fágok kimutatása a fekális szennyeződés biztos jele. Az általunk elvégzett több, mint 3000 fágvizsgálat során soha nem találtunk enterális baktériumokra ható bakteriofágot, ha a helyszíni vizsgálat során a fekális szennyeződés lehetőségét biztosan ki lehetett zárni. Ezzel szemben mindig pozitív volt az eredmény, ha ez a lehetőség fennállott. Négy, különböző helyen fekvő, ázott, vedres kiemelő szerkezetű kút vizét e célból egy éven keresztül rendszeresen vizsgáltuk. A kutak higiénésen kifogástalan környezetben voltak,

kezelésük sem hagyott semmi kívánnivalót maga után. A kutak vízből egyszer sem lehetett kimutatni enterális baktériumokra ható fagot.

Megfigyeléseink 14⁰/₀-ában egyedül a fáglizis pozitivitása jelezte a vízáadó forrás szennyezettségét. Jelentőségét a sok közül kiragadott egy példával illusztrálom: Kisebb település egy üzemének vízellátása házi vízvezetéken alapult, melyhez egy ásott kút szolgáltatta a vizet. Az igen régi vízvezeték a kút közelében szabálytalanul elhelyezett szennyvízcsatornával kommunikált. Mindez akkor derült ki, amikor a dolgozók között robbanásszerűen enyhe hasmenéses megbetegedések jelentkeztek és az epidemiológiai jellegzetességek miatt a vízáadó berendezést vették gyanúba. A laboratóriumi vizsgálat során negatív coli mellett erős fáglizist kaptunk a typhus, shiga és sonne törzsen, gyengébbet a paratyphus B-nél. A lelet igazolta a feltevést. A vízvezeték műszaki állapotának alapos ellenőrzésénél derült ki az említett kommunikáció.

Az idézett eset más szempontból is említésre érdemes. Felhívja a figyelmet arra, hogy a bakteriofágok a talajon gyorsabban és nagyobb tömegben haladnak át, mint a baktériumok. Ezért adott esetben könnyebben kimutathatók és megelőzhetik a bakteriális indikátorokat, mint pl. a coli pozitivitást. *Ionescu és Brînduş* is közlik, hogy anti-colifág, főleg a talaj felszínéhez közel nagyon gyorsan halad előre. Tapasztalatunk szerint az enterális fágok kb. 8 méteres, agyagos homokrétegen legfeljebb 5 nap alatt hatolnak át. Ez a talajréteg elegendő ahhoz, hogy a baktériumok jelentős részét eliminálja, de ugyanakkor nagy mennyiségű fagot átenged.

Joggal felmerül a kérdés: vajon a bakteriofágok mennyiben jelzik a szennyeződés aktualitását, tehát meddig maradnak kimutathatók az ivóvízből? *Guélin* mesterséges körülmények között, modell kísérletben azt találta, hogy 10⁶/ml kiindulási koncentrációjú Vi fágból 3 hónap múlva 200—100/ml még található. Ugyanakkor a homológ baktérium csak 4 napig volt kimutatható. Tehát véleménye szerint a fág jelenléte nem határozza meg a kontamináció aktualitását. A modell kísérlet eredményei azonban csak fenntartással alkalmazhatók a természetes körülményekre.

Egyik, folyamatosan megfigyelt kutunk vízében előzetes sorozatos negatív eredmény után pozitív fáglizist kaptunk a typhus és shiga törzsen, negatív coli mellett. Kiderült, hogy a mintavétel előtt közel három héttel a kúttól mintegy 8 méterre elfutó szennyvízcsatorna megrepedt. A szennyvíz a közeli épület pincéjét is elöntötte. A csatorna kijavítása egy hónappal később történt. Ez alatt az idő alatt a vízben fáglizis ismételt pozitív volt, a coli negatív maradt. az összcsíraszám csak 290/ml-ig emelkedett. A kijavítás utáni napokban még pozitív fáglizist kaptunk, majd három hét elteltével és ettől kezdve folyamatosan, negatív eredményt.

Egy másik esetünkben egy ásott kút vízébe egy nagy esőzés fekáliát mosott be mintegy 8—10 méterre levő árnyékszékből. A fogyasztóknál hasmenés lépett fel. Negatív coli mellett a sonne törzsen volt fáglizis. (A fág a további vizsgálatnál shigella polivalensnek bizonyult.) A műszaki karbalehelyezés azonnal megtörtént, a három hét múlva végzett ellenőrző vizsgálat már negatív eredményt adott.

Mindezekből arra következtethetünk, hogy természetes körülmények között a fágok legfeljebb három hétig mutathatók ki a vízből és így a szennyeződés aktualitását is mutatják.

Jégszekrényben őrzött, első vizsgálatnál pozitív fágлизист adó vízminták 8—10 hét alatt váltak negatívvá. Ilyen körülmények között tehát a tárolással szemben, főként más mikrobiológiai indikátorokkal összehasonlítva, lényegesen kevésbé érzékenyek. Érdekes megemlíteni azt, hogy a fentebb említett első kút jégszekrényben őrzött vize fág pozitív volt még akkor is, amikor az eredeti kútból vett minta már ismételtén negatív eredményt adott.

ÖSSZEFOGLALÁS

A több éve tartó vizsgálatok összegezéséeként az alábbi következtetéseket vonhatjuk le:

1. A fenti enterális baktériumtörzsekre ható fágok a fekális szennyezés megbízható indikátorai és így enterális kórokozó baktériumok jelenlétét valószínűsítik.
2. Ugyanakkor azonban nem jelzik a homológ baktériumok jelenlétét.
3. A bakteriofágok a talajban gyorsan jutnak tovább és kevésbé adszorbeálódnak, ezért a szennyező forrásokkal való kommunikációt hamarabb jelzik, mint a bakteriális indikátorok.
4. Egyszeri szennyezés után mintegy három hétig mutathatók ki a vízből, ily módon a szennyeződés aktualitását is mutatják.
5. Szállításra és tárolásra a bakteriális indikátoroknál kevésbé érzékenyek.

IRODALOM

Bíró Gy.: Kísérletes Orvostudomány. 1960. No. 6. 624. *Guélin, A.*: Ann. Inst. Pasteur. 1948. 74. 104. *Guélin, A.*: Ann. Inst. Pasteur. 1950. 78. 78. *Guélin, A.*: Ann. Inst. Pasteur. 1955. 88. 576. *Gratia, A.*: Ann. Inst. Pasteur. 1936. 57. 652. *Hudemann, H.*: Zbl. Bakt. I. Orig. 1961. 181. 234. *Hudemann, H.*: Ztschr. f. die. ges. Hyg. 1961. 10. 548. *Ionescu, Gh.*: *Brindus Gh.*: Igiene. 1959. No. 2. 127. *Leclerc, H.*: Ann. Inst. Pasteur. 1959. 92. 369. *Lenk, V.*; *Ackermann, H. W.*: Zbl. Bakt. I. Orig. 1961. 181. 224. *Marcuse, M.*: Zbl. Bakt. I. Orig. 1955. 164. 5. *Nyberg, C.*: Zbl. Bakt. I. Orig. 1931. 122. 270. *Raettig, H.*: Zbl. Bakt. Orig. 1952. 158. 2.

Биро Д., подполковник м/сл., кандидат медицинских наук:

ОПЫТ ПО ПРИМЕНИМОСТИ ЭНТЕРАЛЬНЫХ БАКТЕРИОФАГОВ В КВАЛИФИКАЦИИ ПИТЬЕВОЙ ВОДЫ

На основании исследований, продолжающихся годами, можно сделать следующие выводы:

1. Фаги, влияющие на вышеуказанные энтеральные бактериальные штаммы, являются достоверными показателями фекальной загрязненности и таким образом делают вероятным наличие патогенных энтеральных бактерий.
2. Но при этом не сигнализируют наличие гомологичных бактерий.
3. Бактериофаги в почве быстрее подвигаются и менее адсорбируются, поэтому они ранее сигнализируют коммуникацию с загрязняющими источниками, чем бактериальные индикаторы.
4. После однократного загрязнения бактериофаги обнаруживаются в воде приблизительно до 3 недель, следовательно они показывают и актуальность загрязнения.
5. При поставке и хранении на складе они менее чувствительны, чем бактериальные индикаторы.

ERFAHRUNGEN MIT DER ANWENDBARKEIT DER ENTERALEN
BAKTERIOPHAGEN ZUR MEDIZISCHEN BEGUTACHTUNG DES
TRINKWASSERS

An Hand mehrjähriger Versuchsergebnisse lassen sich in Zusammenhang mit diesem Thema folgende Schlussfolgerungen ziehen: 1. Die Bakteriophagen, die auf die obgenannten enteralen Bakterienstämme auswirken, gelten als zuverlässige Indikatoren der Verunreinigung mit Fäkalien und somit machen das Vorhandensein enteraler krankheitserregender Bakterien wahrscheinlich. 2. Dadurch wird jedoch die Gegenwart homologer Bakterien nicht angedeutet. 3. Im Boden werden die Bakteriophagen leicht befördert und weniger adsorbiert, weshalb sie eine Kommunikation mit beschmutzenden Quellen früher verkündigen, als die bakteriellen Indikatoren. 4. Diese lassen sich im Abstand von etwa drei Wochen nach einer einzigen Verunreinigung im Wasser nachzuweisen, womit auch die Aktualität der Beschmutzung gezeigt wird. 5. Im Vergleich zu den bakteriellen Indikatoren sind die Bakteriophagen gegenüber dem Transport und der Lagerung weniger empfindlich.