

AEROGENE INFEKCIJE

II. Metode detekcije aerogenih bakterija

B. CVJETANOVIĆ

Škola narodnog zdravlja, Medicinski fakultet, Zagreb

(Primljeno 13. I. 1955.)

Opisane su dvije jednostavne metode i aparati: rotor s krutom podlogom, odnosno modifikacija ispiraljke (bubblera) s tekućom podlogom, koji se mogu upotrebljavati i na terenu za kvantitativno ispitivanje zagađenja zraka bakterijama. Iako oba aparata, odnosno modifikacije prema izvršenim mjerenjima zaostaju za savršenijim aparatima, oni se mogu uspješno upotrebljavati na terenu.

1. UVOD

Potreba kvalitativnog i kvantitativnog određivanja zagađenja zraka bakterijama radi ispitivanja tako važnih zaraza kao što su aerogene infekcije očita je (1). Skupa aparatura i komplicirani postupci, što ih zahtijeva točniji rad i mjerenja na tom polju, predstavljaju teškoće za uvođenje ovakvih ispitivanja na nešto široj osnovi osobito u našim uvjetima.

Zbog toga je poželjno, da se za naše prilike nađu za taj posao pogodni aparati, koji bi bili jednostavni i jeftiniji, a ipak dovoljno efikasni, a i metode rada, koje bi bile pristupačne i u terenskim prilikama, gdje nema električne struje i gdje je inače rad otežan. Takvom jednostavnom aparaturom i metodom mogao bi se redovnije i na više mjesta da ispituje i kontrolira u našim konkretnim prilikama uspjeh različnih mjera suzbijanja aerogenih infekcija kao što su na pr. dezinfekcija zraka, ventilacija, uljenje podova, nošenje maski i t. d. Prikupljeni podaci na većem broju mjesta i u većem broju ustanova doveli bi nas brže do zaključaka o efikasnosti pojedinih mjera u suzbijanju aerogenih infekcija, te bi mogli da posluže kao putokaz za rješenje još nedovoljno poznatog i ozbiljnog problema, što ga za zdravlje predstavljaju aerogene infekcije (1). S takvim pogledima prišao sam pitanju razvijanja jednostavnijeg i jeftinijeg aparata, te adekvatnih metoda za rad osobito u terenskim uvjetima.

Aparati i metode za detekciju aerogenih bakterija, koji su dosad opisani i upotrebljavani, mnogobrojni su. Nemoguće je osvrnuti se na ovom mjestu na njih sve. U knjigama i u časopisima postoje točni njihovi opisi (1). Ti aparati mogu se, uglavnom, podijeliti u tri grupe:

- a) aparate s krutom podlogom,
- b) aparate s tekućom podlogom i
- c) aparate s filtrima, koji zadržavaju bakterije.

Danas se najviše upotrebljava kao standardni aparat t. zv. »slit-sampler«,* koji radi na principu impingera s krutom podlogom (2). Kroz uzani procijep na usisnoj cijevi struji zrak (tjeran usisnom pumpom) na Petrijevu ploču s krutom hranjivom podlogom, koja rotira oko centralne osi određenom brzinom tako, da pojedinim momentima uzimanja uzorka odgovara određeni sektor ploče. Čestice, koje nose bakterije, usmjeruje jaka struja zraka prema podlozi, na koju se te čestice zalijepe. Poslije inkubacije na ploči porastu kolonije bakterija, koje su na nju pale. Ovaj aparat je vrlo efikasan, jer hvata gotovo 100% čestica, koje se obično nalaze u zraku (2). Ovaj aparat** upotrebljavao sam pri uspoređivanju efikasnosti i ocjene valjanosti aparata, koji sam ispitivao.

Između aparata s tekućom podlogom u prvom se redu ističu u tu svrhu naročito modificirani impingeri i ispiraljke (bubblers).*** Impingeri su slični onima, koji se upotrebljavaju za ispitivanje prašine u zraku, samo što staklenka s tekućim medijem ima šire dno (4). Još je češće u upotrebi vrsta ispiraljka sasvim sličnih impingerima samo s tom razlikom, što donji otvor usisne cijevi ne predstavlja t. zv. kritični otvor, nego se kod njih zrak, koji se usiše, zapravo ispire u tekućem mediju. Postoji dosta opisa raznih modifikacija impingera i ispiraljka (1, 2, 4), ali ni jedan nije zgodan za terenski rad. Svi ti aparati zahtijevaju električnu pumpu ili barem vodenu pumpu te se u terenskim uvjetima teško mogu upotrebiti. Osim toga zbog mnogobrojnih manipulacija u toku rada s tekućim medijem on se lako zagađi, pa se ne zna, što je rezultat sekundarnog zagađenja kod rukovanja, a što stvarnog zagađenja zraka bakterijama. Bakterije, koje se uhvate pomoću impingera ili ispiraljke u tekućem mediju, dokazuju se uobičajenim metodama nasađivanja na krute podloge, koje mogu biti, ako je potrebno, i selektivne. Nedostatak (iako ne za svako ispitivanje) ispiraljki i impingera je taj, što se njima određuje broj bakterija u zraku, a ne broj čestica, koje nose bakterije, budući da se jedna čestica može kod uzimanja uzorka razbiti na više dijelova.

U treću grupu aparata na principu filtera spadaju oni najjednostavniji (kod kojih se zrak usiše kroz vatu, pa se na njoj zadrže bakterije) kao i drugi mnogo savršeniji. U osnovi se tu uvijek radi o hvatanju

* slit (engl.) = tanak prorez; sampler = aparat za sakupljanje uzorka.

** Aparat smo dobili dobrotom Rockefellerove fondacije, na čemu i ovim putem zahvaljujemo.

*** Bubble (engl.) = mjehurić.

bakterija u filtre, koji se onda isperu u bujonu, i određene se količine bujona nasade na podloge, ili se cijeli filter otopi u bujonu kao što se otapaju gelatinozni filteri (3).

Među ostale aparate, koji se razlikuju u principu od svih navedenih, spada Wellsova centrifuga (5), koja se pokazala nedovoljno efikasna a i nepraktična, te aparat sličan »cyclonu« za uklanjanje prašine, koji se tek sada ispituje (6).

Svaki od navedenih aparata ima neku prednost i neku manu, a pojedini aparat odgovara više za jednu, dok drugi odgovara više za drugu svrhu, prema tome, što želimo mjeriti. Univerzalnog aparata za svaku priliku nema. Međutim, svi oni su dosta komplicirani i u dnevnoj praksi manje razvijenih ustanova teško primjenljivi, pa sam zato pokušao da modificiram ili nađem takav jednostavan aparat (i metodu), kako bi i oni, koji nisu tehnički dobro opremljeni, mogli ipak da izučavaju probleme bakterijskog zagađenja zraka.

2. APARATI I METODE

Budući da je aparate na principu ispiraljka kao i impingera lako načiniti u svakom laboratoriju, to sam najprije ispitivao te aparate, s kojima se radi s tekućom podlogom, zatim sam tek ispitivao aparate s krutim podlogama po principu »slit-samplera«.

a) *Aparati i metoda rada s tekućim podlogama*

Aparat tipa ispiraljke trebao je da zadovolji ove zahtjeve:

da bude neovisan o električnoj energiji, a po mogućnosti i vodovodnoj pumpi, jer to nije pristupačno na terenu;

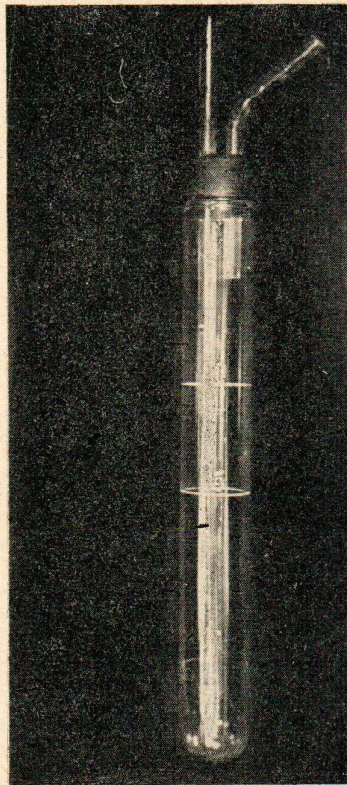
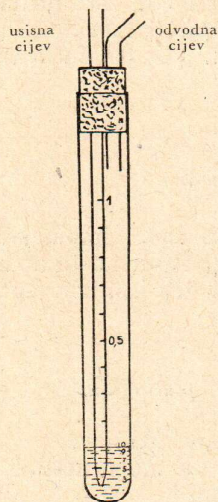
da bude jednostavan što je više moguće, kako bi se izbjegle suviše manipulacije i s tim u vezi sekundarna zagađenja.

Tek takav aparat mogao bi se uspješno upotrebljavati u terenskim uvjetima.

Kao uzor uzeo sam najjednostavniji od aparata za detekciju bakterija u zraku, a to je obična ispiraljka.

Kako bi se izbjegle suviše manipulacije oko uzimanja tekućeg medija iz ispiraljke radi nasadivanja, modificirao sam ispiraljku na taj način, da sam usisnu cijev za zrak načinio slično pipeti i baždario je po 0,1 cm do 1,0 cm. (U nekim slučajevima može da kao usisna cijev ispiraljke služi i originalna kalibrirana pipeta.) Na vanjskom zidu staklenke ispiraljke, koja sadržava tekuću podlogu, također sam baždario po 1 cm do 10 cm, kako bi se moglo odmah odrediti, koliko je podloge ishlapilo u toku uzimanja uzorka, jer je to za određivanje broja bakterija vrlo važno.

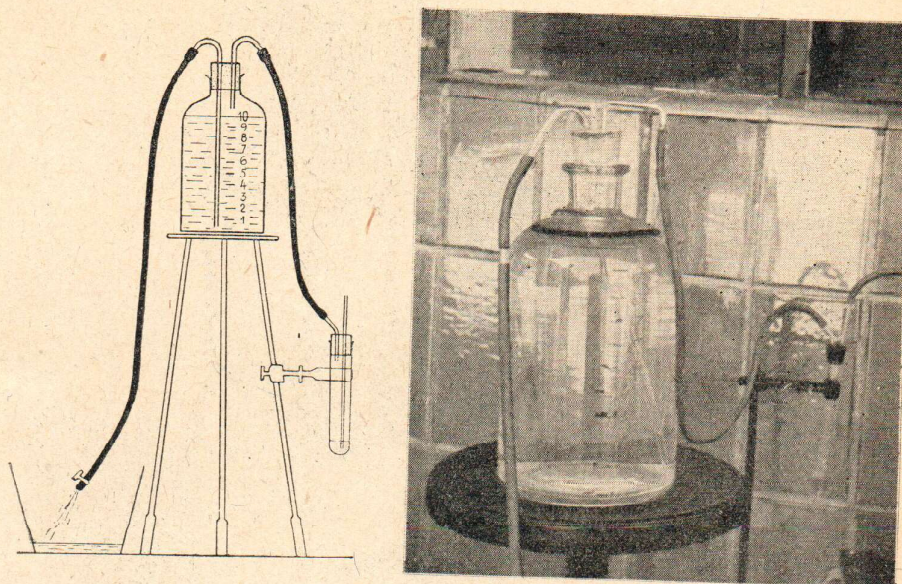
Kod dosad opisanih aparata bila je nezgoda u tome, što se sterilan sadržaj ispiraljke zagađivao čestim otvaranjem ispiraljke, pipetiranjem medija pri nasadivanju na krute podloge. Kod prikazane modifikacije ispiraljke (Sl. 1) usisna cijev služi ujedno i kao pipeta, pa je nepo-



Slika 1. Modificirana ispiraljka - (Fig. 1. Modified bubbler)

trebno suvišno otvaranje ispiraljke, a to je za terenski rad velika prednost, jer olakšava i ubrzava rad, a osim toga, što je još i važnije, daje točne rezultate. Baždarenjem vanjske staklenke odmah se vidi, kolika je količina tekućeg medija ishlapila, pa se lako bez suvišnog mjerenja i manipuliranja doda tekućine (H_2O), koliko je potrebno da se restitira originalni volumen. Još je bolje otpipetirati odgovarajuću manju količinu medija, koja odgovara jednom centimetru originalnog volumena, jer se na taj način izbjegava ipak eventualno zagađenje.

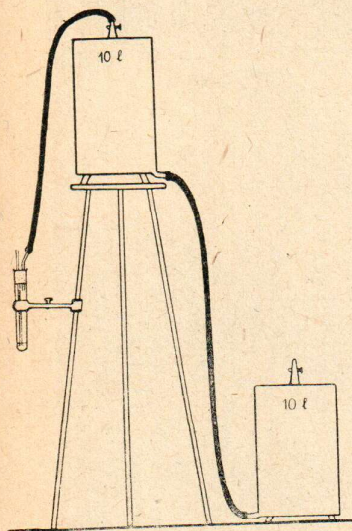
Kako bi se aparat učinio neovisnim o vodenoj pumpi, pokušao sam rad s ručnim pumpama. Ručne pumpe, koje služe inače kod kontinuiranog uzimanja uzorka prašine, mogu poslužiti i ovoj svrsi, međutim ni te pumpe nisu pristupačne svakom. Obične ručne, klipne pumpe nisu zgodne, jer je struja zraka vrlo neravnomjerna, te prijeti stalna opasnost, da se u momentu ne povuče naglo samo zrak nego i podloga iz aparata. Zbog toga sam tražio zgodniji način za uzimanje uzoraka zraka.



Slika 2. Uređaj za jednokratno uzimanje uzorka zraka sa ispiraljkom
(Fig. 2. Set for single air sampling with bubbler)

Našao sam, da je najzgodnije i najtočnije, kad se zrak uzima tako, da se iz hermetički zatvorene posude, spojene s odvodnom cijevi ispiraljke, ispušta ravnomjerno određena količina vode. Vakuum, koji nastaje u posudi, usiše isto toliku količinu zraka kroz ispiraljku, koliko je iz posude isteklo vode. Upotrebljavao sam u laboratoriju staklene boce od 10 l (Sl. 2), ali su za teren svakako zgodnije limene posude (Sl. 3). (Gumeni rezervoari nisu prikladni, jer je njihova zapremnina promjenljiva.) Na taj način treba na terenu imati tek neku manju količinu vode, jer se ista voda može uvijek nanovo upotrebljavati. Jednostavno se iz jedne posude prelijeva u drugu na taj način, što se mijenja njihov položaj, a odvodna cijev ispiraljke spaja sad s jednom pa onda s dru-

gom usisnom cijevi posude. Na taj se način mogu teoretski da uzmu za uzorak neograničene količine zraka, na svakom mjestu, gdje nema ni elektrike ni vodovoda.



Slika 3. Uredaj za uzimanje velikih količina zraka na terenu
(Fig. 3. Set for multiple air sampling in the field)

Modificirani aparat, t. j. ispiraljka, omogućava točniji rad općenito, a opisani sistem usisavanja zraka čini cijelu aparaturu prikladnom za rad u terenskim uvjetima. Sva ta aparatura može se improvizirati u najmanjem laboratoriju, te u našim prilikama otvara mogućnost ispitivanja zagađenosti zraka bakterijama svima, koji imaju uz najskromnija sredstva volje za taj posao.

Metoda rada s ispiraljkom, koju sam prilagodio terenskim prilikama, razlikuje se od opisanih metoda u tome, što je manipulacija mnogo brža, jednostavnija, s obzirom na opisane modifikacije usisne cijevi,

koja služi i kao pipeta, te vanjske cijevi, na kojoj se može odmah vidjeti, koliko je tekućine ishlapilo.

U ispiraljku sam za obična ispitivanja zagađenosti zraka bakterijama, t. j. ukupnog broja bakterija u zraku, stavljao 10 ccm govedeg glukoza (5%) bujona. Pri ispitivanju zagađenja zraka određenim bakterijama poželjno je upotrebljavati selektivne medije.

Jedna je od čestih teškoća kod rada s ispiraljkom, što se u toku usisavanja zraka stvara na vrhu bujona obilna pjena, koja onda počne izlaziti kroz odvodnu cijev, te je time uzimanje uzorka poremećeno. Zbog toga su i stvarani različiti modeli ispiraljka s posebnim proširenim dijelom za pjenu (7) ili se dolijevala kap, dvije ulja na površinu bujona (8), da se ne diže pjena. Pri radu pokazalo se ulje po mom zapažanju efikasnije i sigurnije, pa sam zato i odustao od nekih posebnih modifikacija na ispiraljci, jer bi improviziranje takve ispiraljke bilo teško za većinu manjih laboratorija. Naprotiv, svatko raspolaže s malo neutralnog ulja, koje se kuhanjem lako sterilizira. Količina ulja, koja je potrebna, ovisi o širini gornje površine bujona i o brzini strujanja zraka. Empirički se brzo utvrdi potrebna količina ulja - suvišno ulje bolje je izbjegavati.

Nakon uzimanja uzorka uzimao sam odmah 1,0 ccm bujona, nalio ga u Petrijevu ploču te dolio obični ili hranjivi agar ili neku selektivnu podlogu.

Osim na taj način nasadivao sam bujon iz ispiraljke i direktno na krutu podlogu. Međutim, tad sam mogao uzimati samo 0,1 ccm, jer ploča nije mogla brzo upiti više tekućeg medija. Pošto bih stavio 0,1 ccm tekućeg medija na kruti medij, sterilnim bih ga staklenim štapićem razastro jednakomjerno po ploči. Ova se metoda čini nekim autorima boljom od nalijevanja na ploče (9), ali nisu dali o tome detaljnije podatke. Moja iskustva potvrđuju, da su ta zapažanja točna i da ova metoda daje veći broj bakterija, pri proračunavanju čak i četiri puta veći; međutim rezultati dobiveni nalijevanjem mnogo manje variraju i mogu se mnogo bolje među sobom upoređivati. Rezultati dobiveni razmazom 0,1 ccm nisu tako pouzdani kao oni dobiveni nalijevanjem 1,0 ccm, a to osobito vrijedi, ako ima malo bakterija u zraku, odnosno u bujonu.

Budući da se vrlo često pri uzimanju uzoraka zraka radi o malom broju bakterija, može se sva količina bujona uzeti i centrifugirati, te onda talog resuspendirati i nasaditi. Rezultati, koje sam dobio na taj način, pokazali su, da se ovako zaista postigne rast većeg broja kolonija. Međutim su i ovdje griješke česte i rezultati nesigurniji. Iz svih tih razloga smatram, da uobičajeni način nalijevanja 1,0 ccm na Petrijevu ploču i kasnije nadolijevanje otopljene krute podloge daje najsigurnije rezultate. Osim toga to se može i najlakše izvesti.

Pošto je ploča nasadena, inkubira se na 37° C te se rezultati čitaju nakon 24 i 48 sati. Svratio sam pažnju na porast broja kolonija obične aerogene flore od prvog do drugog čitanja, t. j. od 24 na 48 sati, pa čak

i nakon trećeg čitanja nakon 72 sata. Nakon 24 sata može se dobiti dobra i sigurna orijentacija te se, ako je potrebno, mogu poduzeti hitno i neke mjere na osnovu prvog čitanja. Točniji broj kolonija dobije se nakon 48 sati, a još nešto (ali ne bitno) točniji čak i nakon 72 sata. Prema tome za pouzdanije čitanje rezultata valja čekati, dok prođe 48 sati. Razumljivo je, da su te vrijednosti za različite bakterije različite i da bi se to kod svakog egzaktnijeg rada i trebalo uvijek prethodno ispitati.

Vrijeme trajanja uzimanja uzorka je vrlo važno. Iskustvo je pokazalo, da je efikasnost opisane ispiraljke velika (u uporedbi sa slit-samplerom), međutim, s obzirom na to, da kroz njega može da prođe u određenom roku relativno mnogo manje zraka nego na pr. kroz slit-sampler i da se od ukupnog uzorka tekućeg medija (10 ccm) uzima tek $\frac{1}{10}$ (1 ccm), to je očito, da ispiraljka registriira samo malen dio onoga, što registriira slit-sampler. Pokusi, koje sam vršio, da uporedim relativnu vrijednost opisane ispiraljke i slit-samplera, prikazani su na tablici 2. Vidi se, da je slit-sampler kod vrlo velikog broja klica u eksperimentu nešto malo efikasniji od ispiraljke, t. j. da može uhvatiti nešto više bakterija iz zraka nego ispiraljka (odnos 3 : 2). Kod nešto manjeg broja klica u zraku slit-sampler je znatno efikasniji (5 : 1).

Dugotrajnim uzimanjem uzorka, t. j. velikim količinama zraka nedostaci ispiraljke daju se znatno otkloniti. Iako iz iznesenoga izlazi, da je relativna efikasnost ispiraljke, osobito kad se radi o razmjerno čistom zraku, dosta slaba, za eksperimentalne svrhe u laboratorijima ona može dobro da posluži i prikladnija je za upotrebu od drugih aparata, jer se u nju lako dovede zrak iz bilo koje sasvim male eksperimentalne prostorije. (Treba svratiti pozornost na to, da dovodna cijev ne bude previše duga ni odveć savinuta (2), jer to smanjuje efikasnost ispiraljke, a i drugih aparata.) S obzirom na to, što se može točno odrediti, kolika je količina zraka prošla kroz ispiraljku, ona je unatoč svemu prikladna za točnija mjerenja u laboratoriju.

b) *Aparat i metoda rada s krutim podlogama*

Aparat ove vrste prikladan za terenski rad trebao je da udovolji ovim uvjetima:

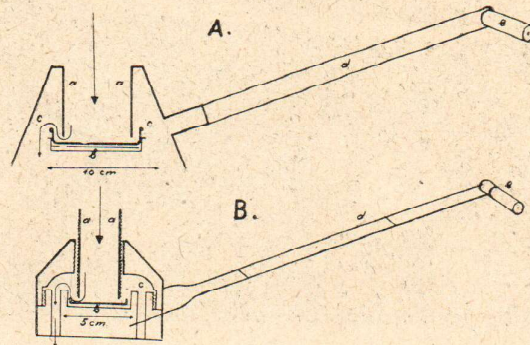
da bude neovisan o električnom ili drugom pogonu, koji nije pristupačan na terenu, jednom riječi, da bude na ručni pogon;

da bude jednostavan i praktičan, tako da se može improvizirati, a da ipak bude efikasan.

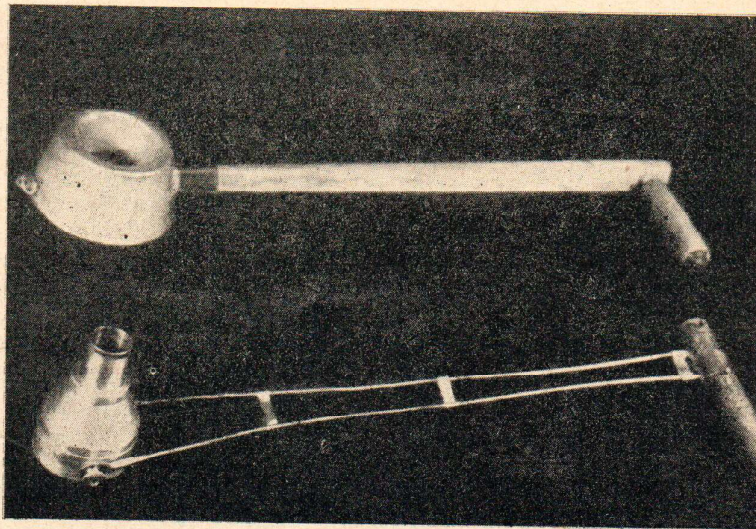
Kao temelj za ovaj aparat uzeo sam princip krutog impingera kao kod slit-samplera i drugih aparata te vrste (1, 2, 10), ali se on od njih bitno razlikuje.

Da bi aparat učinio neovisnim o električnoj ili vodovodnoj pumpi, poslužio sam se principom, koji je u drugu svrhu primijenjen kod rota-

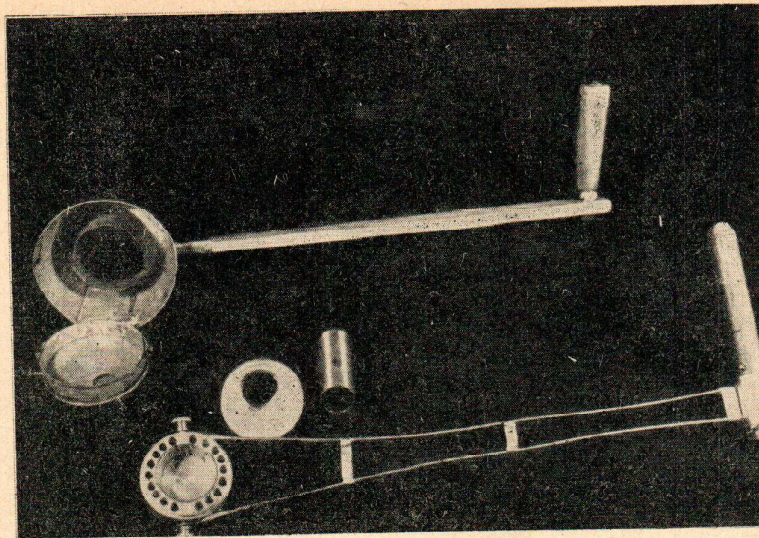
cionog psihometra. Zbog brzine kretanja aparata, koji je pričvršćen na dršku, struja zraka udara u nj. Ako se ta struja zraka upravi na krutu podlogu na Petrijevoj ploči i od nje odvodi prikladnim postraničnim otvorima, dobiva se efekt sličan usisavanju zraka pumpom. Razlika je jedino u tome, što za to nije potrebna u stvari nikakva pumpa nego prosto okretanje aparata (vidi sl. 4 a, b, c).



Slika 4 a. Rotori: tip A (gore) i tip B (dolje)
(Fig. 4 a. Rotors: type A (up) and type B (down))



Slika 4 b - (Fig. 4 b)



Slika 4c - (Fig. 4c)

Da pri govoru o tom sasvim novom aparatu izbjegnem svaki put ponovo njegovo opisivanje, jer još nema imena, nazvao sam ga općim imenom *rotor* ili *aerotor*, s obzirom na to, što je rotiranje jedna od njegovih osnovnih osobina, koja ga razlikuje od drugih aparata s istom svrhom.

Aparat je jednostavan, jer se u principu sastoji od cilindra (a), kroz koji struji zrak na Petrijevu ploču, Petrijeve ploče (b) na dnu cilindra, te postraničnih otvora (c) i drška (d), na kojem se aparat nalazi, te ručke (e), oko koje se okreće aparat i držak. Ovaj aparat može svatko lako sam da napravi.

Aparat može da ima mnogo modifikacija. Napravio sam dvije modifikacije za Petrijeve ploče različitih razmjera. Iako u principu nema nikakve razlike u ove dvije modifikacije aparata, njihove osobine i osobine eventualnih novih modifikacija trebat će ispitivati, kako bi se našla najprikladnija modifikacija, koja će davati najbolje rezultate i s kojom će biti najlakše manipulirati.

U jednoj daljoj modifikaciji stavio sam na dno usisnog cilindra ploču s mnogo malih rupica (tip B), slično kao što ih ima aparat opisan od Du Buy i Crispa (11). Ova modifikacija pokazala je, da daje ravnomjerniji raspored kolonija na ploči nego obični otvoreni cilindar (tip A), kod kojega su se kolonije gomilale uvijek na distalnom (vanjskom) dijelu ploče zbog centrifugalnog strujanja čestica kod okretanja.

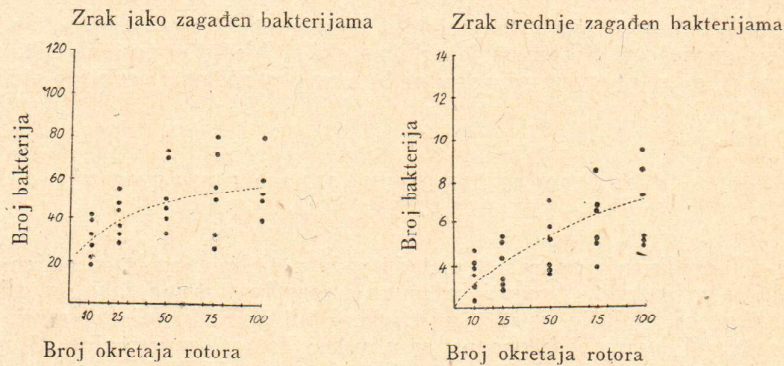
Tehničke detalje suvišno je opisivati, jer se oni mogu riješiti na različite načine, ali je dobro napomenuti ipak neke od njih:

a) Petrijeva ploča mora biti dobro učvršćena i udaljena 2–4 milimetra od cilindra, kojim dolazi zrak u aparat.

b) Aparat, t. j. dno Petrijeve ploče mora biti nagnuto u smjeru kretanja za oko 15° tako, da se kod rotiranja izbjegne da poradi centrifugalne sile u cilindru zrak struji previše na jednu stranu cilindra te onda samo jedna strana ploče obraste bakterijama, dok druga ostaje čista.

c) Jedan okret u sekundi je najpovoljnija brzina okretanja. Kod većih brzina dolazi zbog povećane centrifugalne sile do klizanja podloge sa Petrijeve ploče, a manje brzine opet daju slabe rezultate, jer čestice zraka ne udaraju dovoljnom brzinom o podlogu.

d) Broj okretaja utječe na nalaz bakterija. Za sigurnije mjerenje potrebno je 200 okretaja, koji pokazuju vrijednost, koja se kreće oko 10% one vrijednosti, što se dobije slit-samplerom, ako se 5 minuta kontinuirano uzima zrak (150 l). Veći broj okretaja daje relativno bolji nalaz, ali ne u linearnoj proporciji prema broju okretaja, a osim toga to je mučan posao za onoga, tko uzima uzorak. Ti odnosi vide se na grafikonu br. 1.



Grafikon 1. Odnos broja okretaja rotora u toku jednog uzimanja uzorka i nalaza broja bakterija u zraku

(Graph 1. Numbers of turnovers of rotor in single samples and the numbers of air-borne bacteria found)

Uzrok ovoj pojavi, da veći broj okretaja ne daje adekvatno veći broj klica, može se pripisati brzom sušenju podloge zbog strujanja zraka preko nje, pa zato bakterije teže prijanjaju uz nju.

Ovaj aparat ima svojih prednosti. Lako ga je nositi i njim raditi na svakom mjestu, ali je s druge strane nemoguće odrediti točnu količinu zraka, koja prolazi kroza nj. To se može tek donekle empirički utvrditi,

ali i onda treba imati na umu, da svaka promjena u debljini podloge na Petrijevoj ploči može potpuno izmijeniti te vrijednosti. Eksperimenti, koje smo vršili, govore o tome, da je to jedan od glavnih uzroka kolebanja vrijednosti, koje se dobiju pomoću rotora, i uzrok priličnom neslaganju rezultata slit-samplera i rotora.

S nekim preinakama i tehnički boljom izradbom može se postići sasvim točno određena udaljenost hranjive podloge od otvora na cilindru. Upotrebom sitastog dna kao kod aparata po Du Buy i Crispu (11) daju se varijacije u strujanju zraka još više umanjiti. Uz točno određivanje vremena okretaja i količine zraka, koji prođe kroz rotor, on bi mogao da posluži i za relativno točno kvantitativno određivanje bakterija u zraku, t. j. bakterijskog zagađenja zraka na terenu.

c) *Aparat i metoda rada s filtrima*

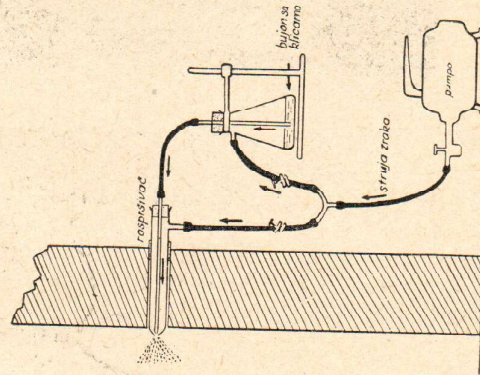
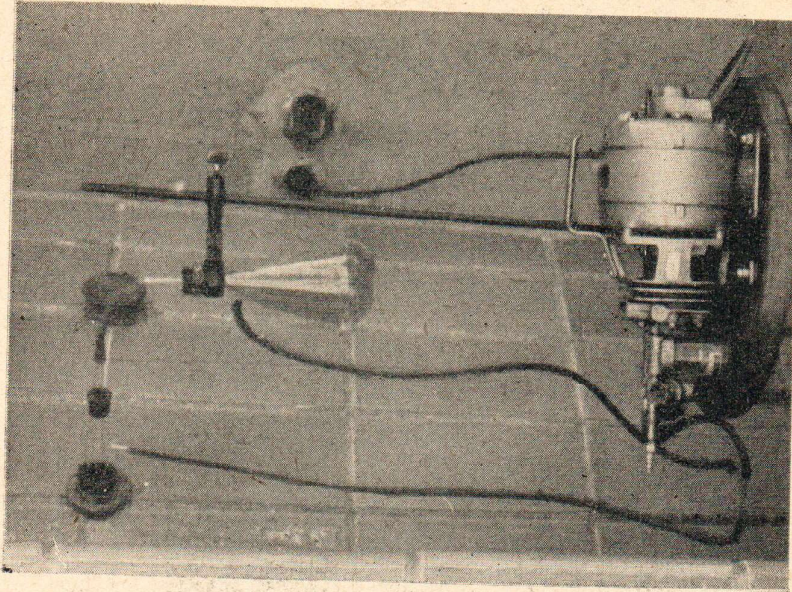
Na osnovu različitih opisa (11, 12, 13, 14) pokušali smo da konstruiramo aparat, koji bi bio jednostavan, neovisan o električnom pogonu i efikasan za kvantitativno određivanje bakterija u zraku. Dosadašnji rezultati su pokazali, da je moguće samo djelomično odgovoriti navedenim zahtjevima, jer unatoč svemu rukovanje je ostalo i dalje dosta komplicirano ili nesigurno, osobito ispiranje bakterija i filtera kao i nasadivanje, a i efikasnost je prilično slaba. Međutim to ipak nikako ne znači, da se na ovom principu ne bi moglo uopće naći povoljno rješenje.

3. NAČIN UPOREĐIVANJA EFIKASNOSTI OPISANIH APARATA

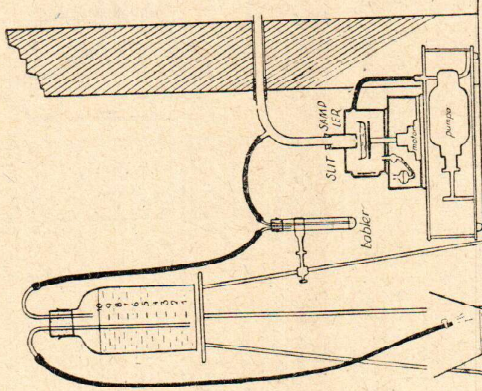
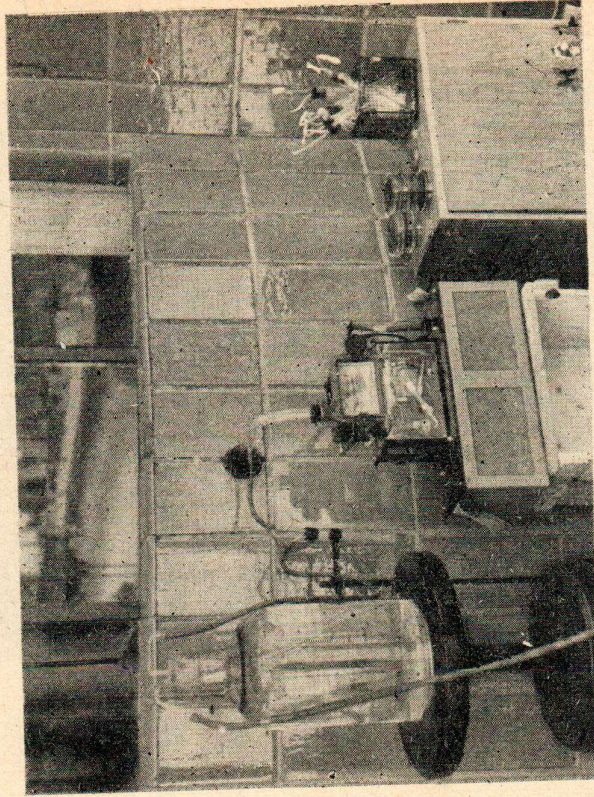
Upoređivanje aparata i metode rada potrebno je, da se ocijeni njihova vrijednost. Aparati se mogu upoređivati samo, ako se njihova efikasnost ispituje u istim uvjetima. Radi upoređivanja opisanih aparata vršio sam eksperimente u plinskoj komori zapremnine 25 m³ sa svim potrebnim uređajima, ventilatorima i t. d.* U komori sam finim raspršivačima rasprskavao pomoću pumpe svježe razrijeđene bujonske kulture nepatogenih klica (*E. coli*). Broj klica u 1 ccm razrijeđene kulture utvrđivan je nasadivanjem na Petrijeve ploče i brojenjem kolonija.

Broj bakterija u zraku opadao je u toku vremena nakon uštrcavanja kulture klica prema količini uštrcane tekućine, broju klica u tekućini, relativnoj vlažnosti i kvalitetama raspršivača, kao što su to opisali i drugi (2). Poslije određenog broja prethodnih eksperimenata slit-samplerom mjeren broj klica pokazivao je dosta stalne vrijednosti s malim varija-

* Zahvaljujem Institutu za medicinska istraživanja, što mi je omogućio da vršim ova ispitivanja u njihovoj plinskoj komori.



Slika 5. Raspršivač kačljica s bakterijama - (Fig. 5. Sprayer of bacterial aerosols)



Slika 6. Upoređivanje relativne efikasnosti modificirane ispiraljke i slit-samplera
 (Fig. 6. Measurement of the relative effectiveness of modified bubbler and slit-sampler)

cijama. Tada smo počeli upoređivati efikasnost modificiranih bubblera i rotora upoređujući ih sa slit-samplerom kao standardnim aparatom. Usput smo izlagali u komori i Petrijeve ploče radi uporedbe. Rad u komori s rotorom vršen je tako, da je onaj, koji je radio u komori, imao cijevnu masku. Zrak za druge aparate (bubblere i filtre) uziman je kroz otvore u zidu uvijek s istog mjesta komore, a i Petrijeve ploče su bile izlagane vrlo blizu tog mjesta. Temperatura i relativna vlaga redovno su mjerene, a vrijeme uzimanja uzorka, količina zraka ili broj okretaja rotora registrirani su. Namještaj aparature u toku ispitivanja efikasnosti ispiraljke prikazan je na slici 6 a i b.

Rezultati uporedbe rotora, slit-samplera i izlaganja Petrijeve ploče u toku jednog eksperimenta, kad je količina klica bila u opadanju, pri-

Tablica 1

Uporedba rotora, slit-samplera i izložene Petrijeve ploče

Aparat	Rotor 200 okretaja u 3 minute	Slit 150 l zraka u 5 minuta	Petrijeva ploča izložena 5 minuta
Broj kolonija	850	6.600	400
E. coli	630	5.400	39
prebrojen nakon	240	4.400	165
48 sati	140	2.100	8
inkubacije	54	1.200	8
(na Endo agaru)	89	1.150	34
	18	850	2
	9	470	1
	12	125	4
	7	30	0

Uzorcima su uzimani u razmaku od 10 minuta.

Tablica 2

Uporedba efikasnosti slit-samplera, rotora i ispiraljke pri istim uvjetima zagađenosti zraka bakterijama (eksperiment sa E. coli)

Aparat	Količina zraka	Broj uzoraka	Prosječan broj klica	± S. E.
slit-sampler	150 l	26	985,3	62,3
rotor	? (200 okretaja)	26	86,7	14,1
slit-sampler	10 l	27	911,3	65,5
modificirana ispiraljka	10 l	27	622,2	125,9
slit-sampler	10 l	26	182,2	15,1
modificirana ispiraljka	10 l	26	37,8	9,8

kazani su na tablici 1, a na tablici 2 prikazan je sumaran pregled efikasnosti slit-samplera, rotora i ispiraljke pri stalnom zagađenju zraka.

Iz tablice 1 se vidi, da rotor daje sigurnije podatke od Petrijeve ploče, ako ih uporedimo sa slit-samplerom, a iz tablice 2, da rotor dosta zaostaje za slit-samplerom i po broju kolonija i po konstantnosti nalaza. Za rotor se onakav, kakav je opisan, može reći, da je slabiji od slit-samplera, ali mnogo bolji od otvorene Petrijeve ploče, koja se dosad u nedostatku drugih metoda upotrebljavala.

Iz tablice 2 vidi se, dakako, da je slit-sampler najefikasniji, ali da i rotor i ispiraljka daju rezultate, koji, osobito u nekim prilikama, ne zaostaju mnogo. U svakom slučaju i ovim jednostavnim aparatima mogu se dobiti podaci o kvantitativnom zagađenju zraka, koji se mogu među sobom upoređivati.

Veća efikasnost opisanih aparata ispiraljke i rotora može se, dakako, postići, ako se za uzimanje zraka upotrebi električna pumpa. U tom se slučaju rotor, dakako, ne pokreće rukom, nego ostaje na mjestu i nadovezuje se na usisnu cijev pumpe. Oba aparata mogu se prema tome upotrebljavati s većim uspjehom u laboratorijima i ustanovama, koje su opremljene zračnom pumpom, a mnogi to jesu.

4. ZAKLJUČAK

Opisane metode i aparati rotor i ispiraljka mogu služiti, iako zaostaju za standardnim aparatima kao što je slit-sampler, osobito u terenskim prilikama za kvantitativno ispitivanje zagađenja zraka i valjanosti sanitarnih mjera za čišćenje zraka i protivepidemijskih mjera na suzbijanju aerogenih infekcija. Oba aparata mogu dobro poslužiti za određivanje vrsta klica u zraku. Ovi aparati mogu se poboljšati i dalje usavršavati. Njihovo je praktično značenje u tome, što su jednostavni i jeftini te ih mogu napraviti i mali, slabo opremljeni laboratoriji i druge ustanove te tako pridonijeti boljem poznavanju naših higijenskih prilika, t. j. zagađenja zraka bakterijama te širenja i suzbijanja aerogenih infekcija.

Literatura

1. Cvjetanović, B.: Aerogene infekcije, Arh. hig. rada, 6 (1955).
2. Bourdillon, R. B., Lidwell, O. M., Lovelock and all.: Studies in Air Hygiene, His Majesty's Stationery Office, 1948.
3. Mitchell, R. B., Fulton, I. D., Ellingson, H. U.: Am. J. Publ. Health, 44 (1954) 1334.
4. Rosebury, T. and all.: Experimental Air-Borne Infection, Williams & Wilkins, Baltimore, 1947.
5. Wells, W. F.: Am. J. Pub. Health, 23 (1933) 58.

6. Williams, R. E. O.: Lično saopćenje, 1953.
7. Milyavskaja, P. F.: Gigiena i Sanitaria, 3 (1951) 49.
8. Moulton, S., Puck, T. T., Lemon, H. M.: Science, 97 (1943) 51.
9. Crone, P. B.: J. Hyg., 46 (1948) 426.
10. Stakman, E. G., Lambert, E. B., Mudd, S., Soule, M. H.: Acrobiology, Amer. Assoc. for Adv. of Science, Washington, 1942.
11. Du Buy, H. G., Crips, L. R.: Pub. Health Reports, 59 (1944) 82.
12. Clark, H. F., Geldreich, L. E., Jeter, H. L.: Pub. Health Reports, 66 (1951) 951.
13. Matvejev, P. N.: Gigijena i Sanitaria, 3 (1951) 52.
14. Goetz, A.: Am. J. Pub. Health, 43 (1953) 150.

Summary

AIR-BORNE INFECTIONS

II. Detection Methods of Air-Borne Bacteria

Two simple instruments and methods for quantitative measurement of air-borne bacteria are described. One is a new type of apparatus named »rotor for solid media«; the other is a modification of the bubbler type instrument (Fig. 1-4). Both instruments have considerably lower efficiency than the slit-sampler which was used for comparing their efficiency in collecting air-borne bacteria. However, they can be used with advantage in field work if no electricity or piped water are available.

School of Public Health,
Medical Faculty,
University of Zagreb,
Zagreb

Received for publication 13. I. 1955.