

ΙΑΤΡΙΚΗ.— **Νέα μέθοδος εμπλουτισμού των σαλμονελλών, υπό Π. Βασιλειάδη** *. Ἀνεκοινώθη ὑπὸ τοῦ Ἀκαδημαϊκοῦ κ. Γ. Μερικά.

Αἱ σαλμονέλλαι εἶναι γένος τῆς οἰκογενείας τῶν ἐντεροβακτηριοειδῶν. Εἶναι ὁμᾶς μικροβίων ἐκ τῶν καλύτερα μελετηθέντων εἰς τὴν μικροβιολογίαν. Ὑπάρχουν πολλοὶ ὁροτύποι σαλμονελλῶν, οἱ ὅποιοι διαφέρουν ὡς πρὸς τὴν ἀντιγονικὴν τῶν σύστασιν. Ἡμεῖς περιεγράψαμεν 6 νέους ὁροτύπους, ἐκ τῶν ὁποίων ὁ εἷς ὀνομάζεται *Salmonella athinae*. Εἰς τὸ γένος τῶν σαλμονελλῶν ὑπάγονται ἡ σαλμονέλλα τοῦ τυφοειδοῦς πυρετοῦ καὶ τῶν παρατύφων Α, Β καὶ C. Αἱ δύο πρῶται εἶναι αὐστηρῶς προσηρμοσμένοι εἰς τὸν ἄνθρωπον καὶ δὲν μολύνουν τὰ ζῶα. Αἱ δύο δεύτεραι εἶναι ὡσαύτως προσηρμοσμένοι εἰς τὸν ἄνθρωπον, ἀλλὰ δύνανται νὰ προσβάλλουν καὶ τὰ ζῶα. Αἱ 4 αὐταὶ σαλμονέλλαι προκαλοῦν συνήθως τυφοειδικὸν σύνδρομον εἰς τὸν ἄνθρωπον. Τὸ πλῆθος τῶν ἄλλων σαλμονελλῶν εἶναι προσηρμοσμένοι εἰς τὰ ζῶα. Εἰς αὐτὰ δύνανται νὰ προκαλέσουν νόσον. Πολὺ συχνότερα ὅμως μολύνουν τὰ ζῶα χωρὶς νὰ προκαλοῦν νόσον. Δηλαδή, τὰ ζῶα καθίστανται ὑγιεῖς μικροβιοφορεῖς σαλμονελλῶν. Εἰς τὴν περιπτώσιν αὐτὴν, αἱ σαλμονέλλαι ἀνευρίσκονται εἰς τὰ ζῶα καὶ εἰς τὸ περιβάλλον των, συνήθως εἰς μικρὸν ἀριθμὸν. Ἐκ τῶν ζώων ἢ συνήθως ἐκ τῶν τροφίμων ζωικῆς προελεύσεως, μολύνεται ὁ ἄνθρωπος διὰ τῆς στοματικῆς ὁδοῦ. Ἐκ τῶν σαλμονελλῶν τῶν ζώων, τὸ συχνότερον προκαλούμενον εἰς τὸν ἄνθρωπον σύνδρομον εἶναι ἡ γαστρεντερίτις, συνήθως ὑπὸ μορφήν τροφικῶν δηλητηριάσεων. Αἱ σαλμονέλλαι ὅμως αὐταὶ προκαλοῦν ἐνίοτε ἐντοπισμένας λοιμώξεις εἰς ἕτερα μέρη τοῦ σώματος, ὡς π.χ. μηνιγγίτιδα, ἐνδοκαρδίτιδα κ.λπ., ἢ καὶ τυφοειδικὸν σύνδρομον.

Ὁ τυφοειδὴς πυρετὸς καὶ οἱ παρατύφοι ἐτέθησαν σὺν τῷ χρόνῳ ὑπὸ ἔλεγχον καὶ εἶναι σήμερον σπάνιοι. Τοῦτο ὀφείλεται εἰς τὸ ὅτι αἱ σαλμονέλλαι, αἱ ὅποια προκαλοῦν τὰς νόσους αὐτάς, εἶναι προσηρμοσμένοι εἰς τὸν ἄνθρωπον καὶ ὡς ἐκ τούτου, διὰ τῶν λαμβανομένων μέτρων, ἡ μετάδοσις των ἐμειώθη σημαντικώτατα. Ἀντιθέτως, αἱ σαλμονελλώσεις αἵτινες ὀφείλονται εἰς τὰς σαλμονέλλας τῶν ζώων ἔχουν ἀύξηθῆ σημαντικῶς καὶ βαίνουν ἀυξανόμεναι, εἶναι δὲ ἀπὸ τὰς σπανίας βακτηριακὰς λοιμώξεις αἵτινες δὲν ἔχουν εἰσέτι τεθῆ ὑπὸ ἔλεγχον εἰς ὅλα τὰ κράτη τοῦ κόσμου. Θὰ ἀναφέρωμεν ὡς παράδειγμα ὅτι εἰς τὰς Η.Π.Α. ὑπελογίζετο ὅτι ἐσημειοῦντο κατ' ἔτος τοῦλάχιστον 10 ἑκατομμύρια κρούσματα σαλμονελλώσεων. Ἡ θνητότης ἐξ αὐτῶν εἶναι συνήθως μικρὰ ἀλλὰ αἱ οἰκονομικαὶ ἀπώλειαι λόγῳ θεραπείας, νοσηλείας, ἡμεραργιῶν κ.λπ. εἶναι σοβαραὶ. Ὁ λόγος

* P. VASSILIADIS, *Nouvelle méthode d'enrichissement des salmonelles.*

τῆς αὐξήσεως τῆς συχνότητος τῶν σαλμονελλώσεων εἶναι ὅτι αὗται ἀνευρίσκονται εἰς τὰ ζῶα καὶ τὰ τρόφιμα, κυρίως ζωϊκῆς προελεύσεως. Πράγματι, ἡ λῆψις προφυλακτικῶν μέτρων μεταδόσεως εἰς τὰ ζῶα εἶναι δυσχερής. Ἐξ ἑτέρου, ἡ διάδοσις των ηὐξήθη παγκοσμίως λόγῳ τῆς αὐξανομένης διεθνῶς ἐμπορίας τροφίμων λ. χ. κατεψυγμένων κρεάτων, τροφῶν βιομηχανίας κλπ., δι' ὧν μεταφέρονται αἱ σαλμονέλλαι ἀπὸ χώρας εἰς χώραν.

Διὰ τὴν λῆψιν ὄρισμένων μέτρων καταπολεμήσεως τῶν σαλμονελλώσεων, τὸ πρῶτον βῆμα συνίσταται εἰς τὴν ἀναζήτησιν τῶν σαλμονελλῶν εἰς τὰ τρόφιμα, τὰ κόπρανα τῶν ζῶων κ.λπ. Ὡς ἤδη ἐλέχθη, εἰς τὰ ὑγῆ ζῶα τὰ ὁποῖα εἶναι μικροβιοφορεῖς σαλμονελλῶν, τὰ μικρόβια αὐτὰ ὑπάρχουν εἰς μικρὸν ἀριθμὸν. Συνοδεύονται δὲ σχεδὸν πάντοτε εἰς τὰ τρόφιμα ὑπὸ ἀνταγωνιστικῶν σαπροφυτικῶν μικροβίων, τὰ ὁποῖα εἶναι κατὰ πολὺ πολυπληθέστερα ἀλλὰ ἀκίνδυνα. Λόγῳ τούτου ἡ ἀπ' εὐθείας καλλιέργεια τοῦ ὑπὸ ἐξέτασιν δείγματος ἀποβαίνει συχνὰ ἀρνητική, διότι αἱ ὑπάρχουσαι συνήθως ὀλίγαι σαλμονέλλαι καλύπτονται ὑπὸ τῶν πολὺ ἀφθονωτέρων σαπροφυτικῶν μικροβίων. Πρὸς παράκαμψιν τῆς δυσχερείας αὐτῆς εἰσῆχθησαν τὰ καλούμενα ὑγρὰ ἐμπλουτιστικά ὑλικά. Ταῦτα εἶναι θρεπτικοὶ ζωμοὶ διὰ τὰ μικρόβια, ἀλλὰ περιέχουν καὶ ὄρισμένας οὐσίας αἰτίνες, ἐνῶ δὲν ἀναστέλλουν οὐσιωδῶς τὴν ἀνάπτυξιν τῶν σαλμονελλῶν, εἶναι πολὺ τοξικαὶ διὰ τὰ ἀνταγωνιστικὰ μικρόβια. Οὕτω, κατόπιν ἐπωάσεως εἰς 43°C εἰς τοὺς ζωμοὺς αὐτοὺς ἀναπτύσσονται σαλμονέλλαι ἐντὸς 24 ἢ 48 ὥρων, ἐνῶ ἀναστέλλεται ἐν μέρει ἢ πλήρως ἡ ἀνάπτυξις τῶν σαπροφυτικῶν μικροβίων. Δύο κυρίως ἐμπλουτιστικά ὑλικά χρησιμοποιοῦνται διεθνῶς ἀπὸ τεσσαρακονταετίας καὶ πλέον διὰ τὸν σκοπὸν αὐτόν : ὁ ζωμὸς μετὰ σεληνιώδους νατρίου (Leifson, 1936) καὶ ὁ ζωμὸς μετὰ τετραθειονικοῦ νατρίου κατὰ Müller - Kauffmann (Müller, 1923 : Kauffmann, 1930, 1935 : Edel καὶ Kampelmacher, 1969). Διεπιστώθη ὅμως τόσον ὑφ' ἡμῶν ὅσον καὶ ἑτέρων ἐρευνητῶν ὅτι οἱ ζωμοὶ αὐτοὶ ἔχουν καὶ τοξικὴν τινὰ ἐπίδρασιν ἐπὶ τῶν σαλμονελλῶν, δι' ὃ ὅταν αἱ σαλμονέλλαι εἶναι ὀλίγαι εἰς τὸ δεῖγμα, δὲν πολλαπλασιάζονται εἰς τὸν ἐμπλουτιστικὸν ζωμόν. Λόγῳ τούτου, τὰ τελευταῖα ἔτη συνιστᾶται, εἰς πρῶτον στάδιον, ὁ προεμπλουτισμὸς εἰς κοινὸν πεπτονοῦχον ὕδωρ ἄνευ ἀνασταλτικῶν οὐσιῶν. Εἰς τοῦτο ἀναπτύσσονται ἀφθονώτατα τόσον αἱ σαλμονέλλαι, ἔστω καὶ ἂν εἶναι ἀρχικῶς σπανιώτατα, ὅσον καὶ τὰ ἀνταγωνιστικὰ μικρόβια. Ἐκ τοῦ πεπτονοῦχου ὕδατος τοῦ περιέχοντος μέγαν ἀριθμὸν ἀναπτυχθειῶν σαλμονελλῶν ἐμβολιάζονται οἱ ἐκλεκτικοὶ ἐμπλουτιστικοὶ ζωμοί. Παρὰ ταῦτα ἡμεῖς παρετηρήσαμεν ὅτι καὶ εἰς τὴν περίπτωσιν αὐτὴν ἀρκετὰ στελέχη σαλμονελλῶν ἀναστέλλονται εἰς τοὺς δύο κλασσικοὺς προαναφερθέντας ἐμπλουτιστικοὺς ζωμούς. Διὰ τὴν ἐξουδετερώσωμεν τὸ μειονέκτημα τοῦτο

Π Ι Ν Α Ξ 1

Θ ε τ ι κ ά	α) Προεμπλουτισμός 334 δειγμάτων κιμῶ	
	β) Ἐμπλουτισμός εἰς :	
	R10/43° (*) (νέον ὑλικόν)	MK/43° (*) (κλασσικόν ὑλικόν)
Ἄριθ.	69 (**)	48 (**)
%	20,7	14,4
Στελέχη	71	48
Ὁρότυποι	20	15

(*) R10/43° = νέον ὑλικόν. Ἐπώσεις εἰς 43° C.

MK/43° = ζωμός Müller-Kauffmann. Ἐπώσεις εἰς 43° C.

(**) Διαφορὰ στατιστικῶς σημαντικὴ: $P < 0,05$.

Π Ι Ν Α Ξ 2

Θ ε τ ι κ ά	α) Προεμπλουτισμός 250 νοπῶν χοι- ρινῶν λουκανίκων	
	β) Ἐμπλουτισμός εἰς :	
	R10/43° (*) (νέον ὑλικόν)	MK/43° (*) (κλασσικὸς ζωμός)
Ἄριθ.	48 (**)	32 (**)
%	19,2	12,8
Στελέχη	53	38
Ὁρότυποι	17	14

(*) R10/43° = νέον ὑλικόν. Ἐπώσεις εἰς 43° C.

MK/43° = ζωμός Müller-Kauffmann. Ἐπώσεις εἰς 43° C.

(**) Διαφορὰ στατιστικῶς λείαν σημαντικὴ: $P < 0,001$.

Π Ι Ν Α Ξ 3

Θ ε τ ι κ ά	α) Προεμπλουτισμός 40 δειγμάτων λυμάτων όχρετών	
	β) *Εμπλουτισμός εις :	
	R10/43° (*) (νέον ύλικόν)	MK/43° (*) (κλασσικός ζωμός)
*Αριθ.	38 (**)	17 (**)
%	95,0	42,5
Στελέχη	103	25
*Ορότυποι	24	11

(*) R10/43° = νέον ύλικόν. *Επάσις εις 43° C.

MK/43° = ζωμός Müller-Kauffmann. *Επάσις εις 43° C.

(**) Διαφορά στατιστικώς λίαν σημαντική : P < 0,001.

Π Ι Ν Α Ξ 4

Θ ε τ ι κ ά	α) Προεμπλουτισμός 317 δειγμάτων νοπών χοιρινών λουκανίκων	
	β) *Εμπλουτισμός εις :	
	R10/43° (*) (νέον ύλικόν)	S/43° (*) (κλασσικός ζωμός)
*Αριθ.	122 (**)	57 (**)
%	38,5	18,0
Στελέχη	151	61
*Ορότυποι	29	16

(*) R10/43° = νέον ύλικόν. *Επάσις εις 43° C.

S/43° = ζωμός μετά σεληνώδους Νατρίου. *Επάσις εις 43° C.

(**) Διαφορά στατιστικώς λίαν σημαντική : P < 0,001.

παρεσκευάσαμεν διὰ σοβαρᾶς τροποποιήσεως τοῦ καλουμένου ζωμοῦ Rappaport (1956), ζωμὸν τὸν ὁποῖον ὠνομάσαμεν «ἐμπλουτιστικὸν ζωμὸν RIO», ὅστις δύναται νὰ ἐπωασθῆ εἰς 43° C κατόπιν ἐμβολιασμοῦ του ἐκ τοῦ πεπτονόχου ὕδατος τοῦ προεμπλουτισμοῦ (Vassiliadis καὶ συν., 1976). Ἡ μέθοδός μας αὕτη ἦτις σημειοῦται μὲ τὰ σύμβολα RIO/43° ἐδοκιμάσθη διὰ τὴν ἀναζήτησιν σαλμονελλῶν εἰς δείγματα συγκόπτου κρέατος (κιμᾶ) (Vassiliadis καὶ συν., 1978a), νωπῶν χοιρινῶν λουκανίκων (Vassiliadis καὶ συν., 1977) καὶ λυμάτων ὀχετῶν (Vassiliadis καὶ συν., 1978b). Ἡ σύγκρισις τῆς μεθόδου μας πρὸς τὰς κλασσικὰς μεθόδους ἐμπλουτισμοῦ ἀπεδείχθη κατὰ πολὺ καλυτέρα, διότι εἰς ὅλας τὰς περιπτώσεις ἀπεμονώθησαν σαλμονέλλαι ἐκ περισσοτέρων δειγμάτων, ἢ διαφορὰ δὲ ἦτο πάντοτε στατιστικῶς σημαντικὴ (Πίν. 1, 2, 3 καὶ 5). Τὰ ἀποτελέσματα αὐτὰ ἀνεκοινώθησαν ἤδη εἰς τέσσαρα ἐκ τῶν πλέον ἐγκρίτων περιοδικῶν τοῦ κόσμου εἰς τὸν τομέα τῆς ἐφαρμοσμένης μικροβιολογίας. Τὸ πλεονέκτημα τῆς μεθόδου μας ὀφείλεται ἀφ' ἑνὸς μὲν εἰς τὸ ὅτι αὕτη εἶναι ὀλιγότερον τοξικὴ διὰ τὰς σαλμονέλλας (Vassiliadis καὶ συν., 1974), ἀφ' ἑτέρου δὲ εἰς τὸ ὅτι εἶναι πολὺ τοξικώτερα καὶ συνεπῶς ἀνασταλτικὴ διὰ τὰ ἀνταγωνιστικὰ μικρόβια, ἐπιτρέπουσα οὕτω πολὺ εὐκολώτερα τὴν ἀπομόνωσιν τῶν σαλμονελλῶν (Πίν. 5).

Π Ι Ν Α Κ 5

Ἀνάπτυξις (**)	Ἀνάπτυξις ἀνταγωνιστικῶν μικροβίων ἐκ 334 δειγμάτων κιμᾶ εἰς τὰ ἐμπλουτιστικὰ ὑλικά (ἀνακαλλιέργεια ἐξ αὐτῶν εἰς ἐκλεκτικὸν στερεὸν ἄγαρ)	
	R10/43° (*)	MK/43° (*)
Ἀποῦσα	253	5
1 - 50 ἀποικίαι	23	7
Ἐλαφρὰ	14	22
Μετρία	19	59
Ἄφθονος	12	66
Λίαν ἄφθονος	13	175

(*) R10/43° = νέον ὑλικόν. Ἐπώασις εἰς 43° C.

MK/43° = ζωμὸς Müller-Kauffmann. Ἐπώασις εἰς 43° C.

(**) Πολλαπλασιασμὸς κατόπιν ἐπώασεως 48 ὥρῶν.

R É S U M É

Par une réduction importante du vert de malachite du milieu original d'enrichissement des salmonelles de Rappaport, nous avons préparé une modification substantielle de ce milieu qui peut être incubé à 43° C. Nous avons désigné cette nouvelle méthode d'enrichissement par les symboles R10/43°. Cette procédure a été comparée aux méthodes de référence classiques d'enrichissement de salmonelles à partir de produits carnés: a) le bouillon standardisé de Muller-Kauffman et b) le bouillon au sélénite, après pré-enrichissement en eau peptonée tamponnée des produits sous examen.

Cette comparaison a montré que notre procédé d'enrichissement a permis de déceler de façon significative, un nombre plus élevé d'échantillons positifs à partir de la viande hachée, de saucisses de porc, des eaux d'égout et de carcasses de poulets. En outre, la procédure d'enrichissement R10/43° provoque une inhibition plus considérable des germes compétitifs que les procédés d'enrichissement classiques et facilite ainsi la détection des salmonelles.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- W. Edel - E. H. Kampelmacher, Salmonella-isolation in nine European laboratories using a standardized technique. Bull. Wld Hlth Org., **41**, 297, 1969.
- F. Kaufmann, «Ein Kombiniertes Anreicherungsverfahren für Typhus und Paratyphusbacillen». Zbl. Bakt., I. Abt. Orig., **119**, 148, 1930.
- , Weitere Erfahrungen mit dem Kombinierten Anreicherungsverfahren für Salmonella bazillen. Z. Hyg., **117**, 26, 1935.
- E. Leifson, New selenite enrichment media for the isolation of typhoid and paratyphoid (Salmonella) bacilli. Amer. J. Hyg., **24**, 423, 1936.
- L. Müller, Un nouveau milieu d'enrichissement pour la recherche du bacille typhique et des paratyphiques. Comptes-Rendus des Séances de la Société de Biologie, **89**, 434, 1923.
- F. Rappaport - N. Konforti - B. Navon, A new enrichment medium for certain salmonellae. J. Clin. Path., **9**, 261, 1956.
- P. Vassiliadis - E. Pateraki - J. Papadakis - D. Trichopoulos, Evaluation of the growth of salmonellae in Rappaport's broth and in Müller-Kauffmann's tetrathionate broth. J. appl. Bact., **37**, 411, 1974.

- P. Vassiliadis - E. Pateraki - N. Papaïconomou - J. A. Papadakis - D. Trichopoulos, Nouveau procédé d'enrichissement de Salmonella. Ann. Microbiol. (Institut Pasteur, Paris), **127** B, 195, 1976.
- P. Vassiliadis - A. Kalandidi - E. Xirouchaki - J. Papadakis - D. Trichopoulos, Isolement des salmonelles à partir de saucisses de porc en utilisant un nouveau procédé d'enrichissement (R10/43°). Rec. Méd. vét. (Alfort), **153**, 489, 1977.
- P. Vassiliadis - D. Trichopoulos - E. Pateraki - N. Papaïconomou, Isolation of Salmonella from minced meat by the use of a new procedure of enrichment. Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig., B 166, 81 - 86, 1978a.
- P. Vassiliadis - D. Trichopoulos - A. Kalandidi - E. Xirouchaki, Isolation of salmonellae from sewage with a new procedure of enrichment. J. appl. Bact., **44**, 233 - 239, 1978b.
-