



differences in detection methods of aerobic organotrophic microorganisms (media, inoculation). The presence of *Ralstonia* is common in purified water, and although this type of water may not be sterile, it should not contain potentially pathogenic microorganisms when used in specific cases (age of patient, riskful diagnosis, application to damaged skin or mucosa).

Key words: Aqua purificata, *Ralstonia*, methods of detection, potential pathogens.

Úvod

Gramnegativní nefermentující tyčinky jsou velká skupina bakterií, široce rozšířených v nejrůznějším prostředí, mnoho z nich může být i potenciálně patogenních. Díky moderním taxonomickým metodám se tyto bakterie rozčlenily do různých taxonomických skupin, některé nejsou ani fylogeneticky příbuzné. Nicméně díky jejich přesnějšímu zařazení je lze lépe identifikovat a hodnotit jejich význam např. pro zdraví člověka.

Ralstonia picketii je gramnegativní bakterie patřící do třídy Betaproteobacteria, řád Burkholderiales. Původně byla na základě fenotypové podobnosti zařazena do rodu *Pseudomonas* (Gamaproteobacteria), posléze do rodu *Burkholderia*. Je striktně aerobní, konečným akceptorem elektronů je výhradně kyslík. Roste v rozmezí 15–42 °C. Kmeny rodu *Ralstonia* běžně žijí v půdě a ve vodě. Jsou však oligokarbofilní a mohou využívat široké spektrum uhlíkových látek. Vody s nízkým obsahem uhlíku jsou tak pro jejich existenci vhodné prostředí. Velmi dobře mohou tvořit biofilmy. Díky těmto vlastnostem se bakterie rodu *Ralstonia* mohou pomnožit právě v systémech, jako jsou zařízení na výrobu (dále jen „výrob-níky“) a skladování čištěné vody.

Bakterie rodu *Ralstonia* bývají původcem nozokomiálních nákaz (1) a závažným zdrojem tohoto typu mikrobiální kontaminace bývají různé typy vod z farmaceutické výroby (2). Požadavky na kvalitu a způsob testování

čištěné vody uvádí Český lékopis (3). V lékopisu je pro nerozplněnou vodu předepsána metoda stanovení „celkového počtu aerobních mikroorganismů“, membránovou filtrací (filtry o porozitě 0,45 µm) s následnou kultivací na agaru R2A, tj. na agaru s nízkým obsahem živin. Sandle (2) na základě svých výsledků doporučuje pro přeočkování kmenů mikroorganismů izolovaných z farmaceutických vod o něco více úživný R3A agar. Čištěná voda nemusí být sterilní, pro monitoring je vhodný akční limit aerobních mikroorganismů 100 KTJ/ml. Anglická studie (4), která charakterizovala mikrobiální společenstvo ve farmaceutických vodách, uvádí, že v čištěné vodě významně převažují zástupci gramnegativních bakterií. Nejčastěji izolované kmeny patřily do rodů *Ralstonia* (30 %) a *Burkholderia* (23 %), nejčastěji izolovaný druh byl *Ralstonia picketii*.

Vzhledem ke všem výše uvedeným vlastnostem bakterií rodu *Ralstonia* byly publikovány studie o jejich možném pomnožení v 0,9% komerčním fyziologickém roztoku, a to za různých teplot (15–42 °C; a schopnost přežití v teplotách 50–60 °C) (5) a též v dialyzačních trubičkách z PVC-C (6). Bylo zjištěno (5), že se počet *R. picketii* (ve studii ještě uvedena jako *Pseudomonas picketii*) během 168 hodin zvýší až o několik řádů. Část inokula přežije i teplotu 60 °C, bakteriální buňky navíc nejsou – vzhledem ke své velikosti a tvaru – kompletně odstraněny filtry o porozitě 0,2 µm. V dialyzačních trubicích i za nízkého obsahu celkového organického uh-