

Die voorkoms van Proteus-spesies en hul moontlike aanwending as indikatore van fekale besoedeling van water

deur

A.S. Greeff, Honns. - B.Sc.

Verhandeling voorgelê ter gedeeltelike voldoening aan die vereistes vir die graad MAGISTER SCIENTIAE

aan die

Potchefstroomse Universiteit vir C.H.O.

Januarie 1972

INHOUDSOPGAW

	<u>Bladsy</u>
OPSOMMING	iv
1. INLEIDING	1
1.1 Die ekologie van <u>Proteus</u> -spesies	1
1.2 Die rol van indikator-organismes as parameters van waterbesoedeling	3
2. WERKSWYSE EN STUDIEGEBIEDE	6
2.1 Beplanning en bronne van ondersoek	6
2.1.1 Water	6
2.1.2 Kompos	9
2.1.3 Fekale materiaal	10
2.2 Monsterneming	10
2.2.1 Die versameling van watermonsters	10
2.2.2 Komposmonsters	10
2.2.3 Monsterneming van menslike faeces	10
2.2.4 Tegnieke vir die monsterneming van maaginhoud van beeste, skape en varke	11
2.3 Voorondersoek na metodes vir die kwantitatiewe be- paling van <u>Proteus</u> -spesies in water	11
2.3.1 Media en metodes in gebruik vir die bekamping van swerming by <u>Proteus</u>	11
2.3.3 Proefnemings met die plaattellingsmetode en mem- braanfiltermetode	13
2.3.3 Proefnemings met die veelvoudige-buismetode ("multiple tube technique," "most probable number technique" ens.)	14
2.4 Metodes vir die bepaling van die <u>Proteus</u> en <u>E. coli</u> I indekse	17
2.5 Metodes vir die kwalitatiewe bepaling van <u>Proteus</u> - spesies in water, fekale materiaal en kompos	19
2.6 Tegnieke vir die isolasie en identifikasie van <u>Proteus</u> -spesies	19
3. RESULTATE	23
3.1 Kolonimorfologie van isolate	23
3.2 Identifikasie en differensiasie van isolate	23
3.3 Sleutel ten opsigte van simbole en afkortings by tabelle	24

3.4	Die voorkoms van <u>Proteus</u> -spesies in water soos bepaal met behulp van n veelvoudige-buismetode met ureumsop en tetrationsaatsop as primêre medium	25
3.5	Die voorkoms van <u>Proteus</u> -spesies in water	26
3.5.1	Water ¹	26
3.5.2	Water ²	30
3.5.3	Seewater	31
3.6	<u>Proteus</u> in kompos	31
3.7	Die voorkoms van <u>Proteus</u> -spesies in fekale materiaal	31
3.7.1	Menslike faeces	31
3.7.2	Maaginhoud van beeste	34
3.7.3	Maaginhoud van skape	36
3.7.4	Maaginhoud van varke	38
4.	BESPREKING	41
4.1	Die moderne konsep van die genus <u>Proteus</u>	41
4.2	Die voorkoms van <u>Proteus</u> -spesies in water	46
4.3	<u>Proteus</u> in kompos en fekale materiaal	48
4.4	Vergelyking met vorige werk	50
4.5	Gevolgtrekking	52
5.	DANKBETUIGING	54
6.	AANHANGSEL	55
6.1	Media en oplossings	55
6.1.1	Tetrationsaatsop	55
6.1.2	MacConkey-sop	55
6.1.3	Zarett en Doetsch (1949) se medium	55
6.1.4	Sandys (1960) se medium	55
6.1.5	Bismutsulfietagar	56
6.1.6	SS-agar	56
6.1.7	Eosien-metileenblouagar	56
6.1.8	MacConkey-agar	56
6.1.9	Voedingsagar	56
6.1.10	Ureumsop	56
6.1.11	Fenielalanienagar	56

	<u>Bladsy</u>
6.1.12 Voedingsgelatien	56
6.1.13 Drievoudigesuikerysteragar	57
6.1.14 Triptoonwater	57
6.1.15 Fermentasiemedia	57
6.1.16 Ornitionmedium	57
6.1.17 Ringer-oplossing	57
6.2 Bestanddele gebruik in media	57
6.3 Reagense en klourstowwe	58
7. LITERATUURVERWYSINGS	59

OPSOMMING

n Onderzoek na die voorkoms en verspreiding van Proteus-spesies in water, kompos en fekale materiaal van mense en diere is onderneem.

Sewentien monsters van water¹, afkomstig van bronne wat deur menslike aktiwiteite beïnvloed word, is kwantitatief ontleed. n Wysiging van die MWG-metode is gebruik. Proteus-spesies was in al hierdie monsters aanwesig.

In die geval van 12 van bogenoemde monsters is die Proteus indeks met die E. coli I indeks vergelyk. Proteus kom gereeld, maar in baie kleiner getalle as E. coli I voor.

Al 4 Proteus-spesies is soos volg uit water¹ geïsoleer: P. mirabilis uit 94%, P. vulgaris uit 59%, P. rettgeri uit 41% en P. morganii uit 12% van die monsters. Van die 160 isolate uit hierdie groep, verteenwoordig P. mirabilis 76%, P. vulgaris 14%, P. rettgeri 8% en P. morganii 2%.

Tien monsters van water², afkomstig van bronne verwyder van menslike aktiwiteite, of in ander opsigte verskillend van water¹, is slegs kwalitatief vir Proteus ondersoek.

Slegs 50% van hierdie monsters het Proteus-spesies opgelewer, te wete P. mirabilis in 40% en P. vulgaris in 10% van die monsters. Van 25 isolate het P. mirabilis 96% en P. vulgaris 4% verteenwoordig.

Twintig fekale monsters van elk van mense, beeste, skape en varke is slegs kwalitatief ondersoek.

Proteus is uit 25% van die menslike fekale monsters geïsoleer. van die 34 isolate verteenwoordig P. mirabilis 82%, P. vulgaris 12% en P. rettgeri 6%. Elk van bogenoemde 3 spesies kom in 10% van die monsters voor.

By beeste is Proteus uit 90% van die monsters geïsoleer. P. mirabilis is uit 85%, P. vulgaris uit 20% en P. morganii uit 5% van

die monsters geïsoleer. Van die 76 isolate verteenwoordig P. mirabilis 93%, P. vulgaris 5% en P. morganii 1%.

By skape kom Proteus in 65% van die monsters voor. P. vulgaris word hier in 55% van die monsters aangetref en P. mirabilis in 20%. P. vulgaris verteenwoordig 69% en P. mirabilis 31% van die 36 isolate.

By varke kom Proteus in 20% van die monsters voor; P. mirabilis in 15% en P. rettgeri in 5%. Van 27 isolate verteenwoordig P. mirabilis 96% en P. rettgeri 4%.

Slegs 12,5% van die komposmonsters het n Proteus-spesie naamlik, P. mirabilis, opgelewer.

Die volgende gevolgtrekkings is gemaak:

- A. Proteus-spesies word in n kenmerkende patroon aangetref met betrekking tot die frekwensie van voorkoms in monsters asook in hulle onderlinge verhouding tot mekaar. Met betrekking tot beide bogenoemde voorkomseienskappe vind ons dat P. mirabilis die dominerende spesie is gevolg deur P. vulgaris, P. rettgeri en P. morganii.
- B. Proteus-spesies is meer volop in die onmiddellike omgewing van menslike aktiwiteite.
- C. Proteus kom in kleiner getalle in water voor as E. coli I maar is altyd saam met E. coli I aanwesig.
- D. Proteus is die volopste in die faeces van beeste, gevolg deur dié van skape, mense en varke en kompos.
- E. Proteus-spesies kan as indikatore van besoedeling by die klassifikasie van rivierwater gebruik word.

1. INLEIDING

1.1 Die ekologie van Proteus-spesies

Ekologiese probleme kan volgens Brock (1966) op twee maniere bestudeer word, naamlik, deur studies wat habitat georiënteerd is of deur studies van die verspreiding en gedragspatrone van spesifieke organismes in die natuur. Dit is veral hierdie tweede benadering, naamlik die verspreiding en gedragspatrone van spesifieke organismes in die natuur, wat met hierdie studie beoog word.

Proteus-spesies kom onder andere in verrottende organiese materiaal van dierlike oorsprong, bedorwe vleis, faeces, rioolmateriaal en dieremis, voor (Wilson en Miles, 1955; Breed, Murray en Smith, 1957; Dubos, 1958; Windle Taylor, 1958; Cruickshank, 1965; Skerman, 1967). Alhoewel hierdie organismes soms in tuingrond en op sekere groentesoorte aangetref word, kry hulle waarskynlik toegang hiertoe deurdat besoedeling met rioolmateriaal of dieremis plaasvind (Wilson en Miles, 1955).

Volgens Levine (1942) is hulle feitlik heeltemal afwesig in die lug, grond, stof, varswaterdammetjies, afval van inmaakfabrieke en die kele van gesonde individue. Proteus mirabilis (P. mirabilis) is egter uit die mis van n verskeidenheid diere, waaronder witmuise en -rotte, Rhesus-ape en „raccoons” geïsoleer, terwyl Proteus vulgaris (P. vulgaris) dikwels uit afval van verpakkingsindustrie geïsoleer is. Hy beskou Proteus-spesies as ingewands-organismes wat slegs per toeval in die natuur aangetref word. Soortgelyke resultate is deur Bușila en Ioanid (1964) met P. mirabilis en P. vulgaris in rioolmateriaal en afval van vleisinmakerye respektiewelik behaal.

Verskeie outeurs het die teenwoordigheid van Proteus-spesies in water gerapporteer (Belaieff, 1947; Billib, 1949; Sturdza, 1962; Bușila en Ioanid, 1964; Sturdza en Bușilă, 1964; Brand,

Kemp, Pretorius en Schoonbee, 1967). Die teenwoordigheid van Proteus morganii (P. morganii) in soutwater is deur Buttiaux en Miege (1947) vermeld.

n Geval van wateroorgedraagde voedselvergiftiging, waarby Proteus-spesies betrokke was, word deur Billib (1949) beskryf. Die oorsaak van n groot uitbraak van ingewandssiekte in Noordwes-Duitsland, is teruggevoer na die eet van garnale afkomstig uit die riviermonding van die Elberivier. Proteus-spesies was vermoedelik betrokke by die afbraak van die proteïenmateriaal van die garnale, wat die vorming van toksiese stowwe tot gevolg gehad het.

Afgesien van hulle saprofitiese bestaan word Proteus-spesies dikwels met patologiese toestande by die mens en dier geassosieer. P. vulgaris en P. mirabilis word byvoorbeeld dikwels aangetref in gevalle van sistitis, peritonitis, pleuritis, absesse, oog- en oorinfeksies, diarree by kinders en ettervormende wonde (Wilson en Miles, 1955; Dubos, 1958; Burrows, 1959). Volgens Dubos (1958) is P. vulgaris vir sowat 13% van die infeksies van die urinêre sisteem by die mens verantwoordelik. Daar is aangedui dat die urease van Proteus nefrotoksies is waar die organismes in die epiteel van die nierbuisies voorkom (Burrows, 1959). P. mirabilis kom baie meer algemeen voor by infeksies van die urinêre en spysverteringstelsel van die mens as P. vulgaris, en is waarskynlik meer patogeen as laasgenoemde (Wilson en Miles, 1955).

Proteus morganii (P. morganii) is hoofsaaklik parasities met potensiële patogene gevolge, en word veral geassosieer met die uitbraak van diarree by kinders (Wilson en Miles, 1955; Breed e.a., 1957; Dubos, 1958; Burrows, 1959; Skerman, 1967). Buttiaux en Miege (1947) is die mening toegedaan dat besmetting met P. morganii moontlik deur water oorgedra kan word.

Oorspronklik is Proteus rettgeri (P. rettgeri) uit hoenders wat aan n cholera-agtige epidemie onderhewig was, geïsoleer, en meer onlangs uit

pasiënte met gastroënteritis (Breed e.a., 1957; Buchanan, Holt en Lessel, 1966).

Baie navorsers in verskeie lande het Proteus mirabilis en P. vulgaris as veroorsakende organismes van somerdiarree en gastroënteritis geïnkrimineer. Dit is egter wenslik om sommige van hulle bevindinge in 'n kritiese lig te beskou. Die bakteriologiese ondersoeke na die organismes betrokke by somerdiarree is uitgevoer aan die begin van hierdie eeu toe baie lede van die Salmonella- en Shigella-groepe nog onbekend was, en bakteriologiese tegnieke by verre nie so goed ontwikkel was as vandag nie (Wilson en Miles, 1955). Dieselfde kritiek is tot 'n mate van toepassing op die dikwels terloopse verwysing na die teenwoordigheid van Proteus-spesies¹⁾ in water en ander materiaal, sonder om spesifiek te wees.

Afgesien van hulle teenwoordigheid in faeces en patogene materiaal, kon baie min gegewens aangaande die voorkoms van Proteus-spesies, in die literatuur gevind word. Hierdie studie stel dit dan ten doel om die frekwensie, asook die onderlinge verhouding waarin die vier spesies in water, fekale materiaal en kompos voorkom, te bepaal. Pogings sal ook aangewend word om kwantitatiewe bepalinge van hierdie organismes in water te doen.

1.2 Die rol van indikator-organismes as parameters van waterbesoedeling

Water vir menslike gebruik noodsaak die daarstelling van kwaliteitsbeheer. Afhangende van die spesifieke gebruiksdoeleinde(s), verskaf bakteriologiese ondersoekmetodes waardevolle inligting aan-

.....

...4/

- 1) Baie van die vroeëre navorsers sluit 'n hele aantal organismes onder die genus Proteus in (vgl. 4.1). Oordeelkundigheid moet dus aan die dag gelê word by die interpretasie van resultate wanneer daar in geskrifte van veral voor 1945, slegs na Proteus verwys word, sonder om spesifieke spesies te noem of ten minste 'n aanduiding te gee van watter spesies bedoel word. Baie navorsers na 1945 verwys weer na Proteus, terwyl hulle slegs twee spesies, gewoonlik P. vulgaris en P. mirabilis bedoel.

gaande die kwaliteit van water: dit is die enigste metode waarvolgens resente fekale besoedeling van water aangedui kan word (Windle Taylor, 1958).

Die gebruik van Escherichia coli I (E. coli I) as 'n indikator-organisme van definitiewe, resente, fekale besoedeling, het gevloei uit die mens se behoefte aan 'n higiëniese waterbron vir huishoudelike verbruik (Windle Taylor, 1958; World Health Organization, 1958; American Public Health Association, American Water Works Association and Water Pollution Control Federation, 1960). Aangesien indikator-organismes die teenwoordigheid van fekale materiaal aandui, impliseer dit die moontlike aanwesigheid van patogene organismes (Windle Taylor, 1958). Geen beter bevestiging van fekale besoedeling kan dus verkry word as die isolasie van patogene bakterieë soos Salmonella en Shigella nie.

Patogene bakterieë kom egter gewoonlik in baie kleiner getalle in faeces voor as die normale flora, waaronder E. coli I, en hulle leef ook nie so lank nie (Windle Taylor, 1958). Dit volg dus dat wanneer E. coli I afwesig is in 'n gegewe waterbron, die aanname gemaak kan word dat geen patogene organismes van fekale oorsprong teenwoordig sal wees nie.

Nietemin word daar nie slegs op E. coli I as indikator-organisme peilgetrek nie. In die V.S.A. word grootliks van die kolivorme bakterieë gebruik gemaak as indikatore van fekale besoedeling (American Public Health Association e.a., 1960). Aanvullende indikator-organismes waaronder Staphylococcus, Streptococcus faecalis en Clostridium perfringens, kan onder spesifieke toestande waardevolle inligting voeg by die bepaling van die kwaliteit van 'n waterbron (Windle Taylor, 1958; Livingstone, 1969).

Die moontlikhede van Proteus-spesies as indikator-organismes, is deur 'n aantal navorsers genoem. Na 'n uitbraak van ingewandskoors in Switserland, is aanbevelings gemaak vir die gereelde ontleding van water

vir menslike verbruik. Die teenwoordigheid van „Bacterium coli, Bacterium aerogenes, Proteus of Clostridium” word beskou as aanduidings van besoedeling met fekale materiaal (Belaieff, 1947).

Die gebruik van Proteus-spesies as indikatore van die fekale besoedeling van melk word deur Zarett, Doetsch en Arne Hansen (1950) aanbeveel. Hierdie outeurs doen verder aan die hand dat Proteus-spesies, in plaas van die Escherichia-Aerobacter-groep, as indikatore gebruik word. Dit het volgens hulle ook die bykomstige voordeel dat geen spesiesdifferensiasie nodig is nie aangesien elk van die Proteus-spesies sanitêre betekenis het.

n Poging om n kwantitatiewe bepaling van Proteus in water te maak met behulp van n veelvoudige-buismetode, word deur Sturdza (1962) beskryf. Alhoewel geen spesiesdifferensiasie gemaak is nie, kom die outeur tot die gevolgtrekking dat Proteus n baie belangrike rol speel in die besoedeling van water met organiese materiaal, en as sodanig as indikator-organismes aangewend kan word.

Proteus mirabilis is volgens Buşila en Ioanid (1964) die dominante spesie in oppervlaktewater. Hulle het verder bevind dat dit aangetref word in getalle wat proporsioneel is met die omvang van besoedeling deur rioolmateriaal.

n Metode vir die bepaling van die graad van organiese besoedeling van water, deur middel van die aantal Proteus bakterieë teenwoordig in die water, is deur Sturdza en Busilá (1964) beskryf.

In hulle studie van die waterkwaliteit van die Drie Riviere-gebied in Natal, verwys Brand e.a., (1967) na die moontlikhede van Proteus-spesies as indikator-organismes. Weens hulle teenwoordigheid in fekale- en organiese materiaal kan hierdie organismes moontlik betekenisvolle inligting verskaf by die ontrafeling van n besoedelingskompleks.

Die onderhawige ondersoek na die verspreiding van Proteus-spesies in die natuur en n evaluering van hulle moontlikhede as indikatore van besoedeling, blyk dus heeltemal geregverdig te wees.

2. WERKSWYSE EN STUDIEGEBIEDE

2.1 Bepanning en bronne van ondersoek

Die bronne wat moontlik kan bydra tot die bakteriologiese besoedeling van water, was vir die doeleindes van hierdie studie beperk tot die volgende: varswater, kompos en die faeces van die mens, beeste, skape en varke.

By gebrek aan duidelike statistiese rigsgaande aangaande die aantal monsters wat uit elk van bogenoemde groepe ondersoek moes word, vir die verkryging van betroubare en verteenwoordigende resultate, is aanvanklik besluit om ten minste 10 monsters uit elke groep te ondersoek. By sommige van die versamelpunte is watermonsters herhaaldelik geneem sodat kwantitatiewe bepalinge beter vergelyk kon word. Sodoende is uiteindelik 27 watermonsters ondersoek (vgl. 2.1.1). Hoewel probleme ondervind is om persone te oortuig om fekale monsters te skenk is 20 sulke monsters ontleed (vgl. 2.1.3). Gevolglik is besluit om ook 20 fekale monsters by elk van die beeste, skape en varke te neem. Dit was besonder moeilik om kompos monsters in die hande te kry en daarom is net 8 ontleed. Alle monsters behalwe 4 kompos monsters is in Durban en omgewing geneem.

Die uitgangspunt was deurgaans om so veel as moontlik Proteus-spesies as wat hanteer kon word, te isoleer, om soedoende 'n beeld te probeer kry van die frekwensie en onderlinge verhouding waarin die verskillende spesies voorkom.

2.1.1 Water

Water is onder twee afdelings ondersoek, nl.:

water¹ wat bestaan het uit stadsafloopwater waarin die Proteus en Escherichia coli I indekse bepaal is, en

water², waar monsterpunte, wat verder uit die stedelike gebiede verwyder is, of in ander opsigte van water¹ verskil het, slegs kwalitatief vir Proteus-spesies ondersoek is.

Monsters van water¹ is geneem by 7 versamelpunte. Hierdie monsterpunte was versprei in Durban en omgewing, in digbewoonde of industriële gebiede (vgl. kaart 1).

Monsterpunt A was geleë in 'n sementkanaal wat hoofsaaklik deur die Merewent-woongebied vloei. Die kanaal ontvang verskeie dreineringspype vanaf hierdie woongebied en voer onder andere huishoudelike afloopwater mee. Die versamelingspunt was sowat 15 meter onderkant die aansluiting van die laaste dreineringspyp. Twee monsters is hier met 'n tussenpose van 5 maande geneem.

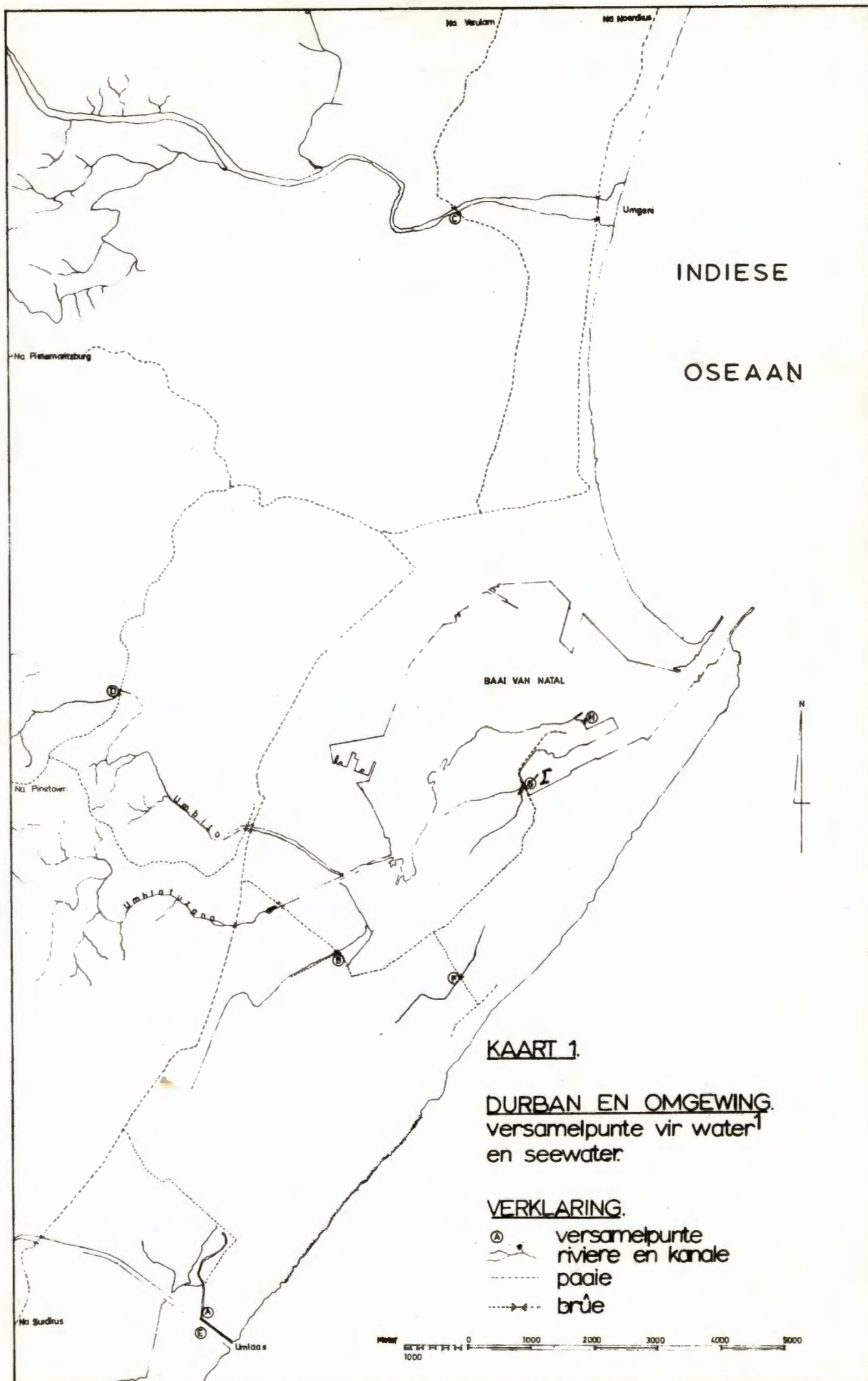
Vier monsters is by monsterpunt B, met tussenposes van 1 maand, 3 maande en 1 week geneem. Hierdie versamelpunt was geleë in 'n grond-sloot by die oorbrug op die hoek van Edwin Swales V.C.-rylaan en Dayalweg. Die dreineringsgebied is hoofsaaklik die Jacobs-industriële gebied.

Versamelpunt C in die Umgirivier was geleë by die Connaught-brug. Die onmiddellike dreineringsgebied bokant die brug sluit die digbewoonde woonbuurtes van Springfield en Puntans Hill in. Hier is ook 'n hele aantal industriële geleë. Slegs een monster is hier geneem.

By punt D in die Umbilorivier is een monster geneem by die oorbrug in Bellairweg. Bokant hierdie monsterpunt vloei die Umbilorivier deur Pinetown in die weste, Cato Manor in die noorde en Queensburgh in die suide.

In die Umlaaskanaal is twee keer monsters by versamelpunt E geneem, sowat 500 meter voordat die kanaal in die Indiese Oseaan uitmond. Die monsters is 5 maande na mekaar versamel. Die kanaal is, vir 'n afstand van sowat 3,5km bokant die versamelpunt, geheel en al van 'n betonkonstruksie. In die noorde word dit begrens deur die Merebank- en Lamontville-woonbuurtes. Suid daarvan lê die Louis Botha-lughawe.

Die betonkanaal wat deur Van Riebeeckpark in 'n noord-oostelike rigting vloei, dreineer vanaf die Bluff Inryteater, 'n laagliggende gebied. 'n Groot verskeidenheid huishoudelike afval word reeds die afgelope paar



KAART 1.

DURBAN EN OMGEWING.
 versamelpunte vir water¹
 en seewater.

VERKLARING.

- (A) versamelpunte
- riviere en kanale
- paale
- brûe

jaar hier gestort in n poging om die gebied op te vul. Monsterpunt F was sowat 600 meter onderkant hierdie opvullingsgebied in bogenoemde kanaal geleë. Hier is 5 monsters geneem met tussenposes van 1 jaar, 3 maande, 3 maande en 1 week.

Twee monsters, met n tussenpose van 1 jaar, is by die Durbanse slagpale geneem. Hiervoor is n samevloeiingspunt in die dreineringsstelsel van die slagpale gekies. Die afloopwater is afkomstig van verskeie lokale waar karkasse met water skoongespuut word. Die water het n hoë proteïeninhoud en word net na bogenoemde versamelpunt verwerk vir die vervaardiging van bloedmeel.

Ten opsigte van water² is een monster by elk van 10 versamelpunte geneem (vgl. kaart 2). Die meeste van hierdie versamelpunte was ver verwyder uit die stedelike gebiede, of het in ander opsigte verskil van dié onder water¹.

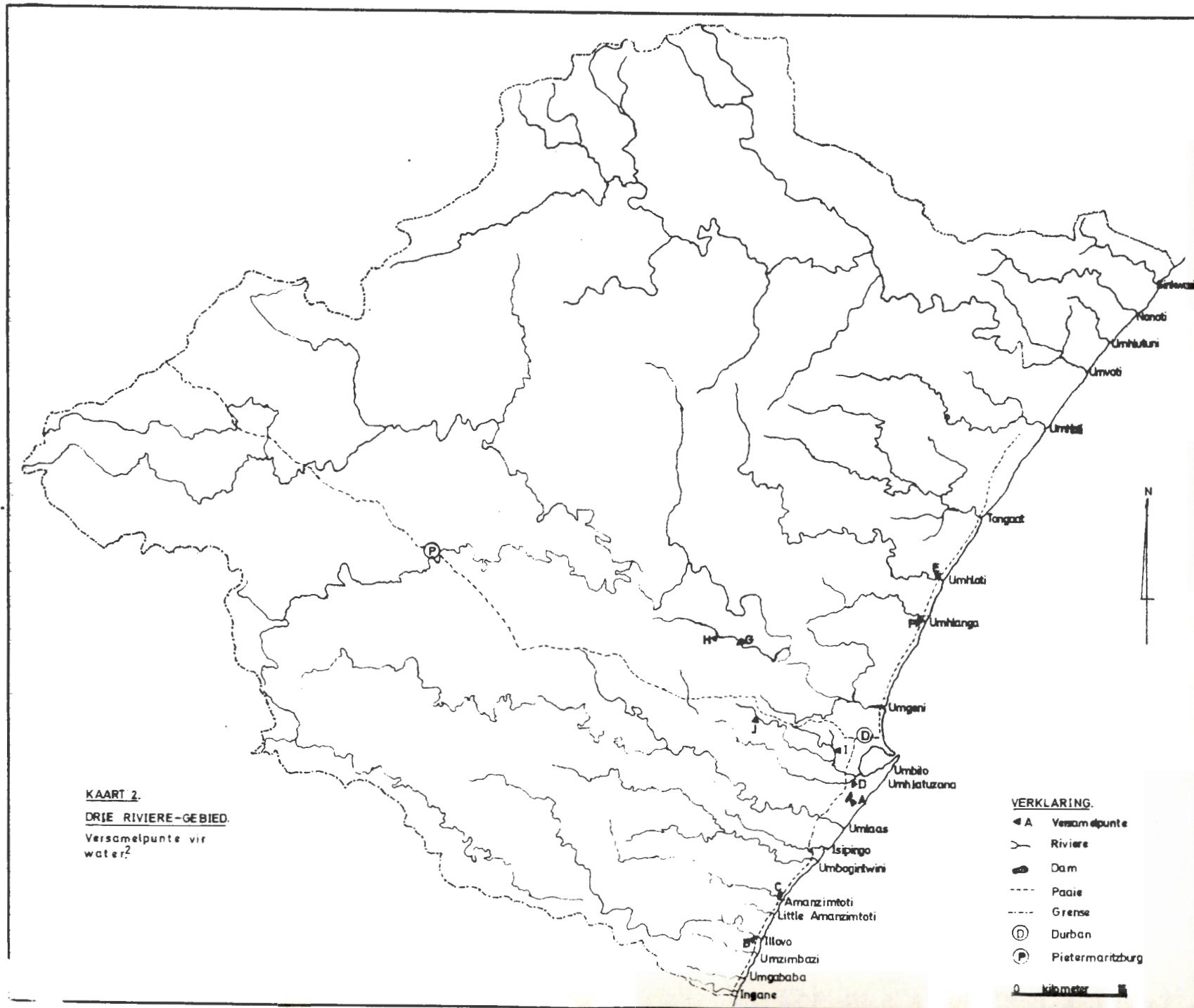
Monster A is geneem by n dam wat as natuurreservaat verklaar is en is geleë langs Taraweg in die vallei net wes van die Wontworth woongebied.

In die Illovo- en Amanzimtotiriviere is monsters by versamelpunte B en C respektiewelik geneem. In beide gevalle was dit by die oorbrûe op die Natalse Suidkuspad (Suid van Durban). Hierdie riviere vloei bokant die versamelingspunte deur suikerrietlande.

In die Umhlatuzanakanaal is n monster by punt D geneem. Die punt was geleë by die laaste oorloopwal. Net bokant die opdamming vloei die rivier deur n digbewoonde industriële gebied.

Aan die Natalse Noordkus (Noord van Durban) is twee monsters geneem in die Umhloti- en Umhlangariviere by versamelpunte E en F respektiewelik. Die punte was geleë by die oorbrûe in die Noordkuspad. Albei riviere vloei hier vir n hele paar kilometers deur suikerriet-aanplantings.

In die binneland is twee monsters geneem in die Molwonirivier.



Versamelpunt G was geleë by die oorbrug in Bridleweg in die Kranskloofnatuurreservaat. Sowat 5 km hoër op is n monster by versamelpunt H geneem by die oorbrug in Acuttsweg in Everton. Die Molwenirivier vloei bokant beide versamelpunte vir etlike kilometers deur ongerepte natuurskoon en is feitlik ontoeganklik vir mens en dier. Versamelpunt G was egter enkele meters bokant n gewilde parkie wat naweke druk besoek word deur piekniekgangers.

In die Umkumbanesytak van die Umbilorivier is n monster by die oorbrug in Kalendenweg, by versamelpunt I geneem. Hierdie sloot dreineer n digbewoonde gebied.

In die Umbilorivier is verder in die binneland n monster by monsterpunt J, geleë by die oorbrug in Marianhillweg, geneem. Hoërop vloei die Umbilorivier deur n bantoereservaat.

Aan die einde van hierdie studie is twee seewatermonsters by punte ~~H~~ en ~~I~~ geneem en kwalitatief vir Proteus-spesies ondersoek (*Lugl. Kaart 1*).

2.1.2 Kompos

Die komposmonsters was afkomstig uit die tuine van woonpersele. Die komposhope het hoofsaaklik bestaan uit tuin- en huishoudelike afvalmateriaal. Drie van hierdie monsters is van Potchefstroom en een vanaf Hennenman verkry. Die ander vier is in Durban versamel.

2.1.3 Fekale materiaal

Probleme is ondervind by die verkryging van menslike fekale monsters. Sewe monsters is van blanke persone ontvang en der-tien van Indiërstudente. By beide groepe is n mate van onwil-ligheid om monsters te skenk ondervind. Dit kan waarskynlik toe-geskryf word aan n gevoel van verleentheid, asook in sommige ge-valle bygelowigheid.

Monsters van maaginhoud van beeste, skape en varke is by

die Durbanse slagpale geneem.

2.2 Monsterneming

2.2.1 Die versameling van watermonsters

Die watermonsters is in 250 ml reagensbottels met wynekke en glasproppe en met bladaluminium daaroor, volgens standaard voorskrifte versamel (Reid, 1927; Windle Taylor, 1958; World Health Organization, 1958; American Public Health Association o.a., 1960; Cruickshank, 1960, 1965; Ehlers en Steel, 1965). Dit is binne twee uur ná versameling na die laboratorium vervoer en onmiddollik ontleed. Dié monsters wat by die verste punte versamol is, is vervoer in geïnsoleerde houers, verpak tussen blokkies ys vir verkoeling.

2.2.2 Komposmonsters

Hierdie monsters is geneem uit die onderste lae van aërobe komposhope (Ehlers en Steel, 1965). Steriele tango is gebruik om die kompos in houers soortgelyk aan dié vir watermonsters, te versamel. Die drie monsters vanaf Potchefstroom is binne 24 uur ontleed en die een vanaf Hennenman binne 12 uur. Hierdie vier monsters is op ys verpak tydens vervoer. Die ander vier monsters wat in Durban geneem is, is binne twee uur ontleed.

2.2.3 Monsterneming van menslike faeces

Die eerste paar vars monsters is versamel in steriele 2 ons botteltjies met wye nekke en skroefproppe (Cruickshank, 1960). Hulle is later vervang met 500 ml Brewer-flesse (Pyrex) met wye nekke. Hierdie flesse, voorsien van watteproppe en met die prop en nek bedek met bladaluminium, is vooraf gesteriliseer. Houtspatels, vooraf gesteriliseer binne in papiersakkies, is gratis deur die vervaardiger (Winthrop) verskaf, en is gebruik om monsterneming te vergemaklik (Brand, 1966). Die grootte van die flesse het dit moontlik gemaak om in die meeste gevalle die vol-

le stoelgang te neem. Reëlins is so getref dat die faeces binne n paar minute na versameling, ontleed kon word. Geen preservering of afkoeling is dus hiervoor gebruik nie (Cruickshank, 1960).

2.2.4 Tegnieke vir die monsterneming van maaginhoud van beeste, skape en varke

Aangesien dit moeilik was om vars, onbesoedelde mis in die hande te kry, is besluit om maaginhoud te ondersoek.

By beeste en skape is die monsters uit die abomasum geneem. n Groot halfmaanvormige snit is deur die abomasum gemaak, die maagwand opgelig en oorgevou, en n monster so diep as moontlik deur die snit geneem.

Vleklose staalspatels, 32 cm by 3,5 cm, vooraf gesteriliseer, is gebruik om monsters gelykstaande aan ongeveer n opgehoopte eetlepelvol te neem. Hierdie monster is in Brewer-flesse, soos hierbo beskryf, geplaas. Monsters uit varkmae is op dieselfde manier geneem.

Al die monsters is by die Durbanse slagpale versamel pas nadat die diere geslag is, sonder enige preservering of verkoeling na die laboratorium vervoer, en binne n uur ontleed.

2.3 Vooronderzoek na metodes vir die kwantitatiewe bepaling van Proteus-spesies in water

2.3.1 Media en metodes in gebruik vir die bekamping van swerming by Proteus

Drie van die Proteus-spesies swerm kenmerkend op vaste media (Rustigian en Stuart, 1945; Stuart, Wheeler, McGann en Howard, 1946 b; Belyavin, 1951; Wilson en Miles, 1955; Breed e.a., 1957; Cruickshank, 1960, 1965; Rauss, 1962; Skerman, 1967). Om hierdie rede skeep hulle baie probleme in die mediese laboratorium waar roetine toetse op patogene materiaal uitgevoer word.

Hulle neig dikwels om plaatkulture binne n paar uur heeltemal te oorgroei en sodoende die isolasie van belangrike patogene organismes te belemmer (Lominski en Lendrum, 1942; Hayward en Miles, 1943; Sykes en Reed, 1949; Wilson en Miles, 1955; Holman, 1957; Cruickshank, 1960, 1965). Om bogenoemde redes is dit nie moontlik om betroubare plaattellings van Proteus te maak tensy swerming bekamp kan word nie.

n Groot verskeidenheid metodes wat hierdie swerming tot n meerdere of mindere mate onderdruk word in die literatuur beskrywe. In die meeste gevalle word van chemikalieë, wat swerming inhibeer, gebruik gemaak. Die bekendstes sluit onder andere die volgende in: chloraalhidraat, natriumasied, natriumlouriel-sulfaat, boorsuur, sulfametasien en ferrosoute (Lominski en Lendrum, 1942; Hayward en Miles, 1943; Sykes en Reed, 1949; Wilson en Miles, 1955; Holman, 1957; Cruickshank, 1960, 1965; Sokolski en Stapert, 1963).

Veranderinge in die fisiese eienskappe van agarmedia word ook gebruik om swerming te bekamp. Die bekendstes is die gebruik van alkohol om die oppervlakte van plaatmedia te droog en media wat verhoogde agarkonsentrasies bevat (Hayward en Miles, 1943).

Die media hierbo vermeld is feitlik almal ontwikkel met die primêre doel om van swermende spesies in die roetine laboratorium ontslae te raak (Sandys, 1960), en nie om Proteus-spesies noodwendig te tel nie. Al hierdie media is ook net gedeeltelik effektief vir die bekamping van swerming, of besit eienskappe soos die onderdrukking van flagellavorming, of beïnvloed die koloniemorfologie (Lominski en Lendrum, 1942; Hayward en Miles, 1943; Sykes en Reed, 1949; Holman, 1957; Sandys, 1960; Sokolski en Stapert, 1963). Die groot verskeidenheid media wat in die lite-

ratuur beskrywe word vir die onderdrukking van swerming, is dan miskien ook 'n aanduiding van hulle beperkinge.

2.3.2 Proefnemings met die plaattellingsmetode en membraanfiltermetode

Slegs een selektiewe plaattellingsmedium wat primeêr ontwikkel is om Proteus-spesies te tel, naamlik die medium van Zarett en Doetsch (1949), kon opgespoor word. Hierdie medium is ontwikkel om die voorkoms van Proteus-spesies in melk en ander suiwelprodukte te bepaal, met die oog op hulle evaluering as kwaliteitsindikatore (Zarett en Doetsch, 1949).

Die selektiwiteit van hierdie medium is egter daarop gemik om die normale melkbakterioë uit te skakel (Zarett en Doetsch, 1949). Hulle het dan ook bevind dat Escherichia coli, Aerobacter aerogenes en Pseudomonas aeruginosa nie geïnhibeer word nie. Nietemin is besluit om hierdie medium in te sluit by enkele andere vir voorlopige ondersoeke na hulle moontlikhede.

Die medium van Sandys (1960) is ook ingesluit, nie soseer om as primêre medium te gebruik nie, as met die oog op die moontlike gebruik daarvan vir die latere suiwering van kulture van Proteus-spesies. Sandys (1960) het die waarneming gemaak dat Proteus-spesies nie op 'n medium met 'n lae elektrolietinhoud swerm nie. Sy medium is egter nie selektief nie en ondersteun volgens hom, die groei van 'n groot verskeidenheid ander organismes. Aangesien dit nie die doel van hierdie studie is om 'n nuwe medium te ontwikkel vir die kwantitatiewe bepaling van Proteus-spesies nie, is besluit om met sommige van bogenoemde media, vir gebruik as primêre medium by die plaattellings- en membraanfiltermetode, te eksperimenteer.

Tienvoudige reeksverdunnings van 'n suiwerkultuur van Proteus vulgaris, is in kwartsterkte Ringer-oplossings berei (vgl. 2.3.3). Inokulasies vanaf bogenoemde verdunnings is gedoen op Zarett en

Doetsch (1949) en Sandys (1960) se media, volgens standaard metodes vir plaattellings (American Public Health Association e.a., 1960). n Inkubasie temperatuur van 37°C is deurgaans by beide metodes gebruik (Breed e.a., 1957; Skerman, 1967).

Die membraanfiltermetode is uitgevoer volgens standaard voorskrifte vir hierdie metode (Windle Taylor, 1958; American Public Health Association e.a., 1960; Cruickshank, 1965). Bogenoemde twee media is gebruik, met en sonder agar, asook MacConkey-membraansop (Oxoid).

Al die plato en membrane het, na 18 uur inkubasie, swerming tot n meerdere of mindere mate vertoon. Die belowendstes het geblyk die plaattellings met Zarett en Doetsch (1949) en Sandys (1960) se media te wees. Verdere proefnemings met die membraanfiltermetode is hierna gestaak. Plaattellings is egter met bogenoemde twee media, en n watermonster geneem by punt B (vgl. 2.1.1, water¹), herhaal. Geen Proteus-spesies kon egter geïsoleer word nie.

Soos later bevind is, kom Proteus-spesies in relatief klein getalle in water voor (vgl. 3.5.1, tabel 4). Dit kan dus aangenem word dat as gevolg van die tienvoudige reeksverdunding van watermonsters, om n ideale telling van 30 - 300 kolonies te bewerkstellig (American Public Health Association e.a., 1960), die Proteus-spesies uitgeskakel word. Vanweë die onbevredigende resultate met bogenoemde media en metodes, is verdere proefnemings daarmee gestaak.

2.3.3 Proefnemings met die veelvoudige-buismetode („multiple tube technique”, „most probable number technique” ens.)

Vanweë die probleme met bogenoemde metodes is die veelvoudige-buismetode oorweeg. Hierdie metode hou die volgende voordele in:

- (a) die probleme wat deur swermende Proteus-spesies op vaste media geskep word, hoef hier geen rol te speel nie, en
- (b) die teenwoordigheid van gesuspendeerde materiaal in watermonsters wat ondersoek is, en gevolglik plaat- en membraantellings aansienlik bemoeilik, is hier van minder belang.

Dit moet egter duidelik gestel word dat hierdie metode nie 'n werklike telling van die groep bakterieë wat ondersoek word, in enige gegewe volume water, weerspieël nie (American Public Health Association e.a., 1960). Slegs 'n skatting van die mees-waarskynlike-getal (MWG) individue in 'n gegewe volume water kan gemaak word (McCrady, 1915; Wilson en Miles, 1955; American Public Health Association e.a., 1960; Cruickshank, 1965).

Slegs een verwysing na 'n veelvoudige-buismetode, met die doel om Proteus-spesies in water te tel, kon gevind word. Sturdza (1962) maak van die volgende gewysigde metode gebruik: tienvoudige reeksverduunnings van die watermonster word op die gewone manier berei. Elk van hierdie verduunnings word dan op vyf voedingsagarskuinsbodems geïnokuleer. Die inokulasie word só gedoen dat die watermonster teen die glaswand van die proefbuis, aan die teenoorgestelde kant van die voedingsagarskuinsbodem, afloop. Op hierdie manier word verhoed dat die watermonster bo-oor die skuinste van die voedingsagarmedium vloei. Sturdza (1962) gaan van die veronderstelling uit dat swermende spesies, na inkubasie oornag, vanuit die watermonster teen die skuinste van die voedingsagar op sal groei. Elke kultuur wat op hierdie manier swerming vertoon, word as 'n positiewe reaksie' vir Proteus beskou. Die aantal positiewe kulture uit vyf, vir elke verduunning, word dan genoteer en die MWG van tabelle afgelees. Geen verdere bevestigende toetse is egter gemaak nie.

Die metode van Sturdza (1962) kom egter verdag voor aangesien nie alle rasse van Proteus-spesies swerming tot dieselfde mate vertoon nie. Swerming kon byvoorbeeld slegs onder spesiale toestande by Proteus rettgeri geïnduseer word (Rauss, 1962). By die ander spesies hang die mate

van swerming baie nou saam met die toestande waaronder hulle groei (Stuart e.a., 1946 b). Om hierdie redes is besluit om nie dieselfde metode as Sturdza (1962) te volg nie.

By gebrek aan 'n beproefde veelvoudige-buismetode vir die bepaling van Proteus is besluit om hierdie metode, soos algemeen in gebruik vir die bepaling van die E. coli indeks, in 'n effens gewysigde vorm te gebruik. Hiervoor is die MacConkey-sop wat by die bepaling van E. coli gebruik word, vervang met die ureumsop van Stuart, van Stratum en Rustigian (1945), as primêre medium. Hierdie sterk gebufferde medium skakel positiewe reaksies deur ander lede van die Enterobacteriaceae uit, aangesien slegs Proteus-spesies in hierdie medium 'n alkaliese reaksie van 'n pH meer as 8,1 binne 12-48 uur kan gee (Stuart e.a., 1945; Difco Laboratories Incorporated, 1953).

Die metode is eers uitgetoets deur gebruik te maak van 'n suiwer kultuur van Proteus vulgaris. Die organisme is op 10 ml voedingsop geïnkuleer en vir 18 uur geïnkubeer by 37°C. Hierna is 'n standaard suspensie berei deur 1,0 ml van die voedingsopkultuur by 1,0 L kwartsterkte Ringer-oplossing te voeg en goed te skud. Tienvoudige reeksverduunnings van die standaard suspensie is in kwartsterkte Ringer-oplossing berei vanaf 10⁻¹ ml tot 10⁻⁶ ml. Vyf 10 ml hoeveelhede van die standaard suspensie is elk in 10 ml dubbelsterkte ureumsop getoets. Vyf 1 ml hoeveelhede van die standaard suspensie sowel as vyf 1 ml hoeveelhede van elk van die verdere verduunnings, is elk in 10 ml enkelsterkte ureumsop getoets. Kulture is vir 48 uur by 37°C geïnkubeer. Vir die berekening van die veronderstelde indeks is 'n alkaliese reaksie in die ureumsop (rooi kleur) as 'n positiewe reaksie beskou, on die MWG-tabelle gebruik (vgl. 2.4).

Hierdie metode verleen homself nie daartoe om 'n bevestigende indeks soos byvoorbeeld by die bepaling van E. coli I te verkry nie. 'n Voltooide indeks kan egter verkry word deur elke kultuur wat 'n alkaliese

reaksie binne 48 uur in die ureumsop bewerkstellig, verder te ondersoek (vgl. 2.4) en Proteus daaruit te isoleer en te identifiseer.

By die bepaling van die voltooide indeks van Proteus vulgaris is egter bevind dat n groot aantal kulture wat aanvanklik positiewe reaksies in die ureumsop gegee het, geen P. vulgaris opgelewer het nie. Gevolglik was daar n groot verskil tussen die veronderstelde en voltooide indekse. Dieselfde metode is hierna op etlike watermonsters toegepas en die veronderstelde en voltooide indekse bepaal, met soortgelyke resultate (vgl. 3.4, tabel 2).

Dit wil dus voorkom of Proteus-spesies begin afsterf ten tye van die kleurverandering in die ureumsop. Dit is moontlik dat die hoë alkaliniteit van die medium ten tye van die kleurverandering (Stuart e.a., 1945) die oorsaak hiervan kan wees. In gevalle waar die pH kort na die kleurverandering getoets is, is n pH van 10 geregistreer.

n Verdere verskynsel is waargeneem, naamlik, dat die kleurverandering van die ureumsop in intensiteit toeneem nadat Proteus nie meer daaruit geïsoleer kon word nie. n Moontlike verklaring kan wees dat die hoë pH nie die ureaseaktiwiteit beïnvloed nie, met die gevolg dat die ensiem voortgaan met die hidrolise van die ureumsubstraat. Om bogenoemde redes is die ureumsop vervang met tetrationsop as primêre medium. Dit is n selektiewe verrykingsmedium en bevorder die groei van Proteus-spesies (Hynes, 1942).

2.4 Metodes vir die bepaling van die Proteus en E. coli I indekse

Vir die bepaling van die Proteus indeks is die basiese beginsels van die veelvoudige-buismetode toegepas (Wilson en Miles, 1955; Windle Taylor, 1958; American Public Health Association e.a., 1960; Cruickshank, 1965). Tetrationsop is egter as primêre medium gebruik (Hynes, 1942).

Onverdunde water is in een 50 ml, vyf 10 ml en vyf 1,0 ml hoeveelhede getoets. Tienvoudige reeksverdunnings van watermonsters, is vanaf 10^{-1} ml tot by 10^{-6} ml in kwartsterkte Ringer-oplossings berei. Elke verdunning is in 20 ml hoeveelhede berei sodat n groot genoeg volume beskikbaar was vir beide die Proteus en E. coli I bepalinge. Vyf 1,0 ml hoeveelhede van elke verdunning is getoets.

Kulture in tetrationsop is na 18 uur inkubasie (Difco Laboratories Incorporated, 1953) by 37°C (Breed e.a., 1957; Cruickshank, 1965; Skerman, 1967) ondersoek vir groeitroebeelheid. By elke sokkultuur wat groeitroebeelheid vertoon het, is gepoog om ten minste een Proteus-spesie te identifiseer (vgl. 2.6). Hieruit is dan slegs n voltooid indeks van Proteus bereken volgens die MWG-tabelle soos hersien deur Swaroop (World Health Organization, 1958). Vir elke watermonster is een sokkultuur wat groeitroebeelheid vertoon het, geselekteer en soveel Proteus-spesies as wat hanteer kon word, geïsoleer en geïdentifiseer (vgl. 2.6). Op hierdie manier kon n aanduiding van die onderlinge verhouding waarin die verskillende Proteus-spesies in water voorkom, verkry word (vgl. resultate).

Terwille van eenvormigheid is besluit om die E. coli I indeks ook deur middel van die veelvoudige-buismetode te bepaal. MacConkey-sop (Oxoid) met Durham-fermentasiebuisse is as primêre medium gebruik (Windle Taylor, 1958; World Health Organization, 1958; Brand, 1966). Die metode is uitgevoer volgens standaard voorskrifte (Windle Taylor, 1958; World Health Organization, 1958; American Public Health Association, 1960). Dieselfde manier van inokulasie as vir Proteus is gebruik, behalwe dat die buise met 50 ml medium weggelaat is. Kulture in MacConkey-sop is vir 48 uur in n waterbad by $44,5^{\circ}\text{C}$ geïnkubeer (Brand, e.a. 1967). Alle sokkulture is na 24 en 48 uur ondersoek vir suur- en gasvorming, en die veronderstelde indeks volgens die MWG-tabelle bepaal (Brand e.a., 1967).

Sodra kulture suur- en gasvorming vertoon het, is dit in duplikaat voortgekweek in triptonwater by 44,5°C vir 48 uur. Kulture is na 24 uur, en indien hulle negatief was, weer na 48 uur getoets vir indoolvorming met die Kovacs-reagens (vgl. 2.6). Positiewe kulture is gekombineer om die bevestigde indeks volgens die MWG-tabelle te bepaal (Brand e.a., 1967).

2.5 Metodes vir die kwalitatiewe bepaling van Proteus-spesies in water, fekale materiaal en kompos

Tetrationaatsop is deurgaans as primêre, selektiewe, verrykingsmedium gebruik. Die toestande vir inkubasie was dieselfde as vir Proteus-spesies hierbo. Die monsters is egter op verskillende maniere gehanteer na gelang van hul aard. Buise wat elk 10 ml dubbelsterkte tetrationaatsop bevat het, is elk met 10 ml water-monsters geïnokuleer en daarna geïnkubeer.

Die fekale materiaal en komposmonsters is in buise wat 10 ml enkelsterkte tetrationaatsop bevat het, geïnokuleer. Genoeg tetrationaatsop is eers by elke monster gevoeg sodat dit in 'n dikkerige vloeibare vorm opgebreek kon word met behulp van 'n steriele glasstafie. Ongeveer 2 ml hoeveelhede hiervan is as inokulum gebruik. Die inokulasie is gedoen met pipette waarvan die punte afgesny was. Hierna is strykplate vanaf die sokulture berei en soveel as moontlik Proteus-spesies geïdentifiseer soos beskrywe onder 2.6 hieronder.

2.6 Tegnieke vir die isolasie en identifikasie van Proteus-spesies

Zarett en Doetsch (1949) en Sandys (1960) se media, tesame met MacConkey-agar, bismutsulfietagar, Salmonella-Shigella-agar (SS-agar) en eosien-metileenblouagar is aanvanklik uitgetoets vir hul moontlikhede om as strykplate te dien. Sandys (1960) se medium en SS-agar het die beste resultate gelewer. Geen swerming is op SS-agar waargeneem nie. By Sandys se medium het swerming in 'n

klein sone om sommige kolonies plaasgevind.

Strykkulture is op SS-agar en Sandys (1960) se medium vanaf tetra-
tionaatsop-kulture gemaak. Hierdie twee plaat media is vir n groot
gedeelte van hierdie studie saam gebruik. Sandys se medium is egter
later uitgeskakel omdat dit nooit beter resultate as SS-agar gelewer
het nie. Swarming het altyd tot n mate voorgekom alhoewel Proteus-
spesies, wanneer teenwoordig, altyd vanaf beide media geïsoleer is.
Op SS-agar kom Proteus-spesies na 24 uur inkubasie by 37°C, as kleurlo-
se, ondeurskynende, gladde kolonies voor (Rustigian en Stuart, 1945;
Difco Laboratories Incorporated, 1953). Sommige goed geïsoleerde ko-
lonies het na 24 uur inkubasie, donkerbruin kerne in die middel van die
kolonies vertoon. Na 48 uur inkubasie word hierdie kerne pikswart.

Wanneer dit moontlik was is 8-12 tipiese Proteus kolonies liggies
met n inokuleernaald geraak en op voedingsagarskuinsbodems oorgeplant
en geïnkubeer vir 18-24 uur. Aangesien slegs Proteus-spesies positie-
we reaksies (sien hieronder) op beide ureumsop en fenielalanienagar gee
(Stuart e.a., 1945; Henriksen, 1950), is besluit om die isolate, voor
verdere suiwering, op hierdie twee media te toets met die oog op af-
skerming. n Groot inokulum is vanaf bogenoemde skuinsbodembodems in
ureumsop oorgedra (Stuart e.a., 1945) deur die ureumsop twee keer met
n inokuleer-ogie te inokuleer. Kulture in ureumsop is ondersoek na 4,
8, 24 en 48 uur inkubasie (Stuart e.a., 1945). n Alkaliese reaksie
(rooi kleur) bevestig n positiewe reaksie. Vir verdere bevestiging is
lang skuinsbodems van fenielalanienagar in proefbuisse gegiet (Edwards
en Ewing, 1962). n Inokuleer-ogie, met inokulum, is oor die hele op-
pervlakte van die skuinsbodem uitgestryk. Kulture is na 8 uur inkuba-
sie getoets vir die vorming van fenielpirodruiwesuur (Henriksen, 1950;
Edwards en Ewing, 1962). n Paar druppels van n 10% (m/v) ferrichlo-
riedoplossing is toegelaat om oor die skuinsbodembodem te vloei. n
Groen kleur wat na n paar sekondes in die agarstollingsvloeistof en me-

dium ontwikkel, bevestig n positiewe reaksie (Edwards en Ewing, 1962).

Kulture wat negatiewe reaksies op beide hierdie toetsmedia gelewer het, is nie verder ondersoek nie. Die wat positief op een of beide was, is verder gesuiwer deur dit 3 of meer kere op SS-agarplate uit te stryk en nuwe subkulture daarvandaan op voedingsagar te maak. Smere hiervan waarop die Gram-kleuring, volgens die gewysigde metode van Hucker uitgevoer is (Society of American Bacteriologists, 1957), is mikroskopies ondersoek. n Klein persentasie isolate was na bogenoemde uitstrykings nog onsuiver. Dit het gewoonlik uit hul reaksies op fermentasiemedia geblyk. In hierdie gevalle is die suiweringsproses herhaal.

Suiwer kulture is hierna op die volgende media geïnokuleer en hul reaksies hierop bepaal:

- (a) Die toetse op ureumsop en fenilalanienagar is herhaal.
- (b) Voedingsgelatien is gebruik om vir die vermoë om gelatien te vervloei te toets deur steekkulture te maak en by 20°C te inkubeer (Society of American Bacteriologists, 1957; Edwards en Ewing, 1962). Lesings is daaglik vir 3 dae geneem en daarna weeklik vir 4 weke (Rustigian en Stuart, 1945; Kauffmann, 1954; Shaw en Clarke, 1955).
- (c) Vir die vermoë tot die vorming van swaelwaterstof (H_2S) is getoets op drievoudigesuikerysteragar. Hierdie medium is geïnokuleer deur die naald met inokulum in die kolf te steek en die inokulum dan verder oor die skuinsbodem uit te stryk (Difco Laboratories Incorporated, 1953; Edwards en Ewing, 1962). Die ontwikkeling van n swart kleur is as n positiewe reaksie geregistreer (Difco Laboratories Incorporated, 1953; Edwards en Ewing, 1962). Kulture is daaglik vir 7 dae ondersoek (Edwards en Ewing, 1962).
- (d) Triptonwater is gebruik om vir indoolvorming te toets. Inokulasies is in duplikaat gedoen en na 24 en 48 uur inkubasie

met die Kovacs-reagens getoets (Society of American Bacteriologists, 1957; Edwards en Ewing, 1962). Sowat 0,5 ml van die Kovacs-reagens is by die kulture gevoeg en liggies geskud. Die vorming van 'n rooi ring aan die oppervlakte van die kultuur is beskou as 'n positiewe reaksie (Edwards en Ewing, 1962). In gevalle waar 'n rooi ring nie onmiddellik gevorm is nie, is die kulture na 'n paar minute herondersoek.

- (e) Vir die vermoë tot fermentasie is getoets in laktose-, mannitol- en maltosesop. Durham-fermentasiebuis is by hierdie media ingesluit. Suur- of suur- en gasvorming is as positiewe reaksies geïnterpreteer (Rustigian en Stuart, 1945; Kauffmann, 1954; Singer en Bar-Chay, 1954; Shaw en Clarke, 1955). Kulture is vir 30 dae geïnkubeer en daaglik ondersoek vir 7 dae en daarna weekliks (Edwards en Ewing, 1962).
- (f) Die metode van Falkow (1958) is gebruik om vir ornitiendekarboksilase (Edwards en Ewing, 1962) te toets. Klein buise met skroefproppe (13 x 100 mm) is gebruik om die ornitiensop, en die kontrolesop sonder ornitien, te hou (Falkow, 1958; Edwards en Ewing, 1962). 'n Ligte inokulasie is in ornitiensop en die kontrolesop gemaak en daaglik ondersoek vir 4 dae (Edwards en Ewing, 1962). Die twee media word oors geel as gevolg van suurvorming, en later as dekarboksilasie plaasvind, word die ornitiensop alkalies (pers) terwyl die kontrolesop suur (geel) bly (Edwards en Ewing, 1962).

Die verskillende spesies van Proteus is geïdentifiseer volgens die reaksies wat hulle op bogenoemde media veroorsaak het (vgl. 3.2, tabel 1). By elke monster is al die isolate wat dieselfde reaksies op bogenoemde media gegee het, alfabeties saamgegroepeer (vgl. 3, tabelle 5, 7, 9, 11, 13, 15 en 17).

3. RESULTATE

3.1 Koloniemorfologie van isolate

Tipiese Proteus-kolonies is vanaf strykkulture geïsoleer en verder ondersoek (vgl. 2.6). Enkele ander organismes simuleer egter die koloniemorfologie van Proteus-spesies met die gevolg dat in sommige monsters sowat 50%, soms meer, van die isolate by verdere ondersoek, geblyk het ander spesies as Proteus te wees (vgl. 3.2).

3.2 Identifikasie en differensiasie van isolate

Alle gesuiwerde isolate is getoets op ureum en fenielalanien met die oog op afskerming (vgl. 2.6). n Positiewe reaksie op een of beide van hierdie substrate is as aanduidend van n moontlike Proteus-spesie beskou (vgl. 2.6).

Al die isolate wat ureum positief was, was ook positief op fenielalanien en is eventueel as n Proteus-spesie getipeer volgens die skema in tabel 1.

TABEL 1

Biochemiese reaksies vir die identifikasie en differensiasie van

Proteus-spesies

Ureum	Fenielalanien	Gelatien	H ₂ S	Indool	Laktose	Mannitol [≠]	Maltose ^{≠≠}	Ornitien	Gram-kleuring	<u>Proteus</u> -spesies
+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	<u>Proteus vulgaris</u>
+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	<u>Proteus mirabilis</u>
+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	<u>Proteus morganii</u>
+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	<u>Proteus rettgeri</u>

≠ P. rettgeri vorm gewoonlik slegs suur

≠≠ P. vulgaris vorm meestal suur en gas.

n Hele aantal isolate het egter slegs op fenielalanien n positiewe reaksie gegee. Die reaksies hiervan is ook volgens die skema in tabel 1 getoets. Nie een van hierdie kulture kon as Proteus-spesies geïdentifiseer word nie. Hierdie organismes is, op grond van hulle reaksies volgens die skema in tabel 1, tentatief geklassifiseer as lede van die Providencia-subgroep (Report, 1963), volgens die skema van Edwards en Ewing (1962).

Sommige isolate was egter negatief op beide ureum en fenielalanien en is nie verder ondersoek nie.

3.3 Sleutel ten opsigte van simbole en afkortings by tabelle

- | | |
|--------------------|---|
| + Ureum | = Hidrolise van ureum het plaasgevind. |
| + Fenielalanien | = Fenielalanien is gedeamineer na fenielpiro-druiwesuur. |
| + Gelatien | = Gelatien is vervloei. |
| - Gelatien | = Gelatien is nie vervloei nie. |
| + H ₂ S | = H ₂ S is gevorm in drievoudigesuikerysteragar. |
| - H ₂ S | = H ₂ S is nie gevorm in drievoudigesuikerysteragar nie. |
| + Indool | = Indool is gevorm in triptoonwater. |
| - Indool | = Indool is nie gevorm in triptoonwater nie. |
| - Laktose | = Laktose is nie gefermenteer nie. |
| S Mannitol | = Suur in mannitol. |
| - Mannitol | = Mannitol is nie gefermenteer nie. |
| SG Maltose | = Maltose is gefermenteer met die vorming van suur en gas. |
| - Maltose | = Maltose is nie gefermenteer nie. |
| + Ornitien | = Ornitiendekarboksilasie het plaasgevind. |
| - Ornitien | = Ornitien is nie gedekarboksileer nie. |
| - Gram-kleuring | = Vertoon n negatiewe Gram-kleuringsreaksie. |
| 0 | = Geen <u>Proteus</u> -spesie geïsoleer nie. |

3.4 Die voorkoms van Proteus-spesies in water soos bepaal met behulp van n veelvoudige-buismetode met ureumsop en tetrationsaatsop as primêre media

Drie watermonsters is by monsterpunt B geneem (vgl. kaart 1), en ontleed volgens n veelvoudige-buismetode met ureumsop as primêre medium (vgl. 2.3.3). Vir twee van hierdie monsters is die E. coli I indekse ook bepaal. Die resultate van hierdie ontledings word in tabel 2 weergegee.

TABEL 2

Proteus indeks met ureumsop as primêre medium, vergeleke met die E. coli I indeks

Monster nr.	Veronderstel- de <u>Proteus</u>	Bevestigde <u>Proteus</u>	Veronderstel- de <u>E. coli I</u>	Bevestigde <u>E. coli I</u>
	MWG/100ml Monster	MWG/100ml Monster	MWG/100ml Monster	MWG/100ml Monster
1	542	12	Nie Bepaal	Nie Bepaal
2	1 090	0	542 000	1 410
3	23	0	7 900 000	3 300 000

By elk van bogenoemde drie monsters was daar betreklike groot verskille tussen die veronderstelde en bevestigde Proteus indekse (vgl. tabel 2). Dit wil dus voorkom asof Proteus en ander organismes afsterf in die ureumsop kort nadat die medium n positiewe reaksie begin vertoon (vgl. 2.3.3). As gevolg van hierdie verskynsel is besluit om die ureumsop te vervang met tetrationsaatsop as primêre medium. In monster 1 hierbo, is 5 Proteus isolate gemaak wat later almal as P. mirabilis geïdentifiseer is.

Later is vier monsters weer by punt B geneem en die Proteus

indeks daarop bepaal met tetrationsaatsop as die primêre medium. Uit die resultate wat hier behaal is, kan gesien word dat Proteus-spesies elke keer uit tetrationsaatsop geïsoleer is en dat die MWG/100 ml in werklikheid van die hoogstes is wat by die 7 monsterpunte geregistreer is (vgl. tabelle 3 en 4).

TABEL 3

Proteus indeks soos bepaal met tetrationsaatsop

Monster nr.	TETRATIONAAT
1	240
2	700
3	34
4	3 300

Met tetrationsaatsop as primêre medium is drie van die vier Proteus-spesies uit hierdie monsters geïsoleer. Slegs P. morgani was afwesig (vgl. tabel 5). P. morgani is egter later geïsoleer (vgl. tabelle 5, 6, 12 en 13).

3.5 Die voorkoms van Proteus-spesies in water

3.5.1 Water¹

Water¹ het bestaan uit watermonsters wat by 7 versamelpunte in die stedelike omgewing van Durban geneem is (vgl. 2.1.1 en kaart 1). Die Proteus indekse is bepaal en vergelyk met die E. coli I indekse (vgl. tabel 4). Die E. coli I indeks is minstens een keer by elk van die 7 monsterpunte bepaal (vgl. tabel 4). n Totaal van 17 monsters is ontleed (vgl. tabelle 4 en 5).

Proteus kom in betreklik klein getalle in water¹ voor en oortref in geen geval dié van E. coli I nie (vgl. tabel 4).

Nietemin was Proteus-spesies nooit afwesig nie (vgl. tabel 4).

TABEL 4

Vergelyking tussen die Proteus en E. coli I indekse van water¹

Monster [≡] nr.	Bevestigde <u>Proteus</u>	Versonderstel- de <u>E. coli I</u>	Bevestigde <u>E. coli I</u> .
	MWG/100ml Monster	MWG/100ml Monster	MWG/100ml Monster
1	240	Nie bepaal	Nie bepaal
2	4	13 000 000	3 300 000
3	240	Nie bepaal	Nie bepaal
4	700	310 000	7 900
5	34	Nie bepaal	Nie bepaal
6	3 300	17 500	17 500
7	221	2 300	1 300
8	18	790	790
9	13	Nie bepaal	Nie bepaal
10	2	940	630
11	8	7 900	2 300
12	2	33 000	3 300
13	11	790	790
14	8	Nie bepaal	Nie bepaal
15	5	49	49
16	9	18 000+	18 000+
17	172	49 000	49 000

≡) Met verwysing na kaart 1 is monsters 1 - 17 by die volgende punte geneem: 1 en 2 by A, 3 - 6 by B, 7 en 8 by C en D respektiewelik, 9 en 10 by E, 11 - 15 by F en 16 en 17 by G.

Water¹ is ook verder onderzoek om die verspreiding van Proteus-
spesies te bepaal. n Totaal van 160 Proteus isolate is gemaak en ge-
differensieer soos uiteengesit in tabel 5.

TABEL 5

Proteus-spesies teenwoordig in water¹

Monster nr.	Isolaat nr.	Ureum	Fenielalanien	Gelatien	H ₂ S	Indool	Laktose	Mannitol	Maltose	Ornitien	Mikroorganisme
1	a-k	+	+	+	+	-	-	-	-	+	<u>P. mirabilis</u>
1	l-q	+	+	+	+	+	-	-	SG	-	<u>P. vulgaris</u>
1	r	+	+	-	-	+	-	S	-	-	<u>P. rettgeri</u>
2	a-o	+	+	+	+	-	-	-	-	+	<u>P. mirabilis</u>
3	a-j	+	+	+	+	-	-	-	-	+	<u>P. mirabilis</u>
3	k,l	+	+	+	+	+	-	-	SG	-	<u>P. vulgaris</u>
3	m	+	+	-	-	+	-	S	-	-	<u>P. rettgeri</u>
4	a-v	+	+	+	+	-	-	-	-	+	<u>P. mirabilis</u>
4	w	+	+	+	+	+	-	-	SG	-	<u>P. vulgaris</u>
4	x,y	+	+	-	-	+	-	S	-	-	<u>P. rettgeri</u>
5	a-m	+	+	+	+	-	-	-	-	+	<u>P. mirabilis</u>
5	n,o	+	+	+	+	+	-	-	SG	-	<u>P. vulgaris</u>
6	a-e	+	+	+	+	-	-	-	-	+	<u>P. mirabilis</u>
6	f,g	+	+	+	+	+	-	-	SG	-	<u>P. vulgaris</u>
7	a-m	+	+	+	+	-	-	-	-	+	<u>P. mirabilis</u>
7	n	+	+	-	-	+	-	S	-	-	<u>P. rettgeri</u>
8	a-d	+	+	+	+	-	-	-	-	+	<u>P. mirabilis</u>
8	e-h	+	+	+	+	+	-	-	SG	-	<u>P. vulgaris</u>
8	i	+	+	-	-	+	-	S	-	-	<u>P. rettgeri</u>
9	a	+	+	+	+	-	-	-	-	+	<u>P. mirabilis</u>
9	b	+	+	+	+	+	-	-	SG	-	<u>P. vulgaris</u>
9	c-e	+	+	-	-	+	-	S	-	-	<u>P. rettgeri</u>
9	f	+	+	-	-	+	-	-	-	+	<u>P. morganii</u>
10	a	+	+	+	+	-	-	-	-	+	<u>P. mirabilis</u>
11	a-o	+	+	-	-	+	-	S	-	-	<u>P. rettgeri</u>
12	a	+	+	+	+	-	-	-	-	+	<u>P. mirabilis</u>
13	a-f	+	+	+	+	-	-	-	-	+	<u>P. mirabilis</u>
13	g-i	+	+	+	+	+	-	-	SG	-	<u>P. vulgaris</u>
13	j,k	+	+	-	-	+	-	-	-	+	<u>P. morganii</u>
14	a-d	+	+	+	+	-	-	-	-	+	<u>P. mirabilis</u>
14	e	+	+	+	+	+	-	-	SG	-	<u>P. vulgaris</u>
15	a	+	+	+	+	-	-	-	-	+	<u>P. mirabilis</u>
15	b	+	+	+	+	+	-	-	SG	-	<u>P. vulgaris</u>
16	a-i	+	+	+	+	-	-	-	-	+	<u>P. mirabilis</u>
17	a-r	+	+	+	+	-	-	-	-	+	<u>P. mirabilis</u>

Die verspreiding van Proteus-spesies in water¹ word in tabel 6 weergegee.

TABEL 6

Verspreiding van Proteus-spesies in water¹

<u>Proteus</u> -spesies	Aantal Monsters	% Monsters	Aantal Isolate	% Isolate
<u>P. mirabilis</u>	16	94,12	122	76,250
<u>P. vulgaris</u>	10	58,82	23	14,375
<u>P. rettgeri</u>	7	41,18	12	7,500
<u>P. morganii</u>	2	11,77	3	1,875
<u>P. mirabilis</u> alleen	5	29,4		
<u>P. rettgeri</u> alleen	1	5,9		
<u>P. mirabilis</u> en <u>P. vulgaris</u>	4	23,5		
<u>P. mirabilis</u> en <u>P. rettgeri</u>	1	5,9		
<u>P. mirabilis</u> , <u>P. vulgaris</u> en <u>P. rettgeri</u>	4	23,5		
<u>P. mirabilis</u> , <u>P. vulgaris</u> en <u>P. morganii</u>	1	5,9		
<u>P. mirabilis</u> , <u>P. vulgaris</u> , <u>P. rettgeri</u> en <u>P. morganii</u>	1	5,9		
TOTAAL	17	100,0	160	100,000

Die hoë frekwensie van voorkoms van P. mirabilis (94%) is opmerklik, terwyl P. morganii slegs uit 12% van die monsters geïsoleer kon word (vgl. tabel 6). Die twee monsters waaruit P. morganii geïsoleer is (9 en 13), het 'n relatief lae Proteus indeks geregistreer (vgl. tabelle 4, 5 en 6).

Proteus vulgaris was in 59% van die monsters teenwoordig, maar verteenwoordig slegs 14% van die totale aantal isolate uit water¹

(vgl. tabel 6). Laasgenoemde feit beklemtoon die dominansie van P. mirabilis wat 76% van die totale aantal isolate uitmaak.

Proteus rettgeri is by al die monsterpunte geïsoleer behalwe by punt G (monsters 16 en 17). Dit is opmerklik dat punt G (monsters 16 en 17), slegs P. mirabilis opgelewer het (vgl. tabelle 4 en 5). Hierdie monsterpunt was by die Durbanse slagpale geleë en het 'n baie hoë proteïeninhoud gehad (vgl. 2.1.1).

3.5.2 Water²

Slegs die verspreiding van Proteus-spesies is onder water² ondersoek. Hiervoor is 10 monsterpunte gekies wat meestal verder uit die stedelike gebiede verwyder was of in ander opsigte van water¹ verskil het (vgl. 2.1.1 en kaart 2).

Proteus-spesies was minder volop vergeleke met water¹. Slegs 25 isolate is gemaak soos uiteengesit in tabel 7.

TABEL 7

Proteus-spesies teenwoordig in water²

Monster nr.	Isolaat nr.	Ureum	Fenielalanien	Gelatien	H ₂ S	Indool	Laktose	Mannitol	Maltose	Ornitien	Mikroorganisme
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	a-g	+	+	+	+	-	-	-	-	+	<u>P. mirabilis</u>
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	a-o	+	+	+	+	-	-	-	-	+	<u>P. mirabilis</u>
7	a-m	+	+	+	+	-	-	-	-	+	<u>P. mirabilis</u>
8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9	a	+	+	+	+	-	-	-	-	+	<u>P. mirabilis</u>
10	a	+	+	+	+	+	-	-	SG	-	<u>P. vulgaris</u>

*) Met verwysing na kaart 2, is monsters 1 - 10 by versamel-punte A - J respektiewelik geneem.

Die verspreiding van Proteus-spesies in water² word in tabel 8 uiteengesit.

TABEL 8

Verspreiding van Proteus-spesies in water²

<u>Proteus</u> -spesies	Aantal Monsters	% Monsters	Aantal Isolate	% Isolate
<u>P. mirabilis</u>	4	40	24	96
<u>P. vulgaris</u>	1	10	1	4
<u>P. mirabilis</u> alleen	4	40		
<u>P. vulgaris</u> alleen	1	10		
Monsters met <u>Proteus</u> afwesig	5	50		
TOTAAL	10	100,0	25	100,0

Net 50% van die monsters het Proteus-spesies opgelewer, met P. mirabilis weer die dominerende spesie (vgl. tabel 8). Slegs een ander spesie, P. vulgaris, is geïsoleer.

3.5.3 Seewater

Twee seewatermonsters (vgl. 2.1.1) is aan die einde van hierdie studie vir die teenwoordigheid van Proteus-spesies ondersoek. Geen Proteus-spesies kon egter geïsoleer word nie.

3.6 Proteus in kompos

Slegs een van die 8 komposmonsters het 'n Proteus-spesie opgelewer, naamlik P. mirabilis (vgl. tabelle 9 en 10). Hierdie monster was afkomstig van Hennenman in die Vrystaat.

3.7 Die voorkoms van Proteus-spesies in fekale materiaal

3.7.1 Menslike faeces

Die Proteus-spesies teenwoordig in menslike faeces word in tabel 11 aangedui.

TABEL 9

Proteus-spesies teenwoordig in kompos

Monster nr.	Isolaat nr.	Ureum	Fenielalanien	Gelatin	H ₂ S	Indool	Laktose	Mannitol	Maltose	Ornitien	Mikroorganisme
1	a-d	+	+	+	+	-	-	-	-	+	<u>P. mirabilis</u>
2	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
3	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
4	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
5	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
6	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
7	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
8	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o

TABEL 10

Verspreiding van Proteus-spesies in kompos

<u>Proteus-spesies</u>	Aantal Monsters	% Monsters	Aantal Isolate	% Isolate
<u>P. mirabilis</u>	1	12,5	4	100
<u>P. mirabilis</u> alleen	1	12,5		
Monsters met <u>Proteus</u> afwesig	7	87,5		
TOTAAL	8	100,0		

TABEL 11

Proteus-spesies teenwoordig in menslike faeces

Monster nr.	Isolaat nr.	Ureum	Fenielalanien	Gelatien	H ₂ S	Indool	Laktose	Mannitol	Maltose	Ornitien	Mikroorganisme
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	a-p	+	+	+	+	-	-	-	-	+	<u>P. mirabilis</u>
5	a-1	+	+	+	+	-	-	-	-	+	<u>P. mirabilis</u>
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	a,b	+	+	+	+	+	-	-	SG	-	<u>P. vulgaris</u>
8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	a,b	+	+	+	+	+	-	-	SG	-	<u>P. vulgaris</u>
10	c	+	+	-	-	+	-	S	-	-	<u>P. rettgeri</u>
11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15	a	+	+	-	-	+	-	S	-	-	<u>P. rettgeri</u>
16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Die verspreiding van die 34 isolate wat uit menslike faeces gemaak is word in tabel 12 uiteengesit.

TABEL 12

Verspreiding van Proteus-spesies in menslike faeces

<u>Proteus</u> -spesies	Aantal Monsters	% Monsters	Aantal Monsters	% Isolate
<u>P. mirabilis</u>	2	10	28	82,353
<u>P. vulgaris</u>	2	10	4	11,765
<u>P. rettgeri</u>	2	10	2	5,882
<u>P. mirabilis</u> alleen	2	10		
<u>P. vulgaris</u> alleen	1	5		
<u>P. rettgeri</u> alleen	1	5		
<u>P. vulgaris</u> en <u>P. rettgeri</u>	1	5		
Monsters met <u>Proteus</u> afwesig	15	75		
TOTAAL	20	100,0	34	100,000

Alhoewel P. mirabilis, P. vulgaris en P. rettgeri elk ewe veel kere uit hierdie monsters geïsoleer is, was P. mirabilis baie meer volop as die ander spesies, wanneer dit wel teenwoordig was (vgl. tabel 12).

Dit is belangrik om daarop te let dat Proteus-spesies in 75% van dié monsters afwesig was (vgl. tabel 12).

3.7.2 Maaginhoude van beeste

Naas water¹ verteenwoordig hierdie groep monsters die rykste bron van Proteus-spesies. Die 76 isolate wat uit hierdie monsters as Proteus-spesies geïdentifiseer is, word in tabel 13 aangedui.

TABEL 13

Proteus-species teenwoordig in beeste

Monster nr.	Isolaat nr.	Ureum	Fenielalanien	Gelatien	H ₂ S	Indool	Laktose	Mannitol	Maltose	Ornitien	Mikroorganisme
1	a-c	+	+	+	+	-	-	-	-	+	<u>P. mirabilis</u>
2	a-h	+	+	+	+	-	-	-	-	+	<u>P. mirabilis</u>
3	a-g	+	+	+	+	-	-	-	-	+	<u>P. mirabilis</u>
4	a-c	+	+	+	+	-	-	-	-	+	<u>P. mirabilis</u>
5	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
6	a	+	+	+	+	-	-	-	-	+	<u>P. mirabilis</u>
7	a-c	+	+	+	+	-	-	-	-	+	<u>P. mirabilis</u>
8	a-i	+	+	+	+	-	-	-	-	+	<u>P. mirabilis</u>
9	a-h	+	+	+	+	-	-	-	-	+	<u>P. mirabilis</u>
10	a,b	+	+	+	+	-	-	-	-	+	<u>P. mirabilis</u>
11	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
12	a-g	+	+	+	+	-	-	-	-	+	<u>P. mirabilis</u>
13	a,b	+	+	+	+	-	-	-	-	+	<u>P. mirabilis</u>
14	a,b	+	+	+	+	-	-	-	-	+	<u>P. mirabilis</u>
15	a	+	+	+	+	+	-	-	SG	-	<u>P. vulgaris</u>
15	b	+	+	-	-	+	-	-	-	+	<u>P. morganii</u>
16	a	+	+	+	+	-	-	-	-	+	<u>P. mirabilis</u>
17	a,b	+	+	+	+	-	-	-	-	+	<u>P. mirabilis</u>
18	a,b	+	+	+	+	-	-	-	-	+	<u>P. mirabilis</u>
18	o	+	+	+	+	+	-	-	SG	-	<u>P. vulgaris</u>
19	a,b	+	+	+	+	-	-	-	-	+	<u>P. mirabilis</u>
19	o	+	+	+	+	+	-	-	SG	-	<u>P. vulgaris</u>
20	a-i	+	+	+	+	-	-	-	-	+	<u>P. mirabilis</u>
20	j	+	+	+	+	+	-	-	+	-	<u>P. vulgaris</u>

Die verspreiding van hierdie 76 isolate word in tabel 14 uiteengesit.

TABEL 14

Verspreiding van Proteus-spesies in beeste

<u>Proteus-spesies</u>	Aantal Monsters	% Monsters	Aantal Isolate	% Isolate
<u>P. mirabilis</u>	17	85	71	93,42
<u>P. vulgaris</u>	4	20	4	5,26
<u>P. morganii</u>	1	5	1	1,32
<u>P. mirabilis</u> alleen	14	70		
<u>P. mirabilis</u> en <u>P. vulgaris</u>	3	15		
<u>P. vulgaris</u> en <u>P. morganii</u>	1	5		
Monsters met <u>Proteus</u> afwesig	2	10		
TOTAAL	20	100,0	76	100,00

Proteus-spesies is uit 90% van die monsters geïsoleer, met slegs P. rettgeri afwesig (vgl. tabel 14). P. mirabilis is die dominerende spesie. Die hoë persentasie voorkoms van P. mirabilis alleen (70%) is veral opmerkzaam (vgl. tabel 14).

3.7.3 Maaginhoud van skape

Die 36 isolate uit hierdie groep, wat slegs twee spesies, P. vulgaris en P. mirabilis verteenwoordig, word in tabel 15 uiteengesit.

Die verspreiding van Proteus-spesies in die maaginhoud van skape wyk af van die patroon wat deur die ander monster-groepe geopenbaar is deurdat P. vulgaris hier die dominante spesie blyk te wees (vgl. tabel 16). Nie alleen is dit uit 55% van die monsters geïsoleer nie, maar dit kom in 45% van die monsters alleen voor en maak 69% van die isolate uit (vgl. tabel 16).

TABEL 15

Proteus-spesies teenwoordig in skape

Monster nr.	Isolaat nr.	Ureum	Fenielalanien	Gelatien	H ₂ S	Indool	Laktose	Mannitol	Maltose	Ornitien	Mikroorganisme
1	a-e	+	+	+	+	+	-	-	SG	-	<u>P. vulgaris</u>
2	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
3	a-c	+	+	+	+	+	-	-	SG	-	<u>P. vulgaris</u>
4	a-c	+	+	+	+	+	-	-	SG	-	<u>P. vulgaris</u>
5	a-d	+	+	+	+	-	-	-	-	+	<u>P. mirabilis</u>
5	e	+	+	+	+	+	-	-	SG	-	<u>P. vulgaris</u>
6	a	+	+	+	+	-	-	-	-	+	<u>P. mirabilis</u>
7	a-d	+	+	+	+	-	-	-	-	+	<u>P. mirabilis</u>
8	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
9	a-c	+	+	+	+	+	-	-	SG	-	<u>P. vulgaris</u>
10	a,b	+	+	+	+	-	-	-	-	+	<u>P. mirabilis</u>
10	c	+	+	+	+	+	-	-	SG	-	<u>P. vulgaris</u>
11	a,b	+	+	+	+	+	-	-	SG	-	<u>P. vulgaris</u>
12	a-c	+	+	+	+	+	-	-	SG	-	<u>P. vulgaris</u>
13	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
14	a,b	+	+	+	+	+	-	-	SG	-	<u>P. vulgaris</u>
15	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
16	a	+	+	+	+	+	-	-	SG	-	<u>P. vulgaris</u>
17	a	+	+	+	+	+	-	-	SG	-	<u>P. vulgaris</u>
18	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
19	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
20	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o

TABEL 16

Verspreiding van *Proteus*-spesies in skape

<u><i>Proteus</i>-spesies</u>	Aantal Monsters	% Monsters	Aantal Isolate	% Isolate
<u>P. mirabilis</u>	4	20	11	30,6
<u>P. vulgaris</u>	11	55	25	69,4
<u>P. mirabilis</u> alleen	2	10		
<u>P. vulgaris</u> alleen	9	45		
<u>P. mirabilis</u> en <u>P. vulgaris</u>	2	10		
Monsters met <u><i>Proteus</i></u> afwesig	7	35		
TOTAAL	20	100,0	36	100,0

Dit is die enigste groep monsters waar n ander spesie as P. mirabilis domineer. Die dieet van die beeste en skape was sover vasgestel kon word presies dieselfde, naamlik gras.

3.7.4 Maaginhoude van varke

Al die maaginhoude van varke het bestaan uit onverteerde mielies. Die teenwoordigheid van *Proteus*-spesies in hierdie groep monsters was aansienlik minder as in die ander fekale monsters (vgl. tabel 17).

TABEL 17

Proteus-spesies teenwoordig in varke

Monster nr.	Isolaat nr.	Ureum	Fenielalanien	Gelatin	H ₂ S	Indool	Laktose	Mannitol	Maltose	Ornitien	Mikroorganisme
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	a-i	+	+	+	+	-	-	-	-	+	<u>P. mirabilis</u>
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	a-i	+	+	+	+	-	-	-	-	+	<u>P. mirabilis</u>
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13	a-h	+	+	+	+	-	-	-	-	+	<u>P. mirabilis</u>
14	a	+	+	-	-	+	-	S	-	-	<u>P. rettgeri</u>
15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Slegs twee spesies, P. mirabilis en P. rettgeri kon geïsoleer word, die verspreiding waarvan in tabel 18 aangedui word.

TABEL 18

Verspreiding van Proteus-spesies in varke

<u>Proteus</u> -spesies	Aantal Monsters	% Monsters	Aantal Isolate	% Isolate
<u>P. mirabilis</u>	3	15	26	96,3
<u>P. rettgeri</u>	1	5	1	3,7
<u>P. mirabilis</u> alleen	3	15		
<u>P. rettgeri</u> alleen	1	5		
Monsters met <u>Proteus</u> afwesig	16	80		
TOTAAL	20	100,0	27	100,0

P. mirabilis is weereens die dominerende spesie (vgl. tabel 18).
Soos by menslike faeces is Proteus afwesig in n hoë persentasie (80%)
van die maaginhoud (vgl. tabel 18).

4. BESPREKING

4.1 Die moderne konsep van die genus Proteus

Sedert die daarstelling van die genus Proteus deur Hauser in 1885, was daar verskille ten opsigte van definisies en geskille oor die omvang van hierdie genus (Rustigian en Stuart, 1945). Buchanan e.a., (1966) noem byvoorbeeld 67 Proteus-spesies, wat op hulle beurt weer deur ander outeurs onder n groot verskeidenheid ander name in die literatuur beskrywe word.

Met die latere beskrywing van n groep organismes wat nou bekend staan as Providencia (Report, 1963), word die klassifikasie van Proteus verder gekompliseer omdat eersgenoemde organismes baie na verwant aan Proteus is (Stuart e.a., 1945; Stuart, Wheeler en McGann, 1946 a; Ewing, Tanner en Dennard, 1954; Singer en Bar-Chay, 1954; Proom 1955; Shaw en Clarke, 1955; Ewing en Edwards, 1960; Edwards en Ewing, 1962).

In die literatuur na 1945 word hoofsaaklik na die volgende Proteus spesies verwys: Proteus vulgaris, Proteus mirabilis, Proteus rettgeri, Proteus morganii, Proteus inconstans, Proteus stuartii en Proteus hauseri. In die lig van bogenoemde is n bespreking van die belangrikste bydraes tot die huidige konsep van die genus Proteus noodsaaklik.

Rustigian en Stuart (1945) beskou Proteus as n biochemies homogene groep, bestaande uit 4 spesies naamlik P. vulgaris, P. mirabilis, P. morganii en P. rettgeri. Volgens dié outeurs kan die eerste twee van hierdie spesies, terwille van taksonomiese gerief, tot een, naamlik P. vulgaris gekombineer word. Hierdie klassifikasie van Proteus het groot byval gevind en is in baie dele van die wêreld aanvaar (Ewing, 1958).

Volgens Rustigian en Stuart (1945) openbaar die verskillende Proteus-spesies die volgende kenmerkende eienskappe: Met die

uitsondering van P. rettgeri swerm¹ en spre¹ al die spesies op media wat 1% agar bevat. Die vermoë tot hidrolise van ureum is n uitstaande kenmerk van al die spesies. P. vulgaris en P. mirabilis vervloei gelatien en vorm swaelwaterstof (H_2S). Indool word deur almal, met die uitsondering van P. mirabilis gevorm. n Betekenisvolle kenmerk van Proteus-spesies is dat hulle slegs suur, of suur en baie klein gasvolumes in Durham-fermentasiebuis (n borreltjie tot 15%), in fermenteerbare koolhidrate binne 48 uur vorm. P. mirabilis vorm egter slegs suur. Al vier spesies fermenteer glukose maar nie laktose nie. Maltose word deur P. vulgaris en mannitol deur P. rettgeri gefermenteer, terwyl almal behalwe P. morganii, sukrose fermenteer. Reaksies op salisien varieer by P. vulgaris en P. rettgeri en is afwesig by P. mirabilis en P. morganii.

Die hidrolise van ureum, klein gasvolumes in fermenteerbare koolhidrate en die onvermoë tot fermentasie van laktose is kardinale kenmerke vir die afbakening van die genus Proteus (Rustigian en Stuart, 1945).

In 1943 rapporteer Stuart, Wheeler, Rustigian en Zimmerman 23 bakterie-rasse wat hulle die anaëroge parakolon tipe 29911 noem. Die eienskappe van parakolon tipe 29911 is deur Rustigian en Stuart (1945) en Stuart e.a. (1946 a) verder ondersoek. Dit vorm suur of suur en n klein gasborreltjie deur fermentasie van glukose. Sukrose- en maltosefermentasie vind binne 5 tot 30 dae plaas, sonder gasvorming,

.....

...43/

- 1) Rustigian en Stuart (1945) beskryf swerming soos volg: "Growth along the line of inoculation is first established, then lateral, straight, or curved branches spread over the surface; often these branches reach the edge of the slant before the interstices are filled in. In such cases the line of inoculation can be distinguished easily from the swarm portion of growth. Frequently, however, the swarm growth is so thin that a needle is required to detect its presence."

Met betrekking tot spreiding skryf hulle: "The culture may continue to spread in a continuous wave outward from the line of inoculation to cover the entire surface of the slant. As the wave spreads, growth thickens until it is difficult to detect the line of inoculation."

met maltosefermentasie effens stadiger. Adonitol word vinnig en glierol stadig gefermenteer. Laktose, mannitol, arabinose, xilose, ramnose, galaktose, sellobiose, trehalose, raffinose, inulien, sorbitol, dulsitol en inositol word gewoonlik nie gefermenteer nie. Indool word gevorm maar nie asetielmetielkarbinol nie. Groei vind in natriumsitraat by kamertemperatuur plaas maar mag afwesig wees by 37°C. Die vorming van H₂S kan nie in loodasetaatagar waargeneem word nie maar kan wel aangetoon word in triptoonwater, deur met loodasetaatpapier te toets. Dit reduceer trimetielamienoksied maar die reaksie is soms swak. Verder gee hierdie organismes soms swak positiewe reaksies in ureum. Almal is beweeglik en die vermoë tot swerming en spreiding kan maklik geïnduseer word.

Stuart e.a. (1946 a) kom tot die gevolgtrekking dat hierdie groep organismes in die volgende opsigte noue ooreenkoms met Proteus-spesies vertoon:

- (1) hulle biochemiese reaksies,
- (2) die vermoë om, na aanpassing, te swerm,
- (3) die reaksies in ureum (af en toe n ras swak positief en by uitsondering sterk positief), en
- (4) die teenwoordigheid van baie gemeenskaplike ondergeskikte antigene en soms n gemeenskaplike hoofantigeen.

Hierdie outeurs stel dan voor dat hierdie groep parakolonbakterieë n intermediêre posisie tussen die Proteus- en Shigella-groepe bekleed, sonder enige genus- of spesiestatus.

In 1951 stel Kauffmann vir die eerste keer die naam Providence-groep vir die anaëroge parakolon tipe 29911 voor (Singer en Bar-Chay, 1954; Shaw en Clarke, 1955).

Die vermoë tot amienvorming deur Proteus-spesies is deur Proom en Woiwod (1951) ondersoek. Aangesien P. rettgeri nie amiene vorm nie, anaërogeen is, mannitol fermenteer en nie nikotiensuur as essensiële

voedingstof benodig nie (Pelczar en Porter, 1940; Proom en Woiwod, 1951), stel laasgenoemdes voor dat P. rettgeri van die genus Proteus geskei word. Proom (1955) bepleit dan ook dat P. rettgeri en die Providence-groep saam in n afsonderlike genus geplaas moet word.

Die naam Proteus stuartii word egter deur Buttiaux vir die Providence-groep voorgestel, en hy is ten gunste daarvan dat hulle onder hierdie naam, onder die genus Proteus ingesluit word (Ewing, 1958).

P. vulgaris en P. mirabilis word deur Kauffmann (1954) as n biochemiese en serologiese homoloë groep beskou. As gevolg van die stadige ureumhidrolise en swak H_2S -vorming deur P. morganii, en die anaëroge eienskap van P. rettgeri tesame met mannitolfermentasie en groei in natriumsitraat, stel Kauffmann voor dat genusstatus, te wete, Morganella en Rettgerella, respektiewelik aan laasgenoemde twee spesies verleen word (Kauffmann, 1954; Ewing, 1958; Rauss, 1962). Die Providence-groep hou hy egter as n afsonderlike entiteit onder die genus naam Providencia.

Die vermoë om fenilpirodruiwesuur deur middel van die oksidatiewe deaminasie van L-fenielalanien te vorm, kom by die Enterobacteriaceae feitlik uitsluitlik by Proteus en die Providencia-groep voor (Henriksen, 1950; Clarke en Shaw, 1954). Shaw en Clarke (1955) voel dat die ooreenkomste tussen Proteus en die Providencia-groep n natuurlike verwantskap suggereer. Aangesien die eerste beskrywing van n Providencia-kultuur deur Ornstein in 1921 onder die naam Bacillus inconstans gepubliseer is, bepleit hulle die naam Proteus inconstans vir die Providencia-groep, as n vyfde spesie in die genus Proteus. Dieselfde opinie is deur Cowan (1956) gehuldig. Hulle klassifikasie is deur Breed e.a. (1957) gebruik.

By wyse van n kompromis stel Ewing (1958) voor dat die genus Proteus twee spesies, P. vulgaris en P. mirabilis, insluit en dat n tweede genus, Morganella, geskep word om die spesies Morganella morganii

(P. morganii), Morganella rettgeri (P. rettgeri) en Morganella inconstans (Providencia-groep) te omvat.

Die „Enterobacteriaceae Subcommittee“ (Report, 1958), beveel egter aan dat die klassifikasie van Rustigian en Stuart (1945) vir Proteus gebruik moet word en dat die Providencia-groep as 'n afsonderlike entiteit behoue moet bly totdat die taksonomiese probleme van hierdie twee groepe opgelos kan word.

Die definisie van Kauffmann se spesieskonsep (Kauffmann, 1959 a, 1959 b, 1963) inspireer Rauss (1962, 1963) om die volgende skema voor te lê:

Tribus Proteae

Genera:

Proteus

Morganella

Rettgerella

Providencia

Spesies:

Proteus vulgaris

Morganella morganii

Rettgerella rettgeri

Providencia inconstans

Verder beskou hy Proteus vulgaris as bestaande uit twee infrasubspesievorme naamlik, Proteus vulgaris var. vulgaris en Proteus vulgaris var. mirabilis.

Ewing (1963) behou egter nog steeds die klassifikasie van Rustigian en Stuart (1945) vir Proteus, maar stel twee spesies voor vir die Providencia-groep, naamlik Providencia alcalifaciens en Providencia stuartii.

Die „Subcommittee on Taxonomy of the Enterobacteriaceae“ (Report, 1963) doen, in die lig van bogenoemde probleme, aan die hand dat die volgende skema voorlopig gebruik kan word:

Die Proteus-Providencia-groep

Subgroep

Sinonieme

Proteus

Proteus mirabilis

Proteus hauseri

Proteus vulgaris

Morganella

Proteus morganii

Morganella morganii

Subgroep	Sinonieme	
<u>Rettgerella</u>	<u>Proteus rettgeri</u>	<u>Rettgerella rettgeri</u>
<u>Providencia</u>	<u>Providencia providenciae</u>	<u>Proteus stuartii</u>
		<u>Proteus inconstans</u>

Bogenoemde skema is in 1966 opnuut bekragtig deur die „Enterobacteriaceae Subcommittee to the Nomenclature Committee,“ met dié voorbehoud dat dit in heroorweging geneem mag word in die lig van verdere studies oor die deoksiribonukleïensuur-basisverhoudings (Report, 1968).

In die lig van bogenoemde probleme is hierdie studie dus beperk tot die volgende spesies: Proteus vulgaris, Proteus mirabilis, Proteus morganii en Proteus rettgeri, en is hierdie spesies slegs op 'n biochemiese basis gedifferensieer.

4.2 Die voorkoms van Proteus-spesies in water

In water¹ was een of meer van die Proteus-spesies konsekwent teenwoordig terwyl slegs 50% van die monsters wat onder water² versamel is, Proteus opgelewer het (vgl. tabelle 6 en 8). Tagtig persent van die monsters onder water², waarin Proteus-spesies wel teenwoordig was, was afkomstig van versamelpunte wat direk deur die mens of sy aktiwiteite beïnvloed word.

'n Voorbeeld van die afname in die aanwesigheid van Proteus in min of meer ongerepte waters, is te vinde by die twee versamelpunte in die Molwenirivier (vgl. kaart 2). P. mirabilis was teenwoordig by punt G wat druk besoek word as 'n piekniekplek (vgl. tabel 7). Die bloop van hierdie versamelpunt is feitlik ontoeganklik vir mens en dier. Sowat 5 km hoër op, by versamelpunt H, vloei die Molwenirivier steeds deur ongerepte natuurskoon en is Proteus afwesig (vgl. 2.1 en tabel 7).

Drie (B, C en E van die ander vier versamelpunte (A, B, C en E) onder water², waarin Proteus-spesies afwesig was, is geneem by

die mondings van riviere, enkele honderde meters van die see (vgl. 2.1). Hierdie drie versamelpunte het ongetwyfeld bestaan uit 'n mengsel van see- en varswater. Die afwesigheid van Proteus-spesies kan moontlik hieraan toegeskryf word. Proteus kon byvoorbeeld ook nie geïsoleer word uit twee seewatermonsters wat in die Durbanse baai geneem is nie (vgl. 3.5.3). By versamelpunt F, in die Umhlangarivier, is P. mirabilis egter geïsoleer onder toestande oënskynlik identies aan dié by versamelpunt E, in die Umhlotirivier (vgl. tabel 7). Voorlopige proefneming met die oorlewings tydperke van Proteus-spesies in seewater dui op 'n vinnige afsterwing van al vier spesies oor 'n tydperk van 6 dae. Nie een van die spesies bereik egter 'n 90% afsterwing in hierdie tydperk nie. Na sowat 6 dae ondergaan die politeensakkies sodanige verwering in die seewater, dat die resultate onbetroubaar raak. In varswater vermeerder al vier die spesies vinnig gedurende die eerste week. Daarna styg dit nog geleidelik vir ten minste twee weke, waarna die eksperimente gestaak is. In geen geval daal die getalle van enige van die vier spesies in hierdie tydperk nie (Greeff en Karodia, 1970, ongepubliseerde gegewens). Beide die see- en varswater studies is onder natuurlike toestande uitgevoer.

Die afwesigheid van Proteus-spesies by versamelpunt A, 'n dam, is moeiliker om te verklaar (vgl. 2.1 en tabel 7). Afgesien van die feit dat opdamming van water gewoonlik 'n verdunnings effek op bakteriese populasies het, moet die afwesigheid van Proteus hier aan 'n verskeidenheid ekologiese faktore toegeskryf word.

Alhoewel Proteus altyd teenwoordig was in monsters van water¹, kom hulle in relatief klein konsentrasies voor. In geen geval oorskry die Proteus indeks die E. coli I indeks nie (vgl. tabel 4).

'n Ontleding van die resultate behaal in hierdie studie dui daarop dat Proteus spesies in 'n kenmerkende verspreidingspatroon voorkom. P. mirabilis is uit 94% van die monsters onder water¹ geïsoleer.

Dit word gevolg deur P. vulgaris (59%), P. rettgeri (41%) en P. morganii (12%) (vgl. tabel 6). Presies dieselfde volgorde word gehandhaaf met die onderlinge volopheid van die vier spesies: P. mirabilis (76%), P. vulgaris (14%), P. rettgeri (8%) en P. morganii (2%) van die totale aantal isolate (vgl. tabel 6). Ook in ander opsigte neig Proteus om hierdie patroon te volg. P. mirabilis word alleen aangetref in 29% van hierdie monsters, gevolg deur die kombinasies P. mirabilis en P. vulgaris (26%) en P. mirabilis, P. vulgaris en P. rettgeri (26%) (vgl. tabel 6).

In die geval van water² word die patroon bevestig. Hier kan die resultate vergelyk word met die effek wat 'n verdunning te weeg sou bring in die resultate van die monsters onder water¹. Slegs die mees volop spesie(s) sou oorbly. P. mirabilis kom in 40% van die monsters voor en maak 96% van die totale aantal isolate onder water² uit. Dit word gevolg deur P. vulgaris wat in 10% van die monsters voorkom en 4% van die totale aantal isolate verteenwoordig. Vyftig persent van die monsters het geen Proteus-spesies opgelewer nie (vgl. tabel 8).

4.3 Proteus in kompos en fekale materiaal

Die habitat van P. vulgaris en P. mirabilis word dikwels beskryf as verrottende materiaal (Breed e.a., 1957; Buchanan e.a., 1966). Dit is dus moeilik om te verstaan waarom slegs een komposmonster (12.5%) 'n Proteus spesie opgelewer het. Slegs P. mirabilis kon geïsoleer word (vgl. tabel 10).

Proteus is uit 25% van die menslike faeces geïsoleer waarin drie van die spesies, P. mirabilis, P. vulgaris en P. rettgeri teenwoordig was (vgl. tabel 12).

Die neiging na dieselfde onderlinge verhouding kan ook hier bespeur word. Alhoewel die drie spesies teenwoordig in menslike faeces, elk in 10% van die monsters voorkom, word die verhouding

in hulle relatiewe volopheid weerspieël: P. mirabilis (82%), P. vulgaris (12%) en P. rettgeri (6%) (vgl. tabel 12). P. mirabilis kom in 10% van die monsters alleen voor, gevolg deur P. vulgaris en P. rettgeri elk in 5%. n Kombinasie van P. vulgaris en P. rettgeri kom in 5% voor (vgl. tabel 12).

Die maaginhoud van beeste is n ryk bron van P. mirabilis. Alhoewel drie spesies, P. mirabilis, P. vulgaris en P. morganii in beeste teenwoordig is, word laasgenoemde twee spesies heeltemal deur P. mirabilis oorskadu. Die volgorde, volgens persentasie voorkoms in monsters en persentasie van totale aantal isolate, is respektiewelik, P. mirabilis 85% en 93%, P. vulgaris 20% en 5% en P. morganii 1% en 1%. P. rettgeri is afwesig (vgl. tabel 14). n Belangrike kenmerk van hierdie groep is dat uit 70% van die monsters slegs P. mirabilis geïsoleer kon word.

By die maaginhoud van skape is Proteus uit 65% van die monsters geïsoleer. Hier word egter in n belangrike opsig van bogenoemde volgorde van voorkoms afgewyk. P. mirabilis en P. vulgaris ruil posisies om. P. vulgaris kom hier in 55% van die monsters voor en verteenwoordig 69% van die totale aantal isolate teenoor P. mirabilis se 20% en 31% respektiewelik. Hierdie volgorde word ook bevestig deur die feit dat P. vulgaris in 45% van die monsters alleen voorkom en P. mirabilis in 10%. Die ander twee spesies was afwesig (vgl. tabel 16).

Soos by menslike faeces (25%) het die maaginhoud van varke n betreklike lae Proteus konsentrasie opgelewer (20%). P. mirabilis is die dominerende spesie, teenwoordig in 15% van die monsters en maak 96% van die totale aantal isolate uit. P. rettgeri was in een monster (5%) teenwoordig. Beide spesies kom alleen voor terwyl die ander twee afwesig was (vgl. tabel 18).

4.4 Vergelyking met vorige werk

Die literatuur is betreklik arm aan duidelike verwysings na die voorkoms van Proteus spesies. n Publikasie van Sturdza (1962) is die enigste wat opgespoor kon word waarin n skatting van die Proteus-inhoud van verskillende tipes water gemaak word. Sturdza (1962) ondersoek 140 watermonsters wat 8 verskillende tipes water verteenwoordig, deur middel van n MWG-metode (vgl. 2.3), vir die teenwoordigheid van Proteus. Die MWG-indeks is volgens die ou „MacCrady" tabelle bepaal, herlei na MWG/ml en uitgedruk as magte van tien (Sturdza 1962). Die resultate behaal deur Sturdza (1962) word in tabel 19 weergegee.

TABEL 19

Die Proteus indeks van water volgens Sturdza (1962)

Herkoms van Watermonsters	<u>Proteus</u> indeks van 140 monsters								
	0	10^{-2}	10^{-1}	10	10^2	10^3	10^4	10^5	10^6
Swembaddens	10	-	-	-	-	-	-	-	-
Varswatermere	23	3	-	-	-	-	-	-	-
Redelike skoonwater	4	11	7	1	-	-	-	-	-
Middelmatig besoedelde water	-	2	4	2	1	-	-	-	-
Swaar besoedelde water	-	-	1	3	17	5	-	-	-
Verskeidenheid afloopwater (bierfabrieke, melkindustrië)	3 [■]	2 [■]	-	4	-	1	-	-	-
Stadsafloopwater	-	-	1	1	6	7	2	-	-
Afloopwater van Vleis-industrië	1 [■]	-	-	1	2	2	10	1	2
TOTAAL	41	18	13	12	26	15	12	1	2

■ Monsters met hoë soutinhoud.

Sturdza (1962) heg die volgende betekenis aan sy resultate: „Swembaddens" en varswatermere bevat feitlik geen Proteus nie terwyl redelike skoon water gewoonlik 0.1 - 1 Proteus per ml bevat, met slegs enkele monsters waarin Proteus afwesig is. In middelmatig besoedelde water bevat alle monsters Proteus, met die hoogste Proteus indeks in die omgewing van 1-10/ml. By swaarder besoedelde water word laasgenoemde indeks die reël. Stadsafvalwater en afvalwater van die vleis-industrië bevat die hoogste Proteus indeks, honderdduisende tot etlike miljoene/ml.

As die Proteus indeks in tabel 4 van hierdie studie herlei word na MWG/ml vind ons dat die populasie digtheid van Proteus aansienlik laer is as die bevindinge van Sturdza (1962). Veral met betrekking tot Sturdza se indeks vir die vleisindustrië kan die resultate soos by die slagpale in Durban behaal, miskien daarmee vergelyk word. Die twee monsters (16 en 17) het betreklik lae Proteus indekse gegee, naamlik, 0,09/ml en 1,72/ml respektiewelik (vgl. tabel 4). Hierteenoornoem Sturdza (1962), indekse van honderdduisende tot etlike miljoene/ml.

Dit kan aanvaar word dat Europese toestande verskil van ons eie, en gevolglik kan hierin n gedeeltelike verklaring gevind word vir bo genoemde verskille tussen die Proteus indekse van Sturdza (1962) en hierdie studie. Desnieteenstaande is n mate van kritiek van toepassing op die metode vir die bepaling van die Proteus indeks, soos toegepas deur Sturdza (1962). Sy enigste kriterium vir die identifikasie van Proteus berus op die swermingseienskap van hierdie organismes.

Die literatuur met betrekking tot die teenwoordigheid van Proteus-spesies in menslike faeces, verwys deurgaans na studies gedoen op hospitaal pasiënte of kinders of ander abnormale gevalle.

Hynes (1942) het Proteus geïsoleer uit 25% van die stoelgange van pasiënte wat onderhewig was aan verskillende Salmonella infeksies. Feitlik al die isolate was P. morganii. Hy skryf die hoë frekwensie

van voorkoms van Proteus in die 393 stoelgange wat ondersoek is, toe aan die gebruik van tetrationsaatsop.

Die teenwoordigheid van Proteus in 40% van die stoelgange van gesonde suigeling word deur Neter (1945) vermeld. Hiervan verteenwoordig P. morganii 20%, P. ammoniae 12% en P. vulgaris 8%. P. ammoniae word nou as identies aan P. mirabilis beskou (Buchanan e.a. 1966). P. morganii speel dus blykbaar n baie belangriker rol in abnormale of onvolwasse individue.

In n ekologiese studie van Proteus noem Levine (1942) dat meer as 90% van die Proteus isolate afkomstig van menslike faeces, as P. mirabilis getipeer kon word. Laasgenoemde feit word deur hierdie studie bekragtig waar P. mirabilis 82% van die isolate uitmaak (vgl. tabel 12).

Die enigste verwysing na die voorkoms van Proteus in gesonde beeste en varke wat in die literatuur gevind kon word, is dié van Phillips (1955). Geen verwysing na skape kon gevind word nie.

Phillips (1955) gee ongelukkig nie n baie duidelike analise van sy resultate nie aangesien dié meer gemoeid is met die biochemiese eienskappe van n aantal Proteus isolate van dierlike oorsprong. Slegs twee spesies, P. vulgaris en P. mirabilis kon deur hom geïsoleer word. By beeste verteenwoordig P. vulgaris 51% en P. mirabilis 49% van die Proteus isolate terwyl 92% van die Proteus isolate uit varke P. vulgaris en 8% P. mirabilis was. Volgens hom is die isolasie van P. morganii en P. rettgeri uit lewendehaw n seldsame verskynsel.

In die huidige studie verteenwoordig P. mirabilis 93% en P. vulgaris 6% van die isolate uit beeste. Een isolaat van P. morganii is ook gemaak. By varke was 96% van die isolate P. mirabilis terwyl een isolaat (4%) van P. rettgeri gemaak is.

4.5 Gevolgtrekking

Klaarblyklik is die bevolkingsdigtheid van Proteus-spesies in Natalse waters, die grootste in die onmiddellike omgewing van menslike aktiewiteite. Die teenwoordigheid van Proteus-spesies in klein hoeveelhede watermonsters (10 ml of minder), kan dus as 'n moontlike versteuring van die water beskou word.

Indien sanitêre betekenis aan elk van die vier spesies verleen word, moet hul blote teenwoordigheid met agterdog bejeen word. Aangesien al vier spesies wel in die literatuur by 'n groot aantal patologiese toestande van die mens en dier geïnkrimineer word, sal dit wys wees om laasgenoemde standpunt in te neem.

Die belangrikste bronne wat moontlik bydra tot die aanwesigheid van Proteus spesies in water is oënskynlik fekale materiaal, veral die van beeste, skape, die mens en varke.

Die dominerende spesie, in terme van frekwensie van voorkoms in monsters sowel as in hulle onderlinge verhouding, is P. mirabilis, gevolg deur P. vulgaris, P. rettgeri en P. morganii. Om enige of almal van die vier spesies egter as definitiewe indikatore van fekale besoeiding van water of enige ander materiaal te beskou, sou ongewens wees. Veel eerder sou voorgestel kan word dat 'n stelsel van waterklassifikasie vir varswaterbronne gebruik word (waar nodig), geskoei op die lees van die stelsel van Brand e.a. (1967). In so 'n stelsel, waar 'n verskeidenheid van organismes in ag geneem word na gelang van hulle relatiewe belangrikheid, sou Proteus-spesies beslis 'n plek verdien.

In die lig van die geweldige industriële ontwikkeling wat tans in Natal ondervind word, is dit noodsaaklik dat voorraad geneem word van die heersende kwaliteit van ons waterbronne — dat die fauna en flora-samestelling gekarteer word. Dit sou 'n handige maatstaf wees om moontlike veranderings wat in die toekoms in die waterkwaliteit mag plaasvind, aan te meet.

5. DANKBETUIGING

Die skrywer wens sy dank en waardering teenoor die volgende persone en instansies uit te spreek:

Professor D. van Eeden vir sy positiewe leiding en waardevolle advies tydens die ondersoek en skryf van die verhandeling;

Mnr. P.A.J. Brand vir sy hooggewaardeerde advies en loiding tydens die ondersoek en skryf van die verhandeling;

Dr. C.M. Veary van die Durbanse slagpale vir sy toestemming en hulpvaardigheid by die neem van monsters van maaginhoud van beeste, skape en varke;

Mnr. D.F. Walters, Moj. A.M. Cooley en Mnr. I.E. Karodia vir tegniese hulp verleen;

Mev. T. Potgieter vir die tik van die manuskrip;

Mev. D.F. Greeff vir hulp verleen tydens die voorbereiding van die verhandeling en vir haar voortdurende morele ondersteuning;

Mnr. en Mev. S.W.J. Greeff vir hulle belangstelling en finansieële steun tydens die ondersoek.

6. AANHANGSEL

6.1 Media en oplossings

6.1.1 Tetrationaatsop

Tetrationaatsop is aanvanklik berei van die gedehidreerde produk (Baltimore Biological Laboratory) volgens die voorskrifte van die vervaardiger. Later is die gedehidreerde produk van Difco gebruik en berei volgens die voorskrifte van die vervaardiger (Difco Laboratories, 1966).

6.1.2 MacConkey-sop

MacConkey-sop (Oxoid) en MacConkey-membraansop (Oxoid) is van die gedehidreerde produk volgens die voorskrifte van die vervaardiger, The Oxoid Division of Oxo Limited (1961) en Oxoid Limited (1965), berei.

6.1.3 Zarett en Doetsch (1949) se medium

Hiordie medium het die volgende bestanddele bevat: 0,1% (m/v) natriumrisinoleaat, 2% (m/v) ureum, 0,1% (m/v) gisekstrak, 0,1% (m/v) kaliumfosfaat (KH_2PO_4). 0,1% (m/v) kaliumfosfaat (K_2HPO_4), 0,5% (m/v) natriumchloried, 0,6% (v/v) kresolrooi (1,6% alkoholiese oplossing) en 3,0% (m/v) agar.

Die ureum en fosfaatsoute is gesteriliseer deur Seitz-filtrasie. Die res van die bestanddele is in die outoklaaf gesteriliseer vir 20 minute by $1,05 \text{ kg/cm}^2$ druk, nadat die pH op 7,0 ingestel is. Die twee dele is na afkoeling bymekaar gevoeg en gebruik.

6.1.4 Sandys (1960) se medium

Die medium van Sandys het die volgende bestanddele bevat: 0,4% (m/v) peptoon, 0,4% (m/v) beesvleisekstrak, 0,4% (m/v) tripton, 0,4% (m/v) mannitol, 0,1% (v/v) broomtimolblou (1,0% alkoholiese oplossing) en 1,25% (m/v) agar. Die pH is op 7,3 ingestel voordat dit in die outoklaaf vir 10 minute by $0,7 \text{ kg/cm}^2$

druk gesteriliseer is.

6.1.5 Bismutsulfietagar

Die gedehidreerde produk (Difco) is gebruik en berei volgens die voorskrifte van Difco Laboratories Incorporated (1953).

6.1.6 SS-agar

Die gedehidreerde produk (Difco) is gebruik en berei volgens die voorskrifte van Difco Laboratories Incorporated (1953).

6.1.7 Eosien-metileenblouagar

Die gedehidreerde produk (Difco) is gebruik en berei volgens die voorskrifte van Difco Laboratories Incorporated (1953).

6.1.8 MacConkey-agar

Die gedehidreerde produk (Oxoid) is gebruik en berei volgens die voorskrifte van The Oxoid Division of Oxo Limited (1961) en Oxoid Limited (1965).

6.1.9 Voedingsagar

Voedingsagar is volgens die voorskrifte van die vervaardiger, Difco Laboratories Incorporated (1953), berei vanaf die gedehidreerde produk.

6.1.10 Ureumsop

Difco se gedehidreerde produk is gebruik en berei volgens die voorskrifte van Difco Laboratories Incorporated (1953).

6.1.11 Fenielalanienagar

Dit het die volgende bestanddele bevat: 0,3% (m/v) gisekstrak, 0,2% (m/v) DL-fenielalanien, 0,1% (m/v) natriumfosfaat (Na_2HPO_4), 0,5% (m/v) natriumchloried en 1,2% (m/v) agar. Die pH is ingestel op 7,0 en vir 10 minute by $1,05 \text{ kg/cm}^2$ druk in die outoklaaf gesteriliseer.

6.1.12 Voedingsgelatien

Gedehidreerde voedingsgelatien (Oxoid) is gebruik en berei volgens die voorskrifte van The Oxoid Division of Oxo Limited (1961) en Oxoid Limited (1965).

6.1.13 Drievoudigesuikerysteragar

Die gedehidreerde produk (Difco) is gebruik en berei volgens die voorskrifte van Difco Laboratories Incorporated (1953).

6.1.14 Triptoonwater

Dit is berei deur n 1,0% (m/v) oplossing van triptoon (Difco) te maak. Die medium is ingestel op pH 7,0 en vir 15 minute by 1,05 kg/cm² druk in die outoklaaf gesteriliseer.

6.1.15 Fermentasiemedia

Laktose, mannitol en maltose is elk in 1,0% (m/v) konsentrasies in perssopbasis (Difco) volgens die aanwysings van Difco Laboratories Incorporated (1953) berei.

6.1.16 Ornitienmedium

L-ornitiendihydrochloried is in n konsentrasie van 0,5% (m/v) in die volgende basale medium gebruik: 0,5% (m/v) peptoon, 0,3% (m/v) gisekstrak, 0,1% (m/v) glukose en 0,1% (v/v) broomkresolpers (1,6% oplossing). Die basale medium sonder L-ornitiendihydrochloried is as kontrole gebruik. Beide media is ingestel op pH 7,0 en vir 10 minute by 1,05 kg/cm² druk in die outoklaaf gesteriliseer.

6.1.17 Ringer-oplossing

Dit is berei vanaf tablette volgens die vervaardiger, The Oxoid Division of Oxo Limited (1961), se voorskrifte.

6.2 Bestanddele gebruik in media

Die volgende bestanddele is by die bereiding van mediums gebruik: Proteosepeptoon (Difco), galsoute (Bacto), natriumtiosulfaat (Merck), jodium (Merck), kaliumjodied (Merck) natriumrisinoleaat (Hopkin and Williams Ltd.), ureum (British Drug Houses Ltd.), gisekstrak (Bacto), kaliumfosfaat (KH₂PO₄) (Hopkin and Williams Ltd.), kaliumfosfaat (K₂HPO₄) (British Drug Houses Ltd.), natriumchloried (May and Baker Ltd.), kresolrooi (British Drug

Houses Ltd.), agar (Bacto), peptoon (Bacto), beesvleisekstrak (Oxoid), triptoon (Bacto), mannitol (Riedel de Haën), broomti-milblou (British Drug Houses), DL-fenielalanien (Nutritional Biochemicals Corporation), natriumfosfaat (Na_2HPO_4) (May and Baker Ltd.), laktose (Hopkin and Williams Ltd.), maltose (Gurr Ltd.), L-ornitiendihidrochloried (Fluka), glukose (British Drug Houses Ltd.) en broomkresolpers (Hopkin and Williams Ltd.).

6.3 Reagense en kleurstowwe

Die volgende bestanddeel is in die fenielpirodruiwesuur-reagens gebruik: ferrichloried (British Drug Houses Ltd.).

Vir die Kovacs-reagens is die volgende gebruik: 4-dimetiel-aminobensaldehied (Merck), amielalkohol (British Drug Houses Ltd., Analar) en soutsuur, gekonsentreerd (Merck).

By die Gram-kleuring is die volgende gebruik: kristal-violet (Merck), safranien (British Drug Houses Ltd.), ammonium-oksalaat (Riedel de Haën), absolute etanol (Merck), kaliumjodied (Merck) en jodium (Merck).

7. LITERATUURVERWYSINGS

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION AND WATER POLLUTION CONTROL FEDERATION (1960).

Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater Including Bottom Sediments and Sludges. 11th ed., 3rd Printing 1962, New York, American Public Health Association, Inc.

²²BELAJEFF, R.C. (1947). The control of the quality of water. Monatsbull. schweiz. ver. Gas- u. Wasserfachm. 1, 8.

BELYAVIN, G. (1951). Cultural and serological phases of Proteus vulgaris. J. gen. Microbiol. 15, 197.

²³BILLIB, H. (1949). Mass sickness by crustacea poisoning in the summer of 1947. Gesundheitsing. 70, 91.

BRAND, P.A.J. (1966). An ecological study of the coliform group, with special reference to the status of Escherichia coli I as an indicator organism of faecal pollution of water. Thesis, Potchefstroom University for Christian Higher Education.

BRAND, P.A.J., KEMP, P.H., PRETORIUS, S.J. AND SCHOONBEE, H.J. (1967). Water quality and abatement of pollution in Natal rivers. Natal Town and Regional Planning Report. Vol. 13 Parts 1 - III.

BREED, R.S., MURRAY, E.G.D. AND SMITH, N.R. (1957). Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 7th ed., Baltimore, The Williams and Wilkins Company.

BROCK, T.D. (1966). Principles of Microbial Ecology. New Jersey, Prentice-Hall, Inc.

BUCHANAN, R.E., HOLT, J.G. AND LESSEL, E.F. (1966). Index Bergeyana. Baltimore, The Williams and Wilkins Company.

BURROWS, W., MOULDER, J.W. AND LEWERT, R.M. (1959). Textbook of Microbiology. 18th ed., Reprinted 1963, Philadelphia and London, W.B. Saunders Company.

²⁴BUŞILA, S. AND IOANID, L. (1964). Studies on the environmental distribution of bacteria belonging to the Proteus group. III. Archs. roum. Path. exp. Microbiol. 23, 149.

BUTTIAUX, R. ET MIEGE, JEANNINE (1947). Mise en évidence du B. de Morgan dans les eaux saumâtres. (origine hydrique possible des contaminations humaine). Ann. Inst. Pasteur. 73, 364.

CLARKE, P.H. AND SHAW, C. (1954). Biochemical tests for Proteus and Providencia cultures. J. gen. Microbiol. 10, 1.

COWAN, S.T. (1956). Taxonomic rank of Enterobacteriaceae 'Groups'. J. gen. Microbiol. 15, 345.

- CRUICKSHANK, R. (Editor) (1960). Mackie and McCartney's Handbook of Bacteriology a Guide to the Laboratory Diagnosis and Control of Infection. 10th ed., Revised Reprint 1962, Edinburgh and London, E. & S Livingstone Limited.
- CRUICKSHANK, R. (Editor) (1965). Medical Microbiology a Guide to the Laboratory Diagnosis and Control of Infection. 11th ed., Revised Reprint 1969, Edinburgh and London, E. & S. Livingstone Limited.
- DIFCO LABORATORIES (1966). Difco Supplementary Literature. Detroit, Difco Laboratories.
- DIFCO LABORATORIES INCORPORATED (1953). Difco Manual of Dehydrated Culture Media and Reagents for Microbiological and Clinical Laboratory Procedures. 9th ed., Reprinted 1963, Detroit, Difco Laboratories Incorporated.
- DUBOS, R.J. (editor)(1958). Bacterial and Mycotic Infections of Man. 3rd ed., 2nd Printing 1958, Philadelphia and Montreal, J.B. Lippincott Company.
- EDWARDS, P.R. AND EWING, W.H. (1962). Identification of Enterobacteriaceae. 2nd ed., 2nd Printing 1964, Minneapolis, Burgess Publishing Company.
- EHLERS, V.M. AND STEEL, E.W. (1965). Municipal and Rural Sanitation. 6th ed., New York, McGraw-Hill Book Company.
- EWING, W.H. (1958). The nomenclature and taxonomy of the Proteus and Providencia groups. Intl. Bull. Bact. Nomen. Taxon. 8, 17.
- EWING, W.G. (1963). An outline of nomenclature for the family Enterobacteriaceae. Intl. Bull. Bact. Nomen. Taxon. 13, 95.
- EWING, W.H. AND EDWARDS, P.R. (1960). The principal divisions and groups of Enterobacteriaceae and their differentiation. Intl. Bull. Bact. Nomen. Taxon. 10, 1.
- EWING, W.H., TANNER, K.E. AND DENNARD, D.A. (1954). The Providencia group: an intermediate group of enteric bacteria. J. Infect. Dis. 94, 134.
- FALKOW, S. (1958). Activity of lysine decarboxylase as an aid in the identification of salmonellae and shigellae. Amer. J. Clin. Path. 29, 598.
- GREEFF, A.S. AND KARODIA, I.E. Ongepubliseerde gegewens.
- HAYWARD, N.J. AND MILES, A.A. (1943). Inhibition of Proteus in cultures from wounds. Lancet, ii, 116.
- HENRIKSEN, S.D. (1950). A comparison of the phenylpyruvic acid reaction and the urease test in the differentiation of Proteus from other enteric organisms. J. Bact. 60, 225.
- HOLMAN, R.A. (1957). The use of sulphonamides to inhibit the swarming of Proteus. J. Path. Bact. 73, 91.
- HYNES, M. (1942). The isolation of intestinal pathogens by selective media. J. Path. Bact. 54, 193.

- KAUFFMANN, F. (1954). Enterobacteriaceae. 2nd ed., Copenhagen, Ejnar Munksgaard Publisher.
- KAUFFMANN, F. (1959 a). On the principles of classification and nomenclature of Enterobacteriaceae. Intl. Bull. Bact. Nomen. Taxon. 9, 1.
- KAUFFMANN, F. (1959 b). Definition of genera and species of Enterobacteriaceae. Intl. Bull. Bact. Nomen. Taxon. 9, 7.
- KAUFFMANN, F. (1963). On the classification of the family Enterobacteriaceae. Intl. Bull. Bact. Nomen. Taxon. 13, 187.
- LEVINE, M. (1942). An ecological study of Proteus. J. Bact. 43, 33.
- LIVINGSTONE, D.J. (1969). An appraisal of sewage pollution along a section of the Natal Coast. J. Hyg., Camb. 67, 209.
- LOMINSKI, I. AND LENDRUM, A.C. (1942). The effect of surface-active agents on B. proteus. J. Path. Bact. 54, 421.
- MCCRADY, M.H. (1915). The numerical interpretation of fermentation-tube results. J. Infect. Dis. 17, 183.
- NETER, E. (1945). Paracolon and Proteus bacilli in the faeces of healthy infants. J. Pediat. 26, 390.
- OXOID LIMITED (1965). The Oxoid Manual of Culture Media, Ingredients and other Laboratory Services. 3rd ed., London, Oxoid Limited.
- PELCZAR, M.J. AND PORTER, J.R. (1940). The utilization of nicotinic acid and related pyridine compounds by the Proteus group of organisms. J. Bact. 39, 429.
- PHILLIPS, J.E. (1955). In vitro studies on Proteus organisms of animal origin. J. Hyg. Camb. 53, 26.
- PROOM, H. (1955). Amine production and nutrition in the Providencia group. J. gen. Microbiol. 13, 170.
- PROOM, H. AND WOIWOD, A.J. (1951). Amine production in the genus Proteus. J. gen. Microbiol. 5, 930.
- RAUSS, K. (1962). A proposal for the nomenclature and classification of the Proteus and Providencia groups. Intl. Bull. Bact. Nomen. Taxon. 12, 53.
- RAUSS, K. (1963). Minority report on the tribe Proteae. Intl. Bull. Bact. Nomen. Taxon. 13, 85.
- REID, A.W. (1927). Sanitation and Public Health with Special Reference to Conditions in South Africa. 2nd ed., Cape Town and Johannesburg, Juta Pty. Ltd.
- REPORT (1958). The Enterobacteriaceae Subcommittee of the Nomenclature Committee of the International Association of Microbiological Societies. Intl. Bull. Bact. Nomen. Taxon. 8, 25.

- REPORT (1963). The Subcommittee on Taxonomy of the Enterobacteriaceae. Intl. Bull. Bact. Nomen. Taxon. 13, 69.
- REPORT (1968). Meeting of the International Enterobacteriaceae Subcommittee, Moscow 1966. Intl. J. Syst. Bact. 18, 191.
- RUSTIGIAN, R. AND STUART, C.A. (1945). The biochemical and serological relationships of the organisms of the genus Proteus. J. Bact. 49, 419.
- SANDYS, G.H. (1960). A new medium of preventing swarming of Proteus sp. with a description of a new medium suitable for use in routine laboratory practice. J. med. Lab. Tech. 17, 224.
- SHAW, C. AND CLARKE, P.H. (1955). Biochemical classification of Proteus and Providencia cultures. J. gen. Microbiol. 13, 155.
- SINGER, J. AND BAR-CHAY, J. (1954). Biochemical investigation of Providencia strains and their relationship to the Proteus group. J. Hyg. Camb. 52, 1.
- SKERMAN, V.B.D. (1967). A guide to the Identification of the Genera of Bacteria with Methods and Digests of Generic Characteristics. 2nd ed., Baltimore, The Williams and Wilkins Company.
- SOCIETY OF AMERICAN MICROBIOLOGISTS (1957). Manual of Microbiological Methods. New York, Toronto and London, McGraw-Hill Book Company.
- SOKOLSKI, W.T. AND STAPERT, E.M. (1963). Medium for the control of bacterial swarms. J. Bact. 85, 718.
- STUART, C.A., VAN STRATUM, ELIZABETH AND RUSTIGIAN, R. (1945). Further studies on urease production by Proteus and related organisms. J. Bact. 49, 437.
- STUART, C.A., WHEELER, K.M. AND MCGANN, VIRGINIA (1946 a). Further studies on one anaerogenic paracolon organism, type 29911. J. Bact. 52, 431.
- STUART, C.A., WHEELER, K.M., MCGANN, VIRGINIA AND HOWARD, ISABEL, (1946 b). Motility and swarming of some Enterobacteriaceae. J. Bact. 52, 519.
- STUART, C.A., WHEELER, K.M., RUSTIGIAN, R. AND ZIMMERMAN, ALICE. (1943). Biochemical and antigenic relationships of the paracolon bacteria. J. Bact. 45, 101.
- STURDZA, S.A. (1962). Proteuszahlbestimmungen in schmutzwässern. Städtehygiene. 13, 180.
- ^xSTURDZA, S.A. AND BUSILÁ, S. (1964). On the degree of pollution in a restricted water body and its evaluation. Arch. f. Hyg. 148, 62.

SYKES, J.A. AND REED, R. (1949). The control of the swarming of Proteus vulgaris by boric acid. J. gen. Microbiol. 3, 117.

THE OXOID DIVISION OF OXO LIMITED (1961). The Oxoid Manual of Culture Media, Including Ingredients and other Laboratory Services. 2nd ed., London, The Oxoid Division of Oxo Limited.

WILSON, G.S. AND MILES, A.A. (1955). Topley and Wilson's Principles of Bacteriology and Immunity. 4th ed., London, Edward Arnold (Publishers) Ltd.

WINDLE TAYLOR, E. (1958). The Examination of Waters and Water Supplies (Thresh, Beale and Suckling). 7th ed., London, J & A Churchill Ltd.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (1958). International Standards for Drinking-Water. Geneva, Palais des Nations.

ZARETT, A.J. AND DOETSCH, R.N. (1949). A new selective medium for the quantitative determination of members of the genus Proteus in milk. J. Bact. 57, 266.

*ZARETT, A.J., DOETSCH, R.N. AND ARNE HANSEN, P. (1950). The occurrence of Proteus species in raw and pasteurized milk. J. Milk and Food Technol. 13, 31.

≡ Nie in die oorspronklike gesien nie.