

Tájékoztató, gyors vizsgáló módszer összes csíraszám, illetve coliform szám meghatározására (becslésére)

RÖDLER MIKLÓS, LÁSZLÓ NÁNDOR, RÖDLER IMRE,
URBÁN ALADÁR és POGÁNY ISTVÁN

Egészségügyi Minisztérium, Budapest

Érkezett: 1978. augusztus 2.

Az élelmiszerekkel közvetített, illetőleg előidézett fertőzések és mérgezések – úgy tűnik – világviszonylatban terjednek. Ennek egyik oka feltehetően, hogy az élelmiszer termelés és feldolgozás során alkalmazott sokrétű technológiai folyamat – elsősorban a nem zárt rendszerű műveletek következtében – az élelmiszerek potenciális fertőzöttségét, ill. szennyeződését fokozza.

Éppen a potenciális szennyezettség sürgeti olyan laboratóriumi vizsgáló módszerek kifejlesztését, melyek központi, regionális és helyi szinten egyaránt alkalmazhatók, azonos analitikai és mintavételi eljárást tesznek lehetővé, standardizálhatók.

Elsőrendű követelmény egy gyors és könnyen kivitelezhető laboratóriumi vizsgálati lehetőség megteremtése, azzal jellemezve, hogy tömegmérétekben is alkalmazható legyen. A gyors és könnyen kivitelezhető laboratóriumi vizsgálati lehetőség megteremtésén túlmenően biztosítani kell annak megfelelő alkalmazását az élelmiszer-egészségügyi ellenőrzések paramétereinek helyes megválasztásával kombinálva.

Az időfaktor szerepének jelentőségét is ki kell emelnünk, mivel az döntően befolyásolhatja az ellenőrzés eredményességét. Ebben a tekintetben nagy jövő jósolható a „tájékoztató”-jellegű laboratóriumi gyorsvizsgáló módszereknek.

Az ismertetendő módszer – melynek kipróbálása a gyakorlatban is megtörtént – egy gyors-vizsgáló eljárás, amely leegyszerűsíti, egyben gyorsítja a mintavételt, az anyag-feldolgozást, az eredmény kiértékelését. Maga a készülék hűtés nélkül hosszú ideig tárolható, kis helyigényű, hordozható, a mintavételtől (amely egyszerűen a minta laboratóriumi feldolgozását is magában foglalja) a vizsgáló intézménybe történő szállításig (ahol majd thermostatba helyezendő) külön hűtést nem igényel.

A módszert, amely a lemezmerítéses technikán alapul – ahol a táptalajt tartalmazó lemezke közvetlenül a vizsgálandó baktérium tartalmú folyadékba merül – a közegészségügy-járványügy több területén alkalmaztuk. Vizsgáltunk élelmiszert, szennyvizet, felszíni vizet, biológiai anyagot (vizelet); kórház-higiéniai vizsgálatok is történtek. A módszer jól használható a vizsgálatra alkalmas anyagok higiéniai megítélésére és nagy segítséget nyújt az élelmiszerfeldolgozás folyamán az élelmiszeriparban is a kontroll és önkontroll vizsgálatok terén egyaránt.

A módszer alkalmas folyadékok élő csíraszámának meghatározására, illetve annak becslésére. A meghatározás határai 1000 és 10 000 000 csíra között vannak. Magasabb csíraszám esetén hígítással kell előállítani a mérhető csíraszámot. A java-

solt küllemű táptalajt belemártjuk a folyékony vizsgálo anyagba, vagy a vizsgálati anyag szuszpenziójába. A baktériumok egy része megtapad a táptalaj felszínén és ezen baktériumok száma arányos a vizsgált anyag baktériumtartalmával. Ugyanezen elvi alapon lenyomati minták is készíthetők.

Az inkubálás során kinőtt telepeket nem szükséges megszámlálni, hanem elegendő a telepek sűrűségét a mintával összehasonlítani ahonnet a cm^3 -kénti csíraszám jól becslhető. Amennyiben a minta hígítása szükségessé vált, az elbírálás során figyelembe kell venni a hígítás mértékét.

A pontosság érdekében a táptalajok felszine 10 cm^2 , mely relative nagy felületbiztonságot ad kisebb csíraszámok egyenetlen megoszlása esetén is a reális érték leolvasására. Ilyen nagy felületen a telepsűrűség is jól elbírálható.

A módszer jól reprodukálható, gyors, egyszerű és könnyen értékelhető. Más kvantitatív bakteriológiai vizsgálo módszerekkel csaknem azonos értékű. Gyakran közvetlenül használható a helyszínen, ilyenkor nincs szükség mintavételre (tej, szennyvíz), elmarad a vizsgálati anyag szállítása, hűtése, így a minta mikrobiológiai állapota nem szenvedhet változást. Rendkívül anyagtakarékos és egyúttal lecsökkenti a laboratórium munkáját.

Anyag és módszer

A lemezek készítése*

Vizsgálataink alkalmával a táptalajokat általunk előállított peremes műanyag lemezekre öntöttük ki, melyeket improvizált formában gyógyszeres téglék műanyag dugójával rögzítettünk, majd a készleteket az ionizáló gamma sugárzás megfelelő dóziséval sterilizáltunk.

Az üzemszerűen előállítható mennyiség érdekében olyan műanyag lemezeket, illetve alacsony peremű vályúkat szerkesztettünk, melyek hasznos felülete 10 cm^2 , gép letöltésre alkalmasak és egymással műanyag csapokkal egyesíthetők. Így elérhető, hogy minden táptalaj-készlet két oldalán a különböző minőségű táptalajok legalább két információt adnak. Az egyesített műanyag lemezek $30 \times 100 \text{ mm}$ -es műanyag fiolákba csúsztathatók be, melyek légmentes elzárását és egyúttal az egyesített lemez rögzítését műanyag dugó szolgálja. A dugó rugalmas PVC-ből készült, és anyagából kialakított három körkörös dugattyúgyűrűszerűen elhelyezett műanyag tartály zárja el légmentesen és rögzíti a készletet. A táptalajt hordozó lapok anyaga fehér színű polietilén, az üvegszerűen átlátszó fiola anyaga polistírol, a dugó PVC.

A fél lemezek egyik-egyik oldalán kialakított vályúszerű mélyedésbe öntjük a táptalajt, majd megmerevedés után a lemezek hátlapján levő rugalmas csapokkal egyesítjük azokat. Így biztosítva van, hogy az egyesített lemez két oldalára felvitt különböző fajtájú táptalaj elhelyezhető legyen. A táptalajok letöltése vízszintes síkban forgó asztalon, megfelelően átalakított Cornwall automata pipettákkal történik. A letöltött táptalajok hűtött térbe forognak be, ahonnan megszilárdult formában kerülnek ki. A következő lépésben az egyesített lemezek csatlakozó illesztékét a PVC dugó furatába helyezzük, majd a dugót a lemezel együtt ütközésig a fiolába toljuk. Az utánfűtözés megállítására a tizesével kartondobozba csomagolt táptalaj készleteket hűtik, majd az ionizáló gammásugárzás 1 Mrad dózisteljesítményével sterilizáljuk oly módon, hogy a táptalajok mindaddig keringenek a konveyor soron a sugárforrás körül, míg a dózist fenti meg nem kapták.

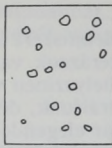
Az alkalmazott táptalaj a vizsgálat céljának megfelelő: élelmiszernél pl. az egyik oldal Klimmer, vagy módosított agartáptalaj, a másik tápagar, mely esetben az egyik oldal összcsíraszámról, a másik a coliform számról tájékoztat; vizelet vizsgálatnál az endó-tápagar variáció a célszerű.

Vizsgálati eljárás

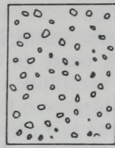
A táptalajos lemezeket a sterilítás szabályainak megtartása mellett a helyszínen, vagy laboratóriumban, vagy a folyékony vizsgálati anyagba, vagy ennek hígí-

* Az eszközt „PROGNOSTAR” védett néven a Phylaxia Oltóanyag és Tápszertermelő Vállalat készíti. MÉM 135/1980. törzskönyvi szám 70.356/80 forgalombahozatali engedély. (Szerk.)

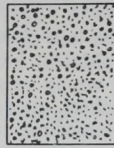
M i n t a
az összehasonlító érzékeléshez



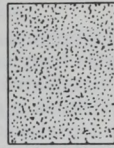
1.000



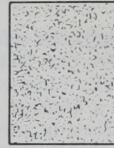
10.000



100.000



1.000.000



10.000.000

tásába, szilárd anyag esetén ennek steril fiziológias konyhasó oldattal előállított szuszpenziójába mártjuk. Lecsepgetés után a lemezt visszatesszük a tégelybe, melyet a dugó automatikusan sterilen zár le. Megfelelő inkubálás után a kinőtt telepek sűrűségét leolvastva, vagy mintával összehasonlítva bíráljuk el a táptalajokat. Mód van lenyomati minták készítésére is, mely esetben a csíraszám nem a minta súlyára, hanem a felületén való baktérium megoszlásra ad tájékoztatást.

Alkalmazás

Élelmezésgézségügy területén

Élelmiszerek tisztaságának mikrobiológiai megítélésénél szükséges, hogy a kifogásolt csíraszám a mérhető értékek közé essen. Tej, vagy felolvasztott fagyalt esetben a táptalaj bemártandó a hígítatlan anyagba, míg más élelmiszereknél egy hígítás, vagy hígítási sor készítenőd. Rendszerint elegendő 1:10-es hígítás, vagy szuszpenzió készítése steril fiziológias konyhasó oldattal a helyszínen, vagy laboratóriumban. A mintába mártott táptalajok csíraszámának elbírálásakor a hígítás mértéke figyelembe veendő. A vázolt módszerrel csaknem valamennyi élelmiszerféleség tisztasági foka gyorsan megítélhető, tájékozódás céljából.

Környezet-tisztasági vizsgálatoknál meghatározott nagyságú területről steril vatta tamponnal vett mintát steril fiziológias konyhasó oldat meghatározott mennyiségében áztatjuk ki és ebbe mártjuk a táptalajt. Az ajánlott módszerrel a szennyezettség mértéke számszerűen ítéltető meg.

Településgézségügy-állathigiéne

Ivóvizek esetében a módszer általában nem alkalmazható a várható alacsony csíraszámok miatt.

Felszíni vizeknél csak szennyvíz beömléseknél várható, hogy a csíraszám a mérhető értékig emelkedik.

Szennyvizek csíraszámát megítélhető, közvetlenül, vagy hígítás után. A módszer lehetőséget ad szennyvitzisztító berendezések hatásfokának vizsgálatára is, helyszíni alkalmazás formájában.

Ugyanez a helyzet állattartó telepek, istállók higiéniái viszonyainak elbírálásánál.

Megfelelő táptalajok és azok variációinak alkalmazása lehetőséget nyújt célvizsgálatok elvégzésére.

A felhasználásnak csak a beszáradás szab határt, akár szobahőmérsékleten is tarthatjuk. A fagytól azonban természetszerűleg óvni kell.

Gyorsmódszerünk folyadékok csíraszámának semiquantitatív (de a kvantitatív vizsgálatokkal gyakorlatilag egyenértékű) meghatározására alkalmas, azokban az esetekben, amikor a csíraszám 10^3 -on vagy e felett van. A mérés felső határa 10^7 csíra/cm³ hígítás nélkül.

Az élelmiszerek vizsgálatának gyakorlati lebonyolítása

Szilárd élelmiszerek

Ahol csak a felületi szennyeződést kell figyelembe venni, az élelmiszert 1:10-es súlyarányban fiziológiás konyhasó oldattal hozzuk össze és összerázzuk vagy elkeverjük. (Helyszíni vizsgálatnál az anyag súlyát becsüljük.) A helyszínen végezhetjük a hígítást szerelékünk téglében, melyet előzetesen kalibráltunk, de steril kémcsőben is, mert a táptalajok beoltásához 10 cm³ folyadék már elegendő a ráöntéses beoltásnál. További teendő az alábbi használati utasítás szerint történik.

Könnyen szuszpendálható élelmiszerek

Az anyagot 1:10-es arányban fiziológiás konyhasó oldattal összerázzuk, vagy elkeverjük. Ülededés után a táptalajokat a folyadék tisztájával beoltjuk. Amennyiben nem áll rendelkezésünkre steril laboratóriumi eszköz, a mintát forró vízzel lemosott kanállal, vagy a helyszínen rendelkezésre álló használati eszközzel kell venni.

Folyékony élelmiszerek

A folyékony élelmiszereket közvetlenül használjuk fel vizsgálatra. Hígítást csak akkor végzünk, amikor a folyadék viszkozus (pl. szörp) vagy előreláthatólag nagyon magas a csíraszám.

Ez utóbbi minden vizsgálati anyagra vonatkozik.

Használati utasítás

- emeljük ki a táptalajt hordozó lemezkét a tartó-dugónál fogva, megtartva a sterilitás alapvető szabályait;
- mártsuk a lemezkét a vizsgálandó folyadékba, vagy öntsük a vizsgálandó folyadékot a táptalajokra úgy, hogy az teljesen végigfolyjon azokon;
- csepegtessük le a folyadékot a lemezekről rázogatós nélkül;
- tegyük vissza a lemezkét a tégelybe és rögzítsük jól a dugót, hogy az légmentesen zárjon;
- jelöljük meg a tégelyt számmal vagy felirattal, töltsük ki a szükséges vizsgálati jegyzőkönyvet és szállítsuk a szerelékkel a vizsgáló intézménybe;
- tegyük a tégelyt termosztádba és inkubáljuk 37 C°-on egy éjszakán át (kb. 18–20 óra), majd utána
- emeljük ki a lemezkét a tégelyből és hasonlítsuk össze a táptalajon nőtt baktérium telepek sűrűségét a szerelékhez mellékelte mintával, így kapjuk a cm³-kénti csíraszámot.

Amennyiben a táptalaj a gombák számának meghatározására is alkalmas és ezt is meg kívánjuk határozni, úgy az inkubálást még egy éjszakán át folytatjuk.

Így járunk el azon kivételes esetben, amikor a kiértékelésor a növekedést biztonsággal megítélni nem tudjuk.

Eredmények

Közel ezer anyag coliform és összcsíraszám vizsgálatát figyelembe véve az eltérés a klasszikus, illetőleg a szabványokban előírt módszerektől 10% alatt volt.

Az eltérésnél hol a hagyományos, hol az új módszer mutatkozott érzékenyebbnek, tehát adott magasabb értéket. Az eredményeket figyelembe véve, bár az eljárásnál semikvantitatív módszerről beszélünk, az eljárás nem marad el más kvantitatív tartott tenyésztéses csíraszámolástól.

947 anyagot 9 különböző laboratórium vizsgált meg az új módszernek a hagyományos módszerrel való összehasonlításával. 749 anyag vizsgálata történt laboratóriumban, 198 helyszínen. Egy szerelék két táptalaját számítva. E. coli és összcsíraszám vizsgálat összesen 1894. A leolvasás 24 és 48 óra múltán történt; eltérést az eredmények között sehol sem tapasztaltak. Az eltérések csak kivételesen

voltak két kitevősek. E. colit egyik módszer sem mutatott ki a másik rovására. Mivel az új módszer közel azonos számmal mutatott alacsonyabb csíraszámot mint magasabbat, ezzel sem foglalkozunk részletesen.

Mindkét vizsgálat-sorozatot figyelembe véve az eljárás 8,66%-os volt.

A vizsgálati anyagok megoszlása

Feldolgozás össz. anyag	947
Feldolgozás lab.	749
Feldolgozás helyszín	198
Tej, tejtermék	473
Készétel	152
Hús, húskészítmény	50
Keresk. termék	65
Bébiétel	53
Körny. tisztasági vizsg.	54
Biol. anyag	100

Vizsgálati eredmények

Össz. vizsg. szám	1894	
Eltérés db	162	
Eltérés %	8,6	
Tej szag	926	elt. 64
Készétel	304	51
Hús	100	8
Kereskedelmi minta	124	17
Bébiétel	106	4
Környezeti	108	18
Biol. anyag	200	—
Nem értékelhető	26	

Megbeszélés

Az elvégzett modellkísérletek és összehasonlító vizsgálatok eredménye alapján, melyeket főleg élelmiszerminták és szennyvíz vizsgálatok alkalmával végeztünk, a módszert a fenti célokra alkalmasnak találtuk.

Az eljárásnak előnye, hogy azt a csíraszámot kapjuk, ami a vizsgálati anyagban az adott időben volt. A kiértékelés gyors, a szerelékhez adott mintával való összehasonlítással történik. A szerelék egyszer használatos, azt a kiértékelés után megsemmisítjük. Az alkalmazáshoz, a kiértékeléshez laboratóriumi szakember nem szükséges.

A kapott eredményekre támaszkodva azonnal választ kapunk arra, hogy a vizsgált anyag megfelel-e a mennyiségi és minőségi norma előírásainak. Fázis vizsgálatoknál pedig könnyen rámutathatunk a hiba, hiányosság forrására is.

БЫСТРЫЙ ОРИЕНТИРОВОЧНЫЙ МЕТОД ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ЧИСЛА ВСЕХ МИКРОБ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЧИСЛА КОЛИФОРМНЫХ МИКРОБ

М. Родлер, Н. Ласло, И. Урбан, И. Погань

Для быстрого ориентировочного исследования жидких пищевых продуктов можно применять метод в жидкость погружаемого листочка с питательной средой. Листочек применяемого для исследования стерилизуется

ионизирующим облучением. В результате погружения в жидкость листочка с питательной средой, или выливанием жидкости на питательную среду можно осуществить отбор проб и одновременно и переработку. Метод применим для исследования продукта на месте нахождения, когда испытание и оценку может проводить не только специалист лаборатории.

EINE RASCHE ORIENTIERENDE UNTERSUCHUNGSMETHODE ZUR BESTIMMUNG (SCHÄTZUNG) DER GESAMTKEIMZAHL BZW. DER COLIZAHL

M. Rödler, N. László, I. Rödler, A. Urbán, und I. Pogány

Die Methode des in die Flüssigkeit eingetauchten, Nährboden enthaltenden Plättchens ist zur raschen orientierenden Untersuchung von flüssigen Nahrungsmitteln geeignet. Die zur Untersuchung dienenden Plättchen werden durch ionisierenden Bestrahlungen sterilisiert. Die Musternahme und Verarbeitung werden mit dem Eintauchen des den Nährboden enthaltenden Plättchens oder mit dem Guss der Flüssigkeit auf den Nährboden gleichzeitig durchgeführt. Die Methode ist auch zur Untersuchung an der Stelle geeignet, wobei die Untersuchung, die Auswertung sogar durch eine in den Laboratoriumsarbeiten nicht einübte Person vorgenommen werden können.

A QUICK ORIENTATIVE METHOD FOR THE DETERMINATION (ESTIMATION) OF THE TOTAL GERM NUMBER AND OF THE COLIFORM NUMBER

M. Rödler, N. László, I. Rödler, A. Urbán and I. Pogány

The method of a platelet with nutrient immersed into the liquid can be applied for the quick, orientative investigation of liquid foods. The plates for this test are sterilized by ionizing radiation. Sampling and processing is actually carried out by immersing the platelet with nutrient into the liquid or by pouring the liquid onto the nutrient medium. The method is suitable also for investigations on the spot. The evaluation can be carried out by people untrained in laboratory work.