

## Élelmiszerbakteriológiai vizsgáló módszerek a Kubai Népköztársaságban

NIKODEMUSZ ISTVÁN, KERTÉSZ IMRE  
és OTORO EDUARDO

Kubai Tudományos Akadémia Élelmiszerkémiai Intézetének Magyar Kutató Csoportja,  
Havanna

Érkezett: 1969. február 15.

A Kubai Tudományos Akadémia Élelmiszerkémiai Intézetében működő magyar kutató csoport 1968 január óta végez rendszeresen élelmiszerbakteriológiai vizsgálatokat. A módszertan kidolgozásánál a következő szempontokat kellett figyelembe venni:

1. A módszer lehetőleg egyszerű legyen és kevés költséggel sok minta vizsgálatát tegye lehetővé.

2. Olyan táptalajokat kell felhasználni, amelyeket Kubában eddig is használtak, hogy az egyes baktériumok felismerése különösebb nehézséget ne okozzon.

3. A táptalajok kiválasztásánál arra is kell gondolni, hogy ezek helyben könnyen és folyamatosan beszerezhetők legyenek, mert a később kidolgozandó bakteriológiai határértékeket a meglévő táptalajokhoz kell megadni.

A fenti okok figyelembevételével a Magyarországon 1953 óta elfogadott és ma még változatlanul érvényes *Polonyi* (1) által leírt metodikát részben a *Mossel-Buttiaux* (2, 3, 4) f. előírások alapján, részben a helybeli lehetőségek figyelembevételével módosítottuk s a minták feldolgozása a következőképpen történik.

Feldolgozásra olyan minták kerülnek, amelyeket a laboratórium munkatársai vesznek, vagy más szervek küldenek be. A feldolgozás rendszerint azonnal megtörténik, ha nem, a mintát hűtőszekrényben tároljuk. A vizsgálat egyes folyamatai a következők: 1. Kimérés, 2. Hígítás, 3. Leoltás, 4. Keltetés, 5. Leolvasás, 6. Értékelés.

A szokásos hígítási sorozat (alaphígítás) elkészítése úgy történik, hogy a mintából bizonyos mennyiséget egy steril, már előzőleg kitarázott és üvegyöngyöket tartalmazó Erlenmeyer lombikba mérünk s ennek súlyát pontosan meghatározzuk; célszerű általában 5 g körüli mennyiséget bemérni. A bemért mennyiséghez annyi steril 0,9%-os konyhasó oldatot adunk, hogy pontosan tízszeres hígítást kapjunk. (Pl. ha pontosan 5 g mennyiséget mértünk, akkor ahhoz 45 milliliter sósvizet adunk. Általában célszerű egyetlen alkalommal mérni, mert többszörös benyúlással a másodlagos szennyeződés lehetőségét fokozzuk.)

A lombikot erőteljesen rázzuk, hogy a minta, ill. az oldat egynemű legyen, ha szükséges, az anyagot még a bemérés előtt steril mozsárban eldörzsöljük. Az első hígításból 0,5 ml-t viszünk tovább egy másik steril lombikba, amelyben már 49,5 ml sósvíz van s ebből egy újabb 0,5 ml-t viszünk egy hasonlóan ellátott lombikba. Így a következő hígításokat kapjuk: I. (1/10), II. (1/1000) és III. (1/100 000), azaz  $10^1$ ,  $10^3$  és  $10^5$  hígítás.

Az alaphításból a következő meghatározásokat végezzük el:

1. Összes élőcsíraszámolás közönséges agaron.
2. Coli index meghatározás Mc. Conkey lemezen.
3. Coccusok (Staphylococcus, Micrococcus) számának meghatározása sós táptalajon.
4. Penész- és élesztőgombák számolása Sabouraud táptalajon.
5. Anaerobok jelenlétének megállapítása Thioglykolátos levesben.
6. Termofil spórások jelenlétének meghatározása közönséges bouillonban.
7. Feltételes kórokozó baktériumok jelenlétének megállapítása és számának meghatározása véragaron.

A fentebb ismertetett eljárásokat és táptalajokat a következőkkel indokoljuk:

Ad 1. Kétségtelen, hogy a közönséges agar táptalaj nem a legalkalmasabb az összesírászám meghatározására, de jelenleg más lehetőség nincs. Magyarországon erre a célra a *Polonyi* (1) f. tejágart használják. Kubában jelenleg a tej beszerzése nehézségekbe ütközik s az állandó minőség biztosítása úgyszólván lehetetlen. Egyébként a tejagar – feltehetőleg a standardizálás nehézsége miatt – a nemzetközi metodikában nem terjedt el s Magyarországon kívül csak Bulgáriában alkalmazzák. *Seidel* (5), továbbá *Nistea* (6) véleménye szerint, ha jóminőségű pepton áll rendelkezésre, a tej, mint tápanyag felesleges. A fenti okok miatt, nekünk sem áll szándékunkban e táptalaj bevezetése Kubában, azt azonban tervezzük, hogy a tápagar minőségét – ha ezt kísérleteink eredményei indoklják – zselatin és dextróz hozzáadásával feljavítjuk.

Ad 2. Kubában az apatogen bélbaktériumok tenyésztésére ezt a táptalajt alkalmazzák, indokolt tehát, hogy az élelmiszerekből történő *E. coli* szám meghatározására is ezt használjuk.

Ad 3. A sőtűrő baktériumokat Magyarországon 7,5% konyhasót tartalmazó agaron tenyésztik, e táptalaj egyszerűsége miatt könnyen alkalmazható. Ezt egyébként a hazai tapasztalatok alapján vezettük be Kubában.

Ad 4, 5 és 7. E táptalajok nemzetközileg elfogadottak.

Ad 6. A termofil baktériumok kimutatására ez látszott a legcélszerűbbnek. A termofil mikrobákkal Európában viszonylag keveset foglalkoztak, Magyarországon *Vajda* (7) tanulmányozta jelentőségüket. A trópuson feltétlenül gondolni kell rájuk s valószínű, hogy a mérsékelt égövön is fontosabbak, mint eddig gondolták.

Az elvégzendő hígítások mértékét általában a várható csíraszámtól tesszük függővé. Konzervek, szárított élelmiszerek esetében elegendő az I-es hígítás, tej, tejtermékek esetén el kell menni a III-as (százerez) hígításig, a legtöbb élelmiszer (készétel, szendvics, hentesárú stb.) számára elegendő a II-es (ezres) hígítás, mert ezek élőcsíraszámuk ritkán haladja meg a 100 000-es nagyságrendet.

Az összes élőcsírászám meghatározása a *Koch* f. lemezöntéssel történik. Minden hígításból, 2–2 mennyiséget, és pedig 1,0, és 0,1 ml-t mérünk steril üres Petri csészékbe, így megkapjuk a hiányzó hígításokat (1/100, 1/10 000 és 1/1 000 000) s elfolyósított és 50 fokra lehűtött agarral lemezt öntünk. A 2, 3, 4. és 7-es pont alatt felsorolt vizsgálatokhoz felületi tenyésztést alkalmazunk (0,1 ml az egyes hígításokból). A folyékony táptalajokba 1–1 ml-t oltunk be az I-es hígításból (5,6-os pont). Amennyiben fennáll a gyanúja annak, hogy a termofil spórások és a Clostridiumok száma a mintában grammonként 10-nél nagyobb, akkor a II-es és III-as hígításokból is leoltunk.

Az egyes hígításokból elvégzendő szükséges leoltásokat schematikusan táblázatban a következőképpen ábrázolhatjuk (I. táblázat).

Az egyes táptalajokhoz felhasznált minta mennyiség és hígítás.  
Eljárások, ill. táptalajok

Hígítás	Összcsíra Agar	Bélbakt. Mc Conkey	Sótűrők Sósagar	Gombák Sabou- raud	Egyéb Vér	Anaero- bok Thiogly- kol.	Termo- filok Bouillon
I-es (10 <sup>4</sup> )	1,0 ml (10 <sup>4</sup> )					1,0 ml	1,0 ml
II-es (10 <sup>3</sup> )	0,1 ml (10 <sup>3</sup> ) 1,0 ml (10 <sup>3</sup> )	0,1 ml	0,1 ml	0,1 ml	0,1 ml	(1,0 ml)	(1,0 ml)
III-as	0,1 ml (10 <sup>4</sup> ) 1,0 ml (10 <sup>5</sup> )	0,1 ml	0,1 ml	0,1 ml	0,1 ml		
	0,1 ml (10 <sup>6</sup> )	(0,1 ml)	(0,1 ml)	(0,1 ml)	(0,1 ml)		

(—) Ebbe a zárójelben levő számok azt jelentik, hogy az erre vonatkozó vizsgálatokat csak indokolt esetben végezzük el.

A táblázatból kiderül, hogy az összcsíraszámolást minden hígításból, ill. a 10 minden hatványából elvégezzük, a többi vizsgálatot csak páratlan kitevőjű hígításokból.

Az egyes táptalajok leolvasását a megfelelő keltetés után végezzük. Az összcsíraszámoláshoz öntött lemezeket 48 óráig szobahőn, majd 24 óráig 37 fokon keltetjük a Mc Conkey-, véragar- és thioglykolát táptalajokat 48 óráig 37 fokon, a sósagart 48 óráig 37 fokon, majd 24 óráig szobahőn. A Sabouraud táptalajt 3–4 napig szobahőn, a közönséges boullont 2 napig 55 fokon keltetjük.

A mezofil baktériumok számára (amelyek az élelmiszerek mikroflórájának jelentős részét alkotják) legelőnyösebb a 30 fok. Ezt Kubában a szobahőmérséklet az év legnagyobb részében megközelíti, egy napig célszerű 37 fokos tenyésztést alkalmazni, hogy azok a baktériumok, amelyeknek 37 fok az optimuma, szintén kellően kifejlődjenek. A bélbaktériumoknak, feltételes kórokozóknak és a fontosabb Clostridiumoknak a testhőmérséklet felel meg leginkább. Ha egyes élelmiszerekben meg akarjuk határozni a festékképző baktériumok számát, célszerű, ha megfelelő számú Mc Conkey táptalajt nemcsak 37 fokon, de párhuzamosan szobahőn is beállítunk. A Staphylococcusok és más sőtűrő baktériumok részére a testhőmérséklet a legalkalmasabb, ez a hőmérséklet jó addig, amíg kifejlődnek — magasabb sótartalom az első napon akadályozza a növekedést —, majd a festéktermelés kimutatására a tenyészeteket 24 óráig szobahőmérsékleten kell tartani (8).

Az élelmiszerekben előforduló penész- és élesztőgombák a legjobban szobahőmérsékleten szaporodnak, 3–4 nap alatt képeznek jellegzetes telepeket. A hőkedvelő (termofil) baktériumok 50–60 fok között növekednek, legjobb az 55 °C.

A leolvasásokat az előírt idő után végezzük el. Az összcsíra lemezeken először megszámoljuk a kinőtt telepek számát, ezt szorozva a hígítás fokával megkapjuk az élelmiszerek egy grammra vonatkoztatott élőcsíraszámát. Ezen belül különös figyelmet szentelünk az aerob spórás baktériumoknak, amelyek fehérjebontó tevékenysége az élelmiszerek romlása szempontjából fontos. Ezen túlmenően legfontosabbunk a mikroflóra összetételéről, amely az eddigi tapasztalataink alapján a következőkből áll:

1. Micrococcusok
2. Streptococcusok (Tejstrepococcus és fekálstrepococcus)
3. Bélbaktériumok

4. Festékképző baktériumok
5. Aerob spórás baktériumok
6. Élesztőgombák
7. Penészgombák

E mikrobáknak, a spórások kivételével, elsősorban a jelenlétét állapítjuk meg, az elbírálás szempontjából az illetékes differenciáltáptalajon kapott mennyiségek az irányadók.

A Mc Conkey táptalajon főleg a bélbaktériumok nőnek ki. Az *E. coli* mellett kinőnek még a Klebsiellák, átmeneti *Coli* baktériumok, *Proteus* baktériumok és a festékképző baktériumok. A bélbaktériumokat beleszámítjuk a *Coli-Index*-be és a legtöbb esetben a festékképző baktériumokat is, hiszen számos élelmiszerben ezek sem lehetnek jelen, ill. ezek számát is korlátozni kell. Nem számíthatók a bélbaktériumokhoz azok a *Micrococcus*ok és spórások, amelyek esetleg kinőnek a Mc Conkey lemezen.

Sósagaron a patogén *Staphylococcus*on kívül telepeket képeznek a *Micrococcus*ok és egyes aerob spórás baktériumok, pl. *B. subtilis* var. *viscosus*. Egyik sem számítható hozzá a *Staphylococcus*okhoz; a *micrococcus*ok többsége közömbös baktérium, a *B. subtilis* nagyobb mennyiségben egyes élelmiszerek romlását okozhatja.

A Sabouraud táptalajon a gombákon kívül *Micrococcus*, bélbaktériumok, festékképzők és aerob spórások is kinőhetnek; a táptalajon csak a gombák száma állapítható meg elbírálás szempontjából.

A véragar lemezen elsősorban a hemolízist vesszük tekintetbe. Ilyen fermentekkel elsősorban a *Staphylococcus*, egyes patogén *E. coli* törzsek, *Pseudomonas pyocyanea*, *B. cereus*, *B. subtilis* rendelkeznek s ezek számát határozzuk meg elsősorban.

Szeretnénk kiemelni, hogy a Thioglykolátos levesben a *Clostridium*okon kívül egyes aerob spórás baktériumok is elszaporodhatnak, s ezért az itt kapott baktérium növekedést csak akkor fogadhatjuk el, ha az itt kinőtt mikrobák nem szaporodnak oxigén jelenlétében.

Az 55 fokon elszaporodó baktériumokat termofiloknak kell tekintenünk, még akkor is, ha ezek elszaporodnak 37 fokos hőmérsékleten is. E mikrobák hőellenállásuk miatt fontosak s ahogy már itt is tapasztaltuk, okai lehetnek konzervek romlásának.

Az élelmiszerek bakteriológiai alapon történő elbírálása, a kószerek kivételével, amelyekre nemzetközi standardok vannak, Kubában még nem kellően megoldott feladat. Általában kifogásolunk egy élelmiszert akkor, ha a káros mikrobák vagy az idegen flóra száma meghaladja a grammonként 100 000-res nagyságrendet, vagy erre eddig még nem volt példa, ha kórokozó baktériumok mutathatók ki. Élelmiszerbakteriológiai standardjavaslatok elkészítésére számos vizsgálat elvégzése szükséges. Ezekről a későbbiek során szándékozunk beszámolni.

#### I R O D A L O M

- (1) *Polónyi P.*: Kandidátusi értekezés, Budapest, 1953.
- (2) *Mossel D. A. A., Bechet J., Lambion R.*: La prévention des infections et des toxi-infections alimentaires. C. E. P. I. A. Bruxelles 1962.
- (3) *Buttiaux R., Mossel D. A. A.*: Ann. Inst. Pasteur Lille, 9, 138, (1957.)
- (4) *Buttiaux R.*: Ann. Inst. Pasteur Lille, 9, 176, (1957.)
- (5) *Seidel G., Schultz A.*: Arch. Lebensmittelhyg. 13, 12, (1962.)
- (6) *Ienistea C.*: Microbiologia alimentelor. Editura medicala, Bucuresti, 1959.
- (7) *Vajda Ö.*: Kandidátusi értekezés, Budapest, 1964.
- (8) *Ormay L.*: Orvosi laboratóriumi asszisztensek kézikönyve. Medicina, Budapest, 1960.