

## Az *Escherichia coli* meghatározásának problémái az élelmiszer-bakteriológiában

BÍRÓ GÉZA

Állatorvostudományi Egyetem, Élelmiszerhigiéniai Tanszék  
Budapest

Érkezett: 1968. november 15

*Escherich* már 1885-ben elkülönítette a *B. coli-commune* és *B. lactis-aerogenes* törzseket, *Schardinger* pedig az *Escherichia coli*-t már 1892-ben a fekális eredetű szennyeződést jelző indikátor baktériumként használta. Mégis a jelenleg alkalmazott *E. coli* és coliform baktériumok elbírálási elve és tenyésztési módszerei az utóbbi egy-két évtizedben alakultak ki. Időközben kiderült ugyanis, hogy egyes *coli*-féléket nem lehet minden kétséget kizáróan béltartalom eredetűnek tekinteni. 1917-ben [1] és 1920-ban [2] az *Aerobacter aerogenes*-t olyan *coli-aerogenes* típusú baktériumnak tekintették, amely elsősorban előfordul a talajban. Újabb tanulmányok is nagy számú vizsgálati anyagra vonatkoztatva kimutatták egyes coliform baktériumoknak a talajban, növényzetben és rovarokban való előfordulását [3, 4, 5]. Főleg a táptalaj problémák és a baktérium-törzsek pontos meghatározásának nehézsége vezetett el az indikátor baktériumnak indikátor flórává való kiszélesedéséhez.

Nagyon sok adat halmozódott fel a baktériumok fizikai, biokémiai és szerológiai vizsgálatai során és ezek alapján többen megkísérelték azok taxonómiai besorolását. A *coli-aerogenes* csoportba sorolják az *Escherichia* és *Aerobacter* csoport tagjait, a coliform csoportba az *Escherichia*, *Aerobacter* és *Paracolobactrum* csoport tagjait. *Schönberg* szerint [6]:

1. *Escherichia* csoport
  - E. coli*
  - E. freundii*
  - E. intermedium*
2. *Aerobacter* csoport
  - A. aerogenes*
  - A. cloacae*
3. *Paracolobactrum* csoport
  - P. aerogenoides*
  - P. intermedium*
  - P. coliforme*

Az egyes species-ek elnevezéseiben is találunk eltérő megjelöléseket. Legismertebb a *Citrobacter* (*E. freundii*), *Klebsiella* (*A. aerogenes*), *Enterobacter* (*Aerobacter*) elnevezés. De a *Bergey*, *Topley-Wilson*, *Breed* baktérium meghatározók összefüggéseit is megtaláljuk a „*Nomina und Synonyma*” című munkában [7].

Az egyes csoportok tagjainak nemcsak az emberi és állati béltraktusban, hanem a környezetben való előfordulása szükségessé tette a *fekál* és *nem fekál*

coli-, vagy coliformok elkülönítését. Az elkülönülés alapjául *Eijkmann* megfigyelése szolgált [8]. *Eijkmann* a coliform csoportot szétválasztotta egy *fekál csoportra*, amelynek tagjai a glukózból gázt képeznek 46 °C-on és egy *nem fekál csoportra*, amelyek tagjai erre nem voltak képesek. Ebből alakult ki azután az az *elkülönítő tenyésztési hőmérséklet*, amely ma is alapja a fekál és nem fekál eredet meghatározásának. *Wilson* és munkatársai Mac Conkey-talajban 44 °C-on, víz-fürdőben [9], *Hajna* és munkatársai epesót tartalmazó tápközegben 45,5 °C-on [10], *Vaughn* és munkatársai bórsavas közegben 43 °C-on végezték a fekál típus tenyésztését [11].

Az *Escherichia coli* I. típusának fekál eredetét több szerző megerősítette [12, 13, 14], míg a többi coli-aerogenes baktériumoknál ez vitatott. *Buttiaux* [14] véleménye szerint az a *Klebsiella* csoport, amelyet *Cowan* és munkatársai [15] nem mozgó, de általában tokkal rendelkező, Voges – Proskauer és ureaze pozitív tulajdonságokkal jelöltek, szintén specifikusan fekál típus.

Időközben kialakítottak olyan biokémiai próbákat is, amelyek az egyes baktériumok elkülönítését szintén elősegítették. Ezeket a biokémiai reakciókat kezdetben egyenként is a fekál- és nem fekál eredet kimutatására kívánták felhasználni, időközben azonban ezek összessége mutatkozott alkalmasnak az egyes típusok elkülönítésére.

A metilvörös próba alapját *Hardin* és *Walpole* még 1905-ben kidolgozta [16]. Megállapították, hogy a hidrogén és széndioxid gáz aránya *E. coli* tenyésztésekor 1:1, az *Aerobacter aerogenes*-nél pedig 1:2. *Clark* és *Lubs* [17] ennek megfelelően a végső PH értéket 4.2–4.3, illetve 5.6-, vagy magasabbnak találták. A metilvörös indikátort alkalmazták a két pH érték elkülönítésére, mivel az a 4.4 pH érték-nél piros színű, amely fokozatosan sárgás színbe megy át a pH értékre emlékeztével.

Az indol reakció lényegét már *Friber* 1921-ben [18] megmagyarázta, mikor kimutatta, hogy minden coliform törzs a triptofánból indolecetsavat képez, amiből egyes törzsek képesek indolt termelni (indol pozitív), míg mások nem (indol negatív). *Geldreich* és munkatársai [19] kimutatták, hogy a fekál eredetű coli törzsek 94,9%-a indol pozitív.

Voges és Proskauer 1898-ban [20] említettek meg egy színes reakciót néhány csepp nátriumhidroxidnak pepton-glukóz tápközeghez való cseppentésekor. *Hardin* és *Walpole* [16] ugyanis a glukóz fermentációja során azt is kimutatták, hogy az *Aerobacter aerogenes* a tápközegben levő glicerolból acetilmetilkarbinolt képez, amely diacetillé változik tömény nátriumhidroxid hatására. Ez reakcióba lép a peptonnal, vagy más frakciókkal és a levegő oxidáló hatására belőle rózsaszín fluoreszkáló vegyület keletkezik. *Williams* és *Marrow* [21] kimutatták, hogy minden coliform törzs képez acetilmetilkarbinolt, de egyesek – a negatív törzsek – a fejlődésük során azt gyorsan elborítják. *Brown* [22] 1921-ben közölte, hogy a coliform csoport különböző tagjai másként viselkednek a citrátos vérből készült agaron. *Koser* és *Rettger* [23] már előbb elkezdtek a coliform baktériumok fejlődésének vizsgálatát különböző nitrogén és szén forrású tápközegben. Később *Koser* [24] megerősítette *Brown* megfigyeléseit, amely szerint az *E. coli* nem tudja hasznosítani a citrátot, mint egyedüli szénforrást, míg az *A. aerogenes* ezt felhasználja és úgy fermentálja, hogy a közeg pH-ja 8,4–9,0 lesz.

*Parr* [25] tanulmányozta ezeket a reakciókat és javasolta mind a négy reakció (IMViC) elvégzését a fekál- és nem fekál típus elkülönítésére.

*Geldreich* és munkatársainak [26] nagyszámú coli törzsre irányuló vizsgálatát szerint a fekál törzsek 87,2%-a ++ – reakciót adott az IMViC próbák során.

*Takács* [27] összefoglaló közleményében az irodalmi adatok alapján összeállított táblázat alkalmas arra, hogy a 44 °C-on való sav- és gáztermelés és az IMViC próbák segítségével az *E. coli* I. típusnak más coliform baktériumoktól való elkülönítését elvégezzük (az I A C megjelölés az intermedius-aerogenes-



cloaca csoport rövidítése). A tenyésztés és meghatározás menetét, az alkalmazott táptalajokat és módszereket az irodalmi adatok, Takács [27] és a saját [28] vizsgálataink alapján az alábbiak szerint javasoljuk.

Az irodalom alapján ismert Mac Conkey leves és a Hajna, Perry „E. C. Medium” [10] helyett a nálunk használatos Kessler-Swenarton féle gencianaibolyás-epés-peptonos-tejucukros bouillon megfelelő. A vizsgálati anyagnak e tápközegbe való oltása és 44 C°-n, illetve 30 C°-on való 24, 48 órás tenyésztés és a sav-, és gáztermelés vizsgálata az első lépés a meghatározás során. Az E. coli I., vagy coliform baktériumok nagyságrendjének a megállapítására a vizsgálati anyagból készített hígítási sor tagjaiból kell a bouillonok beoltását elvégezni. A két hőmérsékleti értéken történt viselkedés alapján előzetes megállapítást tehetünk az E. coli I., vagy a coliformok előfordulására. A pozitív bouillon csövekből szilárd táptalajra kell leoltást végezni a további vizsgálatok céljára. Ez a szilárd tápközeg lehet a Takács által ajánlott [27] módosított Drigalski-, vagy az általunk vizsgált [28] Klimmer-TTC agar. Ez az eljárás arra is alkalmas, hogy az esetlegesen jelen levő laktóz negatív, vagy a laktózt lassan bontó egyéb enterobacteriaceák, mint az Arizona, Citrobacter, Klebsiella csoport egyes tagjai szintén kitenyészthetők legyenek. A további vizsgálatokat a szilárd táptalajon kifejlődött baktérium telepekkel végezzük el. Az IMViC próbákhoz alkalmas táptalajok és reagensek megjelölése Takács [27] közleményében, részletes leírása Bálint, Hegedűs [29] könyvében található meg. Egyes coliform csírák is képesek arra, hogy 44 C°-on a laktózt sav- és gáztermeléssel elbontsák. Ezért is szükséges a további vizsgálatok során elsősorban az indol reakciót elvégezni, mivel ezek a coliform baktériumok az E. coli I. típusától eltérően indol-negatívak. Az indol próbát 37 C° és 44 C°-on egyaránt el kell végezni, mivel az E. coli I. mindkét hőmérsékleten indol pozitív. Az indok kimutatására tripaflavin tartalmú bouillont használunk, amelyhez 24 órás inkubálás után paradimetilaminobenzaldehid tartalmú Kovács-féle reagenst adunk.

A metilvörös próba során a bouillon végső pH értékét jelzi a hozzáadott metilvörös oldat.

A Voges-Proskauer reakciót a kreatint tartalmazó bouillon tenyésztethez adott nátrium hidroxiddal végezzük el.

A citrát hasznosítást a Koser-féle nátriumcitrátos tápközegben való fejlődéssel értékeljük.

Az élelmiszerbakteriológiában még más, az Enterobacteriaceae családba tartozó baktériumoknak a kitenyésztése is fontos és ezek jelenléte az elbírálást döntően befolyásolhatja. Ezek, az Arizona és Citrobacter-csírák, amelyek ételmérgezést okozó szerepükkel már inkább a salmonellákhoz állnak közelebb, szabályos-, vagy lassú laktózbontók és laktóz-negatívak is lehetnek. Ezeknek a meghatározása az IMViC próbákon túl cukoros vizsgálatokkal, gelatin és ureum bontással, valamint H<sub>2</sub>S képzés vizsgálatával lehetséges.

Az elbírálás során alapvetően kell értékelni az E. coli I. előfordulását. E. coli I. előfordulása fekal eredetű szennyeződést jelez. A szennyeződés E. coli I. esetén friss eredetűnek tekinthető, mivel e baktérium ellenállása, illetve túlélése a környezetben csak kis mértékű. A coliform csoport többi tagjának előfordulása, a fekal-, vagy nem fekal szennyeződés tekintetében bizonytalan elbírálást ad. A coliform csoport legtöbb tagja ugyanis előfordul az emberi és állati béltraktusban. Mennyiségük és arányuk azonban lényegesen kisebb az E. coli I. típusnál. A környezetben viszont nagyobb ellenállóképességük révén túlélésre, sőt szaporodásra is képesek. Jelenlétük ezért korábbi fekal-, vagy általános környezeti szennyeződésre utal. Az élelmiszerek, valamint élelmiszeripari berendezések vizsgálata során figyelembe kell venni azt is, hogy a coliform csoport tagjai – az E. coli I. típusa is – szénhidrát, fehérje jelenlétében, megfelelő nedvesség, hőmérséklet és pH viszonyok esetén képesek elszaporodni. Ezt bizonyos nagyság-

renden felüli kimutathatóságuk esetén feltételezni lehet, mivel általában masszív szennyeződéskor sem érte el számuk a  $10^2/g$  nagyságrendet.

Hőkezelt készítmények esetében jelenlétük utófertőzésre, vagy a hőkezelés elégtelen voltára utal, mivel a coliform baktériumok, hasonlóan egyéb Gram-negatív bélbaktériumokhoz, 60–65 °C-on elpusztulnak.

#### IRODALOM

- [1] Johnson, B. R., Levine, M.: J. Bacteriol. 2, 379, 1917.
- [2] Chen, C. C., Rettger, L. F.: J. Bacteriol. 5, 253, 1920.
- [3] Geldreich, E. E., és mtsai: J. Appl. Microbiol. 25, 87, 1962.
- [4] Drasel, D. J., Geldreich, E. E., Clarke, N. A.: J. Appl. Microbiol. 15, 1367., 1967.
- [5] Geldreich, E. E., Kenner, B. A., Kabler, P. W.: Appl. Microbiol. 12, 63, 1964.
- [6] Schönberg, F.: Milchkunde und Milchhygiene. Hannover, 1956.
- [7] Mraz, O., Tesarik, J., Varejka, F.: Normina und Synonyma. Jena 1963.
- [8] Eijkman, C.: Cent. Bact. I. Orig. 37, 742, 1904.
- [9] Wilson, C. S., és mtsai: Spec. Rep. Ser. Med. Res. Counc. London, 1935. No 206.
- [10] Hajna, A. A., Perry, C. A.: J. Bacteriol. 38, 275, 1939.
- [11] Vaughn, R. H., Lewine, M., Smith, H. A.: Food Res. 16, 10, 1951.
- [12] Report, J.: J. Appl. Bacteriol. 19, 108, 1956.
- [13] Buttiaux, R., Gangon, P.: Ann. Inst. Pasteur, Lille 10, 121, 1959.
- [14] Bartley, C. H., Slanetz, L. W.: Amer. J. publ. Hlth. 50, 1545, 1960.
- [15] Cowan, S. T., Steel, K. J., Shaw, C., Dugrid, J. P.: J. gen. Microbiol. 23, 601, 1960.
- [16] Hardin, A., Walpole, S. G.: Proc. Roy. Soc. Bact. 77, 399, 1905–06.
- [17] Clark, W. M., Lübs, H. A.: J. Infect. Dis. 17, 160, 1915.
- [18] Frieber, W.: Cent. f. Bact., I. Abt. 87, 254, 1921.
- [19] Geldreich, E. E.: J. Appl. Bacteriol. 25, 87, 1962.
- [20] Voges, O., Proskauer, B.: Zeit. f. Hyg. 28, 20, 1898.
- [21] Williams, O. B., Marrow, M. B.: J. Bacteriol. 16, 43, 1928.
- [22] Brown, H. C.: Lancet, 1, 22, 1921.
- [23] Koser, S. A., Rettger, L. F.: J. Infect. Dis. 24, 301, 1919.
- [24] Koser, S. A.: J. Bacteriol. 9, 59, 1924.
- [25] Parr, L. W.: J. Bacteriol. 36, 1, 1938.
- [26] Geldreich, E. E., és mtsai: Appl. Microbiol. 6, 347, 1958.
- [27] Takács J.: Magyar Allatorvosok Lapja. 23, 38, 1968.
- [28] Biró G.: Magyar Allatorvosok Lapja. 22, 533, 1967.
- [29] Balint P., Hegedüs A.: Klinikai Laboratóriumi Diagnosztika. Budapest, 1955.

## ПРОБЛЕМЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ESCHERICHIA COLI В БАКТЕРИОЛОГИИ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

Г. Бура,

Автор на основании литературных данных ознакомляет методы определения бактерий колиформ и развитие принципов их оценки. На основании своих и отечественных сравнительных испытаний описывает рабочий процесс культивирования и определения *Escherichia coli* I. Ознакомляет в настоящее время принятые методы оценки.

## PROBLEME DER ESCHERICHIA COLI-BESTIMMUNG IN DER LEBENSMITTELBAKTЕРИОЛОГИЕ

G. Biró

Der Verfasser berichtet aufgrund literarischer Angaben über die Bestimmungsmethoden der coliformen Bakterien und über Entwicklung des Prinzips der Beurteilung. Aufgrund von eigenen und einheimischen vergleichenden Untersuchungen beschreibt er den Arbeitsgang bei der Züchtung und Bestimmung von *E. coli* und anderen Coliformen, sowie die zurzeit übliche Beurteilungsweise.



# PROBLEMS IN THE DETERMINATION OF ESCHERICHIA COLI IN FOOD BACTERIOLOGY

G. Biró

On the basis of data of literature, methods of the determination of coliform bacteria and the development of the principles of their assay are surveyed by the author. Based on own and other Hungarian comparison tests, the techniques and the flowsheet of the growing and determination of *E. coli* I. and of other coliform bacteria are described. The evaluation method accepted for the time being is presented.

# LES PROBLÈMES DE L'IDENTIFICATION DE L'ESCHERICHIA COLI DANS LA BACTÉRIOLOGIE ALIMENTAIRE

G. Biró

L'auteur rend compte, à partir de données de littérature, des méthodes de détermination des bactéries coli et du développement du principe de leur qualification. A la base de ses propres travaux et des études comparatives, exécutées en Hongrie, il décrit la course de travail de la cultivation et de la détermination de l'*E. coli* I. et d'autres coliformes. Il expose ensuite la qualification adoptée à présent.

LÓRÁNT, B.:

## Antioxidánsok hőstabilitása

(Zur thermischen Stabilität von Antioxydanten.)

Nahrung 12., 425, 1968.

A szerző négy antioxidáns; az izopropilgallát, dodecilgallát, nor-dihidrogaujaretsav és butilhidroxianizol derivatográfiás vizsgálatáról számol be. Az izo-propilgallát csak 230 °C körüli hőmérsékleten bomlik galluszsavra és propilénre. A dodecilgallát bomlása 210 °C hőmérsékleten galluszsavra és dodecilénre történik. A nor-dihidrogaujaretsav 265 °C-nál bomlik, és dimetildehidroadipinsav keletkezik két mol. kétértékű fenol mellett. Feltételezhető, hogy ezek a vegyületek a sütési és főzési folyamatokban sem változnak.

Bátyai J. (Szeged)

CHEN S. L., COOPER E. J. ÉS GUTMANIS F.:

## Aktív szárított élesztő: védelem oxidatív károsodás ellen a raktározás folyamán

(Activ dry yeast: Protection against oxidativ deterioration during storage.)

Food Technol. 20, 12, 79, 1966.

A szokásos módon szárított 8%-os nedvességtartalmú élesztő élettartama oxigén behatásakor 1 vagy 2 hónap, nitrogén gázban vagy légritkított térben ellenben 1 év. Ha a szárított élesztő nedvességtartalma 4–6%, úgy az élesztő hőstabilitása javul ugyan, de az oxigén káros behatása nem szűnik meg. Az élesztő szárítása előtt különféle antioxidánsok hozzáadása útján sikerült a levegő oxigénjének hatását az élesztőre kikapcsolni.

Kieselbach Gy. (Budapest)