

A circular petri dish containing a yellowish agar medium. Numerous small, dark, circular colonies are visible, scattered across the surface of the agar. The colonies appear to be E. coli, which are being studied in the context of the presentation.

***E.coli* vizsgálatának összehasonlító elemzése, különös tekintettel az EU mikrobiológiai kritériumaira**

**Fodor Andrea, Rohonczy Kata,
Tabajdiné dr. Pintér Veronika**

FoodMicro Kft.

Escherichia coli

- Gram negatív baktérium, legtöbb állatfaj és az emberi mikroflóra tagja
- bélben, ill. a bélből kijutva különféle szervekben kóros folyamatok elindítója
- külvilágba a széklettel kerül , szennyezheti az ivóvizet,élelmiszereket



***E.coli* szabványok és definíciók**

Élelmiszerek

MSZ 3640/12-79, MSZ 3640/19-79

E.coli olyan kóliform baktérium, amely epét, vagy epesót tartalmazó folyékony táptalajban a laktózt gázképződés mellett 30° és 44,5°C-on bontja, és amely az IMViC próbákban az *E.coli*-ra jellemző reakciókat mutatja

Víz

MSZ EN ISO 9308-1:2001

E.coli: epeellenálló baktériumok, amelyek indolt képeznek triptofánból 44°C-on 21±3 órán belül

Tej és tejtermékek

MSZ EN ISO 3743/4-87

E.coli olyan kóliform baktérium, amely epét, vagy epesót tartalmazó folyékony táptalajban a laktózt gázképződés mellett 30° és 44,5°C-on bontja, és amely az IMViC próbákban az *E.coli*-ra jellemző reakciókat mutatja

Horizontális módszerek

MSZ ISO 7251:2005

feltételezetten *E.coli*, mely 44°C-on a laktózt gázképződés mellett bontja, illetve a triptofánból indolt képez ...

MSZ ISO 16649-2:2004

β-D-glükoronidáz pozitív *E. coli* olyan baktérium, amely jellegzetesen kék telepeket képez 44°C-on a tripton-epe-glükuronid (TBX) táptalajon...

MSZ ISO 16649-3:2004

feltételezetten *E.coli* , mely 4-metilumbelliferyl-β-D-glükuronid (MUG) felhasználásával fluoreszcenciás reakciót ad, miközben a triptofánból indolt képez ...

E. coli számának meghatározása

Klasszikus módszerrel : MPN módszer, lemezöntés,
felületi szélesztés

- Chromogén táptalajok
- fluorocult táploldatok felhasználása

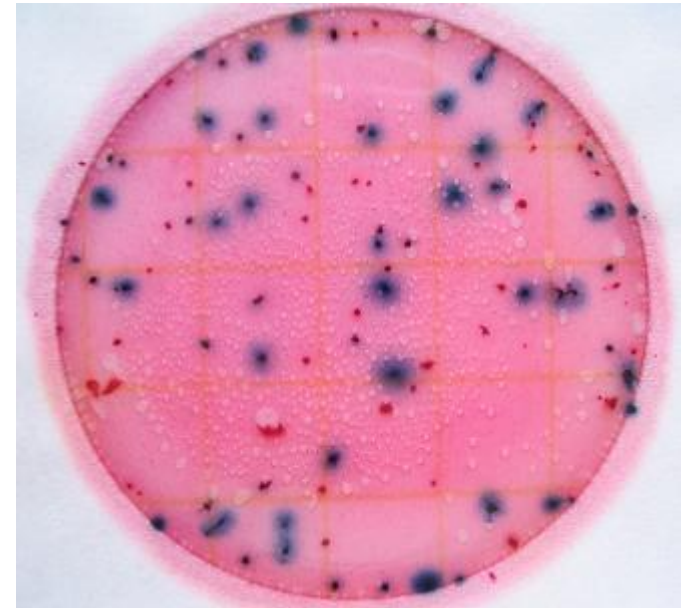
	<i>E.coli</i>	<i>Coliform</i>
β -D-galaktozidáz	+	+
β -D-glükoronidáz	+	-

Petri-film jellegű módszerek

- Petri-film,
- Rida-count

Automatizált módszerek:

- konduktometriás elven alapuló
készülékek (Bac-track, RABIT, Malthus),
- MPN elven alapuló módszer (TEMPO)



Magyarországon jelenleg hatályos rendeletek

Vizsgálati módszerek nem definiáltak

- 4/1998 EüM rendelet (élelmiszer)
- 77/2002 FVM-ESzCsM rendelet (darált és előkészített húsok)
- I/2003 FvM.ESzCsM rendelet (víz)

Vizsgálati módszer (ISO 16649 sorozat) és cselekvési terv definiált

- 2073/2005 EK rendelet (élelmiszer)



AOAC validált módszerek *E.coli* kimutatására

Gyártó cég megnevezése	Kit megnevezése	AOAC Validált módszer
BioControl Systems	Inc.ColiComplete	992.30
BioControl Systems	Inc.ColiTrak	988.19
BioControl Systems	Inc.ColiTrak Plus	
BioControl Systems	Inc.SimPlate coliform/E.coli	
Charm Sciences In.	Ecolite	
Merck KGaA	ChromoCULT	
Merck KGaA	Coliform agar	
ESvermicon	AGVIT-E.coli/Coliforms	
3M Microbiology Products	Petrim E.coli Count Plate	991.14, 998.08
Biopath Inc.	E.coli Identification Swabs	
Don Whitley Scientific	RABIT	
Dynal Biotech	DYNABEADS EPEC/VTEC	
Foss Electric	A/SMicroFossMicrogen	
Bioproducts Ltd.	RAPID Tube E.coli	
TestNeogen	CorporationISO-Grid	
Scil Diagnostics	BACIdent Echerichia coli DNA Detection System	
Sy Lab	BacTrac 4100	
bioMerieux	TEMPO	BIO 12/13-02/2005

Az AOAC által nyilvántartott *E.coli* vizsgálatok közül AOAC által validált 3

CÉLKITŰZÉSEK

Jelenleg hazánkban számos szabvány van hatályban, mely lehetőséget ad különféle vizsgálati módszerek, különféle táptalajok használatához.

Célunk volt a szabványos , illetve validált *E.coli* szám meghatározására alkalmas vizsgálati módszerek összehasonlítása különböző élelmiszerek esetében

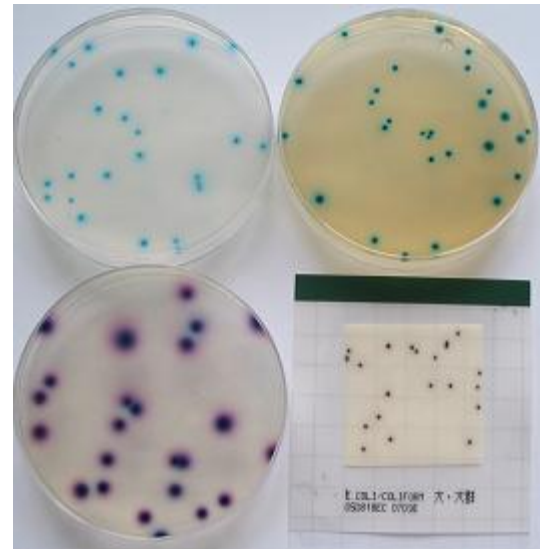
Felhasznált tápközegek

- Lemezes

- Chromocult (*E.coli*/Coliform)
- Chromocult ES (*E.coli*/Coliform)
- Petri-film (*E.coli*/Coliform)
- Coli ID (*E.coli*/Coliform)
- TBX 1 (*E.coli*)
- TBX 2 (*E.coli*)
- TBX 3 (*E.coli*)
- TBX 4 (*E.coli*)
- Petri-film (TBX) (*E.coli*)
- Rida Count (TBX) (*E.coli*)

- MPN

- Fluorocult (*E.coli*/Coliform)
- Brila-fluorocult (*E.coli*/Coliform)
- Lauryl-szulfát + EC (*E.coli*/Coliform)
- TEMPO (*E.coli*)



VIZSGÁLT MÁTRIXOK



- *E.coli* ATCC 10536) törzs
- (visszanyerési % számításhoz)
- Húsok, húskészítmények
- Gyorsfagyasztott zöldség- és tésztafélék
- Tej
- Fűszer
- Tea

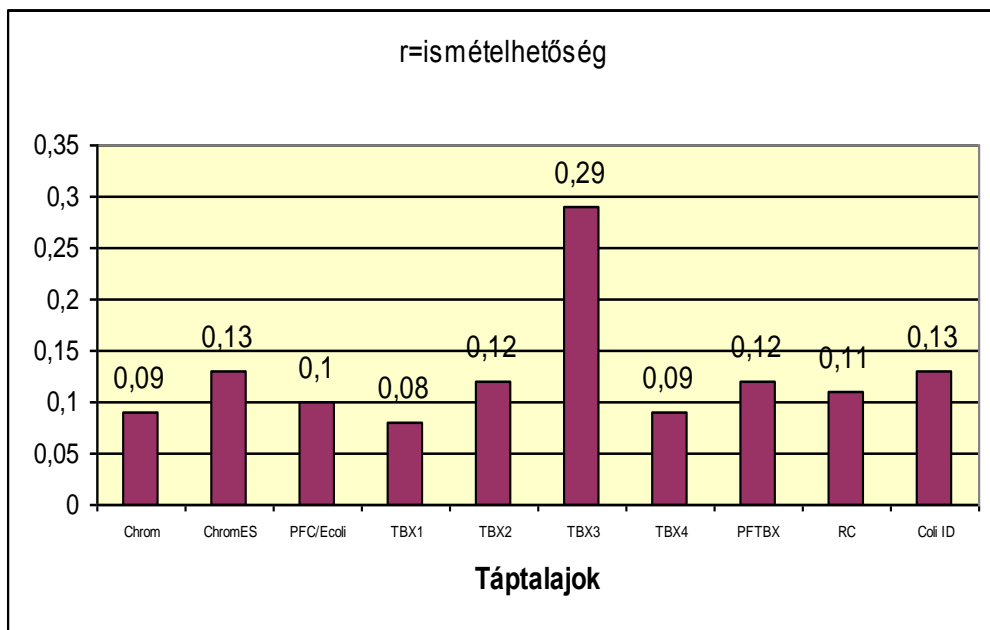
- A minták mesterségesen fertőzöttek voltak, illetve természetesen tartalmaztak *E.coli*-t

Lemezes vizsgálati módszerek értékelése

ISMÉTELHETŐSÉG

Táptalajonként meghatároztuk a módszerek jellemző paraméterét, az ismételhetőséget és érzékenységet

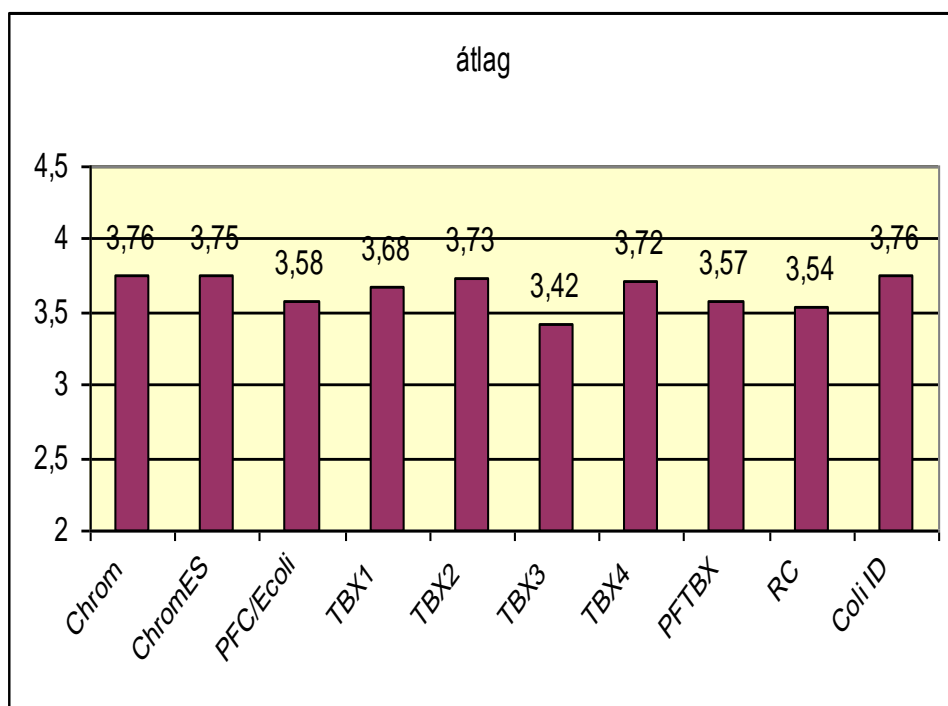
A lemezes módszerek ismételhetősége mátrixtól függetlenül 0,08-0,13 közötti érték, kivéve a TBX 3



Chrom	0,09
ChromES	0,13
PFC/Ecoli	0,10
TBX1	0,08
TBX2	0,12
TBX3	0,29
TBX4	0,09
PFTBX	0,12
RC	0,11
Coli ID	0,13

Lemezes vizsgálati módszerek értékelése

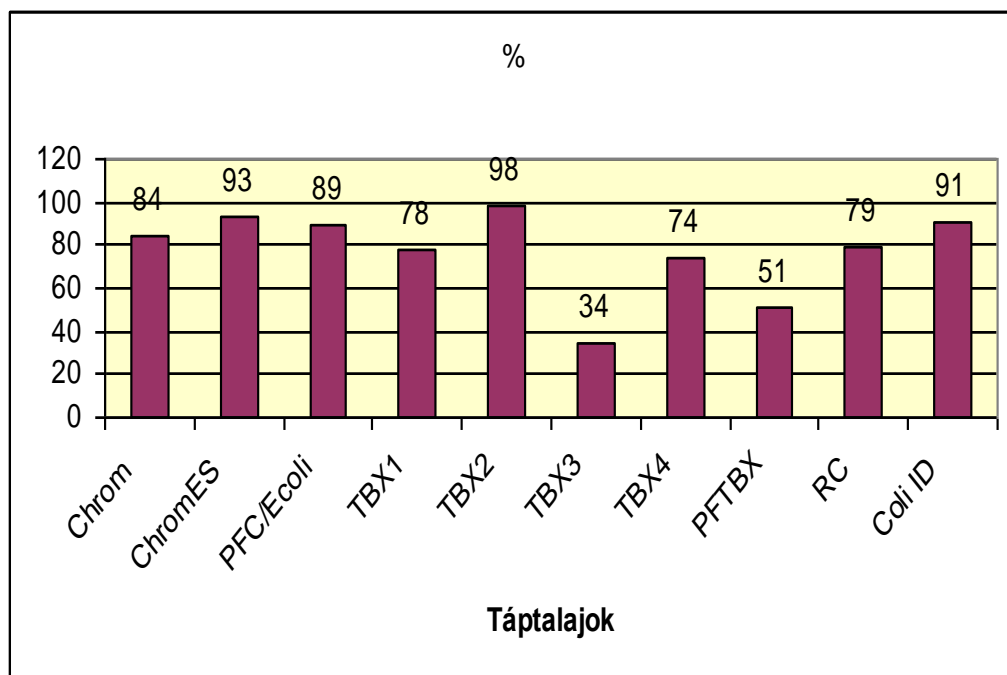
ÉRZÉKENYSÉG (ÁTLAG)



Chrom	3,76
ChromES	3,75
PFC/Ecoli	3,58
TBX1	3,68
TBX2	3,73
TBX3	3,42
TBX4	3,72
PFTBX	3,57
RC	3,54
Coli ID	3,76

Lemezes vizsgálati módszerek értékelése

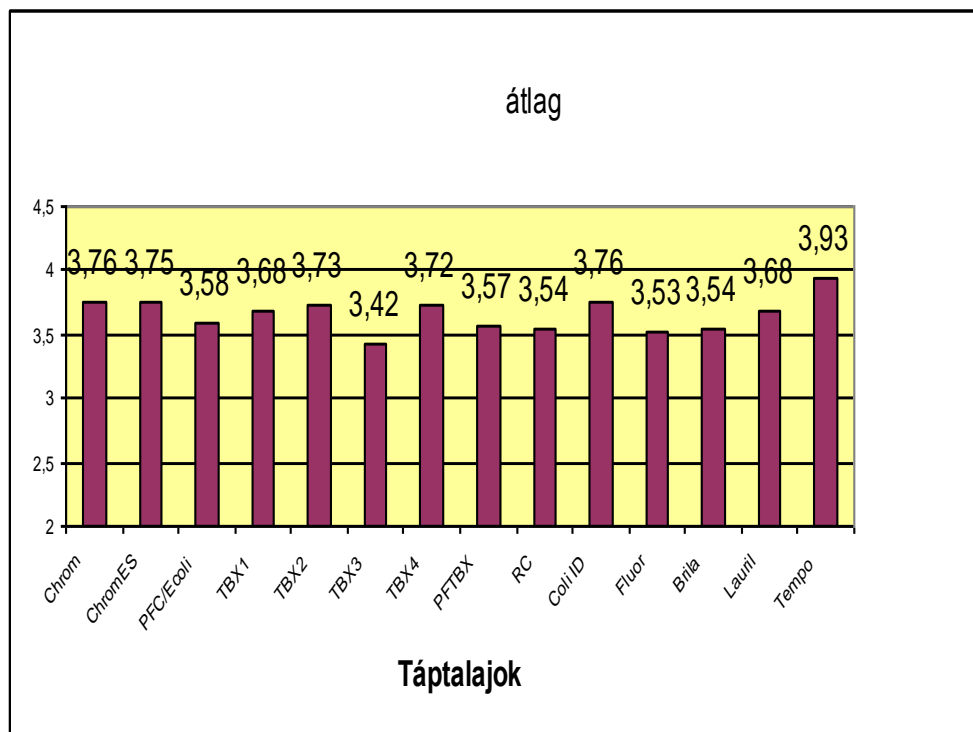
VISSZANYERÉSI %



Chrom	84
ChromES	93
PFC/Ecoli	89
TBX1	78
TBX2	98
TBX3	34
TBX4	74
PFTBX	51
RC	79
Coli ID	91

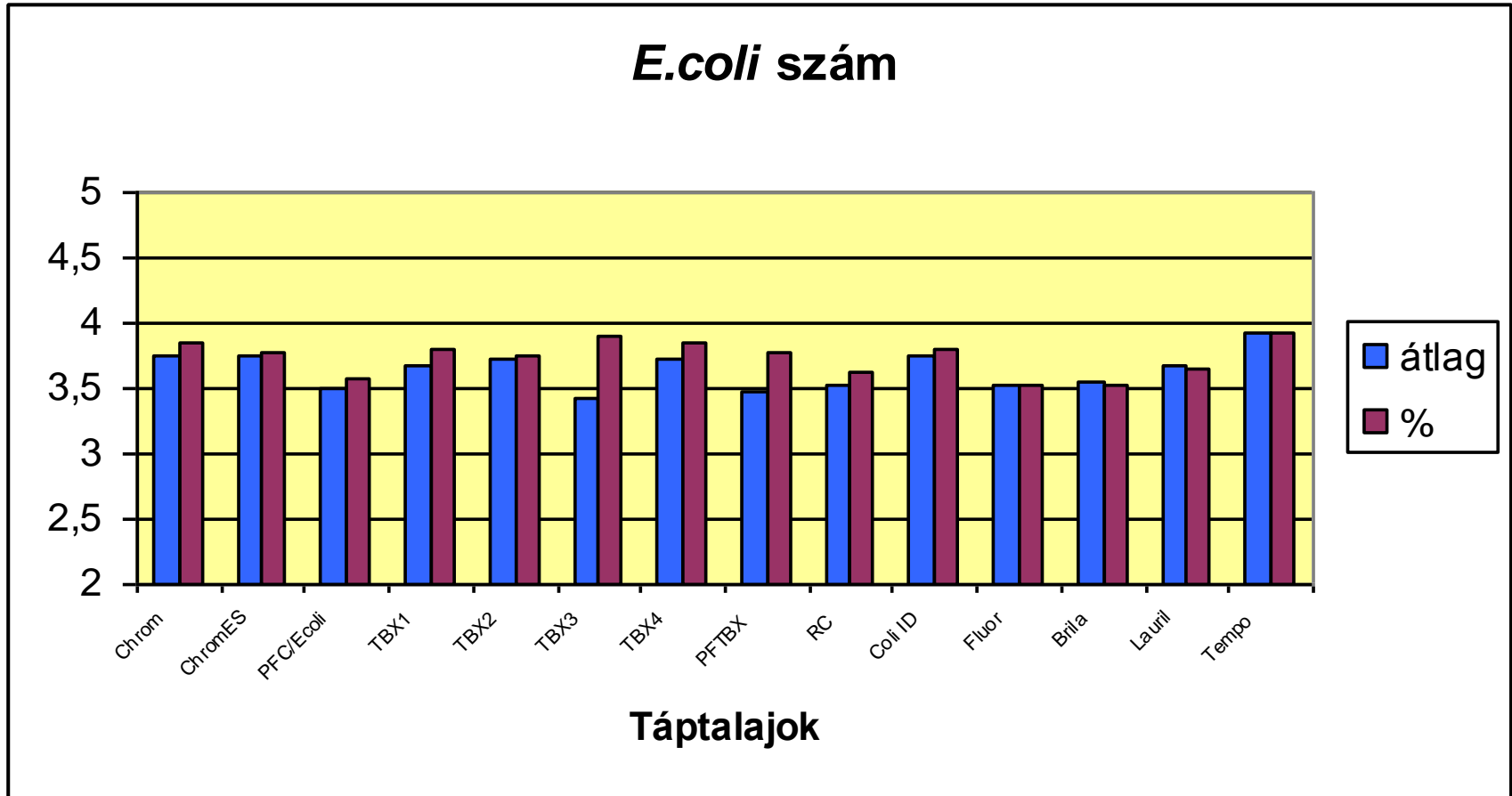
Lemezes és MPN vizsgálati módszerek értékelése

két szempontos variacionális ismétlés nélkül



Chrom	3,76
ChromES	3,75
PFC/Ecoli	3,58
TBX1	3,68
TBX2	3,73
TBX3	3,42
TBX4	3,72
PFTBX	3,57
RC	3,54
Coli ID	3,76
Fluor	3,53
Brila	3,54
Lauril-sz.	3,68
Tempo	3,93

Visszanyerési százalékkal korrigált átlagok

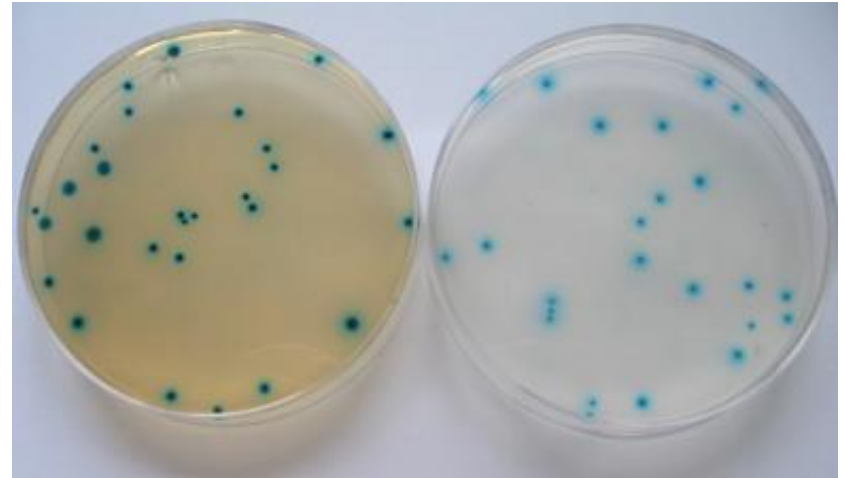


KÖVETKEZTETÉSEK

Az előadásban szeretnénk volna felhívni a figyelmet az *E.coli* vizsgálati módszerekkel kapcsolatos különbségekre. Az azonos összetételű, de különböző forgalmazó által forgalmazott termékek között is jelentős különbség van direkt méréssel, ezért felhívjuk a figyelmet a minőségi bizonylaton megadott visszanyerési %-ra, amit szarzonként a laborban is ajánlatos ellenőrizni!

KÖVETKEZTETÉSEK

Ha valaki nem TBX-et alkalmaz, akkor egy jó visszanyerési százaléku TBX-hez kell a módszert kalibrálni



TEMPO KÉSZÜLÉKKEL MÉRT ADATOK



**Húsok, húskészítmények,
tej, tejtermékek**

$$y=0,49+0,91x$$

$$r=0,98$$

KÖVETKEZTETÉSEK

- Ezeket az összehasonlításokat 10^2 - 10^3 - 10^4 nagyságrendben végeztük. Ebben az értéktartományban nem tapasztaltunk jelentős mátrix hatást, viszont felhívjuk a figyelmet arra, hogy az enzimreakciókon alapuló chromogén táptalajok mátrixhatását a 10^1 tartományban ki kell próbálni.
- A mi tapasztalataink alapján egyes fűszerek, sokféle enzimet tartalmazó nyers zöldségek, fermentált tejtermékek, starter kultúrát tartalmazó húskészítmények befolyásolhatják a táptalaj működését.

KÖVETKEZTETÉSEK

A két előadás összefoglalásaként megállapíthatjuk, hogy 30 órán belül kiadható *Salmonella*, *L. monocytogenes*, *E.coli*, *Enterobacteriaceae* eredmény , ezzel eleget téve az új EU direktíva előírásainak.



KÖSZÖNÖM

A MEGTISZTELŐ FIGYELMÜKET !