

# MicroTester

## *Új technika a mikrobiológiában*



*Élelmiszer-, víz-, higiéniai-minták mikrobaszámának gyors meghatározása.*

*Eredmény 6 – 12 órán belül.*

*Szabványos táptalajok.*

A **MICROTESTER** redox-potenciál mérésen alapuló gyors mikrobiológiai mérőeszköz, melynek alkalmazási területe döntően, de nem kizárólagosan az élelmiszeriparhoz kapcsolódó mikrobiológiai minőségellenőrzés, kutatás-fejlesztés, valamint fermentációs folyamatok nyomon követése.

A mikrobiológiai minőségellenőrzéssel kapcsolatos feladatok utóbbi évtizedekben bekövetkezett igen nagy mértékű növekedése támasztotta azt az igényt, hogy a mikroorganizmusok kimutatására szolgáló klasszikus élősejtszám-meghatározási módszereket jelentősen gyorsabb, és emellett automatizálható új vizsgálati eljárásokkal váltsák fel.

A klasszikus mikrobiológiai vizsgálatok időigénye a meghatározandó mikroorganizmustól függően 24-72 óra. Az élelmiszertételek gyors minősítése, az átmeneti tárolás időszükségletének csökkentése, a HACCP rendszerek hatékony működtetése feltétlenül igényli a mikrobiológiai kiértékelés meggyorsítását, lehetőség szerinti automatizálását, egyidejű költségcsökkentés mellett.

A vizsgálati idő csökkentése céljából fejlesztették ki a különböző műszeres mérési módszereket. A módszerek egy része (ATP mérés, turbidimetriás mérés, flow cytometriás mérés, stb) az összes mikrobaszám (élő és holt sejtek együttes száma) meghatározására alkalmas. Másik fejlesztési irányvonalat képviselnek az impedimetriás mérési módszerek, amelyek a mikrobaszaporodás anyagcsere-termékei által okozott vezetőképesség-változás detektálásán alapulnak.

Az általunk kifejlesztett **MICROTESTER** elnevezésű berendezés a mikrobaszaporodás eredményeként bekövetkező redox-potenciál változás mérésén alapul. A műszer kiértékelési rendszere hasonló az impedimetriás eljárásokéhoz, alkalmazási területe azonban szélesebb. További előnye, hogy azonos teljesítmény (mintaszám) mellett a beruházási költség az impedimetriás berendezések árának csupán harmada.

### ***Az impedancia mérésen alapuló módszerek***

Az élősejtszám gyors meghatározására napjainkban az impedancia (konduktancia) mérésen alapuló gyors vizsgálati eljárásokat és berendezéseket használják. Ezen új vizsgálati eljárások előnye, hogy a klasszikus tenyésztéses módszereknél gyorsabban szolgáltatnak eredményt, és a vizsgálatok nagy mértékben automatizálhatók. A legelterjedtebb berendezések (MALTHUS, BacTrac, RABIT) működési elve megegyezik.

Az impedimetrián alapuló gyors vizsgálati módszerek alapja, hogy a mikroorganizmusok anyagcseréjük során megváltoztatják a tápközeg összetételét (az alapanyagokból kisebb móltömégű, részben ionos végtermékeket állítanak elő), s ez a közeg vezetőképességének és kapacitanciájának változását eredményezi. Ez azt is jelenti, hogy a tápközeg összetétele rendkívül fontos és meghatározó: a célflóra szaporodásához megfelelő szelektivitás mellett kell biztosítani az optimális körülményeket, mindemellett az elektromos vezetőképesség nem lehet túl nagy.

A táptalaj kezdeti impedanciáját az oldat összetétele határozza meg. Nagy sókoncentrációjú oldatok esetén (pl. Salmonella-, Listeria-szelektív táptalajok) a mikroorganizmusok szaporodása kicsi impedancia változást eredményez. Ezekben az esetekben a tápközeg impedanciájának változása közvetlenül csak bizonytalanul mérhető, ehelyett indirekt mérés alkalmazható. Az indirekt mérés során a képződő CO<sub>2</sub>-t vezetik a – lúgos oldattal töltött – mérőcellába és a CO<sub>2</sub>-elnyelés hatására bekövetkező impedancia változást mérik.

A jelentős előnyök mellett az impedimetriás módszernek több hátránya is ismert:

- Alacsony sejtkoncentrációk esetén a módszer nem megbízható: a detektációs idő és a kiindulási sejtkoncentráció logaritmusai közötti lineáris kapcsolat bizonytalanává válik. 10<sup>2</sup> sejt/ml alatt a kiindulási sejtkoncentráció csak nagyon pontatlanul becsülhető, kalibrációs diagramokat nem lehet meghatározni.
- Az impedancia függ a mérőcella alakjától, ezért a mérés csak a speciálisan kialakított mérőcellában végezhető el, így a minta mennyisége meghatározott.
- Nagy sókoncentrációjú táptalaj impedancia mérésre közvetlenül nem használható, az indirekt módszernek pedig gátat szab, hogy nem minden mikroorganizmus termel a szaporodás során CO<sub>2</sub>-t.
- A mért jel erősen hőmérséklet-érzékeny, ezért nagy pontosságú és igen költséges termosztát alkalmazását teszi szükségessé (RABIT berendezés esetén az alumínium blokk-termosztát hőmérséklet-szabályozása ±0,002°C pontosságú).

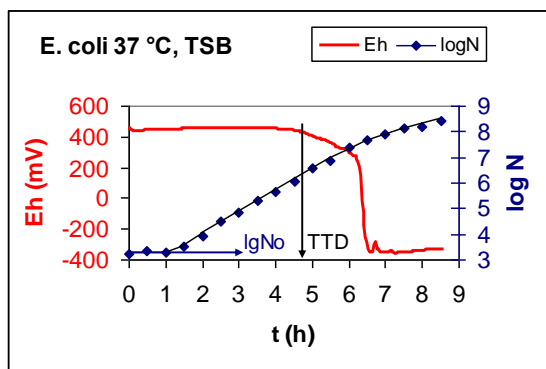
## Redox-potenciál mérésen alapuló új módszer

A **MICROTESTER** a mikroorganizmusok szaporodását a fent említett berendezésektől eltérően, a tápközeg redox-potenciáljának mérése alapján detektálja. A mért érték változásnak kiértékelése lehetőséget teremt a vizsgált minták elősejt-számának az impedimetriás módszereknél szélesebb körű meghatározására.

A mikroba-szaporodás energiaforrása a biológiai oxidáció, ami a környezet redukálódását eredményezi, így a közeg redox-potenciálja mindig csökken. Ez a csökkenés általában az oxigén-fogyasztás és a redukáló anyagcseretermékek felszaporodásának következménye.

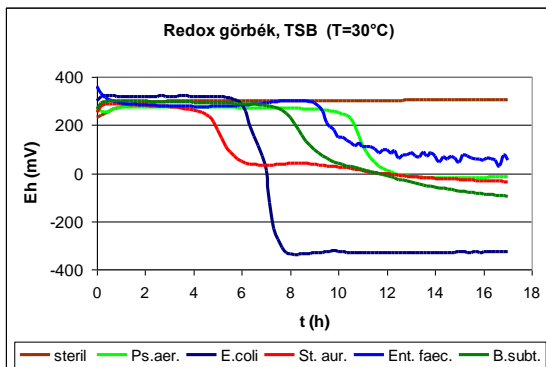
A redox-potenciál a mikroba-tenyészetek élettani állapotának egyik legkomplexebb indikátora, mérésével a mikrobiális kontamináció kvalitatív és kvantitatív meghatározása válik lehetővé (1. ábra).

1. ábra



Oxigén-igényük alapján a mikroorganizmusok szaporodása csak bizonyos redox-potenciál tartományban megy végbe, ennek megfelelően a redox-potenciál változásának detektálásával esetenként a mikroorganizmusok jellegére (aerob, anaerob, fakultatív anaerob, aerotoleráns anaerob) is következtethetünk, amire az impedimetriás mérések nem adnak lehetőséget (2. ábra)

2. ábra



## Jellemzők

A redox potenciál változása független a mérőcella alakjától, méretétől és széles körben a táptalaj összetételétől, ezért a mérés tetszőleges mennyiségű mintával, bármely folyékony tápközegben elvégezhető. Ennek megfelelően a **MICROTESTER** az impedimetriás mérés technikában alkalmazott összes vizsgálaton túl az alábbi megoldásokat is lehetővé teszi:

- Szabványos mikrobiológiai eljárásokban alkalmazott táptalajok felhasználása.
- Membránszűrőn koncentrált mikroorganizmusok számának meghatározása.
- Felületi tamponminták közvetlen mérése.

A tápleves redox-potenciál értékét a hőmérséklet ingadozása csak kismértékben befolyásolja. 1°C hőmérséklet-emelkedés tápközegtől függően 0,5-1,5 mV csökkenést eredményez, ami messze elmarad a detektációs kritériumként előírt 10 mV változástól. A módszer nem igényli az impedancia méréshez előírt nagy pontosságú termosztátok alkalmazását, elegendő a normál mikrobiológiai gyakorlatban alkalmazott  $\pm 0,5^\circ\text{C}$  pontosságú termosztátok, vízfűdők felhasználása a mérőcellák termosztálásához.

Az egyszerű felépítésnek és működési elvnek köszönhetően a módszer az impedimetriás eljárásokhoz viszonyítva olcsónak tekinthető.

## A mérőrendszer leírása

A tápközeg redox-potenciál változása műszeresen igen jól mérhető.

A redox-potenciál méréséhez kereskedelmi forgalomból beszerezhető kombinált mérőelektródokat használunk.

A moduláris felépítésű mérő rendszer a mérési igényeknek megfelelően bővíthető. Az alapkonfiguráció 16 csatorna modulonként, de szükség esetén a készülékek láncolhatóak.

A rendszer USB kimenettel kapcsolódik egy IBM-kompatibilis személyi számítógéphez. A hardver irányítása és adatgyűjtés szempontjából a PC konfigurációja nem kritikus, a vezérlő és adatfeldolgozó szoftver optimális működéséhez ajánlott konfiguráció a következő.

A program használatához: 4 magos Intel vagy AMD processzor, 4+ GB RAM.

Mérési adatok tárolásához: 120+ GB HDD vagy SSD, telepítéshez és adatmentéshez: USB port vagy DVD író.

Támogatott operációs rendszerek: Windows® 32 és 64 bites verziók.

Az operációs rendszer energiatakarékos beállításait a mérési követelményeknek megfelelően érdemes felülvizsgálni.

A **MICROTESTER**-hez a vezérlés és adatfeldolgozás céljára speciális számítógépes programot fejlesztettünk ki.

A program folyamatos adatgyűjtést végez, minden mérőcsatornát kiolvas. A beolvasott adatok rögzítése csak akkor történik meg, ha a csatorna beállításai szerint ez szükséges.

A program a zajos környezetben történő adatgyűjtés támogatására fejlett zajszűréssel rendelkezik.

A szoftver a begyűjtött adatokat táblázatban tárolja, ezek a telepített táblázatkezelő és statisztikai programokba konverzió nélkül könnyen beolvashatók. A csatornák egyedileg paraméterezhetők, lehetővé téve több különböző jellegű, eltérő időben megkezdett vizsgálat monitorozását és kiértékelését.

A szoftverben beállítható a kritikus differenciahányados értéke, a kritikus értéket meghaladó mérési pontok minimálisan megkívánt száma, az értékelés kezdete és az a sejtszám határérték, amely felett a minta mikrobiológiai állapota kifogásolandó.

Az értékelés kezdetének beállításával az idősor eleje nem vesz részt a számításban, a mérés elejének bizonytalanságai így kiküszöbölhetőek. A detektációs idő számított értékét az előzetesen meghatározott kalibrációs görbe egyenletébe helyettesítve, kiszámítható a vizsgált minta mikrobaszáma.

A számított és a felhasználó által megadott sejtszámok összehasonlításából meghatározható a csatorna mérésének mikrobiológiai értékelése: megfelelő vagy kifogásolt.

A kiértékelés automatikus, a mérési eredmények, redox-görbék, archiválhatók, utólag bármikor előhívhatók és nyomtathatók.

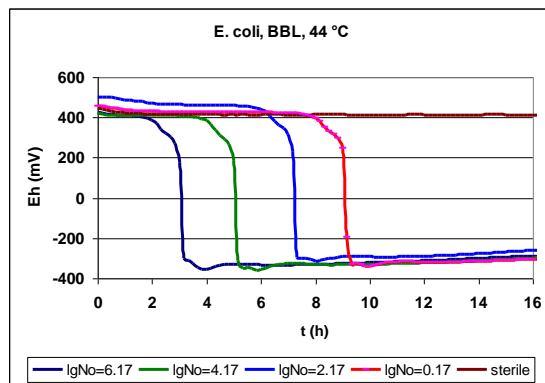
A program fejlett grafikus megjelenítéssel rendelkezik, a következő grafikon típusok választhatók:

- Összesített: minden mérő csatorna megjelenik.
- Mozaik: minden csatorna önálló grafikonnal jelenik meg. Ilyenkor minden egyedi grafikonon látható a detektációs idő értéke (ha van), és annak alapján számított sejtszám, valamint a sejtszám szerinti értékelés. Ennél az elrendezésnél a grafikonok színekkel is jelöltek az egyszerű áttekinthetőség érdekében: késsel a futó, pirossal az elutasított eredményű, zölddel az elfogadott eredményű, szürkével pedig a befejezett mérést jelöli a program.
- Csoportosított: kijelölt adatsorok egy grafikonon jelennek meg (legfeljebb 4 db csoport hozható létre)
- MPN kalibrációs görbe

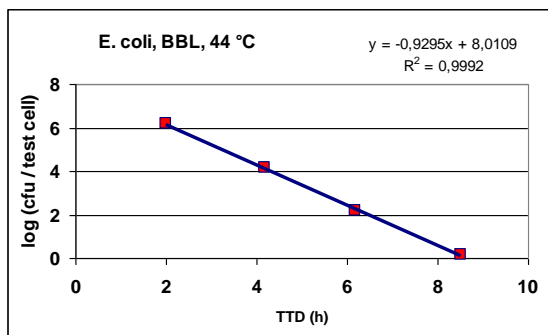
### A kalibrációs görbe

**Külső kalibrációs görbe** alkalmazható, ha a cél-mikroba vagy -mikroflóra ismert. Ebben az esetben először a vizsgált mikroba hígítási sorának redox-görbéit vesszük fel (3. ábra), melyekből a műszer automatikusan meghatározza a detektációs időket (TTD).

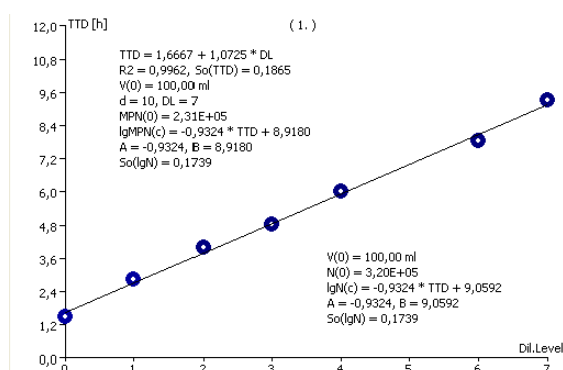
3. ábra



A kalibrációs görbét a lemezöntéssel meghatározott IgNo kezdeti élősejtszám és a műszeresen mért TTD értékpárokból lineáris regresszióval számítjuk ki (4. ábra). A kalibrációs görbe egyenletét betápláljuk a programba. A kalibrációs görbe ismeretében lehetőségünk van a későbbiek során a vizsgált minták élősejtszámának műszeres meghatározására.

**4. ábra**


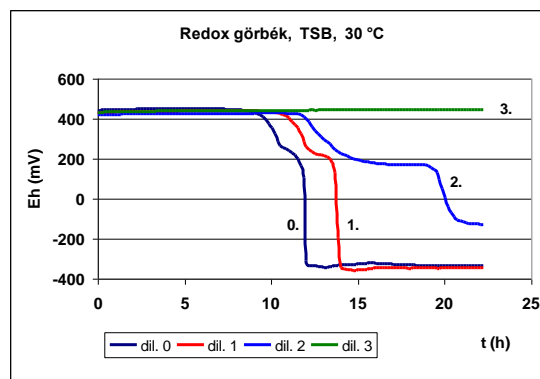
**Beső kalibrációs görbe** alkalmazható azokban az esetekben, amikor a vizsgált mikroflóra összetétele ismeretlen, illetve külső kalibrációs görbe nem áll rendelkezésre. Ilyenkor a redox-potenciál mérést a határhígításos (MPN) módszerrel kombináljuk. A mintából a szokásos módon hígítási sort készítünk mindaddig, amíg az utolsó tagokban már nem lesz mikroba. A hígítási sor tagjaiból ismert térfogatot beoltunk a mérőcellában lévő tápoldatba és felvesszük a redox-görbékét. Az utolsó, még szaporodást (TTD) mutató hígítási szint alapján a szoftver automatikusan meghatározza a hígítatlan minta kezdeti sejtszámát MPN(0). MPN(0) és a különböző hígítási szintekhez tartozó TTD értékek ismeretében a szoftver kiszámítja a lg MPN kalibrációs görbe egyenletét és az eredményeket kiírja a képernyőre (ld. 5. ábra felső része). Az MPN meghatározás gépi megjelenítését az 5. ábra szemlélteti.

**5. ábra**


Ha a méréssel egyidejűleg a sejtkoncentrációt lemezöntéssel is meghatároztuk, a (néhány nap múlva megkapott) lg N értéket betáplálhatjuk a programba és a szoftver automatikusan átszámítja a lg MPN kalibrációs görbét a megbízhatóbb lg N kalibrációra (ld. 5. ábra alsó része).

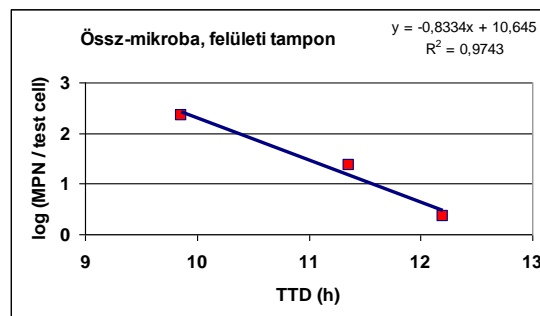
A kezdeti mikrobaszám meghatározása egyetlen pozitív hígítási szint alapján is lehetséges. Ebben az esetben MPN(100)=2,3.

Néhány esetben a redox görbe jellegzetes alakja kvalitatív információt ad a mikroflóra összetételéről. A 6. ábrán felületi higiéniai minta (tampon) össz-mikroba szám meghatározásának eredménye látható.

**6. ábra**


A 6. ábrán a 0. és 1. hígításhoz tartozó redox-görbék jellegzetes Enterobacterium görbék, a 2. hígítási szint vegyes mikroflórára utal, a 3. hígítás steril. Az eredmény: Össz-mikroba MPN=2,3·10<sup>2</sup>, Enterobacterium: MPN=2,3·10<sup>1</sup>.

A különböző hígításokhoz tartozó MPN és TTD értékek alapján a belső kalibrációs görbe megszerkeszthető, illetve a szoftver automatikusan kiszámítja az egyenletét (7. ábra). Betáplálva a rendszerbe az ily módon meghatározott belső kalibrációs görbe a továbbiakban a külső kalibrációs görbékhez hasonló módon használható.

**7. ábra**


Egy minta élősejtszámának meghatározásához a mikrobiológiai gyakorlatnak megfelelő előkészítés (homogénezés, hígítás) után ismert mennyiséget viszünk a mérőcellába, majd elvégezzük a műszeres mérést. Negatív kontrollként steril táptalajt, pozitív kontrollként a vizsgálandó mikroba ismert koncentrációjával oltott táptalajt használunk.

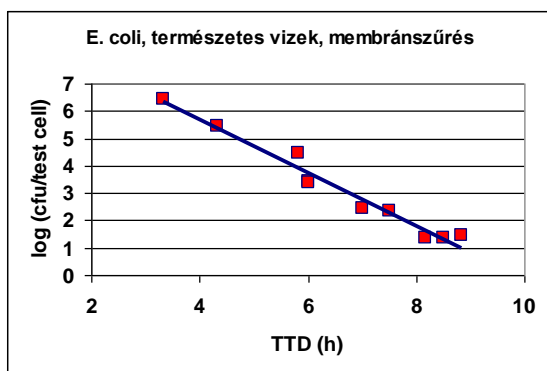
A mérőrendszer felveszi a redox-görbét, meghatározza a detektációs időt, és a kalibrációs görbe alapján kiszámítja a minta kezdeti élősejtszámát. Az élősejtszám ismeretében, ha a mikrobaszámra vonatkozó határértéket előzetesen betápláljuk, a rendszer dönt a minta elfogadhatóságáról.

A **MICROTESTER** rendszer előnyösen alkalmazható a klasszikus membránszűrési élősejtszám-meghatározási módszerek helyettesítésére. Természetes vizek, ivóvíz, üdítőitalok, ásványvizek összcsíra-számának ellenőrzésekor általában a minta több hígításából ismert mennyiséget szűrnek és a kiszűrt mikrobákat tartalmazó membránokat szilárd táptalaj felületére helyezve, kitenyésztik a mikroorganizmusokat. A hígítások alkalmazásának oka, hogy a telepszámok előírás szerint csak egy bizonyos tartományban (30-300) értékelhetők megbízhatóan.

Tekintettel arra, hogy kalibrációs görbe felvétele esetén a műszerrel igen széles ( $1-10^7$ ) sejtszám-tartományban megbízhatóan határozható meg az élősejtszám, a mintákból nem szükséges hígítási sort készíteni, elegendő egyetlen membránszűrés elvégzése. A minta megfelelő mennyiségét leszűrve, majd a membránt mérőcellába helyezve, a mérés elvégezhető és kiértékelhető (8. ábra).

Hasonló módon, felületek tamponos letörlésénél, minden lemosás és hígítás nélkül a tampon közvetlenül behelyezhető a mérőcellába.

8. ábra



A **MICROTESTER** alkalmazható pl. ásványvizek és egyéb tápanyagszegény folyékony termékek közvetlen vizsgálatára is, amikor mérőcellaként magát a terméket tartalmazó kiszűrési egységet alkalmazzuk. Ilyenkor (pl. palackos ásványvíz esetében) a vizsgálandó mikroorganizmus szaporodásához szükséges tápanyagokat adva a termékhez, az elektród beemritése után a mérés elvégezhető. Az előkészítés anyagigénye minimális, és viszonylag nagy (1-2 liternyi) mintamennyiség közvetlenül vizsgálható. A mérési elrendezés

különösen alkalmas termék-sterilitási vizsgálatok elvégzésére.

A MicroTester alkalmazása előnyös megoldást nyújt mindazon esetekben, ahol a minőségi előírások nem engedik meg bizonyos mikrobák (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) jelenlétét pl. ivóvízben, ásványvízben (null-tolerancia).

### Validálás vízvizsgálathoz

A **MICROTESTER** laboratóriumi és ipari validálása során meghatározott teljesítményjellemzők:

- **Szelektivitás:** a rendszer szelektivitása az alkalmazott tápközegtől függ. A **MICROTESTER** bármely kereskedelmi forgalomban lévő tápfolyadékkal működtethető.
- **Linearitás:** a TTD és a kezdeti sejtkoncentráció logaritmusai között szigorúan lineáris a kapcsolat (1 sejt/mérőcella koncentráció felett).
- **Érzékenység:** a kezdeti sejtkoncentráció egy nagyságrenddel történő emelkedése 50-130 perccel csökkenti a TTD értékét, a mikroorganizmustól függően.
- **Detektálási (kimutatási) határ:** 1 sejt/mérőcella. A **MICROTESTER** alkalmas jelenléti/hiány vizsgálatok elvégzésére.
- **Kvantifikációs (meghatározási) határ:** az elméleti érték 10 sejt/mérőcella (egy logaritmusos egység), összhangban a mért kalibrációs görbékkel.
- **Mérési tartomány:** a kalibrációs egyenesek alapján ez 1-7 logaritmusos egység. 10 sejt alatt a Poisson-eloszlás miatt bizonytalaná válik a sejtszám-meghatározás (a kimutatás nem!),  $10^7$  felett pedig a TTD túl rövid a tranzienst időhöz képest (hőmérséklet- és redox-kiegyenlítés, a szaporodás lag-periódusa).
- **Pontosság:** mivel a redox-potenciál mérésen alapuló módszer a detektációs idő és a kezdeti élősejtszám logaritmusai közötti lineáris kapcsolatot kifejező regressziós egyenleteken alapul, a módszer pontossága ezen egyenletek megbízhatóságától függ. Ezért minden mikroorganizmus és alkalmazott táptalaj külön kalibrációs görbét igényel.
- **Precizitás (ismételhetőség, reprodukálhatóság):** a validálási folyamatok során a módszer ismételhetősége és reprodukálhatósága meghatározásra került.

- ➔ **Zavartűrés (robosztusság):** a szaporodási sebesség a hőmérsékleti optimum  $\pm 0,5^\circ\text{C}$ -os környezetében nem változik. A redox-potenciál hőmérséklet-függésének kísérleti vizsgálata szerint ezen tartományon belül a hőmérséklet-ingadozás hatása a TTD-meghatározás szempontjából elhanyagolható.

### Vízvizsgálat

A **MICROTESTER** validált módszerként alkalmas ásványvíz, szikvíz, tartályos és vezetékes ivóvíz illetve egyéb vizek gyors mikrobiológiai vizsgálatára. A vízvizsgálatoknál a kimutatáshoz szükséges idő kulcsfontosságú: az ipari előállítás során elengedhetetlen a gyártás valós idejű (vagy minél gyorsabb) mikrobiológiai ellenőrzése, az ivóvizeknél pedig a járványtani-közegészségügyi intézkedések nélkülözhetetlen alapja a gyors és pontos mikrobiológiai vizsgálati eredmény. A validálási eljárásba a vizek leggyakoribb és általában vizsgálandó szennyező mikrobái mellett a vizsgálatok során legnagyobb gondot jelentő zavaró mikroflórát is bevontuk.

A **szelektivitási** vizsgálatok során azt tapasztaltuk, hogy a Coliformok kimutatását a klasszikus eljárásban zavaró *Pantoea agglomerans* és *Acinetobacter lwofii* nem ad jelet, így nem zavarják a célflóra mérését. Hasonló eredményt tapasztaltunk a *Pseudomonas aeruginosa* kimutatást megnehezítő mikrobák (*Pseudomonas fluorescens*, *Burkholderia cepacia*) és az Enterococcus kimutatást zavaró Micrococcus fajok esetében is.

A **linearitási**-vizsgálat során bebizonyosodott, hogy igen szoros lineáris kapcsolat van a kiinduló élősejtszám logaritmus (lgN) és a detektálási idő (TTD) között. A linearitásban nem volt különbség, ha a mintát membránszűrőn felfogva vagy szuszpenzió formájában adtuk a mérőcellába, így a módszer az impedimetriás mérésekkel ellentétben, különösen alkalmas membránszűrt minták vizsgálatára.

A módszer **érzékenysége** mikroorganizmustól és tápközegtől függően 50-130 perc/lgN, azaz a kezdeti sejtkoncentráció egy nagyságrenddel történő emelkedése 50-130 perccel csökkenti a TTD értékét. A Coliformok kimutatása  $\text{lgN}_0=1$  esetén mintegy 9 órát vesz igénybe, míg magasabb szintű fertőzöttség esetén ez az idő még rövidebb ( $\text{lgN}_0=5$  esetén 5 óra).

A módszer **kimutatási határa** 1 sejt/mérőcella, azaz alkalmas jelenléti/hiány vizsgálatok végzésére. Így akár több membránszűrőt egyesítve jelentős költségeket és időt takaríthatunk meg.

**Mérési tartomány** a kalibrációs egyenesek alapján 1-7 logaritmusos egység. 10 sejt alatt a Poisson-eloszlás miatt bizonytalaná válik a sejtszám-meghatározás (a kimutatás nem!),  $10^7$  felett pedig a TTD túl rövid a tranziens időhöz képest (hőmérséklet- és redox-kiegyenlítés, a szaporodás lag-periódusa).

**Ismételhetőség** a kalibrációs görbékből számítva:  $\text{SD}_{\text{lgN}} = 0,092$ ;  $\text{SD}_N = 10^{0,092} = 1,24 = 24\%$ , ami megfelel a mikrobiológiai módszerekkel szemben támasztott követelményeknek.

A **zavartűrés** meghatározása során a mérést zavaró környezeti tényezők közül a legfontosabb paraméter, a hőmérséklet hatását vizsgáltuk. A hőmérséklet két módon befolyásolja az eredményeket: egyrészt a szaporodási sebesség, másrészt maga a redox-potenciál hőmérséklet-függő. A mikroba szaporodási optimumán mérve a szaporodási sebesség  $\pm 0,5^\circ\text{C}$  intervallumon belül nem változik, a hőmérséklet-ingadozás redoxpotenciálra kifejtett hatása kísérleti eredményeink szerint elhanyagolható. Így, mivel a hamis pozitív eredményt adó hőmérséklet-változás  $0,7-2,5^\circ\text{C}/\text{perc}$ , a **MICROTESTER** nem igényel extrém pontos hőmérséklet-szabályozást, az üzemeléshez elegendő a normál laboratóriumi termosztát is. (Az impedimetriás módszerek esetén ez az érték  $0,004^\circ\text{C}/\text{min}$ , így ezek  $\pm 0,002^\circ\text{C}$  pontosságú, drága hőmérséklet-szabályozást igényelnek.)

A módszert **ipari** körülmények között is **teszteltük** egy ásványvíz-előállító üzemben: az össz-mikrobaszámot, Coliformok, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* és *Enterococcus faecalis* jelenlétét vizsgáltuk.

### A MICROTESTER alkalmazása vízvizsgálatokban:

- ➔ Gyors módszer, főleg nagyobb fertőzöttség esetén. Kis fertőzöttségnél ( $\text{lgN}_0=0-1$ ) Coliformok esetében 9-10 óra a detektáláshoz szükséges idő.
- ➔ Bármely táplevessel használható (az impedimetriás módszerek speciális, alacsony vezetőképességű tápfolyadékot igényelnek).
- ➔ Különösen alkalmas a membránszűrési módszerek kiértékelésére. A módszer előnyei fokozhatók több membránszűrő egyesítésével.
- ➔ Alkalmas az ásványvizek és egyéb tápanyagszegény folyékony termékek közvetlen vizsgálatára is, amikor mérőcellaként magát a terméket tartalmazó kiszerezési egységet alkalmazzuk.

## Nyerstej vizsgálata

Az egészséges tej előállítása létfontosságú mind a fogyasztók, mind a termelők szempontjából, a tej által közvetített élelmiszer-eredetű megbetegedések kiemelkedő jelentőségűek. Annak ellenére, hogy a tej nagy része pasztörözött formában kerül fogyasztásra, több érv szól a termelői nyerstej mikrobiológiai minőség-ellenőrzésének fontossága mellett. Egyrészt a nyerstej rezervoárja lehet különböző patogén mikro-organizmusoknak, melyeket a pasztörözési eljárások sem pusztítanak el, másrészt nyerstejből pasztörözés nélkül készült tejtermékeket vagy akár közvetlenül nyerstejet nagy mennyiségben fogyasztunk. Az emberi fogyasztás szempontjából a nagy összecsíra-számú nyerstej fontos veszélyforrás.

A patogén mikroorganizmusokat tartalmazó vagy a nagy összecsíra-számú tej által okozott problémák megoldásának igen fontos eszköze a telepi nyerstej-ellenőrzés javítása. A tejtermelők nagy része már nem csak a megbetegedések gyors kiszűrését tartja szem előtt, hanem a tejtermelés és -kezelés tisztaságát, higiéniáját, biztonságát és minőségét is demonstrálni szeretné a piaci partnerek és a fogyasztók felé. Egy egyszerű és gyors, telepen végezhető mikrobiológiai vizsgálómódszer lehetővé tenné a termelők számára a minőségi tejtermelés bizonyítását és a rendellenességek gyors kiszűrését.

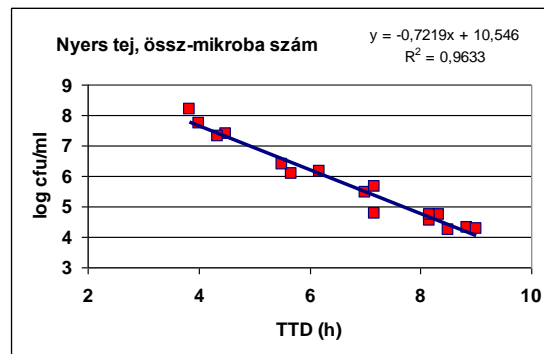
A ma alkalmazott mikrobiológiai gyorsmódszerek nem alkalmasak telepi körülmények közötti használatra, egyrészt mivel általában drága berendezéseket, képzett labor-személyzetet igényelnek, és csak a legnagyobb tejtermelő telepek engedhetnek meg maguknak saját mikrobiológiai laboratóriumot, másrészt a nyerstej összecsíra-számának meghatározására alkalmas eljárások egy része túl hosszú időt vesz igénybe (72 óra).

*A redox-potenciál mérésen alapuló mikrobiológiai gyorsmódszer továbbfejlesztett és telepi nyerstej-ellenőrzésre optimalizált változata alkalmazható a nyerstej összecsíra- és Coliform-számának gyors (akár 6-8 óra alatt), egyszerű és költség-hatékony meghatározására. A kisméretű mérőműszer telepi körülmények között is használható, az esti fejés során nyert tej reggel elbírálható. A kifejlesztett mérőeszköz hatékony segítséget nyújthat a telepi nyerstej-ellenőrzésben, valamint a tejet érintő állat- vagy élelmiszer-higiéniai rendellenességek kiszűrésének és megelőzésének eredményes eszköze lehet.*

A nyerstej általában elfogadható mikrobiológiai kritériumaként meghatározott  $10^5$  cfu/ml körüli összecsíra-szám meghatározása 7-8 órát vesz igénybe. Bár különböző nyerstejek mikroba-összetétele elvileg különböző, a független mintákból készült kalibrációs görbe (9. ábra)

alapján a kiindulási sejtszám logaritmususa és a TTD közti lineáris korreláció igen szoros, ami még tovább fokozható telepre adaptált kalibrációs görbék meghatározásával.

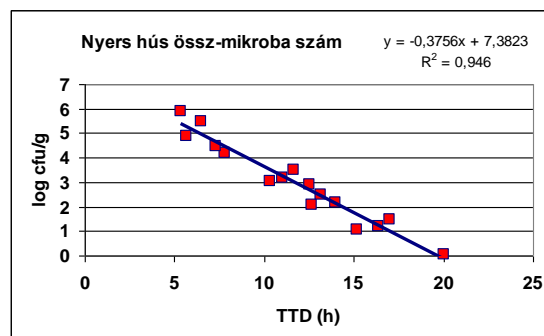
## 9. ábra



## Húsok összecsíra-számának vizsgálata

A nyerstej vizsgálathoz hasonlóan a **MICROTESTER** alkalmas húsok összes mikrobaszámának meghatározására is. A 2073/2005/EK rendelet az élelmiszerek mikrobiológiai kritériumairól 2.1. pontjában előírt, állatfajtól és a hús forgalomba hozatali formájától függő aerob mikroba-számok meghatározása 6-10 órát vesz igénybe. A 10. ábrán különböző, egymástól független (sertés, marha, baromfi) húsminták össz-mikroba számának egyesített kalibrációs görbéje látható, mely szintén szoros lineáris korrelációt mutat a kiindulási sejtszám és a detektáláshoz szükséges idő között.

## 10. ábra





### **Költséghatékonyság**

A MICROTESTER rendszer 30, 50 és 100 ml-es mérőcellákat használ szabványos táplevesekkel és normál membránszűrőkkel. A leggyakrabban használt tápoldat térfogat 15-20 ml, amely megfelel egy normál lemezöntésnél Petri csészénként elhasznált tápagar mennyiségének.

Előzetesen felvett kalibrációs görbéket használva a minták hígítása elhagyható, így a sorozatvizsgálatok anyagköltsége a hagyományos tenyésztési eljárásokhoz képest csökkenthető.

Membránszűrési vizsgálatoknál elhagyható a hígítási sor, egyetlen membránon átszűrve a mintát, mintánként több membránszűrő és tápagar mennyiség költsége megtakarítható.

Azonos minta vizsgálatánál egyetlen mérőcellába több membrán is behelyezhető.

A kiértékelés automatikus, a mérési eredmények, redox-görbék, archiválhatók, utólag bármikor előhívhatók és nyomtathatók.

**A MICROTESTER készülék egyéb paramétereiről  
illetve a megrendelésről információ:**

[microtest1@t-online.hu](mailto:microtest1@t-online.hu)

2016. március 3.

Dr. Reichart Olivér