

Vplyv nízkych koncentrácií dekontaminačných prostriedkov na rast mikrobiálnych kontaminantov

LUDOVÍT POLÍVKA - ANNA RUŽIČKOVÁ

Súhrn. Z literatúry je známa rezistencia niektorých mikroorganizmov k niektorým druhom dezinfekčných prostriedkov. V práci sme sledovali vplyv dekontaminačných prostriedkov Antibacteric-P a UNI (0,02 % a 0,07 %) na rast vybraných potravinárskych kontaminantov. Na *E. coli* pôsobí stimulačne iba koncentrácia 0,02 % Antibacteric-u UNI. Inhibične pôsobí na *Enterobacter* spp. iba koncentrácia 0,07 %. *Protheus mirabilis* sledovaným koncentraciami nie je inhibovaný. *Citrobacter* spp. je inhibovaný iba 0,07 %-nou koncentráciou prostriedkov. Koncentrácie MIVAL-u (0,04 % a 0,14 %) na sledované mikroorganizmy de facto nepôsobia a vykazujú iba minimálny inhibičný efekt. Rast bližšie neidentifikovanej mladinkovej baktérie, izolovanej z pivovarskej prevádzky, je dokonca stimulovaný nízkymi koncentraciami (0,05 %) sanitačných prostriedkov SAVO a CHLORON. Podobne bol zistený aj stimulačný účinok 0,05 %-nej koncentrácie SAVO na *S. diastaticus*. *Ps. aeruginosa* vykazuje k nízkym koncentraciam SAVO rezistenciu.

Problematike bezpečnosti potravín z hľadiska mikrobiálnej kontaminácie je venovaná značná pozornosť. Na druhej strane však pôvodné vedecko-výskumné práce, zaoberajúce sa príčinou mikrobiálnej kontaminácie a jej predchádzaniu sa venujú tejto problematike len okrajovo. Rovnako problematike rezistencie mikroorganizmov na dezinfekčné prostriedky sa nevenuje dostatočná pozornosť, čo má negatívny vplyv na bezpečnosť potravín.

Z literatúry je známe, že bola zistená adaptácia mikroorganizmov k niektorým dezinfekčným prostriedkom [1,2,3]. Tak napríklad sa zistila rezistencia mikroorganizmov z rodov *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Salmonella* na Ajatín, Septonex, Chlórhexidín, Cetrimid. Zo štúdie k rezistencii mikroorganizmov je zrejmé, že je významná najmä rezistencia sekundárna, ktorá vzniká adaptáciou mikroorganizmov na používané dezinfekčné prostriedky. Podrobnejšiu analýzu tejto problematiky uvádza Volná [4].

Jednou z viacerých príčin vzniku rezistencie môže byť aj nedostatočne uplatňovaný sanitačný postup. V prípade dvojstupňovej sanitácie nedosta-

točné čistenie zanecháva stopy účinných látok dezinfekčných prostriedkov. Nedostatočný počet oplachov po použití dezinfekčného prostriedku, jeho nízka koncentrácia, môže byť jednak prvopočiatkom získavania rezistencie, na druhej strane môže spôsobovať postupnú stimuláciu rastu pri limitovanom množstve potrebných živín. Takéto stavy sú samozrejme podmienené vonkajšími podmienkami determinujúcimi rast kontaminujúcich mikroorganizmov, ale aj fyziologickým stavom kultúry a biochemickej štruktúry mikrobiálnych buniek [5-11].

Vzhľadom k tomu, že v sanitačnej a výrobnjej potravinárskej praxi môžu potencionálne k týmto stavom dôjsť, sledovali sme rast niektorých typických kontaminantov izolovaných z potravinárskych výrob pri veľmi nízkych, ale operatívne detegovateľných koncentráciach prostriedkov Antibacteric P, Antibacteric UNI, Mival, Chloron a Savo v závislosti na čase.

Materiál a metódy

1. Mikrobiálne kmene

V praxi sme použili výhradne mikrobiálne kontaminanty, ktoré boli izolované z potravinárskych výrob, resp. potravín, dva kmene sú zbierkové.

Escherichia coli - izolát z mrazenej stravy (Prírodovedecká fakulta UK)

Citrobacter spp. - izolát z mlieka (získaný z OHES Trnava)

Proteus mirabilis - izolát z vaječnej melanže (získaný z OHES Trnava)

Enterobacter spp. - izolát z mrazenej stravy (získaný z OHES Trnava)

Mladinková baktéria - izolát z pivovar. prevádzky, bližšie neidentifikovaný

Saccharomyces diastaticus - zbierkový kmeň

Pseudomonas aeruginosa - zbierkový kmeň

2. Kultivačné médiá a kultivácia

Kvapalné kultivačné médiá

Pre bakteriálne kmene sme použili mäsopeptónový bujón č.2 - výrobca IMUNA Šarišské Michaľany.

Pre kvasinku - purifikovaná pivovarská mladinka z pivovaru Stein Bratislava

Pôdy sterilizované 20 minút pri 120 kPa.

Pre pokusy sa používala II. generácia kvapalného fermentačného média (5 %), po predchádzajúcom 18 až 24 hodinovom náraste na tom istom médiu. Do médií sa pridával skúmaný koncentrát dezinfekčného prostriedku. Kultivácia sa robila na závesnej laboratórnej trepačke typ LT 1 - výrobca Sklo Union Teplice, pri teplote 30 °C.

Tuhé kultivačné médiá

Escherichia coli, *Enterobacter* sp. kultivované na Endovom agare *Proteus mirabilis* na dezoxycholátovom agare.

Pre statické kultivácie sa používali pomnožené mikroorganizmy na ekvivalentných kvapalných médiach po 24 hodinovom raste.

Kultivácie sa uskutočňovali v termostatoch pri teplotách 20 °C, 37 °C a 40 °C s definovaným počtom buniek.

Do kvapalného média bol dávkaný čistiaci a dezinfekčný prostriedok v určenej koncentrácii a po uplynutí skúmaného času pôsobenia. Potom boli vzorky (0,5 ml) nanesené na pevný agar.

Absorbanciu sme merali na Spekle 11 - Carl Zeis Jena pri 620 nm. Počet viabilných buniek sme stanovovali zriedovacou metódou a vyjadrovali ako počet buniek v 1 ml média (CFU/1 ml).

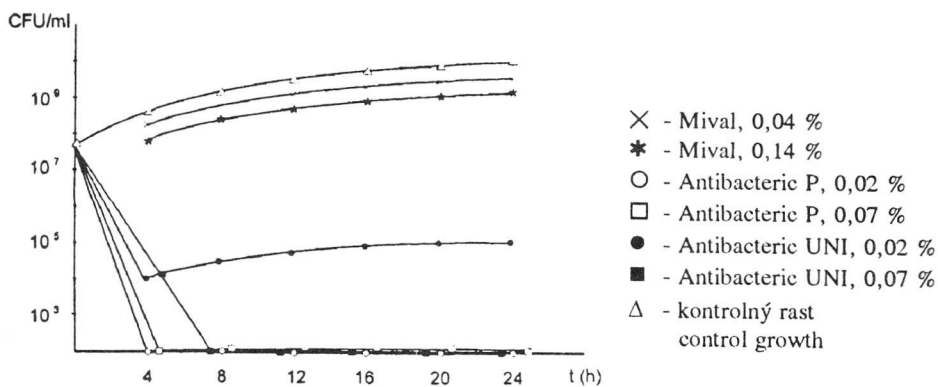
3. Použité dezinfekčné prostriedky

1. ANTIBACTERIC P - prostriedok obsahujúci kationaktívnu substanciu (ako dezinfekčnú zložku), určený na dezinfekciu výrobných miestností a zariadení v potravinárskom priemysle, výrobca Tatrachema Trnava.
2. ANTIBACTERIC UNI - saponátový čistiaci prostriedok s dezinfekčným účinkom (obsahuje kationaktívnu substanciu), výrobca Tatrachema Trnava.
3. MIVAL - saponátový čistiaci a dezinfekčný prostriedok v práškovitej forme, s aktívnymi zložkami Dubasol SD (alkylarylsulfonát) a Chloramín B, výrobca Tatrachema Trnava.
4. SAVO - dezinfekčný, mycí a bieliaci prípravok s prísadou aktívneho chlóru, výrobca Bochemie a.s. Bohumín.
5. CHLORON - dezinfekčný, bieliaci a čistiaci prostriedok, výrobca JRD Skalica, výrobné stredisko Kátov.

Výsledky a diskusia

V práci sme použili nové dekontaminačné prostriedky AB-P, UNI a sanitálny prostriedok MIVAL. Vplyv nízkych koncentrácií uvedených dekontaminačných prostriedkov sme testovali na rast *E. coli*, *Citrobacter* spp., *Proteus mirabilis* a *Enterobacter* spp. Sanitačné prostriedky SAVO a CHLORON sme testovali na mladinkovú baktériu, *S. diastaticus* a *Pseudomonas aeruginosa*.

Výsledky testovania vplyvu nízkych koncentrácií uvedených dekontaminačných prostriedkov na jednotlivé kmene mikrobiálnych kontaminantov sú uvedené v grafoch na obr.č.1 až 9.

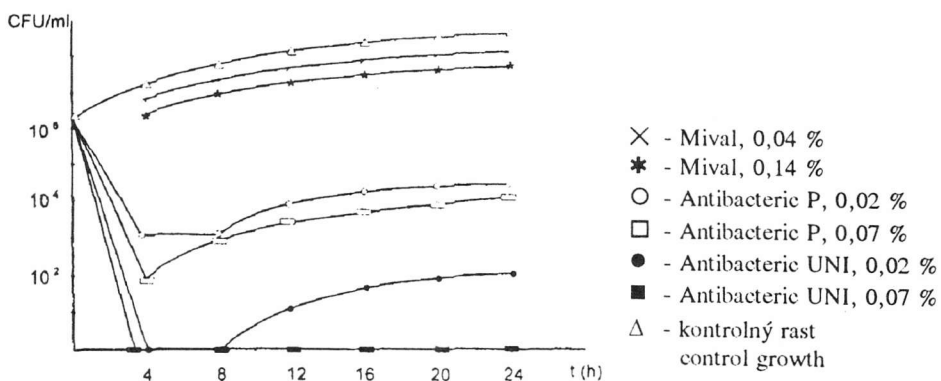


Obr. 1. Vplyv nízkych koncentrácií dekontaminačných prostriedkov MIVAL, ANTIBACTERIC P a UNI na rast *Escherichia coli*.

Fig. 1. Influence of low concentrations of decontamination preparations MIVAL, ANTIBACTERIC - P and UNI on the *Escherichia coli* growth.

Z grafu na obr.1. je zrejmé, že:

MIVAL - v koncentráciách 0,04 % ako aj 0,14 % v médiu s dostatočným množstvom živín má iba minimálny inhibičný efekt, *E. coli* pri tejto koncentrácii vykazuje takmer taký istý rast ako bez prídavku dezinfekčného prostriedku.



Obr. 2. Vplyv nízkych koncentrácií dekontaminačných prostriedkov MIVAL, ANTIBACTERIC P a UNI na rast *Citrobacter* spp.

Fig. 2. Influence of low concentrations of decontamination preparations MIVAL, ANTIBACTERIC - P and UNI on the *Citrobacter* spp. growth.

ANTIBACTERIC P - po 4 hodinách pôsobenia v tých istých podmienkach v koncentráciách 0,02 % a 0,07 % pôsobí baktericídne, pokles *E. coli* je takmer 6 - 7 rádov.

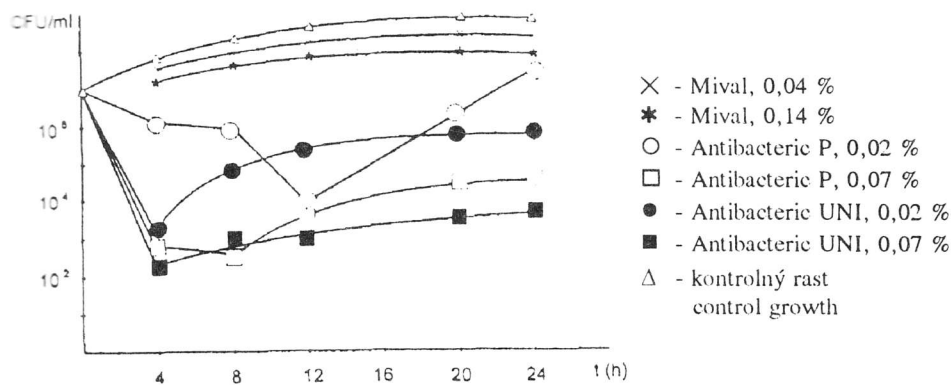
ANTIBACTERIC UNI - za tých istých podmienok pôsobí baktericídne v koncentrácii 0,07 % až po 8 hodinách. Pri koncentrácii 0,02 % v prvých 4 hodinách je evidentný pokles *E. coli* o tri rády, avšak do 24 hodín vzrastie počet buniek o rád. To znamená, že prítomnosť 0,02% Antibacteric UNI nie je zábranou rastu.

Z uvedeného grafu na obr.2. je zrejmé, že:

MIVAL - v koncentráciách 0,04% aj 0,14% pôsobí iba minimálne inhibične, v médiu s dostatočným množstvom živín a optimálnymi podmienkami na rast mikroorganizmu. Vyplýva to z porovnania rastu kultúry bez prídavku dezinfekčného prostriedku.

ANTIBACTERIC-P - v koncentrácii 0,02% po 4 hodinách pôsobenia v tom istom médiu inhibuje rast a deštruuje bunky po inokulácii (10^6 /ml) na minimálny počet. Avšak bunky sa adaptujú k tejto koncentrácii a koncentrácia prostriedku nezabraňuje ďalšiemu postupnému rastu, ktorý za ďalších 12 hodín dosahuje hodnotu 10^2 CFU/ml. Koncentrácia 0,07% pôsobí za 4 hodiny na tento kontaminant baktericídne.

ANTIBACTERIC-UNI - v koncentráciách 0,02% ani 0,07% nevykazuje v prostredí so živinami požadovaný baktericídny účinok pre dekontaminačné prostriedky (pokles o 3 - 4 rády). Rast tohoto druhu kontaminantu v prítomnosti uvedených koncentrácií po 4, resp. 8 hodinách je evidentný.



Obr.3. Vplyv nízkych koncentrácií dekontaminačných prostriedkov MIVAL, ANTIBACTERIC P a UNI na rast *Proteus mirabilis*.

Fig.3. Influence of low concentrations of decontamination preparations MIVAL, ANTIBACTERIC - P and UNI on the *Proteus mirabilis* growth.

Z grafu na obr.3. je evidentné, že:

MIVAL - v koncentráciách 0,04% a 0,14% pôsobí na tento kmeň iba mierne inhibične voči rastu tohoto kontaminantu na vhodnom médiu a pri optimálnych podmienkach.

ANTIBACTERIC-P - prítomný v tom istom médiu v koncentrácii 0,02% a 0,07% nebránia rastu kontaminanta, hoci v prvých štyroch hodinách rast inhibuje.

ANTIBACTERIC-UNI - v skúmaných koncentráciách 0,02% a 0,07% nevykazuje baktericídny efekt pri kultivácii *Proteus mirabilis*.

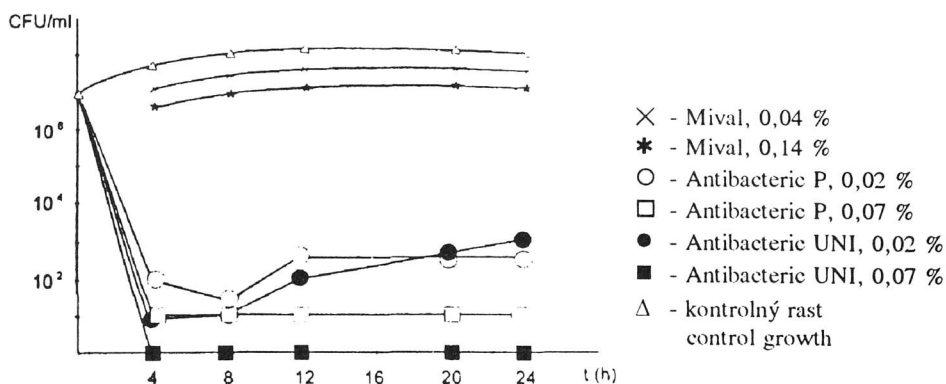
Uvedené koncentrácie v neskorších hodinách neovplyvňujú nárast biomasy, pritom je kinetika rastu v médiu bez prostriedku a prítomnosti 0,02% prakticky rovnaká.

Z uvedeného grafu na obr.4. je zrejmé, že:

MIVAL - v koncentráciách 0,04% a 0,14% podstatne prakticky neovplyvňuje rast kmeňa *Enterobacter* spp. v médiu pre tento druh baktérií za optimálnych podmienok rastu.

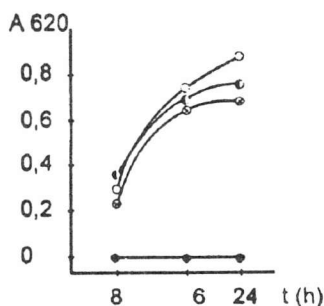
ANTIBACTERIC-P - aj v minimálnej koncentrácii 0,07 % pôsobí po 4 hodinách baktericídne. Koncentrácia 0,02% po počiatočnom pozitívnom účinku (pokles o 6 rádo) ďalšiemu rastu kontaminantu za optimálnych podmienok neprekáža.

ANTIBACTERIC-UNI - v koncentráciách 0,07 % vykazuje baktericídny efekt v hodnote poklesu vitálnych buniek o 6 rádo. Nižšia koncentrácia 0,02% o 5 rádo - obe inhibujú ďalší rast.



Obr.4. Vplyv nízkych koncentrácií dekontaminačných prostriedkov MIVAL, ANTIBACTERIC P a UNI na rast *Enterobacter* spp.

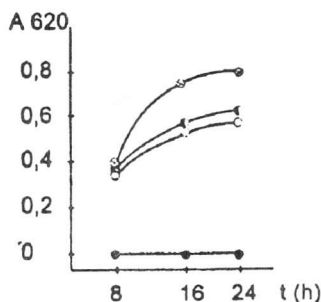
Fig.4. Influence of low concentrations of decontamination preparations MIVAL, ANTIBACTERIC - P and UNI on the *Enterobacter* spp. growth.



⊗ 0,05 % ○ 0,5 % ● 5,0 % ● kontrolný rast
control growth

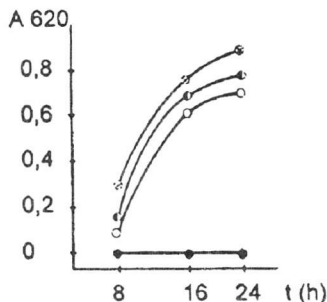
Obr.5. Vplyv rôznych koncentrácií sanitážneho prostriedku SAVO na rast *Pseudomonas aeruginosa*.

Fig.5. Influence of various concentrations of sanitation preparation SAVO on the *Pseudomonas aeruginosa* growth.



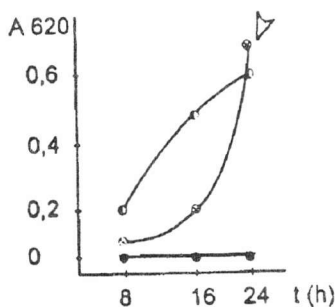
Obr.6. Vplyv rôznych koncentrácií sanitážneho prostriedku SAVO na rast mladínovej baktérie (legenda - pozri obr.5.).

Fig.6. Influence of various concentrations of sanitation preparation SAVO on the young beer bacterium growth (legend - see Fig.5.).



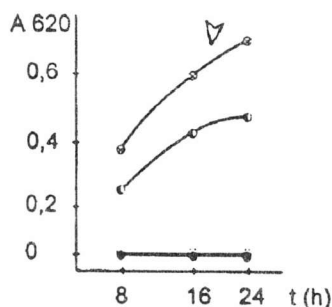
Obr.7. Vplyv rôznych koncentrácií sanitážneho prostriedku SAVO na rast *Saccharomyces diastaticus* (legenda - pozri obr.5.).

Fig.7. Influence of various concentrations of sanitation preparation SAVO on the *Saccharomyces diastaticus* growth (legend - see Fig.5.).



Obr.8. Vplyv rôznych koncentrácií sanitážneho prostriedku CHLORON na rast *Saccharomyces diastaticus* (legenda - pozri obr.5.).

Fig.8. Influence of various concentrations of sanitation preparation CHLORON on the *Saccharomyces diastaticus* growth (legend - see Fig.5.).



Obr.9. Vplyv rôznych koncentrácií sanitážneho prostriedku CHLORON na rast mladínovej baktérie (legenda - pozri obr.5.).

Fig.9. Influence of various concentrations of sanitation preparation CHLORON on the young beer bacterium growth (legend - see Fig.5.).

Záver

V rámci výskumu sanitačných procesov sme sa zamerali na sledovanie účinnosti sanitačných prostriedkov a postupov na nežiadúcu mikroflóru vo vybraných potravinárskych technológiách. Orientovali sme sa na zisťovanie vplyvu rôznych koncentrácií dekontaminačných prostriedkov na vybrané druhy mikroorganizmov - kontaminantov v pivovarníckom a mäsovom priemysle. V rámci experimentov sme zistili zaujímavý efekt nízkych koncentrácií sanitačných prostriedkov, na ktorý sme poukázali v uvedených grafoch.

Pozitívny vplyv nízkych koncentrácií na rast mikroorganizmov sme zistili takmer u všetkých nami sledovaných sanitačných prostriedkoch. Najmarkantnejšie sa prejavili pri sledovaní účinkov sanitačných prostriedkov SAVO a Chloron, ktoré sa bežne používajú na sanitáciu prevádzkových plôch.

Z výsledkov našich prác je zrejmé, že pri prípadnej kontaminácii týmto druhom mikroorganizmu je treba venovať dôslednému umývaniu a oplachom zvýšenú pozornosť, nakoľko nedôsledná aplikácia sanitačných systémov a najmä nedostatočné oplachy môžu viesť k rekontaminácii a k získaniu postupnej rezistencie mikroorganizmov.

Literatúra

1. KRUMPHANZL, V.: Mikrobiální technologie. 1988. Ed. Academia, Praha.
2. POLÍVKA, L. - RUŽIČKOVÁ, A.: Rezistencia niektorých mikroorganizmov k novým typom sanitačných prostriedkov. Priebežná správa: Hodnotenie dezinfekčných prostriedkov. VÚP, Bratislava, 1994.
3. MELICHERČIKOVÁ, CH.: Citlivost *Ps. aeruginosa* k některým dezinfekčním prostředkům. Acta hygienica, epidemiologica et microbiologica, 2, 1980, s.56-60.
4. VOLNÁ, E.: Studium rezistence mikroorganizmov na dezinfekčné látky. Acta hygienica epidemiologica et microbiologica, 1, 1982, s.58-60.
5. ŠRÁMKOVÁ, H.: Současný trend ve výskytu bakteriálních nákaz alimentárního původu. Acta hygienica, epidemiologica et microbiologica, 1992, příloha č. 3.
6. GREISS, P.: Reinigung und Sanitation. Lebensmitteltechnik, 15, 1983, s.180-182.
7. QUINTAVALLA, S.: Resistance of microorganismus on metalsurfaces to chemical sterilising agents. Rassegna dell imballaggio e confezionamento, 11, 1990, s.10-12.
8. EMEIS, C.C.: Resistenz gegen Desinfektionsmittel. Monatschrift für Brauerei, 29, 1976, s.55-58.
9. CERF, O.: Desinfektion of equipment surfaces. Technique laitiere et merketing, 1005, 1986, s.30-32.
10. MROZEK, H.: Zur Resistenz von Microorganismen. Bruewelt, 119, 1979, s.159-161.
11. POHL, A. - METZNER, P. - ERNST, M.D.: Anwendung von Quats in der Brauerei. Unterschiede in der Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln auf der Basis quartären Amoniumverbindungen. Brauwelt, 115, 1975, s.1404-1407.

Do redakcie došlo 17.5.1995.

Impact of low concentrations of decontaminants on the growth of microbial contaminants

LUDOVÍT POLÍVKA - ANNA RUŽIČKOVÁ

Summary. Resistance of some microorganisms to some kinds of disinfectants is known from references. In this paper impact of decontaminants Antibacteric-P and UNI (0.02 % and 0.07 % respectively) on the growth of selected food contaminants has been investigated. Only 0.02 % concentration of Antibacteric UNI has stimulated effects on *E. coli*. Only 0.07 % concentration of the same decontaminant shows inhibition effects on *Enterobacter* spp. *Proteus mirabilis* has not been inhibited with given concentrations. Inhibition of *Citrobacter* spp. is reached only by applying 0.07 % concentration of agents. Concentrations of MIVAL (0.04 % and 0.14 %) have in fact no effect on tested microorganisms and show only minimum inhibition effect. Growth of closely unidentified wort bacteria isolated from brewery plant is even stimulated with low concentrations (0.05 %) of SAVO and CHLORON decontaminants. Similarly, stimulating impact of 0.05 % concentration of SAVO on *S. diastaticus* has been noted. *Ps. aeruginosa* shows resistance to low concentrations of SAVO agent.