

Institutul de Sănătate Publică și Cercetări Medicale
Disciplina de microbiologie a Universității de Medicină
și Farmacie din Tîrgu-Mureș

CONTRIBUȚII LA PERFECTIONAREA METODELOR DE DETERMINARE A ÎNCĂRCĂTURII MICROBIENE A UNOR LEGUME ȘI FRUCTE

M. Péter, Mária G. Szatmári, Á. Szöllösi, L. Domokos,
Evelyn Farkas

Consumul crescînd de legume și fructe impune acordarea unei atenții sporite problemei încărcăturii microbiene a vegetalelor consumate crude. Valabilitatea acestui deziderat este motivată atît prin numărul redus al lucrărilor de acest gen (1-10), cit și de faptul că rezultatele obținute sînt greu comparabile. Metodele aplicate nefiind standardizate, variază de la un autor la altul și sînt totodată susceptibile și de îmbunătățiri. Astfel, uneori nu se specifică detaliat procedura aplicată, alteori diferă cantitatea legumelor și fructelor studiate respectiv volumul lichidului de spălare; rezultatele obținute sînt relatate fie la greutatea probei fie la suprafețe de diferite mărimi. O altă problemă care afectează exactitatea datelor, este legată de modul de spălare a vegetalelor studiate în scopul desprinderii germenilor microbieni de pe suprafața lor. Deoarece contaminarea vegetalelor depinde de numeroși factori variabili (compoziția cantitativă și calitativă a microflorei solului, a apei de irigat, modul de manipulare și înmagazinare a legumelor și fructelor etc.) ar fi utile studii de acest gen în mai multe areale ale țării.

Pornind de la aceste constatări ne-am propus ca să facem încercări de a aduce unele îmbunătățiri metodelor sus-menționate, prin studierea corelației dintre suprafața și greutatea legumelor privind determinarea încărcăturii microbiene, respectiv să analizăm în ce măsură influențează modul de spălare a vegetalelor rezultatele determinărilor microbiologice cantitative, și în sfîrșit să urmărim eficiența spălării în decontaminarea vegetalelor consumate crude.

Material și metodă

Am alcătuit cîte două grupe de vegetale în așa fel ca ambele să aibă aceeași greutate (de exemplu 100 g), însă prima grupă (A) să conțină o singură, iar a doua (B) 2-6 bucăți. Am calculat suprafața ambelor grupe și am comparat rezultatele. Această procedură a fost efectuată de 17 ori cu roșii, de 2 ori cu ridichi și o dată cu castraveți, deci în total s-au efectuat 20 de măsurători pentru grupele A și 20 pentru grupele B. Valorile au fost prelucrate statistic aplicînd testul X^2 (Pearson).

În continuare 10 dintre probele măsurate au fost așezate în cutii de vată sterile, și s-au adăugat atîta ml de soluție NaCl izotonică sterilă, cîte grame a cîntărit proba care urma să fie spălată. Spălarea s-a făcut cu ajutorul tampoanelor faringiene sterile, ștergînd ușor suprafața probelor. Din apa de spălat astfel obținută s-a determinat numărul total de bacterii care se dezvoltă la 37 °C/cm³, respectiv numărul coliformilor totali/dm³ aplicînd metodele prevăzute de STAS (3001/83) pentru analiza microbiologică a apei potabile.

Pentru a studia eficiența spălării la un alt lot de 13 probe am efectuat două spălări succesive cu soluție NaCl izotonică în cutii de vată sterile cu ajutorul tampoanelor faringiene. Prima spălare a fost efectuată în mod uzual, iar a doua mai energic și amănunțit. Din apele de spălare am determinat valorile indicatorilor bacteriologici, respectiv încărcătura microbiană condiționat patogenă și patogenă.

Rezultate și discuții

În prima parte a lucrării noastre am evaluat diferența de suprafață care poate să apară la două loturi de legume sau fructe de greutate identică dar diferite ca număr. Rezultatele măsurătorilor efectuate sînt redate în tabelul nr. 1.

Tabelul nr. 1

Mărimea suprafeței la două loturi de legume, de aceeași greutate dar de componență numerică diferită

Denumirea mat.	Nr. probe	1 buc.		mai multe buc.	
		greutate g (± 5)	suprafața cm ²	greutate g (± 5)	suprafața cm ²
Roșii	1	100	86,26	100	117,02
"	2	150	124,62	150	200,68
"	3	110	490,00	110	679,60
"	4	200	688,10	200	872,40
"	5	150	514,70	150	776,20
"	6	70	340,70	70	529,20
"	7	120	483,00	120	646,20
"	8	130	530,90	130	787,40
"	9	120	498,70	120	615,50
"	10	165	687,70	165	760,70
"	11	120	498,70	120	686,70
"	12	100	437,20	100	594,00
"	13	170	547,10	170	856,50
"	14	200	633,10	200	963,30
"	15	120	482,80	120	588,80
"	16	140	530,60	140	984,70
"	17	170	506,40	170	666,20
Ridichi	18	120	128,60	120	259,30
	19	230	176,60	230	254,30
Castraveți	20	100	131,30	100	216,70

Prelucrând statistic datele obținute, a reieșit că diferența între cele două loturi studiate este semnificativă cu o probabilitate de peste 97,5% ($p < 0,025$).

Deoarece diferența suprafețelor la loturile studiate a atins valori statistic semnificative, se poate presupune că și încărcătura microbiană se comportă similar, deoarece cu cât suprafața este mai mare, cu atât este probabil că și numărul microorganismelor poate fi mai ridicat. Rezultatele examinărilor efectuate în această privință sînt cuprinse în tabelul nr. 2

Tabelul nr. 2

Corelația între greutatea, suprafața și încărcătura microbiană a unor legume

Denum. materia- lului	1 bucată				mai multe bucăți				
	greut. g ± 5 g	cm ²	Nr. total de germeni/cm ³	Coliformi totali/dm ³	Nr. buc.	greut. g ± 5 g	cm ²	Nr. total de germeni/cm ³	Coliformi totali/dm ³
Roșii	100	86,26	298,500	20,000	3	100	117,02	708,750	45,000
"	150	124,62	336	0	3	150	200,68	1,250	180
"	170	506,40	12,050	0	2	170	666,20	17,500	0
"	170	547,10	30,000	1,600	3	170	856,50	196,400	2,600
"	200	633,10	39,920	5,600	3	200	963,30	150,400	15,000
"	120	482,80	29,520	1,600	3	120	588,80	65,540	4,800
"	140	530,60	76,604	16,000	3	140	984,70	27,360	9,200
Ridichi	120	128,60	170,920	4,000,300	5	120	259,30	2,370,040	9,200,000
Ridichi	230	176,60	196,360	2,000	6	230	254,30	1,766,400	16,000,000
Castraveți	100	131,30	91,500	20,000	4	100	216,70	120,200	36,000

În urma analizei statistice a datelor cuprinse în tabelul nr. 2, reiese că în cazul numărului total de germeni, diferența între cele două loturi este semnificativă cu o probabilitate de peste 99,5% ($p < 0,05$), iar în cazul coliformilor totali cu o probabilitate de peste 99,9% ($p < 0,001$).

În continuare prezentăm datele privind influența modului de spălare a probelor de zarzavaturi și fructe pe de o parte asupra valorilor obținute prin determinările microbiologice cantitative, pe de altă parte asupra decontaminării vegetalelor consumate crude. Rezultatele privind indicatorii bacteriologici ai aceleași probe, după prima, respectiv a doua spălare sînt redată în tabelul nr. 3.

Tabelul nr. 3

Valorile indicatorilor bacteriologici obținuți din prima și a doua apă de spălare

Materialul examinat	Modul de spălare	Nr. total bacterii la 37°C/cm ³	Coliformi totali/dm ³
Salată	a	11,890	4,000
	b	14,700	45,000
"	a	64,110	7,800
	b	203,225	20,000
"	a	8,158,583	1,000
	b	10,242,916	2,100
"	a	281,600	3,300,000
	b	23,880	68,000
"	a	715,200	72,000
	b	1,041,960	230,000
"	a	1,670,400	160,000,000
	b	1,118,200	160,000,000
"	a	194,000	3,200,000
	b	253,300	4,700,000
"	a	1,424,000	2,100,000
	b	1,839,200	59,000,000
"	a	2,080,000	1,100,000
	b	880,000	1,300,000
Căpșuni	a	204,400	12,000
	b	183,400	6,800
Căpșuni	a	1,550,000	62,000
	b	250,000	1,700
Roșii	a	96	—
	b	336	—
Ridichi de vară	a	2,370,440	9,200,000
	b	2,605,500	16,000,000
Total	a	18,726,799	179,057,900
	b	18,656,617	241,373,600
Media ($\bar{X}$)	a	1,440,516	13,773,684
	b	1,435,124	18,567,200

Legenda: a = spălat uzual (prima spălare),
b = spălat energic (adoua spălare)

Din datele acestui tabel reiese că spălarea uzuală îndepărtează doar 50-60% din încărcătura bacteriană totală a vegetalelor.

Rezultatele privind prezența germenilor condiționat patogeni și patogeni pe probe studiate, după prima, respectiv a doua spălare sînt prezentate în tabelul nr. 4.

Tabelul nr. 4

Încărcătura bacteriană, fungică și parazitară obținută din prima și a doua apă de spălare a unor legume și fructe

Bacterii funghi și paraziți izolați	Vegetalele examinate și numărul probelor								Total	
	Salată: 9		Căpșuni: 2		Roșii: 1		Ridichi: 1		13	
	Nr. probe pozitive la prima (a) și a doua (b) spălare									
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
S. typhimurium	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
Shigella flexneri	2	3	0	0	0	0	0	0	2	3
Escherichia coli	6	6	0	1	0	0	1	1	7	8
„ coli 086	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1
Genul Proteus	6	5	1	0	0	0	1	2	8	7
Enterobacter aerog.	2	2	0	0	0	0	1	2	3	4
Vibriion NAG	2	2	0	0	0	0	0	1	2	3
Pseudomonas aerug.	3	5	0	0	0	0	1	1	4	6
Genul Bacillus	7	6	2	2	0	0	1	1	10	9
Alte bacterii	19	18	1	2	2	2	2	4	24	26
Total	48	49	4	5	2	2	7	12	61	68
Genul Candida	2	3	1	1	0	0	0	0	3	4
Genul Geotrichum	1	0	0	1	0	0	0	0	1	1
Alte levuri	4	6	2	3	0	0	0	0	6	9
Genul Penicillium	3	2	0	1	0	0	0	0	3	3
Genul Aspergillus	2	2	0	0	0	0	0	0	2	2
Alte mucegaiuri	5	3	3	1	0	0	0	0	8	4
Total	17	16	6	7	0	0	0	0	23	23
Ascaris lumbricoides	3	0	0	1	0	0	0	0	3	1
Trichuris trichiura	2	0	0	0	0	0	0	0	2	0
Fasciola hepatica	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Total	6	0	0	1	0	0	0	0	6	1

Datele tabelului nr. 4 confirmă constatările făcute pe baza rezultatelor cuprinse în tabelul precedent, găsind și la a doua spălare tulpini de *S. flexneri*, *S. typhimurium* și ouă de *Ascaris* pe vegetalele studiate.

Concluzii

1. S-a confirmat că pentru legume și fructe, folosind loturi de aceeași greutate dar diferite ca număr, diferențele de suprafață pot avea valori statistic semnificative, ce influențează direct valorile indicatorilor bacteriologici. Nu este deci indiferent numărul (implicit suprafața) vegetalelor care alcătuiesc lotul de studiu, în cazul în care rezultatele privind încărcătura microbiană se relatează la greutatea probei.

2. Modul de spălare a probelor studiate influențează rezultatele determinărilor microbiologice.

3. Spălarea „uzuală” nu îndepărtează decît 50-60% a încărcăturii microbiene, găsindu-se și la a doua spălare tulpini de *Shigella*, *Salmonella* și ouă de helminți, precum și un număr ridicat de germeni saprofiti.

4. Standardizarea metodelor utilizate în scopul determinării încărcăturii microbiene a vegetalelor consumate proaspete și crude ar putea duce la uniformizarea rezultatelor, ceea ce ar elimina aceste neajunsuri.

Bibliografie

1. Ardelean I., Ionescu Gh., Mănescu S., Calciu Al.: *Igiena* (1968), 11, 641; 2. Fazakas B., Hancu Maria, Acs F.: *Activitatea Științifică a IDI Fil. Tg.-Mureș între anii 1949 și 1957*, Editura Medicală, București, 1957; 3. Garcia-Villanova Ruiz B., Cueto Espinar A., Bolanos Carmona M.J.: *Epidem. Infect.* (1987), 98, 3, 271; 4. Ieniștea C.: *Microbiologia alimentelor*, Editura Medicală, București, 1958; 5. Lupașcu G., Angela Sorescu, Panaitescu D., Angelescu C., Alice Hacıg, Paula Solomon: *Microbiologia* (1961), 5, 439; 6. Mănescu S., Rusu Maria, Calciu Al., Popa Mureș: *Igiena* (1974), 1, 43; 7. Nestor I.: *Igiena* (1964), 6, 561; 8. Nestor I., Vaida Verona, Sglimbea-Butnaru Maria: *Igiena* (1965), 3, 155; 9. Zamfir Gh.: *Igiena* (1966), 6, 329; 10. *** *Metode de analiză microbiologică și helmințologică a factorilor de mediu: apă, sol, alimente*. Inst. de Igienă și Sănătate Publică, București, 1987.

vers microbiology; vegetables; fruits; microbial load;
M. Péter, Mária G. Szatmári, A. Szölösi, L. Domokos, Evelyn Farkas

CONTRIBUTIONS TO THE IMPROVEMENT OF THE METHOD OF DETERMINATION OF MICROBIAL LOAD OF CERTAIN VEGETABLES AND FRUITS

Studying microbial load in vegetables and fruits, the authors have found that the methods for this purpose are not uniform and sufficiently accurate. Starting from these observations, they studied the correlation between the weight and surface of the samples, drawing the conclusion that between the surface of certain amounts of plants, with identical weight but varying in number, there is a significant difference ($p < 0.025$). The difference was maintained in the bacterial load, too / total number of bacteria in $37^{\circ}\text{C} / \text{cm}^3 = p < 0.05$, total coliform number / $\text{dm}^3 = p < 0.001$ /. Thus, it is essential that the microbial load is related to the weight or surface of the sample.

The manner of washing the plants influences the results, too. After common washing, the samples still had strains of *S. flexneri*, *S. typhimurium* and eggs of helminths.