

DIPLOMADOLGOZAT

Mészáros Péter Diplomadolgozat

Mészáros Péter

2024



**Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem
Budai Campus
Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet
Élelmiszerbiztonsági és -minőségi mérnöki -
mesterképzési szak**

**Ivópalackról izolált baktériumok biofilm képzése műanyag
felületen**

Belső konzulens: Taczmanné dr. Brückner Andrea
egyetemi docens

**Belső konzulens
intézete/tanszéke:** Élelmiszer -mikrobiológia, -
higiénia és -biztonság Tanszék

Készítette: Mészáros Péter

**Budapest
2024**

Tartalomjegyzék

1. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉSEK	3
1.1. Célkítűzés	4
2. SZAKIRODALMI ÁTTEKINTÉS	5
2.1 Biofilmek	5
2.1.1 Biofilmek szerkezete	5
2.1.2 Biofilmképződés lépései	7
2.2 Élelmiszeriparban kialakuló biofilmek	8
2.3 Biofilmek a háztartásokban	11
2.4 Élelmiszeriparban és a háztartásokban biofilm képződésnek kitett felületek	12
2.4.1 Rozsdamentes acél	12
2.4.2 Műanyag	13
2.4.3 PET felület	13
2.4.4 PP felület	14
2.5. Baktériumok azonosítása MALDI-TOF segítségével	14
2.6 Biofilmek eltávolítása a háztartásban	15
2.7 Palackozott víz fogyasztása hazánkban és a világon	16
2.8 Mycobacterium avium palackozott vízben	18
2.9 Palackok újbóli felhasználása a háztartásokban	19
2.10 Tisztítási módszerek háztartási víztároló edények esetében	20
2.11 Palackozott víz mikrobiológiája	21
2.12 Szájüregben előforduló mikrobák	22
2.12.1 Az emberi nyál	24
2.13 Kísérletek során vizsgált mikrobák jellemzése	24
2.13.1 <i>Klebsiella oxytoca</i>	24
2.13.2 <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	26
2.13.3 <i>Pseudomonas putida</i>	27

2.13.4 <i>Staphylococcus epidermidis</i>	28
2.13.5 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	29
3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK.....	30
3.1 A kísérletek során felhasznált mikroorganizmusok.....	30
3.2 Vizsgálatok során felhasznált tápközegek	30
3.3 Palackokból történő izolálás és azonosítás MALDI-TOF segítségével	30
3.4 A szájüregből származó baktériumok szaporodásának vizsgálata fém és műanyag lemezen.....	31
3.5 Szájüregből származó mikrobák szaporodása műanyag ivópalackban tárolt vízben és a palack belső felületén	32
3.6 Tisztított és újratöltött palackban történő biofilm képzés nyomonkövetése	33
4. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKEKELÉSÜK	35
4.1 Palackból izolált mikrobák MALDI TOF segítségével történő azonosítása	35
4.2 Biofilm detektálásának eredményei PP és rozsdamentes acéllemezeken.....	37
4.3 Biofilm detektálásának eredményei műanyag ivópalackokban tárolt vízben és a palackok belső felületén.....	40
4.3.1 Vizsgált baktériumok szaporodása PET és PP palackokban tárolt vízben	40
4.3.2 Vizsgált baktériumok szaporodása PET és PP palackok belső felületén.....	42
4.4 Tisztított és újratöltött palackban lévő <i>Pseudomonas aeruginosa</i> biofilm vizsgálata....	45
4.5 Különböző anyagok, közegek befolyásoló hatása a mikrobák szaporodására	46
5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK.....	48
6. ÖSSZEFOGLALÁS	51
7. IRODALOMJEGYZÉK.....	53
8. ÁBRA- ÉS TÁBLÁZATJEGYZÉK	61
9. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....	64

1. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉSEK

Testünknek körülbelül 50-70%-a víz. Naponta körülbelül 650 ml vizet iszunk meg és 750 ml víz kerül a szervezetünkbe az élelmiszerek által (Radó, 2011). Éppen ezért kiemelten fontos a megfelelő folyadék mennyiségnek a pótlása.

Az ivóvíz az a víz, amit csapvíznek is hív a köznyelv. Az ivóvíz minősége a magyar és európai jogszabályok által szigorúan szabályozott és az illetékes hatóság által ellenőrzött (Dávidovits, 2011).

A munkám témája a biofilm képződés vizsgálata különböző anyagú- rozsdamentes acél, műanyag (polietilén-tereftalát és polipropilén) - felületeken. Egyre nagyobb jelentősége van ezeknek a biofilmeknek, hiszen számos problémát okozhatnak- az iparban és a háztartásokban egyaránt.

Az élelmiszeripart tekintve berendezések meghibásodását okozhatja a kialakuló biofilm, ami költségeket von maga után vagy a termék minőségére is hatással lehet. Leggyakrabban sör- és tejipari üzemekben fordulhat elő, a csövekben lerakódó tápanyagokban a különböző baktériumok megtapadhatnak és biofilmet képezhetnek, ami a terméket képes befertőzni és alkalmatlanná teszi a fogyasztásra. Ennek elkerülése érdekében a gyárak különböző CIP rendszerekkel tisztítják a vezetékeket és igyekeznek olyan mosási rendszereket kidolgozni és alkalmazni, amely eltávolítja a kialakult biofilmeket.

A XXI. században nagy jelentősége van a környezettudatosságnak és ennek jegyében egyre több ember használ újratölthető kulacsokat, palackokat. Mindez okozhat egészségügyi problémát is abban az esetben, ha a palackok tisztítása nem megfelelő és a nyálból vagy a palackban tárolt folyadékból származó baktériumok megtelepednek és biofilmet képeznek a palackban.

A fogyasztók számára elérhető újratölthető palackok anyaga, valamint az üzemekben élelmiszerrel érintkező csővezetékek, tartályok anyaga gyakran rozsdamentes acél, vagy műanyag, ezért célszerűnek tartom a baktériumoknak ezeken az anyagokon való szaporodásukat vizsgálni. A baktériumok képesek a palackok belső falán is megtapadni és biofilmet képezni, ezzel nagyobb eséllyel életben maradni a tisztítások során. Felmerül a kérdés, hogy a különböző mosási technikák, milyen mértékben képesek eltávolítani a biofilmeket és amennyiben nem megfelelő a tisztítás meddig használhatjuk a palackokat, amíg nem okoz egészségügyi ártalmakat.

1.1. Célkitűzés

A vizsgálataim során fő célul tűztem ki magamnak, hogy megvizsgáljam, melyek lehetnek azok a mikroorganizmusok, amelyek jelen lehetnek az általunk használt ivóvizese palackokban, amelyek az emberi nyál által a palackba kerülnek és megtapadhatnak ott, ezzel biofilmet képezve.

Az irodalmi áttekintésben számba veszem, hogy milyen mértékben alkalmaznak az emberek újratölthető műanyag palackokat és azoknak a tisztítására is kitérek, valamint, hogy a háztartásokban és az élelmiszeriparban is milyen módon alakulnak ki biofilmek.

Célokat az alábbi részfeladatok elvégzésével terveztem megvalósítani:

- Használt műanyag palackokban jelen lévő kórokozók izolálása tamponos mintavétellel, majd pedig MALDI-TOF segítségével történő azonosítása.
- Az azonosított mikroorganizmusok közül négyet kiválasztva modellkísérletek végrehajtása PP (polipropilén) és rozsdamentes acéllemezekre, azt figyelve és nyomon követve, hogy a kiválasztott mikrobák milyen mértékben képesek elszaporodni és biofilmet képezni.
- PET (polietilén-tereftalát) és PP palackokban lévő steril csapvízbe a modell kísérlet során használt mikrobák beoltása és vizsgálata, hogy a hétköznapiakban általunk is alkalmazott palackokban, hogyan tudnak elszaporodni és biofilmet képezni.
- Háztartásokban alkalmazott tisztítás hatékonyságának ellenőrzése *Pseudomonas aeruginosa*-val beoltott ivópalackokban.

A fent leírt vizsgálatok eredményei alapján következtetéseket kívánok levonni arra vonatkozóan, hogy az ivópalackokba kerülő, szájból izolált mikrobák mennyire jelenthetnek potenciális kockázatot az emberi egészségre.

2. SZAKIRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1 Biofilmek

A biofilm mikroba sejteknek a halmaza, amely kéméletes öblítéssel nem távolítható el, azaz visszafordíthatatlanul rögzül egy felülethez és általában egy poliszacharid mátrixba van beágyazva. A biofilmek számos felületen megjelenhetnek, többek között élő szöveteken, orvosi eszközökön, valamint ipari és ivóvízrendszerek csöveiben (Donlan, 2002), azaz szinte minden felületen képesek a mikroorganizmusok megtapadni (López et al., 2010). Nagyon fontos a detektálásuk és eltávolításuk, hiszen gyakran nehezen kezelhető krónikus fertőzéseket képesek okozni (López et al., 2010).

A vizes közeg, illetve a felület közötti folyadék-szilárd határfelület biztosít ideális környezetet a mikroorganizmusok megtapadásához és növekedéséhez (Donlan, 2002). A biofilmek kialakulása több előnnyel járhat a baktériumközösségek számára. Egyrészt védelmet nyújt a protozoonok ellen, számos antimikrobiális szerrel szemben rezisztencia alakulhat ki, illetve nő a biofilmet alkotó mikrobák ellenálló képessége a környezeti stresszel szemben (López et al., 2010).

Mivel a baktérium sejtek egy korlátozott térben helyezkednek el, ezért a növekedési ütemüket ez is befolyásolja. Ez hasonlít a laboratóriumi körülmények között kialakuló stacioner fázishoz, ezért mondhatjuk, ezen szakasz során megváltoztatják a fiziológiájukat azzal, hogy a másodlagos metabolitokat (antibiotikumok és pigmentek) termelnek. Fontos ezeknek az anyagoknak a termelése, hiszen általuk gátolva van az ugyanott élő más szervezetek biofilmképződése (López et al., 2010).

2.1.1 Biofilmek szerkezete

A különböző fajok vagy ugyanazon faj különböző törzsei között is találunk különbséget a biofilmképződést szabályozó mechanizmusok között, de vannak általános jellemzők, amelyek megegyeznek. Ilyen például, hogy minden biofilm rendelkezik egy extracelluláris mátrixszal, ami sejteket tartja össze. A mátrix leggyakrabban egy poliszacharid biopolimerből és más komponensekből, például fehérjékből áll (López et al., 2010).

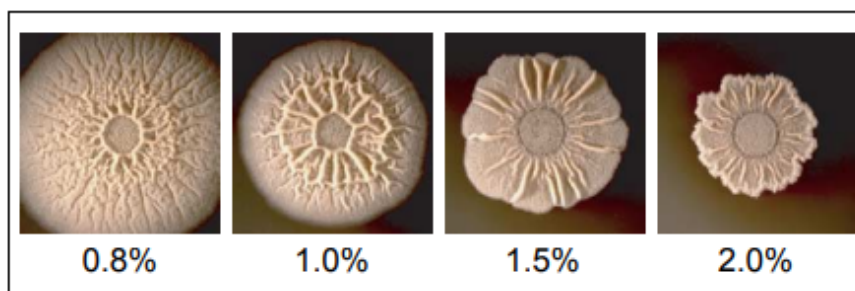
Maga az EPS a biofilm összes szerves széntartalmának körülbelül 50-90 %-át is kiteheti. Az EPS elsősorban poliszacharidokból áll, amely lehet semleges vagy polianionos. Az anionos tulajdonságot az uronsavak vagy pedig a ketálhoz kötött piruvátok jelenléte biztosítja. Fontos ez a tulajdonság, hiszen lehetővé teszi a kétértékű kationok, például a kalcium és magnézium

társulását, amelyek a polimer szálakkal térhálósodnak, ezzel biztosítva nagyobb kötőerőt a biofilmben (Donlan, 2002). A biofilm szerkezetének kialakításában az új kutatások szerint nagy jelentősége van az extracelluláris DNS-nek is, de ennek a vizsgálatáról még nem áll rendelkezésre elegendő információ, ezért a jövőben fontos szerepe lehet ennek a kutatásának (Branda et al., 2005). Az EPS fontos fizikai és kémiai tulajdonságai közé tartozik a mechanikai stabilitás, optikai tulajdonságok (felületek színe), víz megkötése, hőátadás-, hidraulikus-, sűrűlási ellenállás. Ez egy védőréteg, védelmet nyújt a kiszáradástól, mennyisége a korrall növekszik és elmondható róla, hogy nem egyenletes. A mátrix poliszacharidok befolyásolják a biofilm struktúráját és ion szelektivitását, de önmagukban nem mondhatók adhezinnak. Az adhezinként szolgáló poliszacharidok segítik a sejt-sejt, valamint a sejt-felszín közötti kapcsolódást, tulajdonságaikat tekintve többnyire bázikusak vagy semlegesek, például az *E. coli*, *Yersinia pestis* és *Bordetella* fajok által kialakított biofilm esetén. Több tanulmány is beszámolt arról, hogy vannak olyan mutánsok, amelyek nem képesek EPS-t szintetizálni és ezáltal nem képesek biofilmet képezni, de felületekhez képesek kötődni és korlátozott mértékben mikrokolóniákat tudnak alkotni (Sutherland, 2001).

A biofilmek elsődleges konformációját a poliszacharidok összetétele és szerkezete határozza meg. A másodlagos konfiguráció sokszor aggregált hélix formáját ölti. Ezen polimerek némelyikében 1,4- β vagy 1,3- β kötések eredményeznek jelentős merevséget, míg a poliszacharidokban lévő egyéb kötések rugalmasabb szerkezetet biztosítanak (Sutherland, 2001).

A biofilmek szerkezetének kialakításában nagy szerepet játszanak a környezeti paraméterek is. Branda és munkatársai (2005) tanulmányában egy *Bacillus subtilis* törzset vizsgáltak nagy sejtsűrűségben úgy, hogy különböző agar koncentrációjú (1. ábra) táptalajokra oltották. A biofilmekben való extracelluláris mátrixok univerzális jelenléte ellenére nyilvánvaló, hogy összetételükben rendkívül különbözőek lehetnek. Ez a különbség utalhat a kevert fajúságra egy biofilmen belül vagy azonos fajú biofilmek esetében különbözhet a szerkezet a környezet kismértékű változása által.

1. ábra: Biofilm szerkezet különböző agarkoncentráció esetén (Branda et al., 2005)



2.1.2 Biofilmképződés lépései

Számos kutatás folyt a biofilm kialakulására vonatkozóan, emellett genetikai vizsgálatok is segítettek meghatározni a biofilmképződés szakaszait. A kialakulás kezdetét a sejteknek egy határfelülettel vagy felülettel kialakuló, illetve az egymás között fellépő kölcsönhatás jellemzi. Mikor megfelelő mennyiségű sejt aggregálódott, az extracelluláris mátrix termelődése révén a biofilm elkezd érní és ez nagy mértékben hozzájárul a közösség végső szerkezetéhez (Branda et al., 2005). Úgy vélik, hogy a fejlődés egyes szakaszaiban lévő baktériumok fiziológiailag különböznek azoktól a sejtektől, amelyek más szakaszban vannak (Stoodley et al., 2002).

A biofilmképződésnek általában négy fő szakaszát különítik el:

- 1) Baktériumok felülethez való kötődése
- 2) Mikrokolónia képződés
- 3) Biofilm érése
- 4) Baktériumok leválása, amelyek később részt vesznek az új területek kolonizálásában.

Azok a baktériumok, amelyek a biofilmen belül már helyhez kötött állapotban fordulnak elő (sessilis baktériumok), stacionárius vagy nyugalmi növekedési fázisban vannak és eltérő fenotípusokat mutatnak a planktonikus baktériumokhoz képest (Crouzet et al., 2014).

A differenciálódási folyamatot, amely során a tapadó baktériumok kisebb csoportjait mátrixba zárt biofilm közösséggé alakítja át egy kolonizált felületen, több szakaszból áll és nem csupán morfológiai változásokból, ahogy kezdetben gondolták, hanem sokkal komplexebb jelátviteli mechanizmusok sorozata. Az adherens sejteket, amelyek kezdeményezik a biofilmképződést, csak kisebb mennyiségű exopolimer anyag veszi körül és közülük többen képesek önálló mozgásra a pilusok segítségével. Közülük többen elhagyhatják a felületet és folytatják a planktonikus életmódot. Ez a szakasz a reverzibilis adhézio, amely során a baktériumok fajspecifikus viselkedést mutatnak (ideértve az aggregátumképződést) (Stoodley et al., 2002).

Pseudomonas és *Moraxella* fajok esetében jellemző a felülethez kötött csúszó mozgás egyik módja a IV-es típusú pilusok segítségével történő bukfencező mozgás. Ehhez egy 6 nm átmérőjű pilust alkalmaznak, amely a sejt egyik oldalán található meg. A mozgás közben a pilus megnyúlik, majd a disztális vége a szilárd felülethez tapad és utána a pilus összehúzódása rántja magával a baktérium sejtet (Kériné és munkatársai, 2013).

Ezt követően a sejtek exopoliszacharidot választanak ki és irreverzibilisen adhéziót folytatnak.

A következő fázis a biofilm érése, amikor is összetett szerkezet alakul ki, csatornák és pórusok keletkeznek. Ez a szervezett struktúra lehet például sima vagy gomba alakú. Az érett biofilm eltávolítására mechanikai hatás, hosszú behatási idővel rendelkező kémiai szerek, valamint magas hőmérséklet alkalmazása szükséges (Stoodley et al., 2002).

Az utolsó fázis a leválás, ami egy általános kifejezés, a sejtek biofilmről vagy pedig szubsztrátumról való felszabadulását jelenti. Az aktív leválás egy fiziológiailag szabályozott esemény. Maga a leválás lehet hámlás, horzsolódás vagy erózió. Hámlás során a biofilm struktúra nagy részének látszólagos, véletlen elvesztése történik, horzsolódásnál külső részecskékkel történő ütközés hatására a sejtek leválnak, és erózió esetében pedig a sejtsomók folyamatos elvesztése történik fizikai erők hatására. A levált sejtek feltehetően a planktonikus növekedési módhoz térnek vissza, ezzel lezárva a biofilm fejlődési életciklusát (Stoodley et al., 2002).

2.2 Élelmiszeriparban kialakuló biofilmek

A múltban a biofilmek kialakulásának vizsgálata leginkább a különböző vízrendszerekre, szennyvíz kezelő rendszerekre, illetve a fogászati lepedékekkel kapcsolatos kutatásokra fókuszált, azonban az utóbbi években egyre nagyobb figyelmet kapott az élelmiszeriparban kialakuló biofilmek vizsgálata, amelyek károsak lehetnek az emberi egészségre nézve (Trachoo, 2003).

A baktériumok, amennyiben felületekhez vagy élelmiszerekhez tapadnak, súlyos higiéniai problémákat okozhatnak és ez gazdasági veszteséghez is vezethet az élelmiszer romlása miatt. Több élelmiszeripari cég is írt már jelentést olyan élelmiszer eredetű kórokozóról, amely a felületeken megtapadt és betegséget okozott. Ilyen például a *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter jejuni* és az *Escherichia coli* (Kumar és Anand, 1998). A biofilmben jelenlévő kórokozók azért is jelenthetnek nagyobb veszélyt, mert a vízi környezetben szuszpendált mikroorganizmusokhoz kevésbé hasonlítanak, sokkal ellenállóbbak például a mikrobiális inaktiválással szemben, beleértve az élelmiszer-tartósítási módszereket is (Trachoo, 2003). Ilyen módon forrásai lehetnek az élelmiszerek keresztszennyeződésének, ezáltal az élelmiszerek biztonságát és minőségét képes veszélyeztetni (Olanbiwoninu és Popoola, 2023).

Az élelmiszeripari üzemekben számos felületen megjelenhetnek, beleértve a műanyagot, üveget, fémeket, fát és az élelmiszeripari termékeket. Így a berendezések károsodhatnak, termékek szennyeződhetnek, ezzel veszélyeztetve az élelmiszer-biztonságot

(Trachoo, 2003). A biofilmek gyakori előfordulási helye a szennyvízcsövek, csőhajlatok, padlók, szállítószalagok és a rozsdamentes acél felületek (Kumar és Anand, 1998).

Az élelmiszerben előforduló baktériumok esetenként patogén mikrobákkal közösen is kialakíthatnak biofilmet. Ilyen jellegű szimbiotikus kölcsönhatást több esetben is észlelték olyan élelmiszer-eredetű bakteriális kórokozók esetében, amelyek önmagukban rossz biofilmképzők. Olyan baktériumokhoz kapcsolódtak, amelyek nagyon erős biofilm képző tulajdonsággal rendelkeznek és ezáltal az élelmiszerrel érintkező berendezésekhez vagy anyagokhoz tudtak tapadni. Az iparban számos negatív hatása lehet a biofilmeknek, amiket akár meg is lehet előzni a megfelelő kezelésekkel (Olanbiwoninu és Popoola, 2023).

Sandu és Singh (1991) volt az, akik felismerték, hogy a biofilmek következtében a folyadékkezelő rendszerek mechanikai eltömődése, illetve a hőátadás károsodása is bekövetkezhet, de a fémfelületek korrózióját is ennek a jelenségnek tulajdonították.

Fontos befolyásoló paraméter az élelmiszermátrix összetétele. A komponensei befolyásolják az élelmiszer-feldolgozási környezetben a baktériumok megtapadását, például az élelmiszer-hulladék, mint a fehérjékben, zsírokban és szénhidrátokban dúsított tej- és húsváladékok hozzájárulnak a mikroorganizmusok növekedéséhez és szaporodásához (Carrascosa et al., 2021).

A baktériumok megtapadásának sebességében kulcsszerepet játszik a szubsztrátum kondicionálása. Magát a szubsztrátumot szerves molekulákból, például sertéshúsból, marhahúsból, tejből, valamint a baktériumok által termelt EPS-ből származó fehérjékből álló biofilm boríthatja (Shi és Zhu, 2009).

A modern élelmiszerfeldolgozó-sorok ideális környezetet biztosítanak a mikroorganizmusok számára, hogy biofilmet képezzenek, ami elsősorban a gyártó üzemek összetettségének és a hosszú gyártási periódusoknak köszönhető (Carrascosa et al., 2021). Az élelmiszeriparnak egyre nagyobb kihívást jelent a biofilmek eltávolítása, mivel egyre ellenállóbbá váltak a fertőtlenítőszerrel szemben. Kiemelt jelentőségű ez a probléma az iparban a tenger gyümölcseinek feldolgozása, a sörfőzés, valamint a tejtermékek-, hús-, és baromfifeldolgozása terén (Carrascosa et al., 2021).

A 2. ábra foglalja össze azokat a kórokozó mikrobákat, amelyek az élelmiszeriparban gyári környezetben biofilm képzőként előfordulnak (Carrascosa et al., 2021).

2. ábra: Gyakori biofilmképző fajok (Carrascosa et al., 2021)

Kórokozó	Jellemzők	Szennyezett élelmiszer	Példák a káros romlási hatásokra
<i>Bacillus cereus</i>	Gram-pozitív, spóráképző, anaerob, fakultatív anaerob	tejtermékek, rizs, zöldségek, hús	hasmenés és hányás tünetei
<i>Campylobacter jejuni</i>	Gram-negatív, aerob és anaerob	állatok, baromfi, pasztörözött tej	véres hasmenés, láz, gyomorgörcs, hányinger és hányás
<i>Escherichia coli</i>	Gram-negatív, rúd alakú	nyers tej, friss hús, gyümölcs és zöldség	hasmenés kitörése és hemolitikus urémiás szindróma
<i>Listeria monocytogenes</i>	Gram-pozitív, rúd alakú, fakultatív anaerob	tejtermékek, hús, fogyasztásra kész termékek, gyümölcs, lágy sajtok, fagylalt, pasztörözetlen tej, kandírozott alma, fagyasztott zöldségek, baromfi	listeriosis időseknél, terhes nőknél és immunhiányos betegeknél
<i>Salmonella Enterica</i>	Gram-negatív, rúd alakú, flagellate, fakultatív aerob	Baromfihús, szarvasmarha, juh, sertés, hal	gastroenteritist vagy vérmérgezést okozhat
<i>Staphylococcus aureus</i>	Gram-pozitív, nem spóráképző, nem mozgó, fakultatív anaerob	húskészítmények, baromfi, tojástermékek, tejtermékek, saláták, pékáruk, különösen tejszínnel töltött sütemények és sütemények, valamint szendvics töltelékek	meticillin rezisztencia, hányást és hasmenést okozhat
<i>Pseudomonas spp.</i>	pszichrotrof, mozgékony, Gram-negatív rúd alakú	gyümölcsök, zöldségek, húsfelületek és alacsony savtartalmú tejtermékek	kék elszíneződést okoz a friss sajtokon.
<i>Geobacillus stearothermophilus</i>	termofil, Gram-pozitív, spóráképző, aerob vagy fakultatív anaerob	szárított tejtermékek	savak vagy enzimek termelése, amelyek mellékízékekhez vezetnek
<i>Anoxybacillus flavithermus</i>	termofil organizmus, Gram-pozitív, spóráképző, fakultatív anaerob, nem patogén	szárított tejpor	a rossz higiénia jelzője
<i>Pectinatus spp.</i>	Gram-negatív, nem spóráképző, anaerob	sör és sörfőzde környezet	A gyors sejtnövekedés zavarossá teszi a sört, és rohadt tojásszagú lesz a kénvegyületek termelése miatt

Számos káros technológiai hatása lehet a biofilmeknek, amelyekre az élelmiszeriparnak oda kell figyelnie. Ivóvízelosztó rendszerekben a víz sebességének és szállítóképességének csökkenéséhez vezethet, valamint a csövek eltömődhetnek, energiafelhasználás növekedhet és csökkenhet a működési hatékonyság. Ezekben az esetekben a magas klórkoncentráció ellenére is kialakulhat a biofilm. Gyakori lehet hőcserélő berendezésekben és hűtőtornyokban is. Ezekben az esetekben csökkenhet a hőátadás és működési hatékonyság is. Szűrőberendezések esetében a membránok permeabilitása csökkenhet. Ezek a berendezések az élelmiszeripar számos területén jelen vannak, de legnagyobb mértékben tej- és söriparban okozhatnak problémát (Kumar és Anand, 1998). Vízenszterek biofilmje eléggé összetett, tartalmazhat korróziós termékeket, agyagot, fonalas baktériumokat (Donlan, 2002).

Néhány pozitív tulajdonságot is fontos megemlíteni, hiszen vannak olyan jótékony hatású mikroorganizmusok, amelyek által létrejött biofilmek előnyösek is lehetnek. Például a fermentált élelmiszerek minőségének és hozamának javítására is képesek vagy pedig a biotechnológiai alkalmazások előmozdítására használják, aminek a középpontjában az élelmiszerek minőségének és biztonságának javítása áll (Olanbiwoninu és Popoola, 2023).

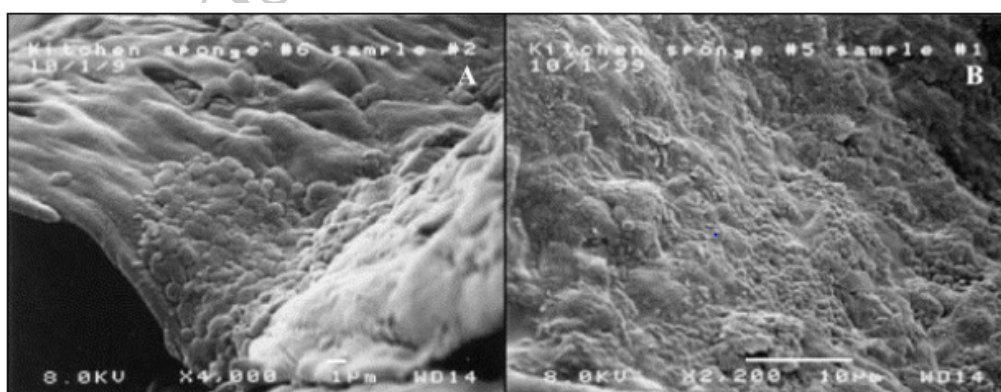
2.3 Biofilmek a háztartásokban

A biofilmek kialakulása nem csak az iparban fordulhat elő, hanem egyre nagyobb jelentősége van a háztartásokon belül is. Számos szakirodalmi forrás számol be arról, hogy az élelmiszer-feldolgozó felületek támogatják számos mikroorganizmus növekedését és ezáltal szennyezhetik a készterméket. Azonban ez a fajta élelmiszer -szennyezés nem csak a nagyobb gyárakra korlátozódik, hanem jelen van a háztartásokban is (Rayner et al., 2004)

Ha a fogyasztókat megkérdezik az élelmiszerek mikrobiológiai veszélyeiről, akkor többnyire a hús- és baromfifélékre összpontosítanak, amelyekben káros baktériumok lehetnek jelen, azonban rendkívül fontosak az egyéb, például konyhai felületek, valamint az ott használt eszközök felületei. A kórokozók lerakódhatnak többek között vágódeszkák, háztartási szivacsok, mosogatórongyok és pultlapok felületén is. Ideális élőhely a kórokozók számára a konyhai szivacsok, amelyekkel többször is ki vannak téve tápanyagoknak és nedvességnek és ezekkel a szivacsokkal történhet az edények, palackok tisztítása, ezzel beszenyezve őket (Rayner et al., 2004).

Rayner és munkatársai (2004) több konyhai eszközön vizsgálták a biofilm képződést, többek között konyhai szivacson is. Összesen 14 használt szivacsot vizsgáltak és mindegyik esetben kimutatták baktériumok, valamint, egyes esetekben gombák növekedését is a felszínükön. Az EPS anyag jelen volt és el is fedte bizonyos esetekben az alatta lévő sejtek morfológiáját (3. ábra). Különböző mikrokolónia morfológiákat azonosítottak, ami eltérő baktériumfajok jelenlétére utalt.

3. ábra: Használt konyhai mosogatószivacs CSEM (cryostage scanning electron microscopy) képe (Rayner et al., 2004)



2.4 Élelmiszeriparban és a háztartásokban biofilm képződésnek kitett felületek

Az élelmiszer-iparban számos anyagot felhasználhatnak a különböző berendezések esetében. A feldolgozó környezet lehet fa, üveg, rozsdamentes acél, gumi, polietilén, polipropilén stb. Ezek mesterséges szubsztrátumként funkcionálnak a kórokozóknak (Carrascosa et al., 2021).

Az élelmiszer-iparban felhasznált berendezések szilárd felületeinek fizikai tulajdonságai nagy befolyással bírnak a biofilm kialakulására, mivel ezek a tulajdonságok a kezdeti sejtkötődést képesek befolyásolni (Shi és Zhu, 2009). Bryers (1987) megállapította, hogy a bakteriális kötődés nagy mértékben függ a szilárd felületek kritikus felületi feszültségétől. A felület nedvessége és a magas szabadenergiája elősegíti a baktériumok tapadását.

Általánosságban elmondható, hogy a sejtek többsége hidrofíl felületekhez (üveg, rozsdamentes acél) szívesebben kötődik, mint hidrofób felületekhez (Buna-N gumi, műanyagok) (Shi és Zhu, 2009). Ezzel ellentétben Baker (1984) a vizsgálatai során hidrofíl üveglemezek és polisztirol Petri lemezek között nem talált különbséget a baktérium sejtek adhéziójában.

A baktériumok rendkívüli sokféleségének köszönhető, hogy különböző felületekhez képesek tapadni. A bakteriális sejtfelszínnek lehetnek hidrofílek, akár az üveg, míg vannak olyan törzsek, amelyek sejtfelszíne hidrofób, akár a viasz (Bos et al., 2000).

Mivel a tejiparban nagy valószínűséggel ki tud alakulni biofilm ezért ott több kutatást is végeztek és kimutatták, hogy azok a felületek, amelyek a tejjel érintkeznek, például a rozsdamentes acél és a teflon, képesek a tejfehérjéket vonzani és kondicionált szubsztrátumot képezni, amely elősegítheti vagy akár gátolhatja is a baktériumok megtapadását (Shi és Zhu, 2009).

Egyre nagyobb az érdeklődés az élelmiszer-iparban az olyan ideális felületek iránt, amelyen kisebb mértékben képződik biofilm. A kutatások során azt a következtetést vonták le, hogy a hidrofíl acél és a hidrofób PVC felületek felületi karakterisztikájának különbsége nem befolyásolja a biofilmek kialakulását (Pedersen, 1990).

2.4.1 Rozsdamentes acél

Korábban az iparban és háztartásokban réz- és horganyzott acélcsöveket alkalmaztak, azonban a rézcső meghibásodása gyakori volt a korrózió miatt, illetve a kutatók számos olyan mikrobát találtak, amelyek rezisztensek vagy toleránsak lettek a rézionokkal szemben,

különösen, ha biofilmben szaporodnak. Alternatívaként. a rozsdamentes acélt alkalmazzák már gyakrabban (Percival et al., 1998).

A rozsdamentes acélnak több fajtája is ismert, alapvetően olyan ötvöztött acélok, amelyek a vason kívül krómot, nikkelt, molibdént is tartalmaznak. Legszélesebb körben a 304 és 304L típusokat alkalmazzák (Percival et al., 1998).

Az élelmiszeriparban is talán a leggyakrabban alkalmazott anyag a 304-es típusú rozsdamentes acél. Rendkívül korrózió álló a feldolgozás során a különböző hőmérsékleten, könnyen tisztítható és kémiaiilag inert. Azonban a folyamatos tisztítás következtében a felületén kisebb rések és repedések jelenhetnek meg, amelyek képesek megvédeni a baktériumokat a fertőtlenítő kezelésektől, valamint a mechanikai tisztítási módszerektől (Carrascosa et al., 2021).

2.4.2 Műanyag

Mielőtt a műanyag felületen biofilm alakulna ki, a nedvesítés után glikoproteinekből, lipidekből, nukleinsavakból álló kondicionáló film jön létre a vizes fázisban lévő molekulák által. A kondicionáló filmek megváltoztatják a felületi feszültséget, töltéssűrűséget és érdességet, ami később a kolonizációban nagy szerepet játszik (Bhagwat et al., 2021).

Az iparban gyakran használt anyag a teflon és a műanyag. Leggyakrabban műszerek tömítéseihez és tartozékaikhoz használják fel. A folyamatos újbóli felhasználásnak köszönhetően a felületeik megrepednek, érdessé válnak és benne a baktériumok könnyen megtapadnak, ezáltal védve vannak az élelmiszerfolyadékban lévő nyíróerőktől (Shi és Zhu, 2009).

A felületi érdesség növekedést korábban már összefüggésbe hozták a mikrobák fokozott megtapadásával, például műanyagok (polimetil-metakrilát és a polivinil-klorid) esetében. Korábbi vizsgálatok alapján a műanyag flakonokban nagyobb számban találtak baktériumokat, mint üvegben és ez a műanyagok nagyobb felületi érdességéből fakadhat. Ezeknek a durva felületeknek köszönhetően növekszik a baktériumok adhéziója. (Jones et al., 1999).

2.4.3 PET felület

A PET (polietilén-tereftalát) egy hőre lágyuló polimer, ezért magas hőmérsékleten újra feldolgozható. Könnyen újrahasznosítható, ezért a palackgyártó ipar ezt a specifikus polimert alkalmazza. Az italgyártásban való alkalmazása Nathaniel C. Wyeth, amerikai mérnök nevéhez

köthető, az ő ötlete volt a nyomás alatti folyadékok biaxiálisan orientált PET fűvott palackba való tárolása (Nisticò, 2020).

Sok műanyagot, ahogy a vizespalackokhoz alkalmazott PET-et is fizikailag és kémiaiilag is tartósra terveztek, aminek része a mikrobiális rezisztencia. Egy tanulmány éppen ezért a baktériumok azon képességét vizsgálta, amellyel képesek a PET felületén megtapadni. Mivel globális szinten a tengerben lévő műanyagoknak nagyobb visszhangja van, ezért tengervízvet vettek mintaként és a benne lévő baktériumok műanyaghoz való tapadását vizsgálták. A biofilmeket a felületről gyenge mosószeres mosással és öblítéssel távolították el a felületről, majd pásztázószondás mikroszkóppal vizsgálták. Arra az eredményre jutottak, hogy 6 hónap elteltével az eredeti tengervíz-mintában a heterotróf baktériumok száma szignifikánsan csökkent, míg a PET műanyag felületéhez bakteriális kötődés történt (Webb et al., 2009).

2.4.4 PP felület

A PP-t (polipropilén) 1954-ben fedezték fel és meglehetően gyorsan ismertté vált, mivel a műanyagok között neki van a legalacsonyabb sűrűséggel bír és kiváló vegyszerállósággal rendelkezik. Propilénből katalitikusan előállított polimer, ezért egyik előnye a magas hőmérséklet állóság. Tálcaikat, vödröket és palackokat készítenek belőle (Maddah, 2016). Libuchi és munkatársai (2010) *Salmonella* túlélését és biofilm képző képességét vizsgálták PP felületen. Olyan *Salmonella* törzseket választottak, amelyek magas, illetve alacsony biofilm képző képességgel rendelkeznek, polipropilén korongokon tenyésztették 30 napig, majd a polipropilén lemezekre tapadt baktériumokat kristályibolyával megfestették. A sejtkoncentrációk lassabban csökkentek a biofilm képző törzsekben, mint a biofilm hiányos törzsekben, de 30 napig életképesek voltak a PP felületen.

2.5. Baktériumok azonosítása MALDI-TOF segítségével

A MALDI-TOF-MS a baktériumok rutinszerű azonosítására alkalmazott új technológia. Mivel a fehérjék széles spektrumát képes érzékelni, ezért képes megkülönböztetni a közeli rokon fajokat és az organizmusokat fajszerinten osztályozni. Sokszor nem csak fajszerinten, hanem alfajok és törzsek szerintjén is képes a mikroorganizmusokat azonosítani. Ezen kívül alkalmazható még bizonyos antibiotikum-rezisztencia és néhány bakteriális toxin kimutatására. Az adatbázisok folyamatosan frissülnek a mérések számának növekedésével és a legtöbb baktériumfajt képes azonosítani (Biswas és Rolain, 2013).

2.6 Biofilmek eltávolítása a háztartásban

A biofilmek eltávolítása komoly problémákat okozhat, hiszen a biofilm-mikrobák fokozottabb védelmet mutatnak megannyi stresszorral szemben a szabadon úszó planktonikus társaikhoz képest. Ivóvízben található biofilmek esetében ilyen stressz források lehetnek a fertőtlenítőszer, nyíró feszültség és a termikus stressz. A fokozott ellenálló képesség a biofilmekben belül részben a baktériumok által termelt EPS- mátrixnak köszönhető, amely képes megkötni és tárolni vegyületeket, beleértve a tápanyagokat is, amelyek táplálékot biztosítanak éhezés idején. Az EPS-mátrix megkötni és inaktiválni is képes bizonyos fertőtlenítőszereket, többek között a klórt és a klór-aminokat (Liu et al., 2016). Azonban fontos megemlíteni, hogy a biofilmek eltávolítása egyre nagyobb nehézséget okoz, aminek az egyik oka az antimikrobás szerekkel szembeni rezisztencia, a másik pedig az EPS felülethez való nagyon erős tapadása. Abban az esetben, ha nem megfelelő a fertőtlenítőszer hatékonysága és nem volt megfelelő a tisztító eljárás és az elhalt sejtek, valamint az EPS a felületeken marad megfelelő táptalajt biztosít a planktonikus sejteknek és könnyen hozzá is tapadnak. Így egy újabb biofilm képes könnyen létrejönni. Ha a hatékonyság nem megfelelő, úgy egy vékony réteg biofilm marad a felszínen és az elő, de nem tenyészthető sejtek idővel képesek lehetnek regenerálódni, majd egy újabb biofilm réteg kezdhet képződni, ami ezúttal rezisztens lehet az adott kémiai szerrel szemben (Pap, 2011).

Alapvetően a kémiai fertőtlenítőszereket, amelyeket az élelmiszer-iparban és az otthonainkban alkalmazunk a hatásmechanizmusuk alapján több csoportba tudjuk osztani. Egyik ilyen csoport az oxidálószer (klór alapú vegyületek, hidrogén-peroxid, ózon), felületaktív vegyületek (kvaterner ammónium vegyületek, savas anionos vegyületek) és a jodofórok. A fertőtlenítés hatékonyságát többek között befolyásolja a pH, hőmérséklet, koncentráció, érintkezési idő, zavaró szerves anyagok. Ebből kifolyólag a tisztítószereket, például a mosogatószeret és enzimeket gyakran kombinálják fertőtlenítőszerekkel a hatékonyság növelése érdekében (Van Houdt és Michiels, 2010).

Az otthonunkban különböző tároló edényekben, palackokban tarthatunk vizet és tölthetjük újra őket minden nap. Számos kutatás volt, ami már rámutatott a biztonságos víztárolás fontosságára, hiszen, ha nem megfelelő a tárolás, úgy kockázati tényező lehet. Általánosan alkalmazott víztárolási beavatkozás a klórtabletták alkalmazása a háztartási kancsók esetében (String et al., 2021).

String és munkatársai (2021) ezt vizsgálták, amikor 72 db 5 literes műanyag kancsóban *E. coli*-t tartalmazó vizet inkubáltak 10 hétig, majd klórral és NaOCl-dal rendszeresen

tisztították. A klór hatékonyan képes inaktiválni a legtöbb bakteriális és vírusos kórokozót. Eredményként azt tapasztalták, hogy a klóros vízkezelés és a NaOCl-os tisztítás szignifikánsan gátolta a biofilm növekedését.

Egy 2010-ben, Brazíliában végzett kutatásban vizsgálták a *Salmonella enteritidis*, *Pseudomonas fluorescens* és a *Staphylococcus aureus* eltávolításának hatékonyságát. Öblítéssel és fertőtlenítéssel (kvaterner ammónium vegyület, perecetsav, nátrium-hipoklorit) dolgoztak háztartási konyhai felületeken. Mivel ebben az országban a háztartási konyhák és a kisüzemi élelmiszeripari cégek gránitot alkalmaznak ezért a kísérletben is azt alkalmazták, valamint rozsdamentes acélt. Azt tapasztalták, hogy a fertőtlenítő eljárások hatékonysága nem különbözött a felületek között, azonban szignifikáns különbség volt a fertőtlenítő oldatok között. A kvaterner ammónium vegyületnél baktericidebb volt a nátrium-hipoklorit és a perecetsav is és a vizsgált mikrobák közül a *S. aureus* volt a legkevésbé ellenálló a fertőtlenítőszerekkel szemben (Silva et al., 2010).

2.7 Palackozott víz fogyasztása hazánkban és a világon

Már az 1900-as évek elejétől kezdve egyre nagyobb érdeklődés mutatkozott a fogyasztók részéről az ivóvíz biztosítása, valamint a csapvíz lehetséges alternatívái iránt. A palackozott víz iránti kereslet az elmúlt két évtizedben nagy mértékben megemelkedett és ez a tendencia az egész világon megfigyelhető, de országonként eltérő. Az 1997-2004 közötti években az egy főre jutó palackozott víz fogyasztása évente Új-Zélandon 20%-kal növekedett, a kelet európai országokban 13%-kal nőtt és az USA-ban, valamint Nyugat-Európában ez az arány évente körülbelül 6% volt. A palackozott víz jelentős hányada (világszerte 40-60%) csomagolt vízből áll, amelyet egyes esetekben újból feldolgoztak, mégis az emberek hajlandóak többet fizetni a palackozott vizekért, aminek az oka az lehet, hogy bizonyos esetekben jobb minőségűek lehetnek, mint a csapvíz (Doria, 2006).

Maga a palackozott víz az élelmiszer- és italipar egyik legdinamikusabb piaca. A „palackozott víz” kifejezés nem egyetlen termékre utal és ugyanaz a termék különböző árukat minősíthet a gyártó országtól függően.

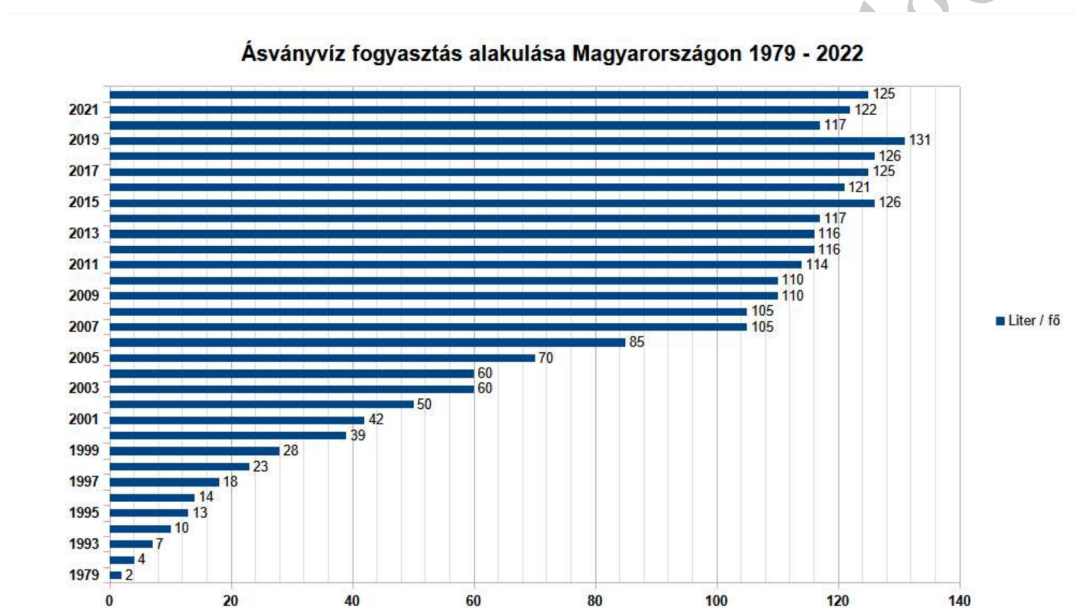
Három fő típusát különböztethetjük meg a palackozott víznek:

- Természetes ásványvíz: az EU-ban egy speciális, szigorú kritériumoknak alávetett termék. Egészséges földalatti, csendes vagy szénsavas víz, amely védett a szennyezés veszélyeivel szemben és amelyet állandó ásványi anyag- és nyomelemtartalom jellemez.

- Forrásvíz: Szennyezés veszélyeitől védett földalatti víz, semmilyen módon nem szabad kezelni, de nem kell állandó ásványi összetételűnek lennie.
- Tisztított víz: Felszíni vagy felszín alatti víz, amelyet kezeltek, hogy emberi fogyasztásra alkalmassá tegyenek (Ferrier, 2001).

Hazánkban az ásványvíz fogyasztásának mértéke rendkívül alacsony volt, kilencvenes évek elején is az egy főre jutó fogyasztás 7 liter/fő/év volt (4. ábra). Majd a kilencvenes évek közepén növekedés indult és 2019-ben elértük a 130 liter/fő/év mennyiséget. Az emelkedés egyik lehetséges oka, hogy az emberek egyre tudatosabbak az egészséges táplálkozást illetően és ezzel mindennapi fogyasztási cikké vált (Internet 1.).

4. ábra: Ásványvíz fogyasztása Magyarországon (Internet 1.)

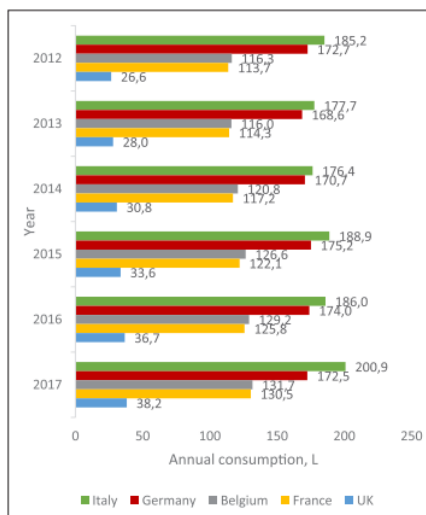


Európában a palackozott víz fogyasztásának régi hagyománya van, a csapvíz alternatívája és a fogyasztók is úgy gondolják, hogy jobb íze van, nincs klóros íze. A palackozott vizet tisztának és biztonságosnak tartják, bár nem feltétlenül van így, valamint egészséges alternatívája is lehet más italoknak. A műanyag (PET és PVC) használata könnyebbé, illetve könnyebben szállíthatóvá teszi a palackokat, ezért is került háttérbe az üveg használata (Ferrier, 2001).

Az utóbbi időben végzett kutatások is azt mutatják, hogy a palackozott ásvány- és forrásvíz iránti kereslet folyamatosan növekszik, ami főként az egészséges életmódra való törekvésnek köszönhető, amivel az emberek csökkentik a cukrok, mesterséges színezékek, aromák és tartósítószeres bevitelét. Európát tekintve Ukrajnában több ásványvíz forrás található, mint Nyugat-Európában, illetve a csapvíz minősége is rosszabb, ezért ott a palackozott víz fogyasztása is sokkal nagyobb mértékű. Egy 2020 február-márciusában végzett

felmérésben a vezető európai országok palackozott víz fogyasztói piacainak összehasonlítását végezték el (5. ábra). A felmérés szerint 2012-től kezdve 2017-ig Olaszországban és Németországban volt a legnagyobb az egy főre jutó palackozott víz fogyasztása évente (Vasiutkina és Lazebnyk, 2020).

5. ábra: Palackozott víz fogyasztása néhány EU országban (Vasiutkina és Lazebnyk 2020)



2.8 *Mycobacterium avium* palackozott vízben

A *Mycobacterium avium* egy fontos opportunista kórokozó, amely előfordulhat természetes és települési vízrendszerekben. Lassan növekvő baktérium, táptalajon való növekedéséhez több, mint 7 nap szükséges. A mikroba immunhiányos betegek esetén okozhat a nyirokcsomókat, lépet, májat, tüdőt érintő megbetegedést. Feltételezhetően a víz közvetítő közege lehet a fertőzésnek, tekintve, hogy már megtalálták folyókban, patakokban és ivóvízelosztó rendszerekben. Palackozott vízben történő vizsgálatát Holtzman és munkatársai (1997), valamint Covert és munkatársai (1999) végezték el, azonban a vizsgálataik során nem mutattak ki mikobaktériumokat. Ezzel szemben Caroli és munkatársai (1985) 2-3 CFU l⁻¹ és Papapetropoulou és munkatársai (1997) 1-10³ CFU l⁻¹ érték között mutattak ki 150 palackozott vízből 23 db esetében. Epidemiológiai bizonyítékot nem találtak arra vonatkozóan, hogy a palackozott víz hordozóként szolgálna a mikobakteriális szennyeződésekhez (Tatchou et al., 2009).

Mégis azt már sikerült kimutatni, hogy a *Mycobacterium avium* más baktériumokhoz hasonlóan képes a felületeket kolonizálni és biofilmet képezni az ivóvízelosztó rendszerekben. Az abiotikus felületekhez való tapadás képessége a sejtburkának külső rétegében található glikopeptidolipideknek köszönhető. PET palackokon történő vizsgálata során azt tapasztalták, hogy a *Mycobacterium avium* sejtek megtapadtak a palack falán és a PET falán lévő

baktériumok aránya a vízhez képest 0.76% volt körülbelül egy órával a palackok beoltása után. A PET falhoz való tapadását hatékonyabbnak találták, mint a *Campylobacter jejuni* tapadását, ami egy hidrofíl, Gram-negatív baktérium (Tatchou et al., 2009).

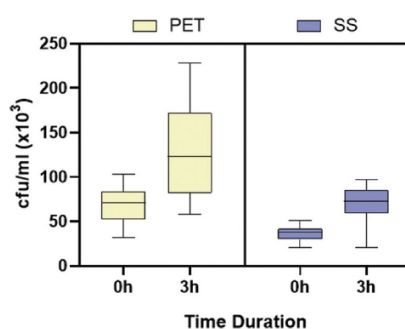
2.9 Palackok újbóli felhasználása a háztartásokban

A palackozott vizet a környezetre gyakorolt hatásai, valamint magas árai miatt sok kritika éri. Az előállítási folyamatát szintén gyakran éri kritika, mivel a vízkitermelés, a vízfeldolgozás, a palackozás, valamint a szállítás során jelentős mennyiségű energiát használnak fel a gyártók. Fontos megemlíteni, hogy az üres palackok által termelt hulladékok is komoly problémát jelentenek. A nagyobb vállalatok is észrevették, hogy milyen fontos a fogyasztók számára a környezettudatosság, ezért törekednek arra, hogy ennek az igénynek eleget tudjanak tenni. A hulladékok mennyiségének csökkentése érdekében megjelenő új tendencia a palackok súlyának és méretének csökkentése, valamint alternatív, biológiailag lebomló anyagok felhasználása a palackok előállítása során (Rani et al., 2012). A világon Kínában a legnagyobb mértékű a PET palack felhasználás (2010-ben 3,2 millió tonna) - ugyanakkor az újrahasznosítás aránya is ebben az országban az egyik legjelentősebb - közel 100%, ami magasabb, mint más országokban (Zhang és Wen, 2014).

Környezetvédelmi szempontok érvényesülnek abban az esetben is, ha a PVC-t helyettesítik PET-tel, mivel a PET palack a PVC-vel ellentétben átlátszó és könnyen megmunkálható és az égetésekor nem bocsát ki a levegőbe klórt. Számos környezeti hatás (kiemelten a túlzott energia fogyasztást) mérsékelhető, a PET- és alumínium csomagolásokat mosással és újra töltéssel, nem pedig újbóli feldolgozással használják fel (Ferrier, 2001).

A vizespalackok tipikus kiegészítőivé váltak az embereknek a mindennapi használat során. Bár az emberek a tiszta vizet részesítik előnyben, a víziváshoz használt kulacs soha nem tekinthető tisztítottnak. Főként fiatalok körében terjedtek el ezek a palackok, ezért egy kutatásban orvostanhallgatóktól gyűjtöttek mintát, 15 PET és 15 rozsdamentes acél kulacsból. A 90%-uk az épületben újra szokta tölteni a palackját öblítés nélkül. Azt tapasztalták, hogy a PET palackok mikrobiális terhelése szignifikánsan magasabb volt 3 óra elteltével, mint a kezdeti mintavételkor (6. ábra). PET felületen 70%-kal, rozsdamentes acél (SS) felületen 23%-kal nőtt a mikrobiális terhelésben a mikroba szám 3 órás használatot követően. A tapasztalatok alapján egy idő után a vizespalackokban növekszik a mikrobaszám és egyelőre nincsenek iránymutatások a palackok belsejének tisztítására vagy sterilizálására (Hariharan és Sankar, 2024)

6. ábra: PET és SS (rozsdamentes acél) palackok 3 órás mikrobaterhelésének összehasonlítása (Hariharan és Sankar, 2024)



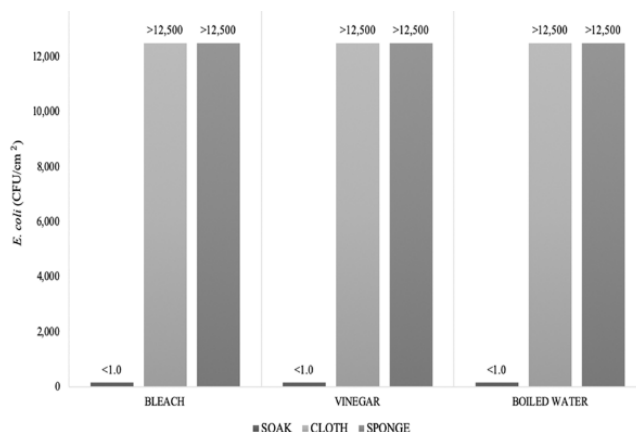
Oliphant és munkatársai (2002) reprezentatív mintákat gyűjtöttek diákok által használt vizes palackból vizet, majd pedig steril polipropilén palackokba töltötték a laborban. Összesen 76 mintát gyűjtöttek a vizes palackokból. De gyűjtöttek még mintát az osztálytermek mosogatóiból és a folyosón található két ivóvíz kútból. A palackos minták jelentős mennyiségében találtak kóliform baktériumot, valamint a heterotróf baktériumok koncentrációja is emelkedett volt. A palackokból gyűjtött víz 64,4%-ában a heterotróf baktériumok koncentrációja meghaladta az ivóvízre vonatkozó irányelveket (>500 CFU/ml). Ezek a magas értékek a szobahőmérsékleten tárolt palackokban a baktériumok újra növekedésére utalhatnak. Azt is kimutatták, hogy a klórozott vízben is jelentős baktérium növekedés veszi kezdetét, akkor is, ha csak 8-24 órán keresztül szobahőmérsékleten tárolják.

2.10 Tisztítási módszerek háztartási víztároló edények esetében

Az emberek egészségét jelentős mértékben befolyásolja az általuk fogyasztott víz mikrobiológiai minősége. Biztonságosnak kell lennie, ami azt jelenti, hogy nem tartalmaz káros mikroorganizmusokat. Egy Dél-Afrikai tanulmány kimutatta, hogy a csővezetékeken szállított biztonságos víz, mikrobiológiailag szennyezetté válik az otthoni tárolás és felhasználás során. A minőségromlásnak számos oka lehet, többek között a nem megfelelő tisztaságú tartályok, a nem higiénikus háztartási vízkezelési gyakorlatok, valamint a környezet természetes szennyeződése az edényekbe. Mivel a háztartási környezetben a tároló edények nagyobb mértékben ki vannak téve a környezeti hatásoknak, többek között a tápanyagokkal való szennyeződésnek, ezért a biofilmet alkotó baktériumok képesek felszaporodni, különösen azokban az edényekben, amelyek nem, vagy csak ritkán vannak tisztítva (Jagals et al., 2003). *E. coli* biofilmet alakítottak ki műanyag felületen és különböző tisztító szerek alkalmazásával (bleach-fehéritő, vinegar-ecet, boiled water-forró víz) tisztítottak áztatással (soak), törő kendővel (cloth) és szivaccsal (sponge), majd pedig mintavevő pálcákkal távolították el a

műanyag (PVC) víztároló edények belső falaira tapadt szennyeződések és epifluoreszcens mikroszkóppal történt a baktérium detektálása (String et al., 2020). Arra az eredményre jutottak, hogy csak az áztatásos módszerrel tudják eltávolítani az *E. coli*-t mind a három tisztítószer esetében (7. ábra), azonban a tároló edények tisztítására nem tettek ajánlást, mivel nem praktikus a tároló edények áztatása (String et al., 2020).

7. ábra: Tisztítási módszerek hatása az *E. coli* biofilmre (String et al., 2020.)



2.11 Palackozott víz mikrobiológiája

Általában elmondható, hogy a palackozott vizek ritkán mentesek teljes mértékben a mikroorganizmusoktól. Az Egyesült Államok Élelmiszer- és Gyógyszerügyi Hivatala (FDA, Food and Drug Administration) kizárólag a kóliform baktériumok koncentrációja alapján szabályozza a palackozott vizek minőségét. Európában sokkal szigorúbb a szabályozás, itt az előírások megkövetelik, hogy 250 ml mintában ne forduljon elő *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* és más kóliformok (Rosenberg, 2003).

A baktériumok száma gyorsan képes növekedni a palackozást követően, ami nem a forrásvíz minősége miatt, hanem egy szennyeződés miatt következhet be (Rosenberg, 2003). A telepszámok növekedése megengedett, de a rendeletek szerint „az összes életképes telepszám nem lehet több, mint ami a víz baktériumtartalmának a forrásnál tapasztalt normális növekedéséből adódik”. Vannak „Egyéb palackozott vizek”, amelyek nem természetes ásványvízként vannak elismerve. Ezek a vizek kémiai-, fizikai kezelésnek és fertőtlenítésnek vethetők alá (Fewtrell et al., 1997).

Hazánkban az 5/2023. (I.12.) Kormányrendelet szabályozza az ivóvíz minőségét és ellenőrzését. Kimondja, hogy „A víz akkor minősül ivóvíznek, ha nem tartalmaz olyan mennyiségben vagy koncentrációban mikroorganizmust, parazitát, kémiai, fizikai vagy radiológiai anyagot, amely az emberi egészségre potenciális veszélyt jelenthet...”.

A jogszabály ki is tér a legfontosabb mikroorganizmusokra (8. ábra), azok határértékére a palackban forgalmazott ivóvizek esetében (Internet 6.)

8. ábra: 5/2023. (I.12.) Kormányrendelet, palackban vagy más zárt edényben forgalmazott ivóvízre vonatkozó értékek (Internet 6.)

	A. Vízminőségi jellemző	B. Határérték	C. Mértékegység
1.	<i>Enterococcus</i> bélbaktériumok	0	Szám/250ml
2.	<i>Escherichia coli</i> (E. coli)	0	Szám/250ml
3.	Coliform baktériumok	0	Szám/250ml
4.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	Szám/250ml
5.	Telepszám 22 °C-on	100	Szám/ml
6.	Telepszám 37 °C-on	20	Szám/ml

A 65/2004. (IV. 27.) FVM-ESzCsM-GKM együttes rendelet tér ki többek között az ivóvíz, ásványvíz palackozásának és forgalomba hozatalának szabályaira. Többek között megemlíti, hogy milyen minőségi követelményei vannak a palackozott vizeknek, illetve a feltüntetendő jelöléseket pl.: „ivóvíz” megnevezésnek szerepelnie kell a palackon (Internet 7.).

2.12 Szájüregben előforduló mikrobák

Az emberi száj mikrobiótáját már széles körben tanulmányozták, ezért tisztában vagyunk az ott jelen lévő baktériumok szerepével, nem csak a pozitív, hanem az esetleges negatív tulajdonságaikkal is. A szájüreg a baktériumok emberi szervezetbe való bejutásának fő útvonala és ezáltal légző- és emésztőrendszerig juthatnak betegséget okozva (Hasan et al., 2014).

A szájüreg egy olyan nedves környezet, amelynek a hőmérséklete viszonylag állandónak (34-36 °C), a pH-ja közel semlegesnek (6,7-7,3) tekinthető, ezért a mikroorganizmusok széles skálájának a növekedését képes biztosítani. Ez a környezet nem tekinthető egységesnek, hiszen más-más fizikai-kémiai tulajdonságokkal rendelkeznek a szájüreg egyes területei, ami más és más mikrobiális közösség kialakulására ad lehetőséget. A szájüregi mikroorganizmusok szaporodását több minden befolyásolja. Ilyenek a hőmérséklet, pH, oxidációs-redukciós potenciál, tápanyagok, víz hozzáférhetősége, nyáláramlás, antimikrobiális anyagok és a száj szerkezetének anatómiája (Marcotte és Lavoie, 1998).

A szájüregben lévő kemény szövetek (fogak) különböző helyeken kínálnak felületet a baktériumok kolonizációjához a fogíny széle alatt és felett. Ezzel szemben a nyálkahártya felszíni hámsejtjeinek folyamatos hámlása lehetővé teszi a tapadó baktériumok gyors eliminációját. A nyálkahártya felületeket (íny, szájpadlás és szájfenék nyálkahártyája)

viszonylag kevés mikroorganizmus kolonizálja (0-25 CFU/hámsejt) (Marcotte és Lavoie, 1998).

Az emberek szájüregi mikrobiótája rendkívüli mértékben összetett és változatos. Több mint 300 baktériumfaj alkotja, de megtalálhatóak mellettük protozoonok, élesztők és mikoplazmák is (1. táblázat) (Marcotte és Lavoie, 1998).

1. táblázat: Emberek, majmok és patkányok nyálában található mikroorganizmusok Marcotte és Lavoie (1998) nyomán (++) gyakran izolálják és a teljes szájmikrobióta jelentős százalékát alkotják; + izolált; ± átmenetinek tűnik; - nem izolált; NA adatok nem állnak rend

Csoport	Mikroba nemzetség	Jelen van:		
		Emberek	Majmok	Patkányok
Gram-pozitív coccusok				
Aerob vagy fakultatív	<i>Streptococcus</i>	++	++	++
	<i>Staphylococcus</i>	-	+	+
	<i>Enterococcus</i>	+	+	+
	<i>Micrococcus</i>	+	-	-
Kötelező anaerobok	<i>Peptostreptococcus</i>	+	+	-
	<i>Peptococcus</i>	+	+	-
Egyéb mikroorganizmusok				
	<i>Mycoplasma</i>	+	NA	NA
	<i>Candida</i>	+	NA	NA
	<i>Spirochetes</i>	+	+	+
	<i>Protozoa</i>	+	+	+

A szájüregben található normál flóra két fő csoportra osztható, ezek a rezidens és tranziens mikrobióta. Bizonyos organizmusok mindig jelen vannak a normál szájüregben és állandó mikrobiótát alkotnak, amelyek további két csoportra oszthatók. Ezek az őshonos és kiegészítő flórák. Az őshonos mikrobióta tagjai szinte mindig nagy számban vannak jelen (>1%) egy adott helyen (pl.: nyelv felszíne), míg a kiegészítő mikrobióta azokat a fajokat tartalmazza, amelyek alacsonyabb számban vannak jelen (<1%). Amennyiben a rezidens mikrobióta ép, a kiegészítő mikrobiótának csak csekély jelentősége van, viszont amennyiben a rezidens mikrobióta sérül, a kiegészítő mikrobióta elszaporodik és betegségeket okozhat (Majumdar és Singh, 2014).

A szájüregben található mikrobióta az emberi egészségre is rendkívül nagy hatást gyakorol. A legfontosabb tagjait csecsemőkor első napjaiban szerezzük meg. A köztudatban már jelen van,

hogy az orális mikrobióta, annak is kifejezetten a *Streptococcus* fajai okozó, valamint moduláló szerepet töltenek be sok gyermekkor megbetegedésben, többek között a fogszuvasodásban, torokgyulladásban és középfülgyulladásban (Burton et al., 2011). A mikrobióta túlnyomó többségét a *Streptococcus* nemzetség fajai alkotják, túlsúlyban a *S. sanguis* és *S. oralis*. A legnagyobb baktériumsűrűség a nyelven található meg (100 CFU/hámsejt) és itt a legnagyobb a diverzitás (Marcotte és Lavoie, 1998).

Jelentős aggodalomra adnak okot a mostanában publikált adatok, amelyek új kapcsolatokra világítanak rá a krónikus betegségek kialakulásával és a szájüregi mikrobióta *Streptococcus* és nem *Streptococcus* tagjaival kapcsolatban (Burton et al., 2011).

2.12.1 Az emberi nyál

A szájüreget belül szájnyálkahártya sejtek bélelik, amelyeket folyamatosan nedvesen kell tartani, hogy a szájüregi sejtek sérülései csökkenjenek. Ebből kifolyólag a szájüregben stimulálatlanul folyik a nyál (Fatima et al., 2020). A szájfelületet két fontos fiziológiai folyadék tartja nedvesen, a nyál és a gingivális hasnyálmirigy folyadék. Ezek a folyadékok fontos szerepet játszanak az orális ökoszisztéma fenntartásában, mivel vizet, tápanyagokat, tapadást, valamint antimikrobiális faktorokat is biztosítanak (Marcotte és Lavoie, 1998).

Az emberi nyál mikrobiótáját számos olyan mikroorganizmus alkotja, amelyek a szájüreg bizonyos helyein (nyelv, fogak, arc és garat nyálkahártya) lévő kolonizáló aggregátumokból szakadnak ki. Kutatások szerint a felnőtt emberi nyál körülbelül 6 milliárd mikroorganizmust tartalmaz milliliterenként- *Streptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Fusobacterium*, *Lactobacillus* fajokat (Majumdar és Singh, 2014). Egy vizsgálat kimutatta, hogy a nyálban a fakultatív sztreptokokkuszok 47%-a, a nyelven pedig 21-55%-a és az arcon pedig 10%-a van jelen (Majumdar és Singh, 2014).

A *Streptococcus salivarius* kutatások szerint a fogakból származó korai lepedékben a domináns *Streptococcus* faj, míg a szájüreg más helyein található mikrobiótának csak kisebb részét képezi. Tehát maga a lepedék nem a nyál mikroflórájának fő alkotója, fő forrás a nyelv lehet (Majumdar és Singh, 2014).

2.13 Kísérletek során vizsgált mikrobák jellemzése

2.13.1 *Klebsiella oxytoca*

A *Klebsiella oxytoca* egy Gram-negatív, anaerob, pálcika alakú enterobaktérium (9. ábra). Többnyire immunhiányos emberek esetében okozhat súlyosabb megbetegedést, de

alapvetően jelen van az emberi orrgaratban, illetve a bélrendszerben is, valamint a vízben és talajban egyaránt. Gyakran húgyúti és légúti fertőzéseket képesek okozni, de előfordulhat központi idegrendszer, és tüdőt érintő megbetegedés is. A *Klebsiella pneumoniae* után a második legelterjedtebb faj, mégis kevés információ áll rendelkezésre a faj populációszerkezetéről és epidemiológiájáról (Neog et al., 2021).

A leggyakrabban vérből és légúti váladékból izolálják ezért fordulhat elő a nyálban is. Mivel többszörösen rezisztens gyógyszerekkel szemben és az általánosan használt antibiotikumokkal szemben, ezért az ellene való védekezés is nehezített (Singh et al., 2016).

Volt olyan tanulmány, amely azt állapította meg, hogy a *Klebsiella oxytoca* olyan betegeknél jelenik meg, akiknél a nyálka váladékozása és véres hasmenés volt a tünet és azt vetették fel, hogy összefüggésbe hozható az antibiotikum utáni hasmenéssel és vastagbélgyulladással. Ez is alátámasztja az antibiotikum elleni rezisztenciáját. Szinte 100%-ban rezisztens az ampicilinnel szemben, de magas százalékban az amoxicillinnel és ceftriaxonnal szemben is. Fontos megemlíteni, hogy súlyos esetekben a központi idegrendszerrel összefüggő fertőzést is képes okozni (Neog et al., 2021).

A *Klebsiella oxytoca* képes citotoxinokat is termelni és ezáltal a vastagbélben nyálkahártya sérülést okozni. Azonban a gyakori *K. oxytoca* fertőzési helyekről származó izolátumok, például a légutak, illetve húgyutak nem tartalmaznak citotoxikus törzseket (Neog et al., 2021).

Maguk a *Klebsiella* fajok képesek biofilmeket termelni a *Klebsiella pneumoniae* és a *Klebsiella oxytoca* ragasztószerkezetei révén. Ezek a szerkezetek az 1-es és 3-as típusú fimbriákat tartalmazzák. A 3-as típusú fimbria alegységek alkotják a főbb bakteriális adhezineket, amelyek közvetítik a kötődést és a biofilm kialakulásához vezetnek, valamint a fertőzés fennmaradásához és annak felszámolásának nehézségeihez (Ghasemian et al., 2019).

Egy 2019-es kutatásban is vizsgálták az adhezin gének és a *K. oxytoca* izolátumok biofilm képződésével való kapcsolatát. Az adhezin gének amplifikálása PCR segítségével történt. Azt állapították meg, hogy az adhezin gének jelenléte szignifikánsan összefüggött a biofilm képződéssel (Ghasemian et al., 2019).

9. ábra: *Klebsiella oxytoca* (Internet 2.)



2.13.2 *Stenotrophomonas maltophilia*

A *S. maltophilia* egy Gram-negatív, aerob, nem spórázó bacillus, sejtei 0,5-1,5 µm hosszúak, egyenes, pálcika alak jellemzi őket (10. ábra). Egyenként vagy párban fordulnak elő, telepeik simák, csillogóak, színül a fehértől a halványsárgáig terjedhet. Szaporodási hőmérséklet optimuma 35°C, 5 °C alatt és 40 °C felett nem képes növekedni. Biokémiai tesztek közül a kataláz tesztre pozitív (2. táblázat) (Denton és Kerr, 1998).

A *Stenotrophomonas maltophilia* egy egyre inkább elterjedő, multirezisztens, opportunista kórokozó. Nagyrészt vizes élőhelyeken fordul elő, az emberi szervezetben pedig főként a légutakban, ezzel légúti fertőzést okozva (Brooke, 2012).

2. táblázat: *St. maltophilia* biokémiai reakciói, Denton és Kerr (1998) nyomán

Teszt	Reakció
Indofenol-oxidáz	-
Kataláz	+
Indol	-
Metilvörös	-
Voges Proskauer	-

A *S. maltophiliának* több virulencia faktora is van. Többek között a motilitás, külső membrán komponensek, extracelluláris enzimek, antimikrobiális rezisztencia mechanizmusok és a biofilm képződés tekinthető virulencia faktorának (Brooke, 2021).

A *S. maltophilia* egyik nagyon fontos tulajdonsága, hogy képes hozzátapadni műanyag felületekhez és ezzel biofilmeket képezni. Éppen ezért először fogászati egység vízvezetékéről, illetve különböző porlasztók műanyag felületéről izolálták (Brooke, 2012).

Mivel ivóvízelosztó rendszerekben is képes biofilmet képezni, ezért nagyon fontos a vizsgálata és a megfelelő fertőtlenítőszer alkalmazása, hiszen immunhiányos emberek esetében komolyabb megbetegedést is kiválthat (Brooke, 2021).

A sejtei, akár minimális tápanyaggal is képesek túlélni például ivóvízben és nedves felületekhez kapcsolódni, ezzel kialakítva biofilmet (Brooke, 2012).

A *S. maltophilia* fémmel szembeni rezisztenciája is ismert, ezért fém felületeken is képes megtapadni és biofilmet képezni. Maga az ezüst antimikrobiális szerként funkcionál, hiszen megköti a fehérjék kéncsoportjait a bakteriális sejtfalban és ez sejthalálhoz vezet. Az ezüstöt kórházi katéterekben biofilm képződés megakadályozására használták emiatt. Azonban úgy találták, hogy a *S. maltophilia* olyan géneket tartalmaz, amelyek a fémekkel szembeni rezisztenciát kódolják, ezért képes fém felületen is szaporodni (Brooke, 2012).

10. ábra: *Stenotrophomonas maltophilia*, (Internet 3.)



2.13.3 *Pseudomonas putida*

A *Pseudomonas putida* egy heterotróf, pálcika alakú, szigorú aerob, Gram-negatív baktérium (11. ábra). Élőhelye rendkívül változatos, előfordul vizekben, növényekben és talajban és az emberben is jelen lehet. Magas tolerancia jellemzi a fizikai-kémiai stresszel szemben. A természetes környezetének heterogenitását tükrözi igénytelen és opportunista táplálkozási képessége. Gyorsan képes növekedni, illetve nagy ellenállóképessége van az oxidatív stresszel és mérgező vegyi anyagokkal szemben egyaránt (Weimer et al., 2020). Az opportunista humán patogén *P. putida* törzsek több antibiotikummal szemben rezisztenciát mutatnak. Ez a tulajdonság az antibiotikumrezisztencia faktorokat kódoló géneket tartalmazó plazmidok jelenlétének köszönhető (Fernández et al., 2015).

A *P. putida* az élelmiszer-feldolgozó környezetben gyakran megtalálható, beleértve a padozatot és a lefolyókat, de gyümölcsökön, zöldségeken és húsfelületeken, valamint alacsonyabb savtartalmú tejtermékekben is megjelenhet (Carrascosa et al., 2021).

A *Pseudomonas*ok szinte mindenhol jelen vannak és az élelmiszerek romlásához is nagy mértékben hozzájárulnak. Nagy mennyiségű EPS-t termelnek, aminek következtében biofilmet képeznek, főként rozsdamentes acél felületeken (Olanbiwoninu és Popoola, 2023). A *Pseudomonas* fajok más kórokozókkal együtt is előfordulhatnak egy biofilmben, ezzel több fajú biofilm alakul ki és ellenállóbbá, stabilabbá válnak (Carrascosa et al., 2021).

11. ábra: *Pseudomonas putida* (Internet 4.)



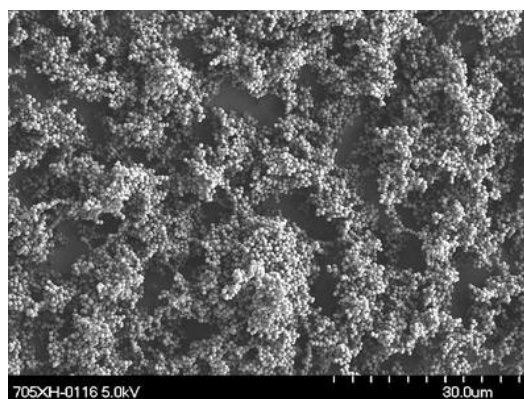
2.13.4 *Staphylococcus epidermidis*

A *Staphylococcus epidermidis* azon öt jelentős baktérium közé tartozik, amelyek megtalálhatóak az emberi bőrön, illetve nyálkahártya felszíneken. A *S. epidermidis* egy koaguláz-negatív és Gram- pozitív baktérium, amely különböző nosocomiális fertőzést képes okozni az orvosi implantátumok és eszközök széles körű igénybevétele miatt (Namvar et al., 2014). Kórházakban. a leggyakrabban izolált baktérium, véráramfertőzéseket, szív- és érrendszeri fertőzéseket, valamint szem-, fül-, orr- és torokfertőzéseket képes okozni (Vuong és Otto, 2002).

Virulenciafaktorként betöltött szerepüket még nem sikerült pontosan meghatározni, de általánosságban elmondható, hogy kórokozóként való besorolását a felületekhez való tapadásnak köszönheti, amely által biofilmet képes létrehozni (Vuong és Otto, 2002).

A baktérium számos olyan fehérjét termel, amelyek az extracelluláris mátrix fehérjéihez kötődnek, ilyen például a fibrinogén és kollagén. Az utóbbi időben egyre több vizsgálatot végeztek el *S. epidermidis* biofilmet vizsgálva, például rozsdamentes acélon (12. ábra) (Mack et al., 2007). Kaplan és munkatársai (2004) műanyag eszközökön vizsgálták a *S. epidermidis* növekedését, ahogy tapadó biofilmet képez és egy baktérium által termelt enzim, mennyire képes azt eltávolítani. Azt tapasztalták, hogy a mikroba könnyen megtapad és elszaporodik a polisztirol mikrotiter lemezekben és az enzim is hatékonyan képes eltávolítani a mikrobát. A *S. epidermidis* biofilmek nagy számban tartalmaznak olyan perzisztens sejteket, amelyek a C3b és az immunglobulin G lerakódásán keresztül képesek a neutrofil függő pusztítással szemben védeni a mikroorganizmust. Számos kutató vizsgálta és bebizonyította, hogy a *S. epidermidis* már nem életképes azokban a biofilmekben, amelyeket propanollal, illetve propanol/etanol/klórhexidin és alkohollal kezeltek (Namvar et al., 2014).

12. ábra: *S. epidermidis* biofilm pásztázó elektronmikroszkópos képe rozsdamentes acélon (Mack et al., 2007)



2.13.5 *Pseudomonas aeruginosa*

A *Pseudomonas aeruginosa* Gram-negatív, pálcika alakú baktérium (13. ábra). Telepei gyöngyházfényű megjelenésűek, a tenyészeteknek szőlő illata van. Szinte mindenütt jelen lévő baktérium, amely különböző környezeti feltételek mellett képes életben maradni. Legjobban 25-37 °C között képes fejlődni. Emberekben súlyos fertőzéseket képes okozni, elsősorban a rákos, immunhiányos betegeknél, illetve az égési sérülésekben szenvedőknél (Wu et al., 2015).

A *P. aeruginosa* biotikus vagy abiotikus felületekhez egyaránt képes hozzátapadni köszönhetően a sejtfelszíni szerkezetének, például a függelékeknek (Wu et al., 2015). A mikroorganizmus közismert arról, hogy képes antibiotikum-rezisztens biofilmet létrehozni és ezáltal hosszú távú perzisztencia alakul ki. Mindezt a sejt-sejt kommunikáció segíti elő (Thi et al., 2020). Mivel a mikroorganizmus nagy belső rezisztenciát mutat számos antibiotikummal szemben, például aminoglikozidokkal és béta-laktámokkal szemben, ezért a hozzá kapcsolódó fertőzések kezelése komoly globális problémát jelent (Tuon et al., 2022).

Számos felületet képes kolonizálni, többek között orvosi eszközöket (katéterek, implantátumok) és élelmiszeripari berendezéseket (csövek, keverő tartályok, kádak). A *P. aeruginosa* biofilm mátrix elsősorban poliszacharidokat, extracelluláris DNS-t, valamint fehérjéket és lipideket tartalmaz (Thi et al., 2020). A *P. aeruginosa* nyálkahártya törzseinek biofilmjének egyik fő alkotóeleme az alginát, ami egy exopoliszacharid. Maga az alginát a légutakban található mucinhoz kötődik és adhezinként funkcionál, az acetilcsoportjai képesek növelni a viszkozitást, ami vizet és tápanyagokat halmoz fel a biofilmben (Tuon et al., 2022).

13. ábra: *Pseudomonas aeruginosa* (Internet 5.)



3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

3.1 A kísérletek során felhasznált mikroorganizmusok

A vizsgálatokhoz a palackokból izolált és azonosított mikrobák közül négyet választottam ki.

- *Staphylococcus epidermidis*
- *Stenotrophomonas maltophilia*
- *Klebsiella oxytoca*
- *Pseudomonas putida*

Az ismételt palackhasználatot modellező kísérlet során – egy már korábbi vizsgálatok során használt – ivóvízből izolált *Pseudomonas aeruginosa* tenyésztettel dolgoztam.

A tenyészeteket TSA táptalajon, hűtött körülmények között, valamint TSB levesben -80 °C-on tartottam fenn. A kísérletekhez 24 órás tenyészeteket használtam.

3.2 Vizsgálatok során felhasznált tápközegek

-TSA agar (tripton-szója agar):

- 30 g TSB (Biolab)
- 15 g agar-agar
- 1000 ml desztillált víz

-TSB leves:

- 30 g TSB (Biolab)
- 1000 ml desztillált víz

-Hígítófolyadék:

- 8,5 g NaCl
- 1 g pepton
- 1000 ml desztillált víz

A különböző tápközegeket a bemérést követően 121 °C-on, 15 percig steriliztem.

3.3 Palackokból történő izolálás és azonosítás MALDI-TOF segítségével

A vizsgálataimhoz használt mikrobákat olyan műanyag ásványvizes palackból izoláltam, amelyekből korábbiakban a fogyasztók (családtagok, barátok) már kiitták a vizet. A mintavétel során benedvesített mintavevő tamponnal áttöröltem a palack száját. Ezt követően hígító folyadékba helyeztem a mintavevő tampont és vortexeltem, hogy megfelelő mértékben a folyadékba kerüljenek a mikroorganizmusok a tamponról. Ebből a szuszpenzióból 0,1 ml-nyit

szélesztettem TSA agarra, majd a lemezeket 37 °C-on inkubáltam. A TSA lemezeken különböző morfológiájú telepek nőttek ki, amelyekből tiszta tenyészetet készítettem. A tisztatenyészetek azonosítása MALDI-TOF-MS módszer segítségével, az Élelmiszer-mikrobiológia, -higiénia és -biztonság Tanszéken történt.

Az azonosítás során 24-48 órás szintenyészetekről fogpiszkálóval kis telepmennyiséget kellett a műszerhez tartozó rozsdamentes lemezre felvinni. A sejtek feltárásához 70%-os hangyasavat, a minta molekuláinak ionizáláshoz segédanyagként mátrixot (alfa-ciano-4.hidroxi-fahéjsav) kellett a lemezen a mintákhoz hozzáadni. Ezt követte az azonosítás MALDI-TOF műszerrel. A megfelelő megbízhatósággal (2-es score értékű) identifikált tenyészetek egy kiválasztott csoportjával végeztem a továbbiakban a biofilm képzés vizsgálatára irányuló kísérleteket modell lemezeken és ivópalackokban.

3.4 A szájüregből származó baktériumok szaporodásának vizsgálata fém és műanyag lemezen

A modell kísérletek során két különböző anyagú lemezen végeztem el a vizsgálataimat. Először PP lemezeken, majd pedig rozsdamentes acéllemezeken. Az acéllemezek mérete 50x50 mm volt, a műanyag lemezeké pedig, körülbelül 65x25 mm volt. Mind a fém, mind pedig a műanyag lemezek esetében ugyanazokkal a lépésekkel vizsgáltam a felületeken való szaporodást és biofilm képzést.

1. Első lépésként a vizsgált baktérium tenyészetekből 0,5-0,8 OD értékű (DEN 1B Mc Farland Densitometer) szuszpenziót készítettem hígító folyadék segítségével.
2. Steril, 140 mm átmérőjű Petri csészékbe 70-70 ml TSB-t mértem ki, majd hozzáadtam 700 µl baktériumszuszpenziót, így a Petri csészében lévő szuszpenzió koncentrációja 10^6 sejt/ml nagyságrendű lett. Petri csészénként 3-3 tárgylemez méretű rozsdamentes acél (25 cm^2) / polipropilén ($16,75\text{ cm}^2$) lemezt helyeztem a szuszpenzióba. Alapos elkeverést követően egy órán át állni hagytam.
3. Az óra leteltét követően lánggal sterilizált csipesz segítségével a TSB levesből kivettem a lemezeket és mindegyik lemez esetében a lemezek mindkét oldalát 5-5 ml steril desztillált vízzel öblítettem. Ezzel a lépéssel a planktonikus sejtek eltávolítása lehetséges. A nulladik napos mintavételre félretettem 3 lemezt, az első, illetve a hatodik napos mintavételhez az öblítést követően újabb 70 ml steril TSB levesbe helyeztem a lemezeket és inkubáltam azokat tenyésztőtől függően 30 vagy 37 °C-on 24 óráig, illetve 6 napig (3. táblázat).

3. táblázat: Vizsgált baktériumok inkubálási hőmérsékletei (Forrás: saját munka)

Mikroba	Inkubálási hőmérséklet (°C)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	37
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	30
<i>Klebsiella oxytoca</i>	30
<i>Pseudomonas putida</i>	30
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	30

4. A nulladik napos lemezek esetében mintavevő tampon segítségével mintát vettem a lemezek egyik oldaláról a teljes felületről, majd a tamponokat steril olló segítségével behelyeztem a hígítót tartalmazó kémcsövekbe. Mindegyik, tamponot tartalmazó kémcsövet fél percig vortexeltem annak érdekében, hogy a tamponon megtapadt mikrobák a folyadékba kerüljenek. Ezt követően hígítási sort készítettem. A hígítási sor megfelelő tagjaiból lemezöntést végeztem TSA agarral, a lemezeket 30-37 °C-on inkubáltam 48 óráig.
5. Az első és hatodik tárolási napon a nulladik napi mintavételhez és mintafeldolgozáshoz hasonlóan jártam el a modell felületeken tapadt sejtkoncentráció meghatározása végett.

3.5 Szájüregből származó mikrobák szaporodása műanyag ivópalackban tárolt vízben és a palack belső felületén

A modell kísérletek befejeztével steril csapvízzel megtöltött PET és PP műanyagból készült palackokban követtem nyomon 6 napon keresztül a kísérlet korábbi részében azonosított és kiválasztott baktériumok szaporodását és biofilm képzését az alábbi lépések szerint:

1. Kiürített szénsavmentes ásványvizes PET palackokat 30-30 ml 70%-os alkohollal fertőtlenítettem ki, hogy a palack belső felületén esetlegesen jelen lévő mikrobákat elpusztítsam, majd steril csapvízzel töltöttem fel a palackokat.
2. A tiszta PP palackokba 500 ml csapvizet töltöttem és autoklávba sterilizáltam.
3. Optikai sűrűségmérő (OD) segítségével elkészítettem a körülbelül 10^8 sejt/ml koncentrációjú baktérium szuszpenziót és abból hígítási sort készítettem. 10^5 sejt/ml koncentrációjú tagból mindegyik palackba 0,5-0,5 ml-t pipettáztam bele. Ezzel a palackokban lévő vízben körülbelül 10^2 sejt/ml lett a baktérium koncentráció.
4. A palackokat a kísérlet során szobahőmérsékleten tartottam.

5. A vizsgálat során a 0., 1. és 6. napon történt a mikrobák szaporodásának nyomonkövetése a palack vizében és a belső felületén. A kísérleteket 3 párhuzamos méréssel végeztem el mindkét féle palack esetében. A palackban tárolt víz vizsgálatához a palackokból 1-1 ml vizet vettem mintaként, majd a megfelelő hígítási tagból TSA agarral lemezöntést végeztem.
6. A vízminták vétele után a vizet kiöntöttem a palackokból és mintavevő tampon segítségével megmintáztam a palackok teljes belső felületét. PET palackoknál egy szikét alkohol és láng segítségével fertőtlenítettem, majd a palack közepét, annak a keskeny részét félbevágtam és a mintavevő tamponnal mintáztam a belső felületét. PP palackoknál hosszabb mintavevő tamponokat alkalmaztam és úgy történt a mintavétel. A tamponokat sterilizált ollóval hígítófolyadékba helyeztem és hígítási sorokat készítettem. A hígítási sorok megfelelő tagjaiból lemezöntést végeztem TSA agarral.
7. A megszilárdult lemezeket inkubátorba helyeztem 30-37 °C-ra, mikrobától függően. 48 óra elteltével a vízből és a felületről is meghatároztam a sejtszámot.

Egy hallgatótársam rozsdamentes acélból készült palackokkal végezte el, ugyanezen méréseket, ugyanezen baktériumok alkalmazásával. Eredményeimet az ő eredményeivel hasonlítottam össze annak érdekében, hogy átfogóbb képet kapjak a különböző anyagból készült palackokban történő biofilm képzésről.

3.6 Tisztított és újratöltött palackban történő biofilm képzés nyomonkövetése

Tisztítási kísérletet a *Pseudomonas aeruginosa*-val végeztem el, modellezve a háztartásokban palackok esetében alkalmazott háztartási mosogatószerrel való öblítéssel tisztítást. A vizsgálatok során TSA agart és hígító folyadékot használtam.

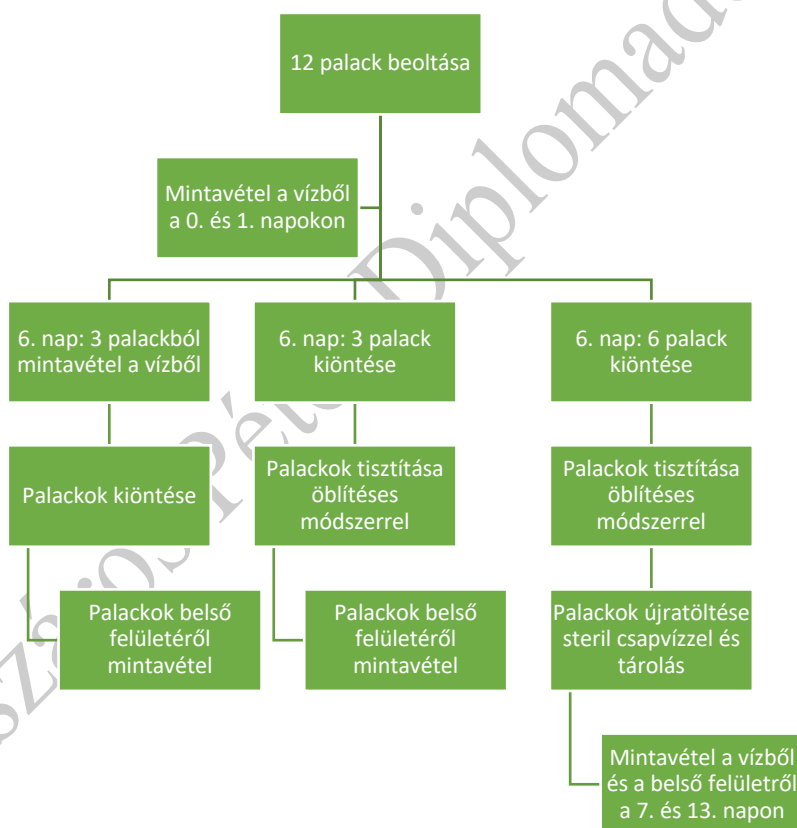
Tisztítási kísérlet PET és PP palackok esetében

1. Ezekhez a kísérletekhez vízből izolált *Pseudomonas aeruginosa*-t használtam. A mikrobák szaporodásának nyomonkövetése 13. napon keresztül történt (14. ábra). A PET és PP palackokat is a tárolási kísérlettel megegyező módon készítettem elő és itt is 3-3 párhuzamos mintával dolgoztam.
2. Az első lépésben 12 PET és 12 PP palack beoltása történt a baktériumszuszpenzióval. Nulladik és első napon a palackokban lévő vízből történt a mintavétel, majd a hatodik napon a vízminták vétele után, 3-3 palackból kiöntöttem a benne lévő vizet egy rázatás

után, hogy a reverzibilis sejtek leváljanak, majd a belső felületükről is mintát vettem steril, benedvesített tampon segítségével.

3. A hatodik napon a többi 9-9 palackot öblítéssel tisztítottam. A palackokat 100 ml háztartási mosogatószeres vízzel öblítettem át, majd pedig 2x100 ml steril csapvízzel a mosogatószeres habot kimostam a palackokból. Az öblítést követően 3-3 palack belső felületéről mintát vettem, hogy lássam milyen hatása volt az öblítésnek, mennyire volt képes eltávolítani a felületről a megtapadt baktériumokat. A többi 6-6 palackot az öblítést követően feltöltöttem 500-500 ml steril csapvízzel és szobahőmérsékleten tároltam őket.
4. A palackokban lévő vízből és felületről ezek után mintavétel történt a 7. és 13. napon, hogy megfigyeljem, mennyire volt képes újból kialakulni biofilm az öblítés után.

14. ábra: Tisztított és újratöltött palackban történő biofilm képzés nyomonkövetésének folyamatábrája



4. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

4.1 Palackból izolált mikrobák MALDI TOF segítségével történő azonosítása

A kísérletes munka kezdete során a palackok mintázását követően 31 tenyészetet izoláltam, melyek közül MALDI-TOF segítségével történő azonosítás során 25 baktériumot és kettő élesztőgombát sikerült identifikálni (4. táblázat). Négy minta esetében nem volt lehetséges az azonosítás. Az azonosítás megbízhatóságára a pontszám (score) érték utal:

- 2,3<: nagy valószínűségű fajazonosítás
- 2,0 <és<2,299: biztos nemzetségazonosítás, valószínű fajazonosítás
- 1,7 <és<1,999: valószínű nemzetségazonosítás
- <1,7: megbízhatatlan nemzetségazonosítás

Az azonosított mikroorganizmusok közül, a szakirodalmi forrásokat figyelembe véve, kiválasztottam négyet (4. táblázat – félkövér betűvel szedett baktériumok), amelyekkel a további vizsgálatok során dolgoztam.

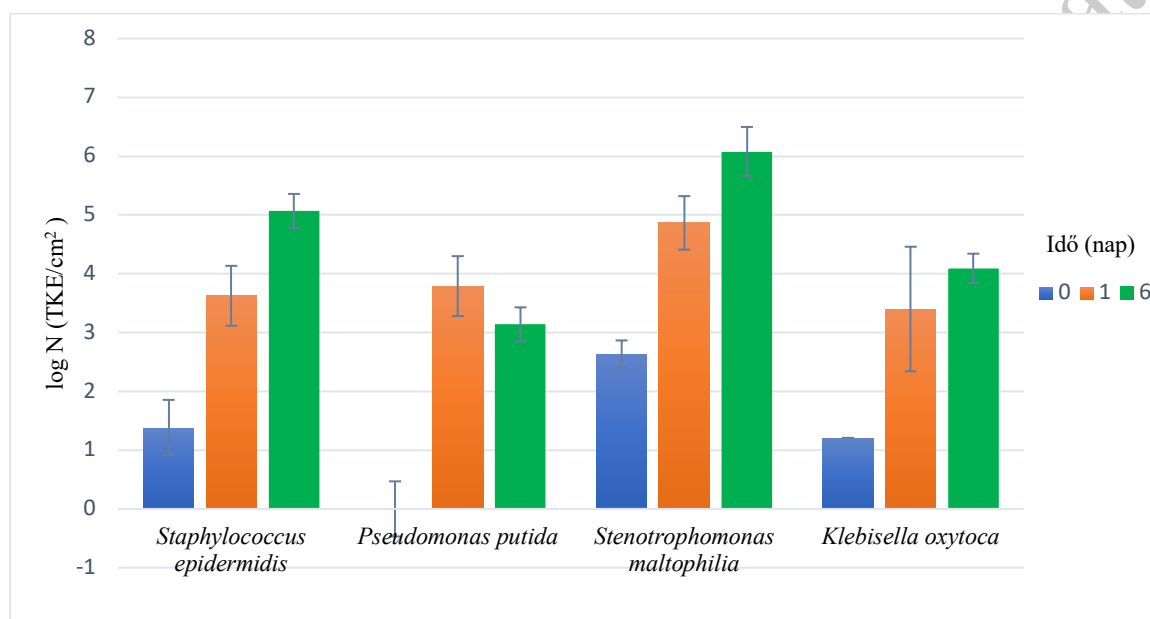
4. táblázat: MALDI-TOF-fal történő azonosítás eredményei (Forrás: saját munka)

Minta azonosítója	Mikroorganizmus	Pontszám értéke
LP 1/1	<i>Ochrobactrum anthropi</i>	2,47
LP 3/1	Nem lehetséges az azonosítás	1,24
LP 3/2	<i>Acinetobacter johnsonii</i>	2,19
LP 3/3	<i>Microbacterium maritypicum</i>	2,28
LP 3/4	Nem lehetséges az azonosítás	1,55
LP 3/5	<i>Candida albicans</i>	1,88
LP 3/6	Nem lehetséges az azonosítás	1,45
LP 4/1	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	2,13
LP 4/2	<i>Microbacterium maritypicum</i>	2,35
LP 5/1	<i>Pseudomonas oryzihabitans</i>	1,71
LP 5/2	<i>Acinetobacter beijerinckii</i>	2,01
LP 5/3	<i>Meyerozyma guilliermondii</i>	2,29
LP 6/1	Nem lehetséges az azonosítás	0,00
LP 6/2	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2,08
LP 6/3	<i>Streptococcus mitis</i>	2,02
LP 7/1	<i>Enterobacter hormachei</i>	2,36
LP 7/2	<i>Klebsiella oxytoca</i>	2,29
LP 7/3	<i>Brevundimonas diminuta</i>	2,09
LP 8/1	<i>Sphingobacterium daejeonense</i>	2,12
LP 8/2	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	2,03
LP 8/3	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	2,05
LP 10/1	<i>Deftia acidovorans</i>	2,06
LP 10/2	<i>Brevundimonas diminuta</i>	2,08
LP 10/3	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2,12
LP 11/1	<i>Enterobacter cloaceae</i>	2,47
LP 11/2	<i>Acinetobacter ursingii</i>	2,20
LP 11/3	<i>Enterobacter cloaceae</i>	2,41
LP 12/1	<i>Microbacterium hatanonis</i>	1,78
LP 12/2	<i>Pantoea agglomerans</i>	1,93
LP 12/3	<i>Pseudomonas putida</i>	2,17
LP 12/4	<i>Candida albicans</i>	1,94

4.2 Biofilm detektálásának eredményei PP és rozsdamentes acéllemezek

Egy korábbi munkában (Dancs, 2020) PET és PP lemezek felületén vizsgálta egy mikroba (*P. aeruginosa*) szaporodását és mivel a vizsgálatainak során nem volt számottevő különbség a kétféle felületen a baktérium sejtkoncentrációk között, ezért a modellkísérletek során csak PP lemezeket végeztem el a vizsgálatokat. A 15. ábra a négy izolált mikrobával végzett biofilm képződés vizsgálatának eredményét mutatja PP lemezek felületén.

15. ábra: Ivópalackokról izolált mikroorganizmusok sejtkoncentrációjának (TKE/cm²) változása PP lemezek vizsgálgva 6 napon keresztül



A vizsgált négy baktérium különböző mértékben tapadt ki a vizsgálat kiindulási napján a PP lemezekre, de az egységnyi felületre eső mikrobaszám minden esetben növekvő tendenciát mutatott az idő előrehaladtával. Az első napon a sejtkoncentráció elérte a minimum 10^3 TKE/cm² nagyságrendet és ez a hatodik napra tovább növekedett.

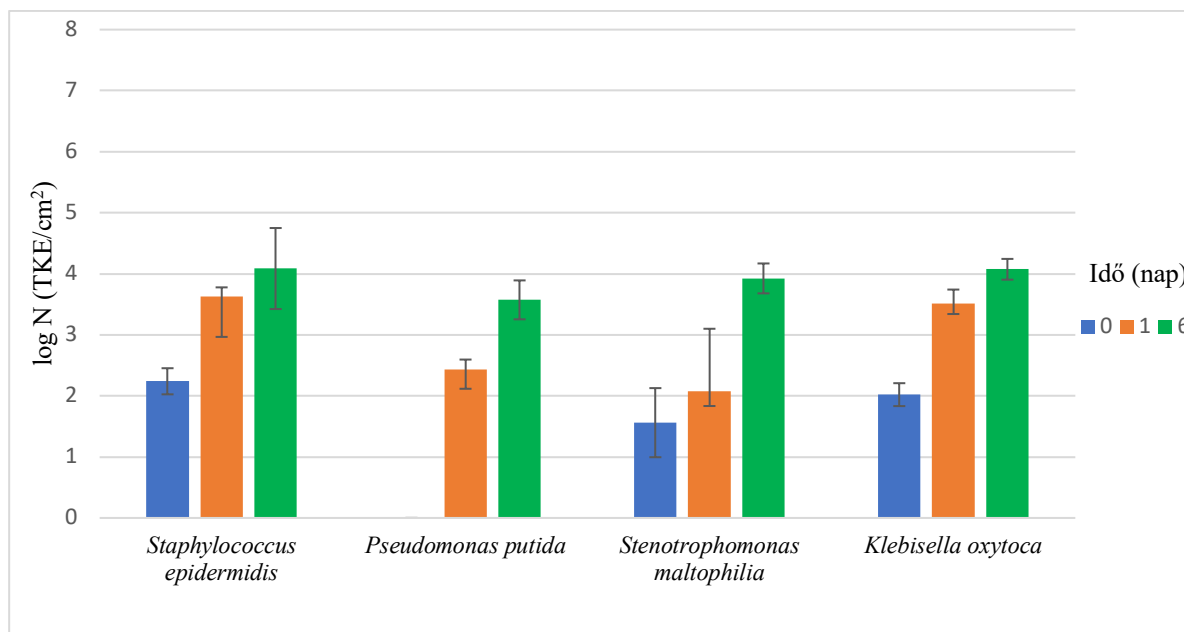
Staphylococcus epidermidis esetében folyamatos növekedés volt tapasztalható a PP lemezekre, a hatodik napra a baktérium sejtkoncentráció nagysága elérte a 10^5 TKE/cm² nagyságrendet, ami a második legnagyobbak mondható a vizsgált mikrobák közül.

Pseudomonas putida sejtek a kiindulási napon nem voltak kimutathatóak a lemezekről, de az első napra, már közel 10^4 TKE/cm² nagyságrendben lehetett őket detektálni, viszont a hatodik napra a számuk lecsökkent közel 10^3 TKE/cm²-re.

Legnagyobb mértékben a *Stenotrophomonas maltophilia* volt képes elszaporodni a PP lemezekre, már a kiindulási napon a baktérium sejtkoncentráció 10^2 - 10^3 TKE/cm² között volt. Ebben az esetben a hatodik napra, valamivel 10^6 TKE/cm² fölé emelkedett a baktérium sejtkoncentráció, ami a vizsgált baktériumok közül a legmagasabb érték volt.

Klebsiella oxytoca szaporodása is növekvő tendenciát mutatott az idő előrehaladtával. Kiindulási naphoz képest, az első napra, közel 2 nagyságrendnyit növekedett a sejtkoncentráció, azonban az első napon kapott eredmények túl nagy szórást mutattak, ezért nem tudni biztosan, hogy az első és hatodik nap között milyen mértékben volt képes elszaporodni a felületen.

16. ábra: Ivópalackokról izolált mikroorganizmusok sejtkoncentrációjának (TKE/cm²) változása rozsdamentes acéllemezekon vizsgálva 6 napon keresztül



Fontosnak tartom a rozsdamentes acéllemezeken tapasztalt eredményekkel összevetni a PP lemezek eredményeit, hiszen nem csak az iparban, de a háztartásokban is egyre nagyobb jelentősége van a fém kulacsoknak a mindennapok során.

Rozsdamentes acéllemezen vizsgálva ugyanezeket a baktériumokat (16. ábra) hasonló növekedés volt megfigyelhető mind a négy esetben. Az első napra mindegyik esetben a baktérium sejtkoncentráció elérte a 10² TKE/cm² nagyságrendet és a hatodik napra ez tovább emelkedett.

A hatodik napra leginkább a *Staphylococcus epidermidis* és a *Klebsiella oxytoca* volt képes elszaporodni, mindkét esetben 10⁴ TKE/cm² fölé emelkedett a számuk.

A *Pseudomonas putida*, csak úgy, mint a PP lemezekon, itt sem volt kimutatható a kiindulási napon, viszont az első napra 10² TKE/cm² fölött volt a sejtkoncentráció. Hatodik napra, viszont növekedés volt tapasztalható és 10³-10⁴ TKE/cm² közé emelkedett a koncentráció, ezzel másfél nagyságrendnyit növekedve.

Stenotrophomonas maltophilia esetében is növekedés volt tapasztalható. A kiindulási napon tapasztalt sejtkoncentráció a hatodik napra körülbelül 2,5 nagyságrendnyit emelkedett, megközelítve a 10⁴ TKE/cm² koncentrációt.

Klebsiella oxytoca-nál is folyamatos növekedés volt tapasztalható, körülbelül azonos mértékben, mint a *Staphylococcus epidermidis* esetében.

Összehasonlítva a négy baktérium PP és rozsdamentes acéllemezekén való szaporodását megállapítható, hogy a PP lemezekén nagyobb mértékben el tudtak szaporodni és a felületén biofilmet képezni. A hatodik napra a rozsdamentes acélon közel azonos nagyságrendet ért el a baktériumok sejtkoncentrációja (10^4 TKE/cm²), a PP felületen, ugyanakkor 3 nagyságrendnyi különbség is tapasztalható volt a vizsgált izolátumok sejtkoncentrációja között

A *S. epidermidis* és a *St. maltophilia* esetében a PP felületen 1-2 nagyságrenddel nagyobb koncentrációban voltak kimutathatóak a sejtek a hatodik napra, mint a rozsdamentes acélon. *P. putida* és *Kl. oxytoca* esetében nem tapasztaltam számottevő különbséget a két típusú felület között.

A hatodik napon a baktériumok növekedésének intenzitását összehasonlítva a két felületen a mérés szórását is figyelembe véve azt tapasztaltam, hogy a PP felületen különböző, míg a rozsdamentes acél felületen közel megegyező mértékű biofilm képződött (5. táblázat).

5. táblázat: Ivópalackokról izolált baktériumok növekedésének intenzitásbeli különbsége PP és rozsdamentes acél felületen (Forrás: saját munka)

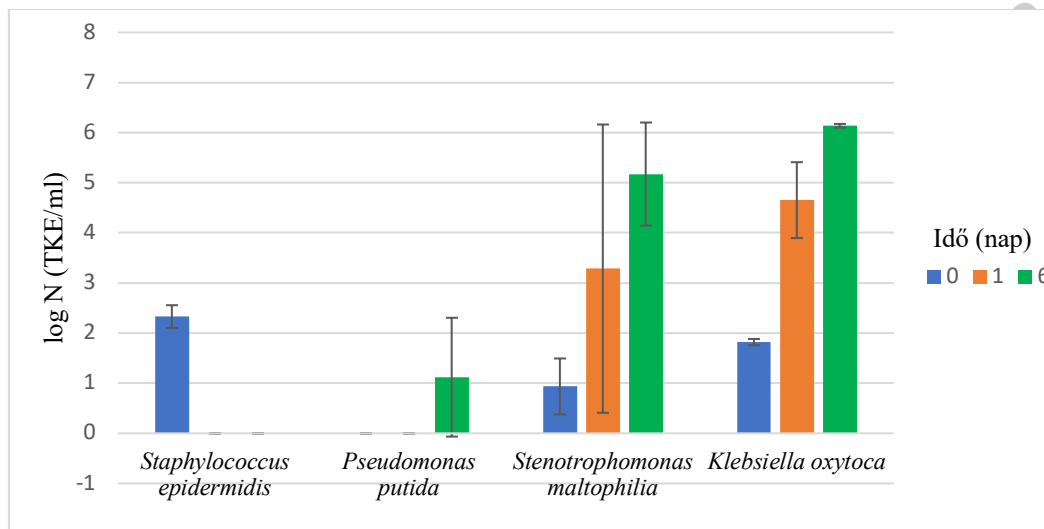
	Növekedés intenzitásának mértéke
PP	<i>P. putida</i> < <i>Kl. oxytoca</i> < <i>S. epidermidis</i> < <i>St. maltophilia</i>
Rozsdamentes acél	<i>P. putida</i> = <i>St. maltophilia</i> = <i>Kl. oxytoca</i> = <i>S. epidermidis</i>

4.3 Biofilm detektálásának eredményei műanyag ivópalackokban tárolt vízben és a palackok belső felületén

4.3.1 Vizsgált baktériumok szaporodása PET és PP palackokban tárolt vízben

A PET palackokban tárolt vízben, az izolált és kiválasztott 4 baktérium szaporodását a 17. ábra foglalja össze.

17. ábra: Ivópalackokról izolált baktériumok szaporodásának összehasonlítása PET palackban tárolt vízben

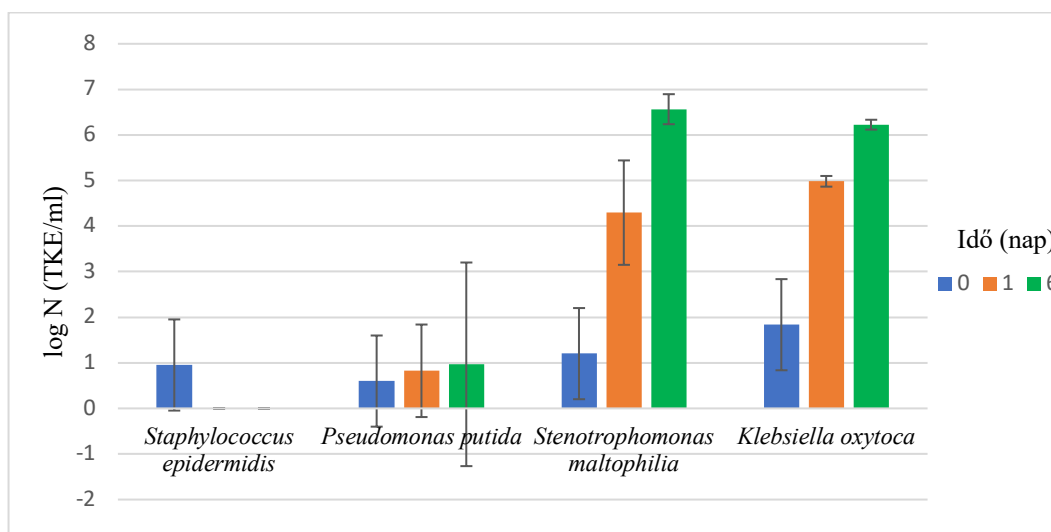


A kísérlet kiindulási napján a *P. putida* kivételével mindegyik baktérium kimutatható volt a vízből. A *S. epidermidis* koncentrációja volt a legmagasabb a kiindulási napon, azonban a további napokon nem volt detektálható. Ellenben a *P. putida* a hatodik napra vált kimutathatóvá és érte el a 10^1 TKE/ml nagyságrendet. *St. maltophilia* és a *Kl. oxytoca* esetében jól megfigyelhető volt a szaporodás a vizsgálat során. Az első napra mindkét esetben a sejtkoncentráció nagysága elérte a 10^3 TKE/ml-es nagyságrendet és a hatodik napra tovább emelkedett. A *St. maltophilia* esetében az első napon mérések szórása tág határok között mozgott, ezért nehéz megállapítani, hogy az első és hatodik nap között milyen mértékben volt képes elszaporodni. Legnagyobb mértékben a *Kl. oxytoca* volt képes elszaporodni a vízben, már az első napon megközelítette a 10^5 TKE/ml koncentrációt és a hatodik napra 10^6 TKE/ml fölé emelkedett, ezzel ő érte el a legnagyobb koncentrációt.

PP palack vizében hasonló mértékű szaporodás volt megfigyelhető a vizsgált mikroba-k esetében (18. ábra), ugyanakkor a *P. putida* már nem csak a hatodik, hanem a kiindulási és első napon ugyan tág szórás határok mellett jó kimutatható volt. A *S. epidermidis* ebben az esetben is csak a kiindulási napon volt detektálható, a további vizsgálati napokon már nem. PP palackok vizében is a *St. maltophilia* és a *Kl. oxytoca* volt képes legjobban elszaporodni. Az első napra

mindkét baktérium esetében a sejtkoncentráció 10^4 TKE/ml fölé emelkedett, a hatodik napra pedig 10^6 TKE/ml fölött voltak.

18. ábra: Ivópalackokról izolált mikrobák szaporodása PP palackokban tárolt vízben

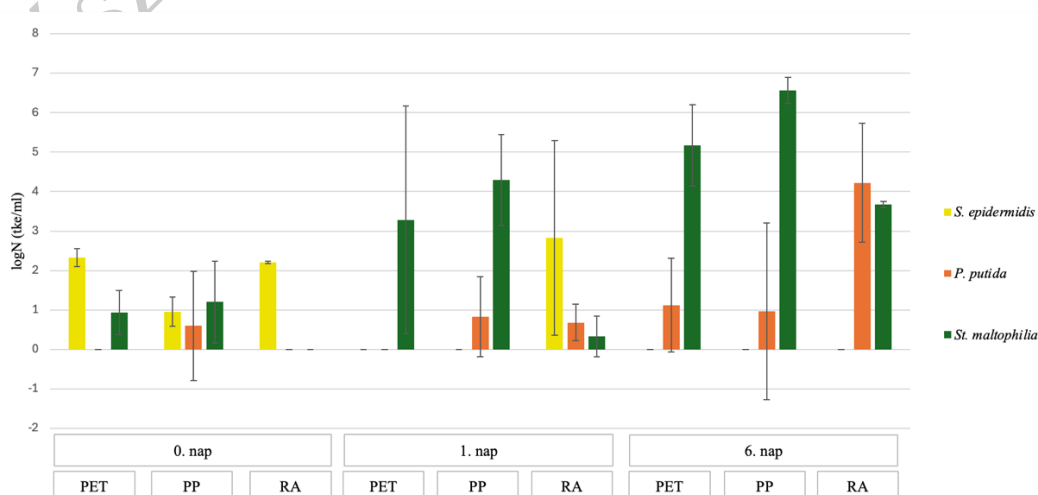


PET és PP palackok vizében is legnagyobb mértékben a *St. maltophilia* és a *Kl. oxytoca* volt képes elszaporodni. Ez a kettő baktérium mindkét palack vizében a hatodik napra elérte vagy megközelítette a 10^6 TKE/ml sejtkoncentrációt. A *St. maltophilia* esetében a PP palackok vizében tapasztaltam intenzívebb növekedést a vízben, hatodik napra közel 1,5 nagyságrend beli különbség volt tapasztalható.

Egy hallgatótársam rozsdamentes fém palackokban végezte el ezeket a kísérleteket 3 mikrobával, *Staphylococcus epidermidis*-szel, *Pseudomonas putida*-val és *Stenotrophomonas maltophilia*-val.

A 19. ábra foglalja össze, hogy milyen különbségeket tapasztaltunk a baktériumok szaporodásában a műanyag és a rozsdamentes acélból készült palackokban lévő vízben.

19. ábra: Vizsgált mikrobák szaporodásának összehasonlítása műanyag (PET és PP) és rozsdamentes acél (RA) palackok vizében

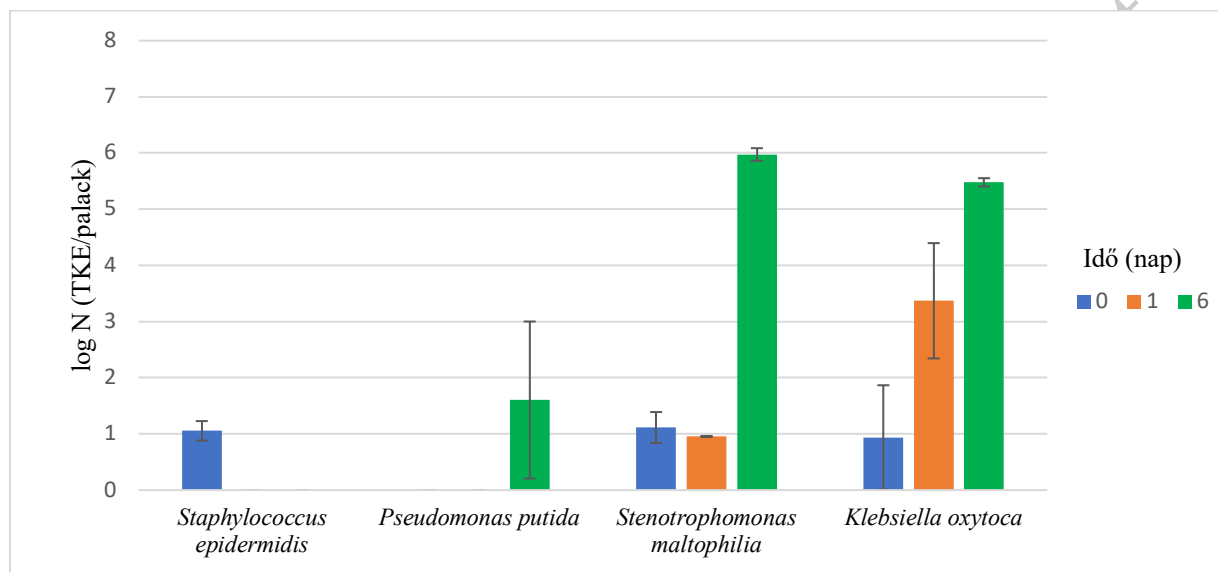


Megállapítható, hogy a műanyag palackokban lévő vízben nagyobb mértékű növekedés volt tapasztalható a *St. maltophilia* esetében, azonban a *P. putida* a rozsdamentes acélból készült fém palackok vizében mutatott intenzívebb szaporodást, ahogy a *S. epidermidis* is.

4.3.2 Vizsgált baktériumok szaporodása PET és PP palackok belső felületén

A 20. ábra mutatja be a vizsgált baktériumok szaporodását PET palackok belső felületén.

20. ábra: Ivópalackokról izolált baktériumok szaporodása PET palackok belső felületén

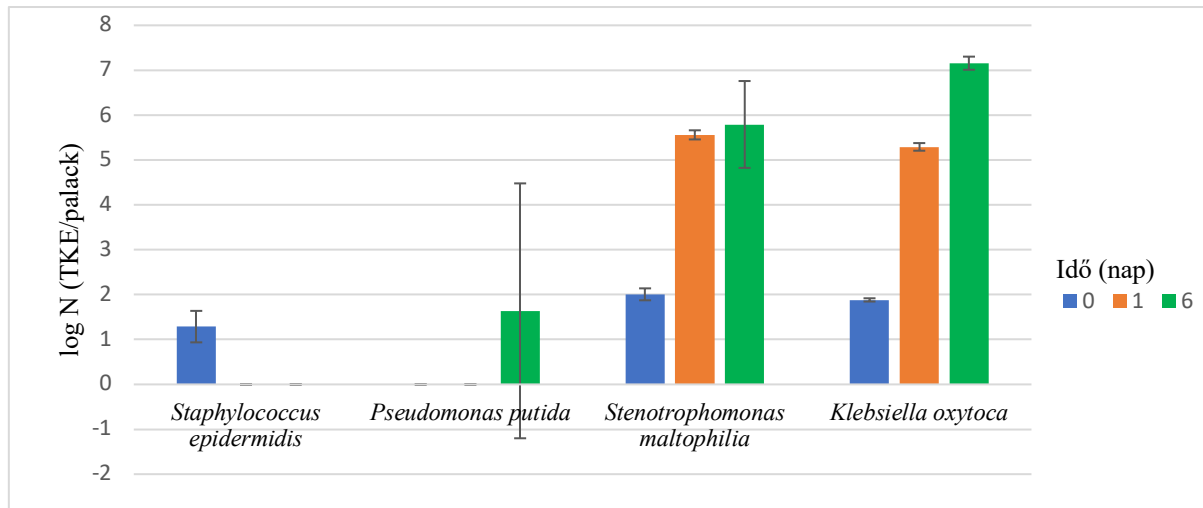


Ahogy a 20. ábrán is látszik, a PET palackok felületén a baktériumok szaporodása különböző mértékű volt. *S. epidermidis* csak a kiindulási napon volt detektálható és az idő előrehaladtával feltehetően nem tudott a PET palackok belső felületén megtapadni és biofilmet képezni. Ellenben a *P. putida* a hatodik napra kezdett elszaporodni és vált kimutathatóvá, ugyanakkor a mérések során a szórása tág határok között mozgott. Hasonlóan szaporodtak a PET felületén, mint a PET palackok vizében.

St. maltophilia és a *Kl. oxytoca* a felületen jelenős mértékben el tudtak szaporodni; a *Klebsiella* izolátum a tárolás első napján 10^3 TKE/palack koncentráció fölötti mértékben volt kimutatható. A hatodik napra a *St. maltophilia* és a *Kl. oxytoca* koncentrációja is meghaladta a 10^5 TKE/palack nagyságrendet. A *St. maltophilia* koncentrációja emelkedett meg hatodik napra leginkább az első naphoz képest, megközelítette a 10^6 TKE/palackot.

PP palackok belső felületén a baktériumok szaporodását a 21. ábra szemlélteti.

21. ábra: Ivópalackokról izolált mikrobák szaporodása PP palackok belső felületén



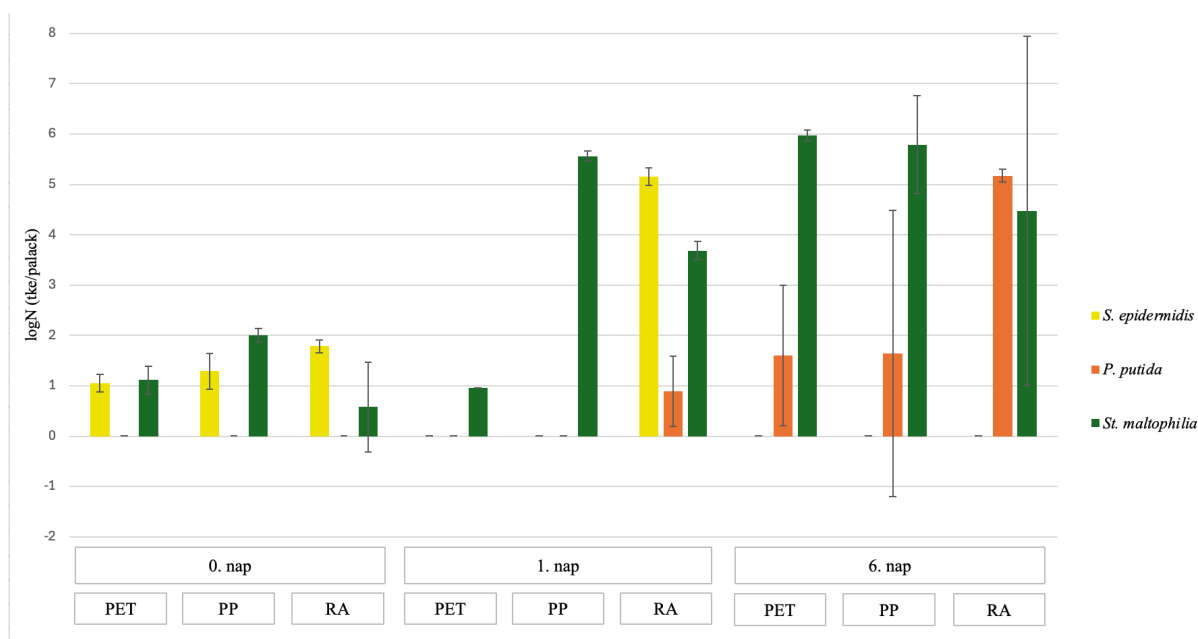
Csak úgy, ahogy a PET palackok esetében is, a *S. epidermidis* csak a kiindulási napon volt detektálható és a továbbiakban; már nem mutatott szaporodást. *P. putida* csak a hatodik napra vált detektálhatóvá, ellenben jelentős szórást tapasztaltam, így nehéz megállapítani, milyen mértékű volt a szaporodása.

A *St. maltophilia* és a *Kl. oxytoca* is nagy mértékben szaporodott a PP palack felületén, mindkét esetben az első napra a sejtkoncentráció 10^5 TKE/palack fölé emelkedett és a hatodik napra még növekedett. *St. maltophilia* növekedésének intenzitása szinte teljes mértékben tükrözte a modell kísérletek során tapasztaltakat. *St. maltophilia* esetében a kiindulási és az első napon mért koncentrációk között több nagyságrendnyi különbség is tapasztalható volt, azonban a hatodik napra csak kisebb mértékű volt a növekedés. A *Kl. oxytoca* koncentrációja a hatodik napra közel két nagyságrendnyit emelkedett az első naphoz képest és elérte a 10^7 TKE/palack koncentrációt.

Összehasonlítva a PET és PP felületeket a *S. epidermidis* és a *P. putida* szaporodása nem volt jelentős mértékű. *St. maltophilia* esetében a hatodik napra közel azonos nagyságrendet ért el a sejtkoncentráció, a kétféle felületen, ugyanakkor *Kl. oxytoca* esetében a hatodik napra közel 2 nagyságrenddel nagyobb volt a sejtkoncentráció a PP palackok felületén, mint a PET palackok felületén.

Fontos szempont volt számomra összevetni a fém palackok belső felületén tapasztalt baktérium szaporodást a műanyag palackok belső felületén tapasztalt mikroba szaporodással.

22. ábra: Vizsgált mikrobák szaporodásának összehasonlítása műanyag (PET és PP) és rozsdamentes acél (RA) palackok belső felületén

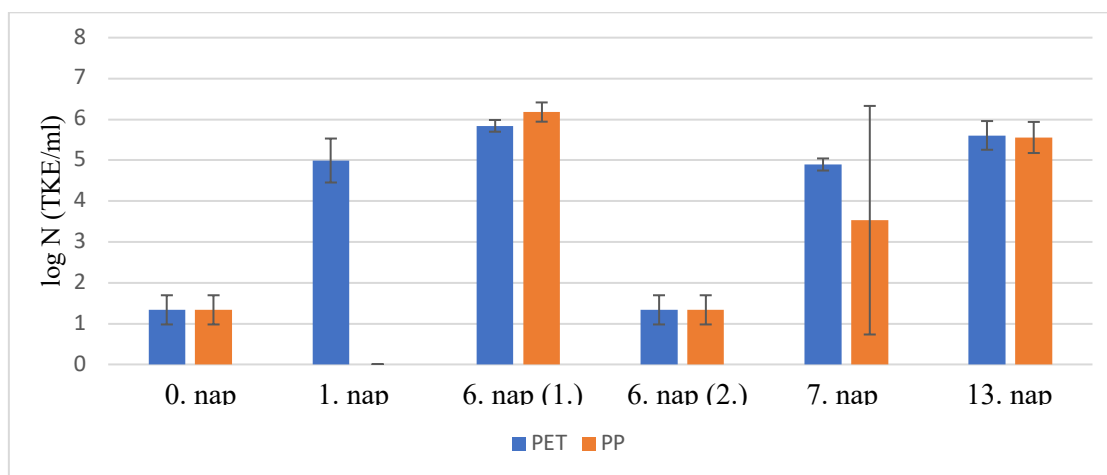


Összehasonlítva a különböző anyagú palackok belső felületén a baktériumok szaporodását (22. ábra), megállapítható, hogy a műanyag felületen volt nagyobb mértékű növekedés tapasztalható a *St. maltophilia* esetében, azonban a *S. epidermidis* és a *P. putida* a fém palackok felületén ért el nagyobb sejtkoncentrációt.

4.4 Tisztított és újratöltött palackban lévő *Pseudomonas aeruginosa* biofilm vizsgálata

A 23. ábra szemlélteti a *Pseudomonas aeruginosa* szaporodását PET és PP palackokban tárolt vízben.

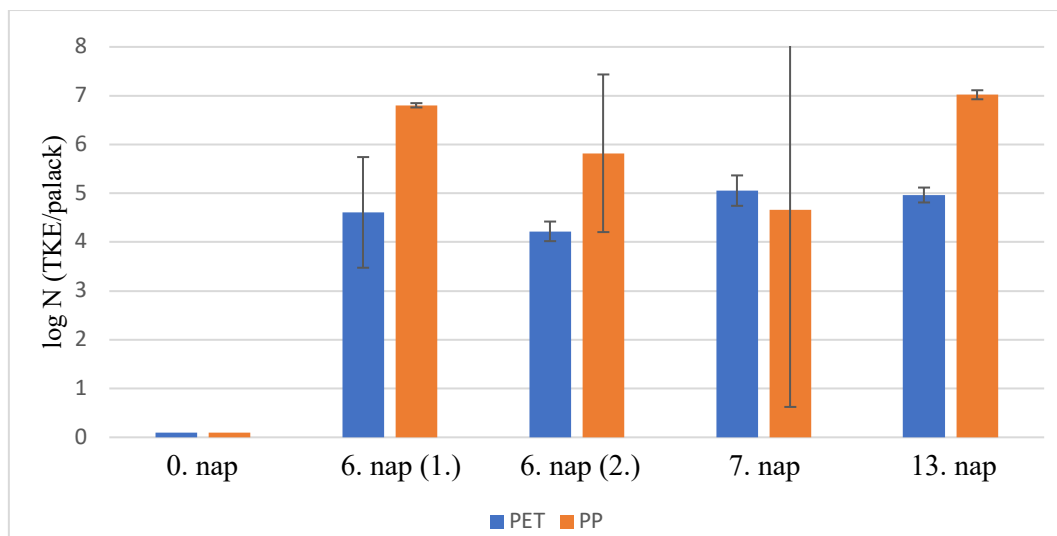
23. ábra: *Pseudomonas aeruginosa* szaporodásának vizsgálata PET és PP palackokban lévő vízben, öblítéssel történő tisztítás hatásának vizsgálata (PET: polietilén-tereftalát; PP: polipropilén)



Ahogy a 23. ábrán is látszik a kiindulási napon azonos mértékben lehetett kimutatni a PET és PP palack vizéből a baktériumot, majd az első napon jelentős mértékben megnőtt a számuk. Ezen a napon csak a PET palackokban lévő vízből sikerült detektálni a baktériumot, ami egy mérési hibának tulajdonítható. A hatodik napon is történt mintavétel a vízből (6. nap (1.)) és ekkor mindkét palack típusban 10^6 TKE/ml körül volt a sejtkoncentráció a vízben. Hat-hat palack esetében a vizet kiöntöttem és öblítéssel tisztítottam. A palackokat az öblítést követően újból feltöltöttem steril csapvízzel és azt feltételeztem, hogy a mikroba koncentráció a vízben megegyezik a nulladik napon mért koncentrációval (6. nap (2.)). A feltöltött palackokat szobahőmérsékleten tároltam, majd a hetedik és tizenharmadik napon újból mintát vettem a vízből. A hetedik napon a PET palackokban lévő vízben a baktérium koncentráció majdnem elérte a 10^5 TKE/ml nagyságrendet, míg a PP palackokban lévő vízben ennél alacsonyabb sejtkoncentrációt mértem, ugyanakkor figyelembe véve a nagy szórás értéket, egyes esetekben, ezekben a palackokban is megközelíthette ugyanazt a nagyságrendet, mint a PET palackokban. A 13. napra PET és PP palackokban is megemelkedett a *P. aeruginosa* egységnyi térfogatra eső száma; 10^5 - 10^6 TKE/ml közötti sejtkoncentrációt mértem.

A 24. ábrán a *Pseudomonas aeruginosa* szaporodását láthatjuk PET és PP palackok belső felületén vizsgálva.

24. ábra: *Pseudomonas aeruginosa* szaporodása PET és PP palackok belső felületén, öblítéssel történő tisztítás hatásának vizsgálata



Ahogy a 24. ábra mutatja, a *Pseudomonas aeruginosa* sejtkoncentráció a hatodik napra mindkét palack belső felületének esetében 10^4 TKE/palack fölé emelkedett (6. nap (1.)), PP palackok esetében megközelítette a 10^7 TKE/palack nagyságrendet a sejtszám. A hatodik napon az öblítéssel történő tisztítást követően a belső felületekről újból történt mintavétel (6. nap (2.)), azt vizsgálva, hogy az öblítés mennyire képes eltávolítani a baktérium szennyeződést. PET és PP palackok esetében is tapasztaltam sejtkoncentráció csökkenést, PET palackoknál kisebb mértékben, PP palackok esetében körülbelül egy nagyságrendnyi csökkenést tapasztaltam. A hetedik napon, ami az öblítést követő első nap volt, a PET palackok felületén megemelkedett a sejtkoncentráció 10^5 TKE/palack fölé, míg a PP palackok esetében az eredmények nagy szórást mutattak, de az átlag az előző naphoz képest kisebb sejtkoncentrációt adott. A 13. napon, ami az öblítést követő hetedik nap volt, a sejtkoncentráció PET palackok esetében minimálisan csökkent, PP palackok felületén viszont emelkedett a szintjük, elérte a 10^7 TKE/palack nagyságrendet.

4.5 Különböző anyagok, közegek befolyásoló hatása a mikrobák szaporodására

A modell kísérletek, valamint a PET és PP palackos vizsgálatok során végig az általam izolált és kiválasztott baktériumokkal dolgoztam, azonban a tápközeg a kétfajta kísérlet során más volt; modell lemezekén végzett vizsgálatok során TSB tápleves, a palackokban vizsgált kísérlet során csapvíz. Ez befolyásoló tényezőnek bizonyult a mikrobák szaporodása során. A 6. táblázatban ezeket a nagyságrendbeli különbségeket láthatjuk.

6. táblázat: Mikrobakoncentráció nagyságrendnyi változása a tárolás kezdete és vége között a különböző folyadék mátrixszal érintkező modell és palack felületeken (Forrás: saját munka)

	TSB tápleves	Víz	Vizsgált baktériumok
PET	3,1	1,6	<i>Pseudomonas putida</i>
PP		1,6	
PET	3,7	Nem volt kimutatható változás	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
PP		Nem volt kimutatható változás	
PET	3,5	4,9	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
PP		3,8	
PET	2,9	4,6	<i>Klebsiella oxytoca</i>
PP		5,3	

Tápleves esetében csak PP lemezekben végeztem a vizsgálatokat, víz esetében, pedig PET és PP palackokban. A *Kl. oxytoca* a vízben nagyobb mértékben volt képes elszaporodni és a felületen megtapadni; több, mint 2 nagyságrendbeli különbség is megjelent; a PP felületeken, de a PET esetében jól el tudott szaporodni, amikor víz volt a tápközeg. *St. maltophilia* szaporodása a PP felületen közel hasonló mértékű tápleves és víz esetében is. *S. epidermidis* a vízben csak a kiindulási napon volt detektálható (17., 18. ábra), hatodik napon már nem, nem mutatott szaporodást. *Pseudomonas putida* a vízben sokkal kevésbé volt képes elszaporodni és a felületen biofilmet képezni. A táplevesben könnyebben elszaporodott és nem csak a hatodik napon, hanem már az első napon is detektálható volt.

5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

A vizsgálataim arra irányultak, hogy választ kapjak arra a kérdésre, hogy az emberi szájüregben, nyálban lévő baktériumok milyen mértékben képesek megtapadni a műanyag palackok felületén és biofilmet képezni.

Kezdeti modellkísérletek során azt tapasztaltam, hogy az izolált és kiválasztott baktériumok, mind el tudtak szaporodni a PP lemezeken, amikor tápleves volt a közeg. A táplevesnek köszönhetően különböző tápanyagokhoz jutottak, amelyek hozzájárultak a szaporodásukhoz. *P. putida* koncentrációja a PP lemezen a hatodik napra csökkent, amiből arra tudok következtetni, hogy nem olyan életképes ezen a felületen, mint a többi baktérium, annak ellenére, hogy tápleves volt a közeg. A *St. maltophilia* volt az, amelyik legnagyobb mértékben képes volt elszaporodni, majd pedig a *S. epidermidis* és a *Kl. oxytoca*. A vizsgált mikrobák rozsdamentes acéllemezeken is el tudtak szaporodni, azonban kisebb mértékben, mint a PP lemezeken. A *St. maltophilia* esetében a hatodik napra volt tapasztalható intenzívebb növekedés, ami fémekkel szembeni rezisztenciáját támasztja alá, hasonlóan Brooke (2012) eredményeihez.

PET és PP palackokban tárolt vízben hasonló jellegű volt a négy baktérium szaporodása, azonban nagyságrend belüli különbségeket tapasztaltam. PET palackok vizében a *Kl. oxytoca* és a *St. maltophilia* volt képes legnagyobb mértékben elszaporodni, míg a *P. putida* csak a hatodik napra vált detektálhatóvá, szemben a PP palackokban tárolt vízben, ahol már a kiindulási naptól kezdve detektálható volt. Ez mutatja, mennyire befolyásoló tényező a felülettel érintkező folyadék mátrix. *S. epidermidis* mindkét esetben csak kiindulási napon volt detektálható, nem úgy, mint a modell kísérleteknél, ahol folyamatos növekedés volt tapasztalható a táplevesben, amiből az állapítható meg, hogy a vízben nincs számára elegendő tápanyag a szaporodáshoz. Mindkét palack vizében egyik legnagyobb mértékben a *St. maltophilia* volt képes elszaporodni, amely a vizes élőhelyeket kedveli (Brooke, 2012). Wilkinson és Kerr (1998) is arra a következtetésre jutottak, amikor palackozott vizeket vizsgáltak, hogy a *St. maltophilia* életképes tud maradni a palackozott vizekben. A *St. maltophilia*-val és *P. putida*-val végzett kísérletek során különbséget tapasztaltam a két különböző műanyagból készült palackban tárolt víz sejtkoncentráció változásában, ezért, feltehetően fontos a mikrobák szaporodása szempontjából, hogy milyen anyagból készült palackot használunk. Az általam kapott eredmények hasonlóak Erdős (2022) munkájában kapott eredményekhez. Szintén PET és PP palackokban vizsgálta a mikrobakoncentráció változását. Az általa vizsgált *P. aeruginosa*

vízben elért koncentrációja a hatodik napra 10^5 - 10^6 sejt/ml között volt és a PP palackok vizében tapasztalt nagyobb mértékű szaporodást.

PET és PP palackok belső felületén a *S. epidermidis* és a *P. putida* hasonló mértékben szaporodott, azonban a másik két baktérium szaporodását befolyásolta a palack anyaga. Gottenbos és munkatársai (2000) különböző polimereken (teflon, PP, PE, PET) vizsgálták a *S. epidermidis* szaporodását sóoldatban és növekedési közegben és ők is azt tapasztalták, hogy a PP-n alacsony tápanyagellátási körülmények között a növekedési sebessége kétszer alacsonyabb volt, mint a többi felületen. *St. maltophilia* esetében a PET palackok felületén csak a hatodik napra történt intenzív növekedés, azonban a PP palackok belső felületén már a kiindulási és az első napra is magas sejtkoncentráció volt detektálható. Első napra négy nagyságrendbeli különbség volt tapasztalható a két felületen lévő baktérium koncentráció között, amiből megállapítható, hogy a PP palackok felületén könnyebben meg tud tapadni és elszaporodni. A *St. maltophilia*-val végzett vizsgálatok eredményei alátámasztják Brooke (2012) állítását, miszerint kitűnően képes műanyag felületekhez tapadni és ezzel biofilmet képezni. *Kl. oxytoca*-nál is sokkal jelentősebb volt a PP palackok felületén a szaporodás, mint PET palackok felületén. A *Kl. oxytoca* szaporodásában nagyobb különbségek mutatkoztak meg a két felületen. A hatodik napra közel 2 nagyságrenddel magasabb volt a PP palackok felületén a koncentrációja, mint a PET palackok felületén. Ezekhez az eredményekhez hasonlóan írt Abood és Ibrahim (2017), mely szerint az általuk vizsgálták *Klebsiella* izolátumok 75%-ában tapasztaltak erős vagy mérsékelt szaporodást műanyag felületen.

A modell lemezekkel és a palackokkal végzett kísérletek eredményeit összehasonlítva azt tapasztaltam, hogy a tápközeg egy fontos befolyásoló paraméter a biofilm képződés szempontjából. *S. epidermidis* esetében folyamatos növekedés volt tapasztalható a modell lemezeken, melyet tápközeg vett körül, ezzel szemben a vízzel töltött PET és PP palack felületeken csak a kiindulási napon volt detektálható a baktérium. Hasonló jelenséget tapasztaltam a *P. putida* esetében is; a modell kísérlet során az első napon is kimutatható volt, ezzel szemben a PP palack felületén, amikor víz volt a tápközeg, csak a 6. napra vált detektálhatóvá. Ebből kifolyólag a továbbiakban érdemes lenne akár ugyanezekkel a baktériumokkal dolgozva más mátrixot, tápközeget alkalmazni és a szaporodásukat, megtapadási és biofilm képző képességüket vizsgálni.

Összehasonlítva a műanyag és rozsdamentes acél palackok vizében a baktériumok szaporodásáról elmondható, hogy a műanyag palackok vizében jobban szaporodtak ezek a mikrobák, magasabb sejtkoncentráció volt tapasztalható, mint a rozsdamentes acél palackokban lévő vízben. A belső felületeken tapasztalt baktérium sejtkoncentrációk szinte mindegyik

esetben magasabbak voltak a műanyag palackok felületén, mint a rozsdamentes acél kulacsok belső felületén. Ennek a magyarázata az lehet, hogy az az újbóli felhasználásnak, tisztításoknak köszönhetően a műanyag felületek jobban megrepednek és kissé érdessé válnak, aminek hatására a baktériumok könnyen megtapadnak és elszaporodnak (Shi és Zhu, 2009).

Az öblítéssel végzett tisztítási vizsgálat során azt tapasztaltam, hogy a *P. aeruginosa* az öblítést követően is detektálható volt a felületen, majd a palack újratöltését követően az idő előrehaladtával folyamatosan növekedett a koncentrációja, különösen a PP palackok felületén. Ezek alapján a PP felületen könnyebben képes elszaporodni, csak úgy, ahogy a korábban vizsgált *Kl. oxytoca* is. Tapasztalataim megegyeztek egy korábbi diplomamunkában tapasztaltakkal (Dancs, 2020), miszerint az öblítés nem megfelelő mértékben képes csökkenteni a felületen a *P. aeruginosa* jelenlétét. Eredményei alapján PET palackok esetében csak kis mértékben csökkent a sejtkoncentráció, míg a PP palackoknál körülbelül 1 nagyságrendnyi volt a csökkenés, ahogy én is tapasztaltam.

Mivel a mindennapok során a palackjainkban, kulacsainkban vizet tárolunk és azt fogyasztjuk, ezért kiemelten fontos, azok rendszeres tisztítása a háztartásainkban. Ahogy a kapott eredményeim is mutatják, a baktériumok könnyen elszaporodhatnak a vízben és az otthon alkalmazott mosogatószeres öblítés nem lehet megfelelő mértékű, ezek eltávolítására. Ennek érdekében a tisztítószer mellett érdemes lenne fertőtlenítőszereket alkalmazni, ezzel növelve a hatékonyságot (Van Houdt és Michiels, 2010), különösen a klór tartalmú fertőtlenítőszerek, amelyek hatékonyan inaktiválnak bakteriális kórokozókat (String et al., 2021). Amennyiben a megfelelő vegyszeres kezelést alkalmazzuk a tisztítások során, hatékonyan el tudjuk távolítani a biofilmeket a palackok belsejéről, ezzel biztosítva a tisztaságukat és megelőzve az egészségügyi ártalmakat.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

Manapság az emberek egyre környezettudatosabbak és éppen ezért egyre nagyobb jelentősége van az újratölthető palackoknak, amiket az emberek nap, mint nap feltöltenek és újból használnak. Ennek azonban meglehet a veszélye is, ha figyelembe vesszük, hogy a palackokba kerülő mikrobák biofilmet képezhetnek, ezáltal a benne tárolt folyadék minőségromlását okozhatják.

Kutatásom célja volt, hogy már használt ivópalackokról – nagy valószínűséggel a szájüregből származó - mikrobákat izoláljak, és vizsgáljam ezek biofilm képző képességét különböző modell és valós (PET és PP ivópalack) felületeken. Emellett nyomon követtem, hogy palackban kialakult biofilmet, milyen hatékonysággal lehet eltávolítani, majd a palackot újra töltve, milyen változások következnek be a tárolt folyadékban és a palack felületén.

A méréseim során az első lépés az volt, hogy használt műanyag palackokból tamponos mintavételt követően mikrobákat izoláltam-, melyek MALDI-TOF MS módszer segítségével kerültek azonosításra. Négy azonosított baktériummal (*Staphylococcus epidermidis*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Klebsiella oxytoca*, *Pseudomonas putida*), 6 napon keresztül rozsdamentes acél- és polipropilén modell lemezekon követtem nyomon a biofilm képzést tripton szója levesben. A kutatás további részében szintén 6 napon keresztül vizsgáltam, hogy a négy baktérium képes-e csapvízzel töltött palack (PET és PP) felületén biofilmet kialakítani. Vizsgálataim lezárásaként *Pseudomonas aeruginosa*-val végeztem kísérletet, mely során palackban kialakult biofilm háztartásokban alkalmazott tisztítással (mosogatószeres vízzel történő alapos rázás és öblítés) történő eltávolításának hatékonyságát, majd a tisztított palackban kialakuló mikrobiológiai változásokat vizsgáltam.

A kezdeti modellkísérletek során azt tapasztaltam, hogy az izolált és kiválasztott baktériumok mind el tudtak szaporodni a táplevesben a műanyag és fémlemez felületén. A táplevesnek köszönhetően különböző tápanyagokhoz jutottak hozzá, amelyek hozzájárultak a szaporodásukhoz. A PP lemezekon különböző mértékben képeztek biofilmet a baktériumok, közülük a *St. maltophilia* volt képes legnagyobb mértékben elszaporodni. Ezzel szemben a rozsdamentes acéllemez felületén a kísérlet utolsó napján nem volt jelentős különbség a vizsgált izolátumok sejtkoncentrációja között.

Ivóvizes palackokban (PET és PP) tárolt vízben a *St. maltophilia* és a *Kl. oxytoca* izolátumok szaporodtak el intenzíven, elérve a 10^5 - 10^6 tke/ml sejtkoncentrációt, ugyanakkor a *S. epidermidis* és *P. putida* szaporodása elenyésző volt. A palackok belső felületén kialakuló biofilm tekintetében is hasonlóak voltak a tapasztalataim: a műanyag típusától függetlenül a *St.*

maltophilia és a *Kl. oxytoca* esetében 10^5 - 10^7 tke/palack értékek között mozgott a sejtkoncentráció, míg a *S. epidermidis* és *P. putida* esetében nem volt biofilm detektálható.

Rozsdamentes acél kulacsokkal összehasonlítva a műanyag palackok belső felületén jelentősebb mértékű baktérium szaporodást tapasztaltam.

Az eredmények alapján következtetni lehet arra, hogy a biofilm képzés szempontjából jelentős befolyásoló tényező a vizsgált mikrobák esetén is a felülettel érintkező folyadék mátrix. Vizsgálataim arra is felhívják a figyelmet, hogy a szájüregből a palackba kerülő mikrobák is potenciális forrásai lehetnek az ivópalackokban kialakuló biofilmeknek és ebből adódóan az egészségre nézve is következményei lehetnek.

A palackok hétköznapi használatát modellező kísérlet (tisztítás+újrátöltés) során azt tapasztaltam, hogy az alkalmazott öblítési módszer nem hatékony a biofilm eltávolítása szempontjából, így ennek következtében az újrátöltött palackokban tapasztalható eredetileg kis mikrobakoncentráció rövid idő alatt intenzív növekedést mutat.

Ezek a kísérletek felhívják a figyelmet arra, hogy amellett, hogy az újrátölthető ivópalackok használatával igyekszünk a környezetünket jobban kímélő életmódot folytatni, nagy gondot kell fordítani az palackok alapos, körültekintő tisztítására is, hogy ne csak környezetünket, hanem egészségünket is óvjuk.

7. IRODALOMJEGYZÉK

1. Abood, S. H., & Ibrahim, I. A. (2017). Comparison of biofilm formation by different species of Klebsiella. *Pak. J. Biotechnol. Vol*, 14(4), 531-535.
2. Baker, J. H. (1984). Factors affecting the bacterial colonization of various surfaces in a river. *Canadian journal of microbiology*, 30(4), 511-515.
DOI: <https://doi.org/10.1139/m84-076>
3. Bhagwat, G., O'Connor, W., Grainge, I., & Palanisami, T. (2021). Understanding the fundamental basis for biofilm formation on plastic surfaces: role of conditioning films. *Frontiers in Microbiology*, 12, 687118.
DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.687118>
4. Biswas, S., & Rolain, J. M. (2013). Use of MALDI-TOF mass spectrometry for identification of bacteria that are difficult to culture. *Journal of microbiological methods*, 92(1), 14-24.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2012.10.014>
5. Bos, R., Van der Mei, H. C., Gold, J., & Busscher, H. J. (2000). Retention of bacteria on a substratum surface with micro-patterned hydrophobicity. *FEMS microbiology letters*, 189(2), 311-315.
DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2000.tb09249.x>
6. Branda, S. S., Vik, Å., Friedman, L., & Kolter, R. (2005). Biofilms: the matrix revisited. *Trends in microbiology*, 13(1), 20-26.
DOI: [10.1016/j.tim.2004.11.006](https://doi.org/10.1016/j.tim.2004.11.006)
7. Brooke, J. S. (2012). *Stenotrophomonas maltophilia*: an emerging global opportunistic pathogen. *Clinical microbiology reviews*, 25(1), 2-41.
DOI: <https://doi.org/10.1128/cmr.00019-11>
8. Brooke, J. S. (2021). Advances in the microbiology of *Stenotrophomonas maltophilia*. *Clinical microbiology reviews*, 34(3), 10-1128.
DOI: <https://doi.org/10.1128/cmr.00030-19>
9. Bryers, J. D. (1987). Biologically active surfaces: processes governing the formation and persistence of biofilms. *Biotechnology Progress*, 3(2), 57-68.
DOI: <https://doi.org/10.1002/btpr.5420030202>

10. Burton, J., Wescombe, P., Cadieux, P., & Tagg, J. (2011). Beneficial microbes for the oral cavity: time to harness the oral streptococci?. *Beneficial microbes*, 2(2), 93-101.
DOI: <https://doi.org/10.3920/BM2011.0002>
11. Caroli, G., Levre, E., Armani, G., Biffi-Gentili, S. and Molinari, G. (1985) Search for acid-fast bacilli in bottled mineral waters. *J Appl Bacteriol* 58, 461–464
DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1985.tb01486.x>
12. Carrascosa, C., Raheem, D., Ramos, F., Saraiva, A., & Raposo, A. (2021). Microbial biofilms in the food industry—A comprehensive review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(04), 2014.
DOI: <https://doi.org/10.3390/ijerph18042014>
13. Covert, T.C., Rodgers, M.R., Reyes, A.L. and Stelma, G.N. Jr (1999) Occurrence of nontuberculous mycobacteria in environmental samples. *Appl Environ Microbiol* 65, 2492– 2496.
DOI: <https://doi.org/10.1128/AEM.65.6.2492-2496.1999>
14. Crouzet, M., Le Senechal, C., Brözel, V. S., Costaglioli, P., Barthe, C., Bonneau, M., & Vilain, S. (2014). Exploring early steps in biofilm formation: set-up of an experimental system for molecular studies. *BMC microbiology*, 14, 1-12.
DOI: <https://doi.org/10.1186/s12866-014-0253-z>
15. Dancs Vivien (2020). Műanyag palackokban képződött biofilmek és azok eltávolítási módszereinek összehasonlítása, MATE Diplomamunka
16. Dávidovits Zsuzsanna, (2011). A vízvédelem jogi szabályozási rendszere és az ivóvíz-minősítés szabályozása. *Hadmérnök Online, VI. évfolyam*, 4.
17. Denton, M., & Kerr, K. G. (1998). Microbiological and clinical aspects of infection associated with *Stenotrophomonas maltophilia*. *Clinical microbiology reviews*, 11(1), 57-80.
DOI: <https://doi.org/10.1128/cmr.11.1.57>
18. Donlan, R. M. (2002). Biofilms: microbial life on surfaces. *Emerging infectious diseases*, 8(9), 881.
DOI: [10.3201/eid0809.020063](https://doi.org/10.3201/eid0809.020063)
19. Doria, M. F. (2006). Bottled water versus tap water: understanding consumers' preferences. *Journal of water and health*, 4(2), 271-276.
DOI: <https://doi.org/10.2166/wh.2006.0023>

20. Erdős Hajnalka (2022). Különböző közegekkel érintkező műanyag palackban képződő biofilm kimutatása és eltávolítása, MATE TDK dolgozat
21. Fatima, S., Rehman, A., Shah, K., Kamran, M., Mashal, S., Rustam, S., & Muzammal, M. (2020). Composition and function of saliva: A review. *World J. Pharm. Pharm. Sci*, 9(6), 1552-1567.
DOI: 10.20959/wjpps20206-16334
22. Ferrier, C. (2001). Bottled water: understanding a social phenomenon. *AMBIO: A journal of the Human Environment*, 30(2), 118-119.
DOI: <https://doi.org/10.1579/0044-7447-30.2.118>
23. Fernández, M., Porcel, M., de la Torre, J., Molina-Henares, M. A., Daddaoua, A., Llamas, M. A., & Duque, E. (2015). Analysis of the pathogenic potential of nosocomial *Pseudomonas putida* strains. *Frontiers in microbiology*, 6, 871.
DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00871>
24. Fewtrell, L., Kay, D., Wyer, M., Godfree, A., & O'Neill, G. (1997). Microbiological quality of bottled water. *Water Science and Technology*, 35(11-12), 47-53.
DOI: [https://doi.org/10.1016/S0273-1223\(97\)00233-3](https://doi.org/10.1016/S0273-1223(97)00233-3)
25. Ghasemian, A., Mobarez, A. M., Peerayeh, S. N., & Abadi, A. B. (2019). The association of surface adhesin genes and the biofilm formation among *Klebsiella oxytoca* clinical isolates. *New microbes and new infections*, 27, 36-39.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2018.07.001>
26. Gottenbos, B., van der Mei, H. C., & Busscher, H. J. (2000). Initial adhesion and surface growth of *Staphylococcus epidermidis* and *Pseudomonas aeruginosa* on biomedical polymers. *Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 50(2), 208-214.
DOI: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4636\(200005\)50:2<208::AID-JBM16>3.0.CO;2-D](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4636(200005)50:2<208::AID-JBM16>3.0.CO;2-D)
27. Hariharan, A. V., & Sankar, M. M. (2024). Daily Use Water Bottles as a Hub for Microbial Population: A Comparative Study of PET vs. Stainless Steel Water Bottles and Outcome of Washing Strategy Intervention. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 16(Suppl 2), S1242-S1245.
DOI: 10.4103/jpbs.jpbs_559_23

28. Hasan, N. A., Young, B. A., Minard-Smith, A. T., Saeed, K., Li, H., Heizer, E. M., & Colwell, R. R. (2014). Microbial community profiling of human saliva using shotgun metagenomic sequencing. *PLoS One*, 9(5), e97699.
DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0097699>
29. Holtzman, A.E., Aronson, T.W., Glover, N., Froman, S., Stelma, G.N. Jr, Sebata, S.N., Boian, M.G., Tran, T.T. et al. (1997) Examination of bottled water for nontuberculous mycobacteria. *J Food Prot* 60, 185–187.
DOI: <https://doi.org/10.4315/0362-028X-60.2.185>
30. Iibuchi, R., Hara-Kudo, Y., Hasegawa, A., & Kumagai, S. (2010). Survival of Salmonella on a polypropylene surface under dry conditions in relation to biofilm-formation capability. *Journal of food protection*, 73(8), 1506-1510.
DOI: <https://doi.org/10.4315/0362-028X-73.8.1506>
31. Jagals, P., Jagals, C., & Bokako, T. C. (2003). The effect of container-biofilm on the microbiological quality of water used from plastic household containers. *Journal of water and health*, 1(3), 101 108.
DOI: <https://doi.org/10.2166/wh.2003.0012>
32. Jones, C. R., Adams, M. R., Zhdan, P. A., & Chamberlain, A. H. L. (1999). The role of surface physicochemical properties in determining the distribution of the autochthonous microflora in mineral water bottles. *Journal of applied microbiology*, 86(6), 917-927.
DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.1999.00768.x>
33. Kaplan, J. B., Ragunath, C., Velliyagounder, K., Fine, D. H., & Ramasubbu, N. (2004). Enzymatic detachment of Staphylococcus epidermidis biofilms. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 48(7), 2633-2636.
DOI: <https://doi.org/10.1128/aac.48.7.2633-2636.2004>
34. Kériné Borsodi, A., Felföldi, T., Jäger, K., Makk, J., Márialigeti, K., Romsics, C., & Vajna, B. (2013). Bevezetés a prokarióták világába.
35. Kumar, C. G., & Anand, S. K. (1998). Significance of microbial biofilms in food industry: a review. *International journal of food microbiology*, 42(1-2), 9-27.
DOI: [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(98\)00060-9](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(98)00060-9)
36. Liu, S., Gunawan, C., Barraud, N., Rice, S. A., Harry, E. J., & Amal, R. (2016). Understanding, monitoring, and controlling biofilm growth in drinking water distribution systems. *Environmental science & technology*, 50(17), 8954-8976.
DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b00835>

37. López, D., Vlamakis, H., & Kolter, R. (2010). Biofilms. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 2(7), a000398.
DOI: 10.1101/cshperspect.a000398
38. Mack, D., Davies, A. P., Harris, L. G., Rohde, H., Horstkotte, M. A., & Knobloch, J. K. M. (2007). Microbial interactions in *Staphylococcus epidermidis* biofilms. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 387, 399-408.
DOI: <https://doi.org/10.1007/s00216-006-0745-2>
39. Maddah, H. A. (2016). Polypropylene as a promising plastic: A review. *Am. J. Polym. Sci*, 6(1), 1-11.
DOI: 10.5923/j.ajps.20160601.01
40. Majumdar, S., & Singh, A. B. (2014). Normal microbial flora of oral cavity. *Journal of Advanced Medical and Dental Sciences Research*, 2(4), 62-66.
41. Marcotte, H., & Lavoie, M. C. (1998). Oral microbial ecology and the role of salivary immunoglobulin A. *Microbiology and molecular biology reviews*, 62(1), 71-109.
DOI: <https://doi.org/10.1128/mmbr.62.1.71-109.1998>
42. Namvar, A. E., Bastarahang, S., Abbasi, N., Ghehi, G. S., Farhadbakhtiarian, S., Arezi, P., & Chermahin, S. G. (2014). Clinical characteristics of *Staphylococcus epidermidis*: a systematic review. *GMS hygiene and infection control*, 9(3).
DOI: [10.3205/dgkh000243](https://doi.org/10.3205/dgkh000243)
43. Neog, N., Phukan, U., Puzari, M., Sharma, M., & Chetia, P. (2021). *Klebsiella oxytoca* and emerging nosocomial infections. *Current Microbiology*, 78(4), 1115-1123.
DOI: <https://doi.org/10.1007/s00284-021-02402-2>
44. Nisticò, R. (2020). Polyethylene terephthalate (PET) in the packaging industry. *Polymer Testing*, 90, 106707.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2020.106707>
45. Olanbiwoninu, A. A., & Popoola, B. M. (2023). Biofilms and their impact on the food industry. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 30(2), 103523.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2022.103523>
46. Oliphant, J. A., Ryan, M. C., & Chu, A. (2002). Bacterial water quality in the personal water bottles of elementary students. *Canadian journal of public health*, 93, 366-367.
DOI: <https://doi.org/10.1007/BF03404571>
47. Pap, K. (2011). *Az élelmiszer mikrobiológia kiemelt szempontjai palackozott forrás-és ásványvíz gyártása során* (Doctoral dissertation, Doktori értekezés, Budapesti Corvinus Egyetem, Élelmiszertudományi Kar, Mikrobiológia és Biotechnológia, Tanszék).

48. Papapetropoulou, M., Tsintzou, A. and Vantarakis, A. (1997) Environmental mycobacteria in bottled table waters in Greece. *Can J Microbiol* 43, 499–502.
DOI: <https://doi.org/10.1139/m97-071>
49. Pedersen, K. (1990). Biofilm development on stainless steel and PVC surfaces in drinking water. *Water Research*, 24(2), 239-243.
DOI: [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(90\)90109-J](https://doi.org/10.1016/0043-1354(90)90109-J)
50. Percival, S. L., Knapp, J. S., Edyvean, R., & Wales, D. S. (1998). Biofilm development on stainless steel in mains water. *Water Research*, 32(1), 243-253.
DOI: [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(97\)00132-2](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(97)00132-2)
51. Radó János (2011). Az ember vízháztartása. *Magyar Tudomány*, 12.
52. Rani, B., Maheshwari, R., Garg, A., & Prasad, M. (2012). Bottled water—a global market overview. *Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences*, 1(6), 1-4.
53. Rayner, J., Veeh, R., & Flood, J. (2004). Prevalence of microbial biofilms on selected fresh produce and household surfaces. *International journal of food microbiology*, 95(1), 29-39.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.01.019>
54. Rosenberg, F. A. (2003). The microbiology of bottled water. *Clinical Microbiology Newsletter*, 25(6), 41-44.
DOI: [https://doi.org/10.1016/S0196-4399\(03\)80019-3](https://doi.org/10.1016/S0196-4399(03)80019-3)
55. Sandu, C., & Singh, R. K. (1991). Energy increase in operation and cleaning due to heat-exchanger fouling in milk pasteurization.
56. Shi, X., & Zhu, X. (2009). Biofilm formation and food safety in food industries. *Trends in Food Science & Technology*, 20(9), 407-413.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2009.01.054>
57. Silva, I. D., Careli, R. T., Lima, J. C., & Andrade, N. J. (2010). Effectiveness of cleaning and sanitizing procedures in controlling the adherence of *Pseudomonas fluorescens*, *Salmonella Enteritidis*, and *Staphylococcus aureus* to domestic kitchen surfaces. *Food Science and Technology*, 30, 231-236.
DOI: <https://doi.org/10.1590/S0101-20612010005000015>
58. Singh, L., Cariappa, M. P., & Kaur, M. (2016). *Klebsiella oxytoca*: An emerging pathogen?. *Medical journal armed forces india*, 72, S59-S61.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mjafi.2016.05.002>

59. Stoodley, P., Sauer, K., Davies, D. G., & Costerton, J. W. (2002). Biofilms as complex differentiated communities. *Annual Reviews in Microbiology*, 56(1), 187-209.
DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.56.012302.160705>
60. String, G., Domini, M., Mirindi, P., Brodsky, H., Kamal, Y., Tatro, T., & Lantagne, D. (2020). Efficacy of locally-available cleaning methods in removing biofilms from taps and surfaces of household water storage containers. *Npj Clean Water*, 3(1), 13.
DOI: <https://doi.org/10.1038/s41545-020-0061-y>
61. String, G. M., Domini, M., Badr, H., Brodsky, H., Kamal, Y., Tatro, T., & Lantagne, D. S. (2021). Efficacy of locally-available cleaning methods and household chlorination at inhibiting biofilm development in jerricans used to store household drinking water. *Environmental Science: Water Research & Technology*, 7(2), 367-383.
DOI: <https://doi.org/10.1039/D0EW00748J>
62. Sutherland, I. W. (2001). Biofilm exopolysaccharides: a strong and sticky framework. *Microbiology*, 147(1), 3-9.
DOI: <https://doi.org/10.1099/00221287-147-1-3>
63. Tatchou-Nyamsi-König, J. A., Dailloux, M., & Block, J. C. (2009). Survival of Mycobacterium avium attached to polyethylene terephthalate (PET) water bottles. *Journal of applied microbiology*, 106(3), 825-832.
DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2008.04050.x>
64. Thi, M. T. T., Wibowo, D., & Rehm, B. H. (2020). Pseudomonas aeruginosa biofilms. *International journal of molecular sciences*, 21(22), 8671.
DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21228671>
65. Trachoo, N. (2003). Biofilms and the food industry. *Biofilms*, 25(6), 808.
66. Tuon, F. F., Dantas, L. R., Suss, P. H., & Tasca Ribeiro, V. S. (2022). Pathogenesis of the Pseudomonas aeruginosa biofilm: a review. *Pathogens*, 11(3), 300.
DOI: <https://doi.org/10.3390/pathogens11030300>
67. Van Houdt, R., & Michiels, C. W. (2010). Biofilm formation and the food industry, a focus on the bacterial outer surface. *Journal of applied microbiology*, 109(4), 1117-1131.
DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2010.04756.x>
68. Vasiutkina, N., & Lazebnyk, O. (2020). Research of bottled water consumer's behaviour in Europe and Ukraine considering current economic and environmental conditions. *Journal of Hygienic Engineering & Design*, 32.

69. Vuong, C., & Otto, M. (2002). Staphylococcus epidermidis infections. *Microbes and infection*, 4(4), 481-489.
DOI: [https://doi.org/10.1016/S1286-4579\(02\)01563-0](https://doi.org/10.1016/S1286-4579(02)01563-0)
 70. Webb, H. K., Crawford, R. J., Sawabe, T., & Ivanova, E. P. (2009). Poly (ethylene terephthalate) polymer surfaces as a substrate for bacterial attachment and biofilm formation. *Microbes and environments*, 24(1), 39-42.
DOI: <https://doi.org/10.1264/jsme2.ME08538>
 71. Weimer, A., Kohlstedt, M., Volke, D. C., Nickel, P. I., & Wittmann, C. (2020). Industrial biotechnology of Pseudomonas putida: advances and prospects. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104, 7745-7766.
DOI: <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10811-9>
 72. Wilkinson, & Kerr. (1998). Bottled water as a source of multi-resistant Stenotrophomonas and Pseudomonas species for neutropenic patients. *European journal of cancer care*, 7(1), 12-14.
DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2354.1998.00059.x>
 73. Wu, W., Jin, Y., Bai, F., & Jin, S. (2015). Pseudomonas aeruginosa. In *Molecular medical microbiology* (pp. 753-767). Academic Press.
DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397169-2.00041-X>
 74. Zhang, H., & Wen, Z. G. (2014). The consumption and recycling collection system of PET
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2013.07.015>
- Letöltve: 2024.10.24.
75. Internet 1: <https://asvanyvizek.hu/mit-kell-tudni-az-asvanyvizrol/asvanyviz-fogyasztasi-adatok/>
 76. Internet 2: <https://www.sciencephoto.com/media/11579/view/klebsiella-oxytoca-bacteria>
 77. Internet 3: <https://sciencephotogallery.com/featured/stenotrophomonas-maltophilia-bacteria-kateryna-konscience-photo-library.html>
 78. Internet 4: <https://isrdo.org/journal/SRJBL/currentissue/pseudomonas-putida-bacteria-the-biotech-industrys-obsession-with-the-organisms-fundamental-carbon-and-cellular-biochemistry>
 79. Internet 5: <https://sciencephotogallery.com/featured/1-pseudomonas-aeruginosa-dennis-kunkel-microscopyscience-photo-library.html>

80. Internet 6: 5/2023 (I. 12.) Korm. rendelet az ivóvíz minőségi követelményeiről és az ellenőrzés rendjéről <https://net.jogtar.hu/jogszabaly?docid=a2300005.kor>
81. Internet 7: 65/2004. (IV. 27.) FVM-ESzCsM-GKM együttes rendelet a természetes ásványvíz, a forrásvíz, az ivóvíz, az ásványi anyaggal dúsított ivóvíz és az ízesített víz palackozásának és forgalomba hozatalának szabályozásairól <https://net.jogtar.hu/jogszabaly?docid=a0400065.fvm>

8. ÁBRA- ÉS TÁBLÁZATJEGYZÉK

Ábrajegyzék:

1. ÁBRA: BIOFILM SZERKEZET KÜLÖNBÖZŐ AGARKONCENTRÁCIÓ ESETÉN (BRANDA ET AL., 2005)	6
2. ÁBRA: GYAKORI BIOFILMKÉPZŐ FAJOK (CARRASCOSA ET AL., 2021)	10
3. ÁBRA: HASZNÁLT KONYHAI MOSOGATÓSZIVACS CSEM (CRYOSTAGE SCANNING ELECTRON MICROSCOPY) KÉPE (RAYNER ET AL., 2004)	11
4. ÁBRA: ÁSVÁNYVÍZ FOGYASZTÁSA MAGYARORSZÁGON (INTERNET 1.)	17
5. ÁBRA: PALACKOZOTT VÍZ FOGYASZTÁSA NÉHÁNY EU ORSZÁGBAN (VASIUTKINA ÉS LAZEBNYK 2020)	18
6. ÁBRA: PET ÉS SS (ROZSDAMENTES ACÉL) PALACKOK 3 ÓRÁS MIKROBATERHELÉSÉNEK ÖSSZEHASONLÍTÁSA (HARIHARAN ÉS SANKAR, 2024)	20
7. ÁBRA: TISZTÍTÁSI MÓDSZEREK HATÁSA AZ E. COLI BIOFILMRE (STRING ET AL., 2020.)	21
8. ÁBRA: 5/2023. (I.12.) KORMÁNYRENDELET, PALACKBAN VAGY MÁS ZÁRT EDÉNYBEN FORGALMAZOTT IVÓVÍZRE VONATKOZÓ ÉRTÉKEK (INTERNET 6.)	22
9. ÁBRA: KLEBSIELLA OXYTOCA (INTERNET 2.)	25
10. ÁBRA: STENOTROPHOMONAS MALTOPHILIA, (INTERNET 3.)	27
11. ÁBRA: PSEUDOMONAS PUTIDA (INTERNET 4.)	27
12. ÁBRA: S. EPIDERMIDIS BIOFILM PÁSZTÁZÓ ELEKTRONMIKROSKÓPOS KÉPE ROZSDAMENTES ACÉLON (MACK ET AL., 2007)	28
13. ÁBRA: PSEUDOMONAS AERUGINOSA (INTERNET 5.)	29
14. ÁBRA: TISZTÍTOTT ÉS ÚJRATÖLTÖTT PALACKBAN TÖRTÉNŐ BIOFILM KÉPZÉS NYOMONKÖVETÉSÉNEK FOLYAMATÁBRÁJA	34

15. ÁBRA: IVÓPALACKOKRÓL IZOLÁLT MIKROORGANIZMUSOK SEJTKONCENTRÁCIÓJÁNAK (TKE/CM ²) VÁLTOZÁSA PP LEMEZEKEN VIZSGÁLVA 6 NAPON KERESZTÜL	37
16. ÁBRA: IVÓPALACKOKRÓL IZOLÁLT MIKROORGANIZMUSOK SEJTKONCENTRÁCIÓJÁNAK (TKE/CM ²) VÁLTOZÁSA ROZSDAMENTES ACÉLLEMEZEKEN VIZSGÁLVA 6 NAPON KERESZTÜL	38
17. ÁBRA: IVÓPALACKOKRÓL IZOLÁLT BAKTÉRIUMOK SZAPORODÁSÁNAK ÖSSZEHASONLÍTÁSA PET PALACKBAN TÁROLT VÍZBEN	40
18. ÁBRA: IVÓPALACKOKRÓL IZOLÁLT MIKROBÁK SZAPORODÁSA PP PALACKOKBAN TÁROLT VÍZBEN	41
19. ÁBRA: VIZSGÁLT MIKROBÁK SZAPORODÁSÁNAK ÖSSZEHASONLÍTÁSA MŰANYAG (PET ÉS PP) ÉS ROZSDAMENTES ACÉL (RA) PALACKOK VIZÉBEN.....	41
20. ÁBRA: IVÓPALACKOKRÓL IZOLÁLT BAKTÉRIUMOK SZAPORODÁSA PET PALACKOK BELSŐ FELÜLETÉN	42
21. ÁBRA: IVÓPALACKOKRÓL IZOLÁLT MIKROBÁK SZAPORODÁSA PP PALACKOK BELSŐ FELÜLETÉN	43
22. ÁBRA: VIZSGÁLT MIKROBÁK SZAPORODÁSÁNAK ÖSSZEHASONLÍTÁSA MŰANYAG (PET ÉS PP) ÉS ROZSDAMENTES ACÉL (RA) PALACKOK BELSŐ FELÜLETÉN	44
23. ÁBRA: PSEUDOMONAS AERUGINOSA SZAPORODÁSÁNAK VIZSGÁLATA PET ÉS PP PALACKOKBAN LÉVŐ VÍZBEN, ÖBLÍTÉSES MÓDSZERREL TÖRTÉNŐ TISZTÍTÁS HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA (PET: POLIETILÉN-TEREFTALÁT; PP: POLIPROPILÉN)	45
24. ÁBRA: PSEUDOMONAS AERUGINOSA SZAPORODÁSA PET ÉS PP PALACKOK BELSŐ FELÜLETÉN, ÖBLÍTÉSES MÓDSZERREL TÖRTÉNŐ TISZTÍTÁS HATÁSÁNAK A VIZSGÁLATA.....	46

Táblázatjegyzék:

1. TÁBLÁZAT: EMBEREK, MAJMKOK ÉS PATKÁNYOK NYÁLÁBAN TALÁLHATÓ MIKROORGANIZMUSOK MARCOTTE ÉS LAVOIE (1998) NYOMÁN (++ GYAKRAN IZOLÁLJÁK ÉS A TELJES SZÁJMIKROBIÓTA JELENTŐS SZÁZALÉKÁT ALKOTJÁK; + IZOLÁLT; ± ÁTMENETINEK TŰNIK; - NEM IZOLÁLT ; NA ADATOK NEM ÁLLNAK REND.....	23
2. TÁBLÁZAT: ST. MALTOPHILIA BIOKÉMIAI REAKCIÓI, DENTON ÉS KERR (1998) NYOMÁN	26
3. TÁBLÁZAT: VIZSGÁLT BAKTÉRIUMOK INKUBÁLÁSI HŐMÉRSÉKLETEI (FORRÁS: SAJÁT MUNKA)	32
4. TÁBLÁZAT: MALDI-TOF-FAL TÖRTÉNŐ AZONOSÍTÁS EREDMÉNYEI (FORRÁS: SAJÁT MUNKA)	36

5. TÁBLÁZAT: IVÓPALACKOKRÓL IZOLÁLT BAKTÉRIUMOK NÖVEKEDÉSÉNEK INTENZITÁSBÉLI KÜLÖNBSÉGE PP ÉS ROZSDAMENTES ACÉL FELÜLETEN (FORRÁS: SAJÁT MUNKA).....	39
6. TÁBLÁZAT: MIKROBAKONCENTRÁCIÓ NAGYSÁGRENDNYI VÁLTOZÁSA A TÁROLÁS KEZDETE ÉS VÉGE KÖZÖTT A KÜLÖNBÖZŐ FOLYADÉK MÁTRIXSZAL ÉRINTKEZŐ MODELL ÉS PALACK FELÜLETEKEN (FORRÁS: SAJÁT MUNKA)	47

Mészáros Péter Diplomadolgozat

9. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretnék köszönetet mondani a konzulensemnek, Taczmanné dr. Brückner Andrea egyetemi docensnek, a dolgozat elkészítéséhez nyújtott segítségéért, kedvességéért és türelméért.

Mészáros Péter Diplomadolgozat

NYILATKOZAT

a diplomadolgozat nyilvános hozzáféréséről és eredetiségéről

A hallgató neve: Mészáros Péter
A Hallgató Neptun kódja: 774A3Z
A dolgozat címe: Wopelach's model kódszámú biofilm biogáz előállítás felületén
A megjelenés éve: 2024
A konzulens intézetének neve: Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet
A konzulens tanszékének a neve: Élelmiszer - mikrobiológia, - higiénia és - biztonság Tanszék

Kijelentem, hogy az általam benyújtott diplomadolgozat egyéni, eredeti jellegű, saját szellemi alkotásom. Azon részeket, melyeket más szerzők munkájából vettem át, egyértelműen megjelöltem, és az irodalomjegyzékben szerepeltettem.

Ha a fenti nyilatkozattal valótlant állítottam, tudomásul veszem, hogy a záróvizsga-bizottság a záróvizsgából kizár és a záróvizsgát csak új dolgozat készítése után tehetek.

A leadott dolgozat, mely PDF dokumentum, szerkesztését nem, megtekintését és nyomtatását engedélyezem.

Tudomásul veszem, hogy az általam készített dolgozatra, mint szellemi alkotás felhasználására, hasznosítására a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem mindenkor szellemi tulajdonkezelési szabályzatában megfogalmazottak érvényesek.

Tudomásul veszem, hogy dolgozatom elektronikus változata feltöltésre kerül a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem könyvtári repozitori rendszerébe. Tudomásul veszem, hogy a megvédett és

- nem titkosított dolgozat a védést követően
- titkosításra engedélyezett dolgozat a benyújtásától számított 5 év eltelte után nyilvánosan elérhető és kereshető lesz az Egyetem könyvtári repozitori rendszerében.

Kelt: 2024 év november hó 4 nap

Mészáros Péter

Hallgató aláírása

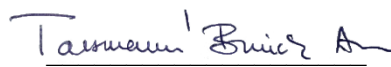
NYILATKOZAT

Mészáros Péter (J74A3Z) konzulenseként nyilatkozom arról, hogy a diplomadolgozatot áttekintettem, a hallgatót az irodalmi források korrekt kezelésének követelményeiről, jogi és etikai szabályairól tájékoztattam.

A diplomadolgozatot a záróvizsgán történő védeésre javaslom / nem javaslom¹.

A dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz: igen nem*²

Kelt: Budapest, 2024. november 3.


belső konzulens

¹ A megfelelő aláhúzendő.

² A megfelelő aláhúzendő.