

JÓZEF MALESZEWSKI

STAŁE PODŁOŻE DO OZNACZANIA PACIORKOWCÓW KAŁOWYCH W PRODUKTACH ŻYWNOŚCIOWYCH

Z Zakładu Badania Żywności i Przedmiotów Użytku PZH

Celem pracy było zastosowanie stałego, selektywnego podłoża do ilościowego oznaczania paciorkowców kałowych w żywności, ponieważ stosowane obecnie oznaczanie miana enterokoków na podłożu płynnym jest metodą niezbyt dokładną i często sprawia kłopot w interpretowaniu wyników.

Pod pojęciem paciorkowce kałowe rozumie się paciorkowce bytujące w przewodzie pokarmowym ludzi i zwierząt, należące do serologicznej grupy D Lancefield. W grupie tych drobnoustrojów wyróżnia się: *Streptococcus faecalis* z odmianami *Str. zymogenes*, *Str. liquefaciens* oraz *Str. faecium*, *Str. durans* i *Str. bovis*. Z wyjątkiem tego ostatniego wymienione paciorkowce nazywa się enterokokami. *Sherman* (15) scharakteryzował enterokoki, określając zespół cech specyficznych dla tych drobnoustrojów. Są to: zdolność wzrostu na podłożu przy pH 9,6, w obecności 6,5% NaCl, 40% żółci, wzrost w temperaturze 10° i 45° oraz oporność na ogrzewanie w temperaturze 60° w ciągu 30'. *Str. bovis* rośnie w temp. 45° i w obecności 40%, lecz pozostałym kryteriom *Shermana* nie odpowiada. Paciorkowce, które należą do serologicznej grupy D, ale różnią się pod względem fizjologicznym od wyżej wymienionych odmian, zalicza się do tzw. nietypowych enterokoków.

Zainteresowanie enterokokami w mikrobiologicznej ocenie środków spożywczych wynika stąd, że stanowią one wraz z grupą pałeczek okrężnicy ważny wskaźnik sanitarny, wskazujący nie tylko stopień, ale i źródło zakażenia. Występowanie tych drobnoustrojów w konserwach mięsnych pasteryzowanych oraz doniesienia na temat zatruc pokarmowych enterokokami (6, 7) przyczyniły się, że zaczęto interesować się tymi drobnoustrojami w badaniach mikrobiologicznych żywności. Niektóre szczepy enterokoków zmieniają w mięsie i konserwach mięsnych cechy organoleptyczne powodując zapach sera lub rozrzedzenie żelatyny (9). Zdolność enterokoków do wzrostu w warunkach niekorzystnych dla innych drobnoustrojów powoduje, że mogą one stanowić przeważającą mikroflorę w danym środowisku. Możliwość wzrostu w temperaturze 10° a nawet 0° i zdolność przetrzymywania pasteryzacji w niektórych środowiskach powoduje, że spotyka się często enterokoki w dużych ilościach w produktach spożywczych poddawanych obórbce termicznej.

Należy wspomnieć, że *Str. faecalis*, *Str. liquefaciens*, *Str. durans* i *Str. bovis*, dzięki umiarkowanemu zakwaszaniu mleka, spełniają wraz ze *Str. lactis* pożyteczną rolę w technologii sera *cheddar*. Podobno *Str. liquefaciens* wywiera korzystny wpływ na konsystencję serów dojrzewających (8).

Paciorkowce serologicznej grupy D Lancefield, wg doniesień holenderskich (18), spełniają pożyteczną rolę w produkcji kiełbas suszonych dojrzewających, powodując powstawanie pożądanego specyficznego zapachu. Drobnoustroje te podczas procesów fermentacji mlekowej w kiełbasach, giną po 2^{1/2} tygodniach.

Barnes i Ingram (1), stwierdzając *Str. faecalis* w produktach mięsnych, uważali jego obecność za dowód zakażenia od ludzi. Spostrzeżenia *Buttiaux* wykazały, że *Str. faecalis* i *Str. faecium* najczęściej spotyka się u człowieka, natomiast *Str. liquefaciens* i *Str. faecium* u świni.

Kelch i Stehl (10) dowodzą, że stwierdzenie w mięsie *Str. faecalis* nie świadczy wcale o zakażeniu produktu od ludzi. Trzoda chlewna, żyjąc w środowisku ludzi, jest zakażana *Str. faecalis*, który przed ubojem świni znajduje się wraz ze *Str. faecium* na skórze i w kale. Czy poszczególne odmiany enterokoków mogą definitywnie świadczyć o tym, że zakażenie nastąpiło od zwierzęcia lub od człowieka, nie jest jeszcze ustalone i wymaga dalszych badań.

Metody używane do izolowania enterokoków polegają na stosowaniu w podłożach takich związków jak: azydek sodu, telluryn potasu, octan talu, fiolet etylowy, fiolet krystaliczny i 2, 3, 5, — chlorek trójfenylo-tetrazolu.

Azydak sodu działa hamująco na system cytochromów i aktywność katalazy (17). Hamuje wzrost bakterii Gram-ujemnych, które są bardziej wrażliwe niż Gram-dodatnie. Azydek sodu działa najbardziej selektywnie w stężeniach 0,03‰ do 0,05‰ (11).

Telluryn potasu posiada wysoką wartość wybiórczą do izolowania enterokoków. Związek ten hamuje wzrost pałeczek okrężnicy i odmienia. Nie hamuje wzrostu niektórych gronkowców.

Octan talu posiada selektywne działanie w stosunku do różnych Gram-ujemnych i Gram-dodatnich drobnoustrojów.

Fiolet krystaliczny w stężeniu 1 : 800 000 używany jest jako czynnik hamujący wzrost pałeczek Gram-ujemnych i częściowo hamujący gronkowce, mikrokoki i laseczki zarodnikujące. Fiolet krystaliczny i fiolet etylowy stosowane są z azydkiem sodu do selektywnych podłoży dla enterokoków.

2, 3, 5-chlorek trójfenylo-tetrazolu (TTC) hamuje wzrost większości Gram-dodatnich drobnoustrojów i jest stosowany z azydkiem sodu lub octanem talu.

Wymienione związki są używane przez wielu autorów do podłoży w różnych kombinacjach. Jak podaje *Barnes* (3), obecnie do izolowania enterokoków stosowane są między innymi podłoża: a) Malmana i Litsky'ego z azydkiem sodu i fioletem etylowym, b) Packera z azydkiem sodu, fioletem krystalicznym i krwią końską, c) Hannay i Nortona tylko z azydkiem sodu, d) *Barnes* z octanem talu i TTC, e) *Slanetz* i *Bartleya* z TTC i z azydkiem sodu.

W Polsce do oznaczania miana enterokoków w produktach żywnościowych używa się zmodyfikowanego przez *Burzyńską* (5) płynnego podłoża Malmana i Litsky'ego (12, w którym fiolet etylowy zastąpiono fioletem krystalicznym i dodano jako wskaźnik purpurę bromokrezolową. Stosuje się również podłoże z tellurynem potasu w stężeniu 1 : 15 000. We Francji stosuje się oprócz podłoża Malmana i Litsky'ego, podłoże Packera i podłoże wg *Barnes* z octanem talu i TTC (19). Podłoże to nie daje jednak

zadowalających wyników przy posiewach produktów żywnościowych. Rosną na nim paciorkowce serologicznej grupy N, niektóre gronkowce i bakterie z rodzaju *Lactobacillus*. *Slanetz* i *Bartley* (16) podają, że posiewając ścieki, kał i wodę na podłoże z TTC i z azydkiem sodu, uzyskali wyłączny wzrost enterokoków wraz ze *Str. bovis* i *Str. equinus*, który również zaliczany jest do paciorkowców kałowych.

BADANIA WŁASNE

Podczas masowych badań mikrobiologicznych produktów żywnościowych zauważyłem, że przy posiewach jakościowych na podłożu płynnym z azydkiem i fioletem krystalicznym takich produktów, jak surowe mięso, konserwy mięsne, wędliny i wyroby garmażeryjne, następuje bardzo często odbarwienie podłoża do koloru żółtego, bez udziału enterokoków. W przypadku mięsa i przetworów mięsnych zachodzi czasem zjawisko wchłaniania barwników przez tkankę mięsną. W wyniku tego, wrzucony kawałek mięsa staje się fioletowy, a podłoże żółte. Odbarwienie podłoża zależy w tym przypadku również od ilości posianego produktu. Przy posiewie kwaśnych wyrobów garmażeryjnych odbarwienie podłoża do koloru żółtego następuje pod wpływem związków kwaśnych zawartych w produkcie. Dodawana do podłoża purpura bromokrezolowa, jako wskaźnik, zmienia barwę w granicach pH 5,2 — 6,8.

Przypadki odbarwienia podłoża bez udziału enterokoków, a pod wpływem kwasowości produktu lub wchłaniania barwnika przez tkankę mięsną, są bardzo często przyczyną błędów w interpretacji wyników przy masowych badaniach mięsa i przetworów mięsnych.

Przy oznaczaniu miana enterokoków nie spotyka się odbarwienia podłoża na skutek produktu, ze względu na duże rozcieńczenia. Można natomiast napotkać inne trudności polegające na tym, że ta sama próba, np. proszek mleczny, posiana równolegle do dwóch rzędów rozcieńczeń daje często miana różniące się o jedno rozcieńczenie, co wobec wymagań normy utrudnia ocenę produktu. Powyższe trudności wskazują potrzebę zastosowania stałego podłoża do oznaczania enterokoków w żywności, które nadawałoby się do bezpośrednich posiewów i liczenia tych drobnoustrojów.

Spośród stałych podłoży wymienionych w pracach *Slanetza*, *Bartleya* i *Barnes*, wybrano podłoże wg Packera i wg *Slanetza* celem zastosowania do liczenia i izolowania enterokoków w produktach żywnościowych. Dla porównania wyników, jako trzecie zastosowano podłoże płynne z azydkiem sodu, fioletem krystalicznym i purpurą bromokrezolową. Skład podłoża wg Packera (sposób przygotowania nieco zmieniony): wyciąg mięsny — 1000 ml, pepton tryptose — 18 g, NaCl — 6 g, agar — 20 g. Jest to podstawa podłoża, której pH należy doprowadzić do 6,8. Podstawę rozlewa się po 85 ml i do tej ilości dodaje: odwiłknionej krwi końskiej — 5 ml, roztworu azydku sodu 1%-owego 5 ml, roztworu fiolelu krystalicznego 0,004%-owego 5 ml.

Skład podłoża wg *Slanetza* i *Bartleya*: tryptose „Difco” — 2%, wyciąg drożdżowy — 0,5%, glikoza — 0,2%, K_2HPO_4 — 0,4%, azydek sodu — 0,04%, TTC — 0,01%, agar 1%.

Po wstępnych posiewach prób żywności zrezygnowano z podłoża wg Packera, ponieważ w przypadku posiewu prób silniej zakażonych

oprócz paciorkowców kałowych wyrastały kolonie innych drobnoustrojów. Do dalszych doświadczeń pozostawiono podłoże wg Slanetza i Bartleya, które wydało się najbardziej przydatne do posiewów prób żywności. Ponieważ podłoże z TTC i z azydkiem sodu, zastosowane przez autorów do posiewów prób wody, ścieków i kału, było zbyt miękkie do bezpośrednich posiewów żywności, zwiększono w nim ilość agaru do 2^o/. Ze względu na zagęszczenie podłoża podwyższono w nim zawartość azydku do 0,05^o/. Tak wysoka zawartość azydku eliminuje między innymi wzrost drobnoustrojów z grupy *Pseudomonas*, które są odporne w podłożu płynnym na stężenie azydku sodu równe 0,03^o (11). Po wprowadzeniu omówionych zmian, skład stałego podłoża dla paciorkowców kałowych przedstawia się następująco:

pepton tryptose	— 20 g
wyciąg drożdżowy	— 5 g
glikoza	— 5 g
K ₂ HPO ₄	— 4 g
agar	— 20 do 25 g
woda destylowana	— 1000 ml

Jest to podstawa podłoża, którą należy przygotować w butelkach po 100 lub 200 ml, ustalając pH — 7,2. Przed rozlaniem na płytki, na 100 ml podstawy podłoża dodaje się 2,5 ml 2^o/-owego roztworu azydku sodu, i 1 ml 1^o/-owego roztworu TTC. Roztworów tych można nie wyjaławiać pod warunkiem, że przygotowane będą w jałowej wodzie i jałowym naczyniu. TTC w substancji jest proszkiem koloru kremowego. Żółtopomarańczowy nie nadaje się do podłoża. W pracy niniejszej do doświadczeń użyto więc zmodyfikowane podłoże z azydkiem sodu i z TTC oraz podłoże płynne z azydkiem, fioletem krystalicznym i purpurą bromokrezolową. Do różnicowania szczepów wyrosłych na stałym podłożu z TTC, posługiwano się kryteriami fizjologicznymi podanymi przez Shattock (14) wg Ingram i Barnes (tab. I).

Różnice między *Str. faecalis* a odmianami *Str. zymogenes* i *Str. liquefaciens*, polegają na zdolności rozrzedzania żelatyny i właściwościach hemolitycznych. Cechami charakterystycznymi dla *Str. faecium* jest wrażliwość na telluryn potasu w stężeniu 1 : 2500 oraz zdolność fermentowania arabinozy. Sorbitolu nie fermentuje. *Str. durans* nie posiada zdolności fermentowania cukrów i nie redukuje mleka z lakmusem. Zdolność wzrostu w temp. 45° i przy pH — 9,6 jest zmienna. *Str. bovis* bardzo różni się od wymienionych paciorkowców kałowych. Nie rośnie w temp. 10°, przy pH — 9,6 i w obecności 6,5^o NaCl. Większość szczepów nie wytrzymuje ogrzewania w temp. 60° w ciągu 30'. Charakteryzuje się fermentacją rafinozy i wzrostem w 45°.

Należy zaznaczyć, że takie kryteria, jak hemoliza i wytrzymałość na ogrzewanie, nie są zbyt miarodajne, ponieważ hemoliza jest często zależna od rodzaju użytego peptonu, a próba na ogrzewanie, ze względu na brak rutynowej metody, wykonywana jest przez autorów wg ich własnego uznania. Niemniej kryteria podane w tab. I mogą być z powodzeniem wykorzystane do możliwie szybkiej orientacyjnej klasyfikacji enterokoków. Z danych z piśmiennictwa wiadomo, że nie zauważono zależności między cechami fizjologicznymi a właściwościami anty-

T a b e l a I
Cechy fizjologiczne paciorkowców kałowych wg Ingram i Bernes

	<i>Str. faecalis</i> *	<i>Str. zymogenes</i>	<i>Str. liquefaciens</i>	<i>Str. faecium</i>	<i>Str. durans</i>	<i>Str. bovis</i>
β hemoliza	—	+	—	—	+/-	—
Wzrost przy 10°	+	+	+	+	+	—
Wzrost przy 45°	+	+	+	+	+/-	+
pH 9,6	+	+	+	+	+/-	—
NaCl 6,5%	+	+	+	+	+	—
Żółć 40%	+	+	+	+	+	+
Oporność na ogrzewanie w 60°/30'	+	+	+	+	+	—
Redukcja mleka z lakmusem	+	+/-	+	—	—	—
Uplynnienie żelatyny	—	+/-	+	—	—	—
Mannitol	+	+	+	+/-	—	-/+
Sacharoza	+	+	+	+/-	—	+
Rafinoza	—	—	—	-/+	—	+
Sorbitol	+	+	+	-/+	—	—
Arabinoza	—	—	—	+	—	+/-
Wzrost w obecności teluryanu potasu 1:2500	+	+	+	—	—	—
Dekarboksylacja tyrozyny	+	+	+	+/-	+/-	—

genowymi enterokoków (13). Również otrzymanie dobrej grupowej surowicy D nastęrcza dużo trudności. Wobec tego wielu autorów w badaniach uwzględniła przede wszystkim cechy fizjologiczne.

W pracy niniejszej podłoża do oznaczania kryteriów Shermana przygotowano wg ogólnie przyjętych przepisów (4). Próbę na ogrzewanie przeprowadzono zakażając 12-godziną hodowlą bulion po 10 ml i ogrzewano, zanurzając próbki w łaźni wodnej o temp. 60°. Na początku doświadczenia porównano selektywność obu podłoży, posiewając szereg czystych szczepów różnych rodzajów bakterii. Wyniki podane są w tab. II.

Wszystkie szczepy *Str. faecalis*, *Str. zymogenes*, *Str. liquefaciens*, *Str. faecium* i *Str. durans* odbarwiły podłoże płynne z fioletem krystalicznym i purpurą bromokrezolową już po 24 godz. *Str. bovis* odbarwiał bardzo słabo podłoże dopiero po 4 dniach. Z pozostałych szczepów tylko paciorkowce z grupy H dały nietypowe odbarwienie podłoża po 48 godz.

Na stałym podłożu z TTC wyrosły tylko enterokoki i *Str. bovis*. Szczepy *Str. faecalis* z odmianami rosły w postaci buraczkowych kolonii z małą różową lub białą obwódką. Tworzyły kolonie okrągłe, gładkie, lekko wypukłe, błyszczące a nawet lekko metaliczne. Kolonie *Str. faecium* miały kolor biały z różowym środkiem. W dalszych doświadczeniach zauważono, że intensywność zabarwienia środka kolonii *Str. faecium* jest zmienna, od różowego do czerwonego. *Str. durans* daje kolonie białe z lekko zaróżowionym środkiem lub białe. Kolonie białe zebrane

T a b e l a II

Wyniki posiewów różnych rodzajów bakterii na podłoże z fioletem krystalicznym i podłoże z TTC

Rodzaj bakterii	Liczba szczepów	Podłoże z azydkiem, fioletem krystalicznym i purpurą bromokrezolową	Podłoże z azydkiem i T.T.C.
Paciorkowce z grupy A	1	—	—
Paciorkowce z grupy B	2	—	—
Paciorkowce z grupy C	1	—	—
Paciorkowce z grupy D	9	+	+
Paciorkowce z grupy F	1	—	—
Paciorkowce z grupy G	2	—	—
Paciorkowce z grupy H	1	±	—
Paciorkowce z grupy N	3	—	—
<i>Escherichia coli</i>	2	—	—
<i>Macillus subtilis</i>	1	—	—
<i>Bacillus cereus</i>	1	—	—
Gronkowce	2	—	—

+ oznacza wzrost charakterystyczny

— brak wzrostu

± wzrost niecharakterystyczny

oczkami w jedno miejsce dają śluzowatą masę o różowym zabarwieniu. *Str. bovis* rośnie w postaci białych kolonii. Czerwone zabarwienie kolonii zależne jest od zdolności redukcji TTC do formazanu. Jak wykazały badania Barnes (2), procent zredukowanego do formazanu TTC na podłożu zastosowanym przez autorkę wynosił dla *Str. faecalis* 85% — 91%, *Str. faecium* 24% — 43%, *Str. durans* — 10%, *Str. bovis* 9%.

Zabarwienie kolonii enterokoków na stałym podłożu z TTC zależne jest od skupienia kolonii. Kolonie zlane ze sobą tworzą różową masę z białoczerwonym brzegiem.

Posiewy czystych szczepów wykazały, że oba podłoża są wybiórcze dla enterokoków. Należy zaznaczyć, że *Str. bovis* odbarwia podłoże z fioletem krystalicznym z dużym opóźnieniem w porównaniu z innymi szczepami. W tym przypadku szybkość odbarwienia może zależeć od ilości wprowadzonych do podłoża komórek i wrażliwości szczepu na fiolet krystaliczny.

Celem sprawdzenia przydatności stałego podłoża z TTC do posiewów produktów żywnościowych i porównania wyników z mianem na podłożu z fioletem i purpurą bromokrezolową, na jedno i drugie podłoże posiano 128 prób żywności. Mięsa i przetworów mięsnych — 51, proszku mlecznego — 22, mleka — 31, sałatek garmażeryjnych — 24. Do posiewów użyto celowo część prób nieświeżych, silnie zakażonych, bowiem chodziło o wykazanie selektywności podłoża wobec innych bakterii. W związku z tym wyniki z ilościowych posiewów nie mogą być w tym doświadczeniu traktowane jako charakterystyczne dla poszczególnych produktów.

Do posiewów przygotowano z prób żywności szereg rozcieńczeń. Odważano 5 — 10 g produktu i mieszano z dziewięciokrotną ilością płynu fizjologicznego (0,85% NaCl), otrzymując w ten sposób rozcieńczenie 1 : 10, z którego przygotowywano dalsze. Na podłoże z fioletem krystalicznym posiewano po 1 ml z poszczególnych rozcieńczeń, aby określić miano enterokoków. Na stałe podłoże z TTC posiewano z poszczególnych rozcieńczeń po 0,1 ml na powierzchnię podłoża i rozprowadzano przystosowaną do tego celu spłaszczoną bagietką. Ilość produktu stałego, jaką można posiać tym sposobem na podłoże stałe, wynosi 1/100 g. W przypadku produktu płynnego można posiać (bez rozcieńczenia) 1/10 ml.

Posiewy na obu podłożach inkubowano w temp. 37°, a wyniki odczytywano po 24 i 48 godz. Wyniki na podłożu stałym z TTC można odczytać już po 24 godz. inkubacji. Po 48 godz. ilość kolonii nie zwiększa się, lecz są one bardziej charakterystyczne. Ilościowe wyniki z posiewów poszczególnych produktów zestawiono w tabeli III.

Porównując miano enterokoków z równoległym posiewem na podłoże stałe z TTC wynika, że na podłożu tym uzyskuje się wyniki ok. 10-krotnie wyższe niż przy oznaczaniu miana na podłożu płynnym. Różnice te są duże w przypadkach silnego zakażenia produktu, kiedy trzeba przygotowywać duże rozcieńczenia. Na podstawie tych różnic można przypuszczać, że w podłożu z fioletem krystalicznym nie wystarcza obecność pojedynczych komórek enterokoków wprowadzonych wraz z innymi bakteriami, by spowodować zmianę zabarwienia, ale musi być ich więcej. Mikroflora towarzysząca enterokokom prawdopodobnie ma wpływ na zmniejszenie aktywności tych bakterii w środowisku podłoża. W przypadku, jeśli punkt jest silnie zakażony przez *Str. bovis*, rozbieżność wyników na obu podłożach może być również duża, ponieważ drobnoustrój ten odbarwia podłoże z fioletem krystalicznym z dużym opóźnieniem.

Przy posiewie bardzo silnie zakażonych produktów na podłożu z TTC mogą wyrosnąć obok paciorkowców kałowych bardzo małe, białe kolonie ziarenkowców, które utrudniają liczenie. Ziarenkowce te widoczne są pod mikroskopem jako pojedyncze mikrokokki. Na podłożu z TTC bardzo szybko tracą żywotność, nie dając wzrostu po przesianiu na bulion z glikozą. Pojawienie się ich na podłożu jest bardzo charakterystyczne, gdyż występują w bardzo dużych ilościach i stanowią jakby tło dla pozostałych kolonii. Jeśli są w produkcji, to wyrastają i na innych podłożach, na płytce agarowej z krwią i na agarze zwykłym. Kolonie mikrokoków spotykane w czasie doświadczenia były suche, matowe, brzegi miały nierówne, wielkość nie przekraczała 0,5 mm. W produktach mniej zakażonych, mikrokoków w posiewach na podłożu z TTC nie stwierdzano.

Wyniki uzyskane na tym podłożu w posiewach mleka, proszku mlecznego, mięsa i przetworów mięsnych należy uznać za zadowalające. Możliwość odróżnienia *Str. faecalis* z odmianami *zymogenes* i *liquefaciens* od pozostałych odmian pozwala na orientację, jakimi paciorkowcami produkt jest zakażony i w jakim stopniu. Na podstawie różnic w zabarwieniu kolonii można tylko w przybliżeniu określać odmiany biochemiczne paciorkowców. Chcąc dokładniej określić cechy fizjologiczne należy sprawdzić kryteria wg tabeli I.

T a b e l a III

Mięso i przetwory mięsne			Mleko w proszku		
Liczba prób	Miano paciorkowców kałowych na podłożu z fioletem krystalicznym i purpurą bromokrezolową	Ilość kolonii paciorkowców kałowych na stałym podłożu z TTC	Liczba prób	Miano paciorkowców kałowych na podłożu z fioletem krystalicznym i purpurą bromokrezolową	Ilość kolonii paciorkowców kałowych na stałym podłożu z TTC
2	ujemne w 0,1	0 — 100	7	ujemne w 0,1	0 — 100
3	0,1	300 — 800	4	0,1	100 — 500
8	0,01	2 000 — 8 200	9	0,01	300 — 8 500
14	0,001	13 000 — 78 000	2	0,001	2 000 — 45 000
12	0,0001	120 000 — 600 000	Razem 22		
10	0,00001	300 000 — 7 800 000			
2	0,000001	16 000 000 — 1 miliard			
Razem 51	—	—			

Sałatki garmazeryjne			Mleko spożywcze		
3	0,1	200 — 800	3	0,1	120 — 400
9	0,01	900 — 5 200	13	0,01	300 — 3 800
8	0,001	6 000 — 96 000	8	0,001	1 200 — 50 000
4	0,0001	30 000 — 260 000	7	0,0001	20 000 — 150 000
Razem 24			Razem 31		

Stosując podłoże z TTC w rutynowych posiewach, należy początkowo stosować równolegle podłoże z fioletem krystalicznym dla ustalenia kryteriów ilościowych dla enterokoków w poszczególnych produktach żywnościowych, bowiem wyniki na podłożu stałym będą zawsze wyższe od miana na podłożu płynnym.

W pracy niniejszej wyizolowano z 82 prób żywności 116 różnych szczepów paciorkowców kałowych. Do *Str. faecalis* zaliczono 38 szczepów, *Str. liquefaciens* — 1, *Str. zymogenes* — 16, *Str. faecium* — 27, *Str. durans* — 20, *Str. bovis* — 7, nie sklasyfikowano — 7 szczepów. Szczepy nie sklasyfikowane rosły na podłożu z TTC w postaci białych kolonii z lekkim zaróżowionymi środkami. Fermentowały arabinozę, nie fermentowały sorbitolu, odporne były na telluryn potasu i wykazywały zmienność w oporności na ogrzewanie. Wszystkie odbarwiały podłoże z fioletem krystalicznym a pod mikroskopem widoczne były jako dwinki i paciorki po trzy lub cztery w łańcuszku.

WNIOSKI

1. Stałe podłoże z TTC i azydkiem sodu może być stosowane do bezpośrednich posiewów produktów żywnościowych w celu izolowania i liczenia paciorkowców kałowych. Wynik na tym podłożu otrzymuje się już po 24 godzinach. Po 48 godz. kolonie stają się bardziej charakterystyczne.

2. Na podstawie stopnia redukcji TTC w podłożu, można orientacyjnie określić stopień zakażenia żywności przez *Str. faecalis*, *zymogenes* i *liquefaciens*, które redukują bardzo silnie TTC do formazanu, dając buraczkowe zabarwienie kolonii. *Str. bovis*, *durans* i *Str. faecium* redukują TTC w mniejszym stopniu i tworzą kolonie białe z różowymi środkami lub zupełnie białe.

3. Na stałym podłożu z TTC i azydkiem sodu przy posiewach ilościowych otrzymuje się wyniki cyfrowo wyższe od miana oznaczanego na podłożu płynnym z fioletem krystalicznym i purpurą bromokrezolową.

4. W przypadku posiewu na podłoże z TTC niektórych wyrobów garmażeryjnych np. sałatek lub bardzo silnie zakażonych wędlin, mogą obok paciorkowców kałowych wyrosnąć mikrokokki, które utrudniają liczenie kolonii tych paciorkowców kałowych, które redukują TTC w minimalnym stopniu.

Ю. Малешевски

СРЕДА ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ *FAECAL STREPTOCOCCI* В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ

Для количественного определения *faecal streptococci* в пищевых продуктах применена среда, в которой азид натрия и 2, 3, 5 — трихлорфенилтетразоль являются факторами тормозящими другие микроорганизмы. Эту среду разработано модифицируя среду по Slanetz'y и Bartley'y.

На модифицированную среду для проверки селективности посевают целесообразно часть проб сильно обсеменённых, среда оказалась очень селективной в случае проб очень сильно обсеменённых, на среде могут вырасти небольшие колонии *micrococcus*, которые в некоторых сомнительных случаях можно отличать определяя физиологические черты.

J. Maleszewski

A STABLE MEDIUM FOR QUANTITATIVE DETERMINATION OF FAECAL STREPTOCOCCI IN FOOD PRODUCTS

For the focus of faecal streptococci determination a stable medium was used in which sodium azide and 2, 3, 5-trichlorophenylotetrazole were introduced as inhibitors against other species of bacteria. This is the modification of Slanetz and Bartley's liquid medium. The medium was found to be highly selective. If a food sample was highly contaminated with different species there the growth of micrococci could be found, but micrococcal colonies could be easily differentiated in following physiological tests.

PIŚMIENNICTWO

1. Barnes E. M., Ingram M.: Ann. Inst. Pasteur, Lille 7, 115, 1955. — 2. Barnes E. M.: J. Gen. Microbiology, 14, 57, 1956. — 3. Barnes E. M.: J. of the Science and Agriculture, 12, 656, 1959. — 4. Burbianka M., Pliszka A.: Mikrobiologiczne badanie produktów żywności, Warszawa 1957. — 5. Burzyńska H.: Roczniki PZH, 4a, 423, 1955. — 6. Dack G. M.: Food Poisoning, Chicago, 1949. — 7. Ingram M.: Ann. Inst. Pasteur, Lille, 7, 107, 1955. — 8. Hammer B. W., Babel F. J.: Dairy Bacteriology, 76—77, 1957. — 9. Ingram M., Barnes E. M.: Ann. Inst. Pasteur, Lille 7, 101, 1955. — 10. Keleh, Stehl: Fleischwirtschaft, 2, 92, 1960.
11. Lichstein H. C., Soul M. H.: J. Bakt., 47, 221, 1944. — 12. Litsky W. D., Malman W. D., Fiefield C. W.: Am. J. of Public Health and The Nations Health 43, 873, 1953. — 13. Pakula R.: Paciorkowce, Warszawa 1958. — 14. Shattock P. M. F.: Ann. Inst. Pasteur, Lille 7, 95, 1955. — 15. Sherman J. M.: Bact. Rev., 1, 1937 (cytat Pakuły 1958). — 16. Slanetz L. W., Bartley C. H.: J. Bact., 74, 591, 1957. — 17. Smith L.: Bact. Rev., 18, 106, 1954. — 18. Ten Cate L.: Tijdschr. Diergeneesk., 14, 859 i 12, 743, 1960. — 19. Annales des Falsifications et de l'Expertise Chimique 616, 228, 1960.

K. R. Middleton. USUWANIE FOSFORANÓW PRZESZKADZAJĄCYCH W OZNACZANIU WAPNIA I MAGNEZU W POPIELE ROŚLINNYM ZA POMOCĄ EDTA. The Analyst, 2, 111(1961).

Strącanie wapnia i magnezu z roztworów amoniakalnych za pomocą fosforanów może być powstrzymywane molibdenianem amonu, co sprawia, że fosforany przeszkadzają w oznaczaniu wapnia i magnezu z kwasem etylenodwuaminoczworoocowym. Zastosowanie molibdenianu amonu z wolframianem sodu dla oddzielenia wapnia pozwala na bezpośrednie oznaczenie z EDTA magnezu w mieszaninie z wapniem, magnezu i fosforu.

Ponieważ to często stosuje się do analizy popiołu roślinnego, szybka metoda oznaczania wapnia i magnezu w popiele z liści *Hevea brasiliensis* była zaplanowana i pomyślnie rozwiązana przy porównaniu z innymi metodami. Precyzja zalecanej metody wynosi 0,76% dla Mg i 0,41% dla Ca, a dokładność dla obydwu pierwiastków jest w granicach ok. 1%.

Mgr Barbara Chojnicka