

KRYSTYNA MALIK

TYPY BIOCHEMICZNE ENTEROKOKÓW WYIZOLOWANE Z PRODUKTÓW ŻYWNOŚCIOWYCH

Z Wojewódzkiej Stacji Sanitarно-Epidemiologicznej w Krakowie
Dyrektor: lek. med. J. Kłyś

Przedstawiono wyniki badań 200 szczepów enterokoków, z uwzględnieniem ich identyfikacji, wyizolowanych z produktów żywnościowych, pobranych z obrotu, lub z przypadków zatruc pokarmowych.

Obecność enterokoków w produktach żywnościowych ma duże znaczenie dla higienicznej oceny badanego produktu [1, 2, 3, 4, 5, 7]. W ostatnich latach wiele badaczy stwierdziło, że silny rozwój enterokoków w produktach żywnościowych może być przyczyną zatruc pokarmowych [3, 5, 8, 9, 10, 12]. W związku z tym przystąpiono do różnicowania biochemicznego enterokoków.

MATERIAŁ I METODY

Materiałem badanym były szczepy paciorkowców, podejrzanych o przynależność do enterokoków, wyizolowane z różnych produktów żywnościowych przesyłanych do Wojewódzkiej Stacji Sanitarно-Epidemiologicznej w Krakowie, celem oznaczenia przydatności do spożycia. Ogółem przebadano 200 szczepów, wyizolowanych z mięsa i przetworów mięsnych, z mleka i przetworów mlecznych, z wyrobów garmażeryjnych, z mieszanek dla niemowląt, z solanek do serów, z posiłków wywołujących zatrucia pokarmowe, z konserw rybnych, mięsnych i owocowo-warzywnych, przetworów cukierniczych, oraz z badań sanitarnych z zeskrobin pochodzących ze stołu używanego do produkcji wędlin.

Materiał badany wysiewano zgodnie z obowiązującymi normami dla danego produktu żywnościowego, oznaczając obecność lub miano drobnoustrojów podejrzanych o przynależność do enterokoków, na podłoże płynne z azydkiem sodu. W tym celu produkty stałe jak mięso i przetwory mięsne tzn. kiełbasy, wątrobianki, salcesony, sery twarde i inne produkty stałe rozdrabniano, lub mielono przez jałowe maszyny do mięsa i rozcieńczano w jałowych słoikach szklanych w płynie *Ringera* w stosunku 1:10 (na 10 g badanego produktu dolewano 90 ml płynu *Ringera*) i w ten sposób otrzymano wyjściowe rozcieńczenie, z którego dokonywano dalszych rozcieńczeń od 1:100 aż do rozcieńczenia 1:10 000. Z otrzymanych kolejnych rozcieńczeń badanych produktów żywnościowych dokonywano posiewów jałową pipetą na podłoże płynne z azydkiem sodu i inkubowano przez 48 godzin w temperaturze 37°C.

Natomiast konserwy rybne, mięsne i owocowo-warzywne posiewano bezpośrednio na bulion zwyczajny w celu stwierdzenia ich jałowości i inkubowano również przez 48 godz. w temperaturze 37°C. Po tym okresie inkubacji odczytywano miano z posiewów dokonanych na obecność drobnoustrojów podejrzanych o przynależność do enterokoków na podłożu płynnym z azydkiem sodu. Zmiana podłoża na kolor żółty po 24 względnie 48 godzinach, oraz zmętnienie wskazywała na ich obecność [3, 6, 9]. Natomiast hodowle uzyskane z konserw mięsnych, rybnych i warzywnych, na bulionie zwyczajnym przesiewano na podłoże stałe z agarem zwyczajnym i podłoże z agarem krwawym w celu określenia hemolizy.

Hodowle uzyskane na podłożu płynnym z azydkiem sodu z innych produktów żywnościowych i konserw przesiewano na podłoże *Slanetza* i inkubowano

Tabela I. Typy biochemiczne enterokoków wyizolowane z produktów żywnościowych

Produkty żywnościowe z których wyhodowano szczepy enterokoków

Badanie biochemiczne

												mięso i przetwory mięsne (wędliny)	
												mleko i przetwory mleczne	
												wyroby garmazeryjne	
												mieszanki dla niemowląt	
												solanki	
												posiłki z zatruc pokarmowych	
												konserwy rybne	
												konserwy mięsne	
												konserwy owocowo-warzywne	
												przetwory cukiernicze	
												badania sanitarne (zeskrobiny ze stołu do produkcji wędlin)	
												Wzrost w temperaturze 10°C	
												Wzrost przy 6,5 % NaCl	
												Wzrost przy pH 9,6	
												Wzrost w 40% żółci	
												Oporność na ogrzewanie w temperaturze 60°C/30 minut	
												wytwarzanie hemolizy	
												wytwarzanie zelatynazy	
												redukcja mleka z 0,1% błękitem metylenowym	
												fermentacja mannitolu	
												fermentacja sacharozy	
												fermentacja arabinozy	
												fermentacja sorbitolu	
												Oznaczenie wzrostu na podłożu z 0,05% telury-nom potasu	
												Ogólna ilość szczepów zidentyfikowanych	
												Szczepy enterokoków zidentyfikowano jako:	
45	2	10	6	3	2	3	1	2				74	<i>Str. zymogenes</i>
8	25	1	7	2	3	1	1					48	<i>Str. faecium</i>
34		8						2				44	<i>Str. faecalis</i>
15	3											18	<i>Str. durans</i>
10	3	1		1	1							16	<i>Str. liquefaciens</i>
112	33	20	7	6	6	6	4	2	2	2			200

R A Z E M :

Objasnienia:

+ oznacza wynik dodatni

- oznacza wynik ujemny

+(-) oznacza wynik częściowej dodatni

-(+) oznacza wynik częściowej ujemny

przez 48 godzin w temperaturze 37°C. Z wyrosniętych kolonii uzyskanych z nie-jałowych konserw mięsnych, rybnych i warzywnych na stałym podłożu z agar-em zwyczajnym, oraz z kolonii wyrosniętych na podłożu *Slanetza*, sporządzano preparaty barwione metodą *Grama* i oglądano pod mikroskopem, w celu stwierdzenia kształtu komórek, ułożenia i zabarwienia badanych drobnoustrojów. W celu dalszej identyfikacji izolowano po 10 kolonii wyrosniętych na podłożu *Slanetza* i podłożu z agarem zwyczajnym z każdego badanego produktu, celem otrzymania czystych szczepów.

Otrzymane szczepy poddano dalszym badaniom w kierunku wytwarzania katalazy, żelatynazy, redukcji 1% błękitu metylenowego, fermentacji mannitolu, sacharozy, arabinozy i sorbitolu. Oznaczano także wzrost na podłożu z 0,05% telurynem potasu, wzrost na podłożu z bulionem przy pH 9,6, stężeniu 6,5% NaCl, wzrost w temperaturze 10°C, oraz wzrost przy 40% żółci. Sprawdzano również oporność na ogrzewanie w temperaturze 60°C przez 30 minut.

Przeprowadzono także kontrolę użytych do identyfikacji podłoży przy zastosowaniu szczepów wzorcowych. Brano pod uwagę szczepy odpowiadające wymaganiom biochemicznym charakterystycznym dla poszczególnych gatunków enterokoków [3, 6, 8, 9, 10, 11]. Szczepy atypowe zachowujące się nietypowo odrzucano.

OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ

Wyniki badań 200 szczepów enterokoków, wyizolowanych z różnych produktów żywnościowych przedstawia załączona tabela.

Jak widać z tabeli I w badanych produktach żywnościowych najczęściej występowały szczepy *Streptococcus zymogenes* (74) *faecium* (48), *faecalis* (44), *durans* (18), *liquefaciens* (16). Wyniki badań wykazały, że najczęściej zakażone było mięso i przetwory mięsne (wędliny), mleko i przetwory mleczne, wyroby garmazeryjne, mieszanki dla niemowląt, solanki do serów, konserwy rybne i mięsne. Inne produkty żywnościowe jak konserwy warzywne, przetwory cukiernicze były sporadycznie zanieczyszczone szczepami enterokoków.

WNIOSKI

1. W badanych produktach żywnościowych najczęściej występowały gatunki enterokoków: *S. zymogenes*, *S. faecium*, *S. faecalis*, *S. durans*, *S. liquefaciens*.

2. Wśród produktów żywnościowych najczęściej zanieczyszczone były szczepami enterokoków mięso i przetwory mięsne (wędliny), mleko i przetwory mleczne, wyroby garmazeryjne. Inne produkty żywnościowe były sporadycznie zanieczyszczone szczepami enterokoków.

К. Малик

БИОХИМИЧЕСКИЕ ТИПЫ ЭНТЕРОКОККОВ ВЫДЕЛЕННЫЕ ИЗ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

Резюме

Было исследовано 200 штаммов энтерококков, выделенных из разных пищевых продуктов. Из проведённых исследований следует, что наиболее часто встречались штаммы *zymogenes* (74), *faecium* (48), *faecalis* (44), *durans* (18) и *liquefaciens* (16). Среди исследуемых пищевых продуктов наиболее часто были заражены: мясо и мясные изделия, молоко и молочные продукты, кулинарные изделия, пищевые смеси для младенцев. Другие пищевые продукты, такие как фруктово-овощные консервы, кондитерские изделия были относительно редко заражены штаммами энтерококков.

K. Malik

BIOCHEMICAL TYPES OF ENTEROCOCCI ISOLATED
FROM FOOD PRODUCTS

Summary

Two hundred strains of enterococci isolated from various food products were studied. The obtained results showed that the most frequent strains were: *S. zymogenes* (74), *faecium* (48), *faecalis* (44), *durans* (18), *liquefaciens* (16). Of the studied food products contamination by enterococci was most frequent in meat and meat products, milk and dairy products, ready food, food for infants. Other products such as canned fruit and vegetables, confectionery, were only rarely contaminated by strains of enterococci.

PIŚMIENNICTWO

1. Barnes E., Ingram M., Ingram G.: The distribution and significance of different species of faecal streptococci in bacon factories. *J. Appl. Bact.* 1956, 19, 204.
- 2. Buttiaux R.: The value of the association escherichiae group D streptococci in the diagnosis of contamination in foods. *J. Appl. Bact.* 1956, 22, 153.
3. Burbianka M., Pliszka A., Janczura E., Teisseyre T., Załęska H.: *Mikrobiologia Żywności*, wyd. III. PZWL Warszawa 1971.
- 4. Coretti K., Endera P.: Enterokokken als Ursache von Kernerweichungen bei Dosenfleischwaren. *Fleischwirtschaft* 1964, 16, 304.
- 5. Ingram M., Barnes E.: Streptococci in pasteurised canned hams. *Ann. Inst. Past. de Lille* 1955, 7, 101.
- 6. Jeliaszewicz J., Cybulski J., Hewiger J., Zak C.: Ziarenkowce Gram-dodatnie, biologia, rozpoznanie i różnicowanie. PZWL Warszawa 1969, 5.
- 7. Leistner W., Krüger B.: Über das Vorkommen von Enterokokken in Wurstwaren. *Mh. Vet. Med.* 1965, 20, 892.
- 8. Maleszewski J.: Stałe podłoże do oznaczania paciorkowców kałowych z produktów żywnościowych. *Roczn. PZH* 1961, 12, 177.
- 9. Maleszewski J.: Wpływ enterokoków na trwałość szynek pasteryzowanych. *Roczn. PZH* 1962, 13, 553.
- 10. Malwińska K.: Badania porównawcze nad wykrywaniem paciorkowca kałowego w konserwach pasteryzowanych przy użyciu różnych podłoży. *Med. Wet.* 1964, 20, 736.
- 11. Pakuła R.: Paciorkowce. PZWL Warszawa 1954.
- 12. Pusztai S., Biro G.: Patogenność enterokoków, wyizolowanych z produktów mięsnych dla zwierząt doświadczalnych. *Med. Wet.* 1967, 23, 657.

Dn. 8 V 1981 r.

31-202 Kraków, ul. Prądnicka 76.