

JOZEF WIERZCHOWSKI, WANDA CZARNOWSKA, JOANNA MORZE-FITZ

## IZOLACJA GRONKOWCÓW Z CIASTEK PRZY ZASTOSOWANIU RÓŻNYCH PODŁOŻY SELEKTYWNYCH

Z Działu Higieny Żywnienia i Żywności W.S.S.E. w Gdańsku

*Podjęte badania ustaliły najbardziej selektywne podłoże do wykrywania i izolowania gronkowców koagulazododatnich z ciastek i kremów.*

Liczne obserwacje i badania potwierdzają, że w obecnych czasach zatrucia pokarmowe o etiologii gronkowcowej wysuwają się na pierwsze miejsce. Opinię o tym wypowiedzieliśmy w niedawno ogłoszonej drukiem pracy o gronkowcowych zatruciach pokarmowych, wywołanych spożyciem konserw rybnych w oleju (1). Niniejsza praca dotyczy tego samego zagadnienia i jest jak gdyby dalszym jej ciągiem, chociaż posiada trochę odmienny analityczny aspekt. Mamy tutaj do czynienia z zupełnie innym artykułem żywności, z ciastkami, które jednak według naszego rozeznania na terenie województwa gdańskiego wiele razy powodowały zachorowania pojedyncze lub u kilku osób.

Środki spożywcze stanowią bardzo podatne środowisko nie tylko dla rozwoju gronkowców, lecz i wytwarzania przez nie toksyny. Przede wszystkim odnosi się to do artykułów bogatych w białko i skrobię (mleko i jego przetwory, wyroby kremowe, galarety itd.). Autorzy szeregu publikacji omawiający to zagadnienie, wymieniają między innymi ciastka z kremem jako poważne źródło zachorowań. Jak podają *Askałonow*, *Dobrier* i *Gordin* (2) pierwsze obserwacje w tym względzie poczynione były w Rosji. Jeszcze bowiem w 1901 roku *Laszczenkow* opisał przypadek zatrucia związany ze spożyciem tortu orzechowego z kremem. Obecnie inni badacze, jak np. *Trawiński* (3) *Grubner* i *Gruszczyński* (4) *Burbianka*, *Pliszka* i *Tworek* (5), *Sedlak* (6) stwierdzają, że krem zawarty w ciastkach jest bardzo dobrą pożywką dla gronkowców niezależnie od tego, że sam proces technologiczny w dużej mierze sprzyja zakażeniu drobnoustrojami oraz ich namnażaniu w kremach. Szczególnie ciastka, jako produkt zawierający skrobię, mogą być optymalnym środowiskiem do wytwarzania enterotoksyny przez gronkowce (7).

Kremy do ciastek i tortów przygotowuje się z artykułów żywności o dużej wartości odżywczej, jak jajka, masło, mleko, cukier. Wszystkie surowce używane do produkcji kremów nie powinny budzić najmniejszych nawet zastrzeżeń pod względem oceny sanitarno-higienicznej. Stosowana zaś przy przygotowywaniu kremów obróbka cieplna (pasteryzacja) podwyższa gwarancję otrzymania produktu dobrego, wysokowartościowego. Jednakże mimo ulepszeń w technologii sporządzania, kremy

mogą ulegać zakażeniu drobnoustrojami. Dzieje się to między innymi również i dlatego, że samo środowisko, a więc głównie mleko, jajka, masło, wchodzące w skład tej czy innej masy kremowej, są zwykle źródłem zakażenia drobnoustrojami. Podgrzewanie zaś gotowej mieszaniny obniża znacznie ilość drobnoustrojów, nie zabijając ich jednak całkowicie.

W naszym przetwórstwie cukierniczym produkuje się zasadniczo dwa rodzaje kremów — masłowy („russel”) i śmietanowy (budyniowy). Krem masłowy, używany do większości ciastek, posiada zgodnie z recepturą resortową następujący skład: cukier puder (26<sup>0</sup>/o), jaja (20,8<sup>0</sup>/o), masło (26<sup>0</sup>/o), margaryna (26<sup>0</sup>/o), esencja (0,44<sup>0</sup>/o) oraz spirytus (0,61<sup>0</sup>/o). Sam proces technologiczny jest dosyć prosty i wymaga tylko minimalnej obróbki cieplnej. Przede wszystkim przygotowuje się mieszaninę jaj z cukrem (w naczyniach pobielanych), podgrzewa na ogniu i następnie przy pomocy mechanicznej ubijaczki ubija na gęstą masę. W drugim naczyniu ubija się w podobny sposób masło z margaryną i dodaje stopniowo poprzednio przygotowaną i oziębioną masę jajeczną, ubijając w dalszym ciągu tak długo aż stworzy się jednolita masa. Pod koniec ubijania dodaje się esencję zapachową oraz spirytus. Inny jest skład kremu śmietanowego: biała mąka pszenna 50% przemiału (13<sup>0</sup>/o), cukier (25,1<sup>0</sup>/o), mleko (61,4<sup>0</sup>/o), jaja (20,7<sup>0</sup>/o) oraz esencja zapachowa (0,2<sup>0</sup>/o). W związku z tym proces technologiczny przebiega zupełnie odmiennie niż przy produkcji kremu masłowego, wymagając przy tym obróbki cieplnej. Przede wszystkim miesza się z małą ilością mleka cukier, mąkę i jaja. Pozostałą zaś ilość mleka zagotowuje się w osobnym naczyniu i do wrzącego dodaje się stopniowo, stale mieszając, poprzednio otrzymaną masę, doprowadzając ją następnie do wrzenia.

Wykonane według powyższych sposobów kremy podlegają zwykle zabarwieniu, następnie są rozsmarowywane na uprzednio wypieczone ciasto lub układane fantazyjnie za pomocą wyciskacza („tilka”). Gotowe już ciastka umieszczane są czasowo w magazynie, przy czym przeniesienie jak i układanie ciastek na tacach drewnianych lub metalowych odbywa się z reguły ręcznie. Należy podkreślić, że w żadnej wytwórni ciastek nie stwierdziliśmy chłodzonych pomieszczeń na gotowy już produkt. Z magazynu ciastka rozprowadzane są do punktów sprzedaży jeszcze tego samego dnia, chociaż czasem i później, bo nawet po dwóch lub trzech dniach. Pakowanie ciastek w magazynie odbywa się ręcznie. W czasie przeprowadzanych kontroli w przetwórnictwach nie stwierdzono szczyptec do ciastek, które natomiast znajdują zastosowanie w sklepach cukierniczych i innych spożywczych.

#### CZEŚĆ DOŚWIADCZALNA

Do izolacji gronkowców z kremów stosowano następujące podłoża selektywne:

1. Płynne: a) bulion z 7,5<sup>0</sup>/o NaCl; b) bulion Chapmana.
2. Stałe: a) agar z krwią; b) agar z 7,5<sup>0</sup>/o soli; c) agar Chapmana; d) podłoże z tellurynem potasu; e) podłoże Ludlama.

Podajemy skład jedynie 2 ostatnich pożywek, gdyż są mniej znane i rzadziej stosowane w normalnej praktyce laboratoryjnej.

PODŁOŻE Z TELLURYNYM POTASU

wg *Zebovitza, Evansa i Nivena* (8)

Na 100 ml. wody destylowanej:

peptonu tryptose	1,0 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>
ekstraktu drożdżowego	0,5 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>
mannitolu	0,5 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>
K <sub>2</sub> H PO <sub>4</sub>	0,5 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>
LiCl	0,5 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>
glicyny	1,0 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>
agaru	2,0 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>
tellurynu potasu (dodaje się po sterylizacji)	0,02 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>
końcowe pH podłoża	7,2 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>

PODŁOŻE LUDLAMA (9)

agar	25 g
mannitol	10 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	5 g
LiCl	5 g
ekstrakt drożdżowy	3 g
pepton tryptose	10 g
Pepton tryptose	10 g
woda destylowana	1000 ml
Końcowe pH podłoża	9,2

W toku przeprowadzanych badań bakteriologicznych posługiwano się dwoma metodami posiewów na w/w podłoża a mianowicie:

1) pobierano materiał oczkiem bezpośrednio z kilku miejsc i posiewano na poszczególne pożywki,

2) odważano jałowo 5 g kremu, rozcieńczano roztworem fizjologicznej soli kuchennej w stosunku 1 : 10, emulgowano (ogrzewano na łaźni wodnej o temp. 40<sup>0</sup> przez 10 minut, następnie 5 minut wstrząsano i rozlewano po 1 ml na powierzchni danego podłoża.

Odczyty wykonywano po 24 godz. oraz 48 godz. inkubacji w temp. 37<sup>0</sup>. Podejrzewane kolonie przesiewano na bulion z 1% glukozy i po 24 godz. inkubacji sprawdzano czystość hodowli. Zaznacza się, że szczególnie przy posiewach ilościowych wychwytywano możliwie wszystkie podejrzane kolonie, aby zwiększyć prawdopodobieństwo izolacji gronkowców koagulazododatnich. Wyizolowane szczepy gronkowców badano na zdolność wytwarzania koagulazy. Próbę tę przeprowadzano z 24-godzinną bulionową hodowlą gronkowców, którą zakażano plazmą ludzką rozcieńczoną w stosunku 1 : 2 roztworem fizjologicznym soli kuchennej. Równolegle wykonywano kontrolę z plazmą jałową oraz plazmą zaszczepioną standardowym koagulazododatnim szczepem „Oxford”. Odczyty notowano po 1 godz., 5 godz. i 24 godz. inkubacji w temp. 37<sup>0</sup>.

W ten sposób przebadano w kierunku gronkowców 454 próby ciastek z kremem, w tym z kremem masłowym 424 oraz z kremem śmietanowym 30 prób. Poza badaniami ciastek przeprowadzono również kontrolę 20 cykli produkcji w kilku wytwórniach ciastek, pobierając dodatkowo 68 prób kremów. Liczba ta obejmuje zarówno masę jajeczną z ubijaczki, masę masłową z ubijaczki oraz kremy świeżo przygotowane jak i takie, które przechowywano już kilka a nawet kilkanaście godzin, nie raz w nieodpowiednich warunkach sanitarnych. Nadmienić przy tym trzeba, że podobnie jak kremy, również i ciastka poddawane analizie bakteriologicznej stanowiły produkt niejednolitej świeżości — jedne z nich były to gotowe ciastka zaraz po produkcji, inne z magazynu po jedno- i dwudniowym przechowywaniu, a jeszcze inne ciastka z różnych punktów sprzedaży, ze sklepów. Otrzymane wyniki badań zebrane są w tabeli I i II.

T a b e l a I

Rodzaj prób	Liczba prób	Wyizolowano gronkowce	Co stanowi %	Gronkowce koagulazododatnie	Co stanowi % w stosunku do ilości stwierdzonych gronkowców	Co stanowi % w stosunku do całości przebadanych ciastek
Krem z cyklów produkcji	68	60	88,2	20	33,3	29,4
Ciastka z kremem masłowym	424	248	58,6	34	13,7	8,0
Ciastka z kremem budyniowym	30	15	50,0	6	40,0	20,0
Ogółem prób	522	323	61,7	60	18,6	11,4

T a b e l a II

Rodzaj prób	Liczba prób, z których wyizolowano gronkowce koagulazododatnie	Wyniki uzyskane na podłożach:									
		agar +7,5% NaCl		agar Chapmana		z tellurem potasu		Ludlama		agar z krwią	płynne 1/bullion +7,5% NaCl/2/bullion Chapmana
		liczba prób	co stanowi %	liczba prób	%	liczba	%	liczba	%		
krem z cyklów produkcji	20	18	90	20	100	1	5	0	—	Podłoża mało wybiórcze, nie można wyizolować pojedynczych czystych kolonii gronkowców. Podłoża nie nadają się do izolacji gronkowcom z badanego materiału, po przesiewach na pożywki stałe obserwowane silny wzrost łaseczek tlenowych	
ciastka z kremem masłowym	34	23	67,6	34	100	6	17,6	0	—		
ciastka z kremem budyniowym	6	6	100	6	100	0	—	2	33,3		
Ogółem	60	47	78,3	60	100	7	11,6	2	3,3		

## OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ

Na podstawie przedstawionych w tej pracy badań należy stwierdzić, że najlepszym selektywnym podłożem dla izolacji gronkowców z ciastek jest agar Chapmana z inkubacją 48 godzin oraz agar z dodatkiem 7,5% NaCl przy 24-godzinnej hodowli. Wydaje się, że podłożo Chapmana mo-

że służyć jednocześnie jako pewien wskaźnik chorobotwórczości szczepu, gdyż ogólnie przyjęto, że szczepy chorobotwórcze posiadają między innymi zdolność rozkładania manitolu. Natomiast agar z krwią jest najmniej wybiórczy, gdyż jest dobrą pożywką dla różnego rodzaju bakterii. Podłoże z tellurem potasu okazało się dobrą pożywką dla drożdży, natomiast hamuje wzrost gronkowców. Przy posiewach na podłożu Ludiana na ogół nie stwierdza się wzrostu gronkowców jak również i innych drobnoustrojów. Nadmienić również trzeba, że podłoża płynne są mało wybiórcze, gdyż przerastają laseczkami tlenowymi, które utrudniają izolację gronkowców przy przesiewach na podłoża stałe. Podkreślenia wreszcie wymaga tego rodzaju uwaga, że przy bezpośrednich posiewach oczkiem stwierdza się obecność zaledwie pojedynczych kolonii gronkowców. Natomiast posługując się drugą metodą, tj. przy zastoso- waniu posiewów ilościowych, uzyskuje się o wiele większe ilości kolonii, co wyraźnie zwiększa szanse wyizolowania gronkowców koagulazododat- nich.

Innym zagadnieniem wymagającym omówienia są same wyniki badań ciastek i kremów przedstawione w tabeli I. Jak z niej widać, na ogólną ilość 522 przebadanych ciastek z kremem i samych kremów w 323 pró- bach stwierdzono gronkowce, co stanowi 61,70%. Gronkowce koagulazo- dodatnie stwierdzono w 60 próbach, czyli ponad dziesięć procent (11,40%) przebadanych produktów cukierniczych budziło zastrzeżenia odnośnie do przydatności do spożycia. Jest to cyfra wysoka i nie może być бага- telizowana, gdyż świadczy o zaniedbaniach sanitarnych, zarówno w za- kładach produkujących ciastka jak i w punktach sprzedaży. Badacze ra- dzieccy *Arganowskij* i *Smirnowa* (2), zajmujący się oceną higieniczną kremów, wykazali, że przy odpowiednio ustawionej technologii oraz przestrzeganiu zasad higieny produkcji można w bardzo znacznym stop- niu podnieść jakość gotowego produktu i obniżyć ilość drobnoustrojów do minimum. Nieprzestrzeganie natomiast sanitarnych warunków w pro- dukcji wyrobów z kremem, ich transporcie czy w czasie magazynowa- nia lub sprzedaży może być przyczyną wtórnego zakażenia. Podkreśla się przy tym, że szczególnie należy tu się obawiać zakażenia gronkow- cami, mogącymi wytwarzać termooporne egzotoksyny w kremach. Tym samym zagadnieniem zajmowała się *Smirnowa* (10), proponując obróbkę termiczną kremów jako profilaktyczną przeciwko zatruciom gronkow- cowym. Autorka zaleca pasteryzację kremów i powtórny wypiek nie- których rodzajów ciastek gotowych, jako metodę zapobiegania tego ro- dzaju zachorowaniom. Koniecznym warunkiem jest tutaj jednak nie- przechowywanie gotowych ciastek przed powtórny ich wypiekiem, gdyż ewentualnie obecne gronkowce mogą wytworzyć enterotoksynę, której wysoka temperatura nie zniszczy.

W Związku Radzieckim istnieją przepisy Wszechzwiązkowej Państwo- wej Inspekcji Sanitarnej z 5.XI.1938 r., które ustalają wymagania sani- tarne dla produkcji, przechowywania, transportu i sprzedaży tortów i wyrobów z kremem. W celach zapobiegania zatruciom pokarmowym zwraca się w nich uwagę na pierwszorzędą jakość surowców, koniecz- ność przestrzegania zasad higieny produkcji oraz przechowywanie goto- wych wyrobów w specjalnych chłodnych pomieszczeniach, zarówno w miejscach produkcji jak i w sprzedaży.

U nas brak tego rodzaju specjalnych przepisów, natomiast sprawę wytwórni wyrobów cukierniczych reguluje łącznie z innymi wytwórnia-

mi pieczywa rozporządzenie Min. Opieki Społecznej z 18.II.1937 r. o dozorze nad wyrobem i obiegiem mąki i wyrobów mącznych, znowelizowane przez Ministra Zdrowia 3.VII.1946 r. Przepisy te niestety nie stawiają wymagań wytwórniom cukierniczym posiadania chłodzonego składu na produkty gotowe i między innymi dlatego wymagają ponownej nowelizacji, zgodnie z rzeczywistymi potrzebami, podobnie jak to ustalono w rozporządzeniu Ministrów Zdrowia i Handlu Wewnętrznego z 30.XI.1953 r. w sprawie wymagań sanitarnych dla zakładów żywienia zbiorowego. To ostatnie rozporządzenie wyraźnie wymaga przeznaczenia specjalnych pomieszczeń chłodzonych do przechowywania szybko psujących się artykułów spożywczych i ogranicza termin ich wydawania do konsumpcji — np. dla legumin studzonych, kremów, budyni itp. ogranicza czas wydawania ich do 10 godzin po przygotowaniu, pod warunkiem jednak, że przez cały ten czas potrawy były przechowywane w temperaturze nie przekraczającej  $+12^{\circ}$ .

Jaki widać, niekorzystnie przedstawia się sprawa w wytwórniach cukierniczych, gdzie produkuje się kremy i ciastka z kremem, nie zabezpieczając im odpowiednich warunków przechowywania chociażby do czasu rozprowadzenia do punktów sprzedaży, na które czekają czasem dwie doby. Nic więc dziwnego, że niejednokrotnie w sprzedaży spotyka się ciostka budzące zastrzeżenia odnośnie do przydatności spożywczej a nawet wywołujące po spożyciu zachorowania. Potwierdzają to zresztą nasze wyniki badań cykliów produkcji, w czasie których obserwowano wzrost ilości gronkowców w kremie zależnie od czasu przechowywania samego kremu, czy też już w gotowych ciastkach np. z 10 kol. do 2 tysięcy w 1 g.

#### WNIOSKI

1. Do izolowania gronkowców z ciastek oraz z kremów wydaje się być najlepsza pożywka agarowa Chapmana, przy czym należałoby robić posiewy ilościowe.

2. Konieczne jest przebadanie możliwie największej ilości kolonii gronkowców na zdolność wytwarzania koagulazy.

3. Produkcja wyrobów cukierniczych jest mało zmechanizowana i wymaga modernizacji. Stosowana obecnie ręczna obróbka stwarza warunki zakażenia półfabrykatów oraz gotowych już produktów przez pracowników, wśród których wielu jest nosicielami gronkowców — (ca 60%).

4. Istnieje paląca potrzeba nowelizacji przepisów lub wydania nowych — dotyczących wytwórni wyrobów cukierniczych, celem zabezpieczenia odpowiednich warunków przy produkcji i obrocie ciastek i kremów (chłodne pomieszczenia magazynowe oraz określenie terminu ich rozprowadzania).

Ю. Вержовски, В. Чарновска, И. Морзе-Фитз

ИЗОЛИРОВАНИЕ СТАФИЛОКОККОВ ИЗ ПИРОЖНЫХ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ  
РАЗНЫХ СЕЛЕКТИВНЫХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД

#### Содержание

Авторы предприняли исследования с целью установки самой лучшей селективной среды для обнаружения и изолирования стафилококков из пирожных и кремов.

Основываясь на полученных результатах исследований авторы считают самым соответственным агаровую среду *Chapman'a* подчёркивая необходимость количественных посевов.

Проделанная в производствах контроль показала, что продукция кондиторских изделий требует механизации и модернизирования, что будет иметь большое влияние на качество изготавливаемых продуктов.

Поэтому авторы внушают необходимость изменения предписаний относящихся к кондиторской промышленности.

J. W i e r z c h o w s k i, W. C z a r n o w s k a, J. M o r z e - F i t z

#### STAPHYLOCOCCI ISOLATION FROM CAKES WITH THE USE OF SELECTIVE MEDIA

##### S u m m a r y

Chapman's agar medium was found to be the best for the isolation of staphylococci from cakes and from whipped cream.

After lustration in bakteries, authors came to the conclusion, that there is a need for mechanisation and modernization in the processes of cake production; this could be stimulated by the new food law on baked goods and cakes.

#### PIŚMIENICTWO

1. *Wierzchowski J., Ganowiak Z i Czarnowska W.*: Przegląd Epidemiologiczny nr 2, str. 181, 1959. — 2. *Askatonow S. P., Dobrier I. B., Gordin B. L.*: Mikrobiologičeskoe Issledowanie i Sanitarnaja Ekspertiza Piszczewych Produktów, Gos. Med. Izd., U.S.S.R., Kijew, 1955. — 3. *Trawiński A.*: Medycyna Weterynaryjna, nr 8, str. 513, 1951. — 4. *Grubner M., Gruszczyński T.*: Roczniki P.Z.H., nr 4, str. 355, 1955. — 5. *Burbianka M., Pliszka A., Tworek R.*: Roczniki P.Z.H., nr 3a, str. 355, 1953. — 6. *Sedlak J.*: Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde Infektionskrankheiten und Hygiene I org. 170, str. 129, 1957. — 7. *Minett F. C.*: J. Hyg., 38, str. 623, 1938. — 8. *Zebowitz E., Evans J. B., Niven C. F.*: Journal of Bacteriology, nr 6, str. 686, 1955. — 9. *Ludlam G. B.*: Month. Bull. Ministry of Health, nr 8, str. 15, 1949. — 10. *Smirnowa L. I.*: Woprosy Pitania, nr 5—6, str. 83, 1958.