

IZABELA STEINKA

OCENA PRAWDOPODOBIEŃSTWA WYSTĘPOWANIA GRONKOWCÓW
I ENTEROTOKSYNY GRONKOWCOWEJ W TWAROGACH PAKOWANYCH
W LAMINATY Z TWORZYW SZTUCZNYCH

ASSESSMENT OF PROBABILITY OF ENCOUNTERING STAPHYLOCOCCI
ENTEROTOXINS IN LACTIC ACID CHEESE PACKED IN LAMINATES

Pracownia Mikrobiologii Żywności
Katedra Towaroznawstwa i Ładunkoznawstwa, Akademia Morska
81-225 Gdynia, ul. Morska 81–87
Kierownik: Prof. dr hab. inż. P. Przybyłowski

Prowadzono ocenę wpływu systemu pakowania i szczelności opakowań PA/PE i cryovac na występowanie enterotoksyny gronkowcowej w kwasowych serach twarogowych przechowywanych w warunkach chłodniczych w zakładanym okresie trwałości produktu. Oznaczano liczbę gronkowców koagulazo-dodatnich, intensywność wytwarzania koagulazy i enterotoksyn. Prawdopodobieństwo występowania enterotoksyn gronkowcowych w zależności od tych czynników oraz systemu pakowania i szczelności opakowań opisano za pomocą równań matematycznych.

WSTĘP

Intensywność wytwarzania enterotoksyn przez szczepy *Staphylococcus aureus* jest zależna od warunków środowiska, wśród których istotną rolę odgrywają: temperatura, odczyn środowiska, potencjał oksydoredukcyjny i atmosfera gazowa [4, 13, 17, 23]. Z danych epidemiologicznych wynika, że w żywności rzadko spotyka się enterotoksynę B (SEB); dominują enterotoksyny typu A (SEA) i C (SEC), które są odpowiedzialne za ponad 70% skażeń próbek żywności [7].

Enterotoksyny gronkowcowe SEA i SED są wytwarzane częściej w żywności o odczynie alkalicznym nawet przy niskiej liczbie komórek [16], jednakże wśród izolowanych z mleka fermentowanego szczepów gronkowców znaczna ilość należy do szczepów toksynogennych [1].

Możliwości wzrostu szczepów *Staphylococcus aureus* produkujących enterotoksyny w fermentowanych przetworach mleczarskich budzi kontrowersje. Jak wynika z literatury, mimo antagonizujących w stosunku do mikroflory patogennej, właściwości kultur starterych stosowanych do produkcji kwasowych serów niedojrzewających, również i te produkty mogą stanowić w określonych warunkach podłoże sprzyjające przetrwaniu populacji gronkowców [3, 6, 18, 19]. Istnieje niewiele danych dotyczących możliwości wytwarzania enterotoksyny przez gronkowce w serach twarogowych [6, 9, 10, 20]. Dotyczy to zwłaszcza serów twarogowych hermetycznie pakowanych w opakowania z tworzyw sztucznych.

Celem niniejszych badań była ocena prawdopodobieństwa przeżywalności gronkowców i występowania enterotoksyny gronkowcowej w twarogach pakowanych systemem próżniowym i bezpróżniowym w czasie przechowywania produktów w temperaturze chłodniczej.

MATERIAŁ I METODY

Materiał badany stanowiło 20 partii kwasowych serów twarogowych. Próbkę pochodziły z twarogów pakowanych systemem próżniowym i bezpróżniowym w szczelne i rozhermetyzowane opakowania z laminatów polietylenowo-poliamidowych (PA/PE) i cryovac. Przebadano 100 próbek twarogów produkowanych przez dwa zakłady mleczarskie.

Obecność enterotoksyny oznaczano metodą ELFA wykorzystując do badań urządzenie Mini Vidas firmy bioMerieux.

Badaniom poddawano próbki twarogu z opakowań hermetycznych oraz opakowań, które rozszczelniono na długości 2 cm w miejscu zgrzewu opakowania. Próbkę twarogów do oznaczanie liczby gronkowców i obecności enterotoksyny pobierano w 24 godziny po produkcji (różba kontrolna) oraz po 7 i 14 dniach przechowywania twarogów w warunkach chłodniczych w temperaturze 4–8 °C.

Oznaczanie enterotoksyny przeprowadzono po ekstrakcji z materiału badanego za pomocą buforu wchodzącego w skład zestawu. Materiał był uprzednio poddawany homogenizacji w buforze w proporcjach 20 g twarogu – 20 cm³ buforu. 2 cm³ tak otrzymanej zawiesiny odwirowywano, ustalano pH na 7,0 i po termicznej inaktywacji alkalicznej fosfatazy (80 °C 2 min) supernatant наносono na pasek testowy urządzenia. W tym celu dodawano 0,5 cm³ supernatantu do studzienki paska testowego, a do następnego paska przygotowane przez producenta: kontrolę dodatnią, kontrolę ujemną oraz standard.

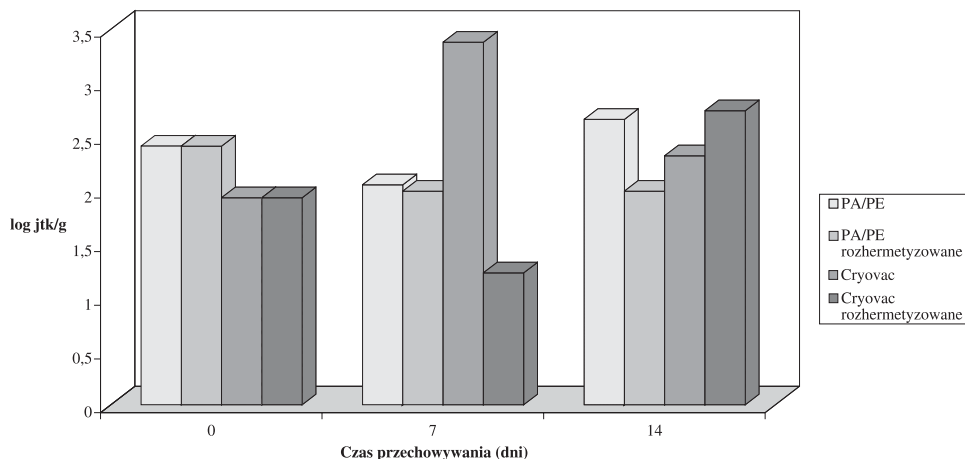
W badanych twarogach oznaczano liczbę komórek *Staphylococcus aureus* według metodyki zalecanej przez Polską Normę [14, 15] w modyfikacji własnej polegającej na stosowaniu do oznaczanie liczby gronkowców podłoża Baird – Parker RPF. Koagulazę gronkowcową oznaczano metodą próbówką według zaleceń Polskiej Normy [14].

Wyniki badań podawano analizie statystycznej z zastosowaniem programu komputerowego Statistica v. 6,0. Statystyczny opis zjawisk przeprowadzono za pomocą modułu regresji wielokrotnej. Wyznaczone współczynniki determinacji R² i współczynniki korelacji liniowej r posłużyły do oceny wyznaczonych równań. W celu oszacowania możliwości zastosowania modeli w praktyce ocenie poddano istotność równań i parametrów równań na podstawie wartości prawdopodobieństwa testowego p.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Przed przechowywaniem badane twarogi charakteryzowały się liczbą gronkowców średnio na poziomie 1,93–2,41 log jtk/g. W twarogach pakowanych próżniowo liczba gronkowców w opakowaniach hermetycznych wahała się 1,69 log jtk/g do 3,23 log jtk w gramie produktu natomiast w twarogach pakowanych bezpróżniowo liczba gronkowców wynosiła w tym czasie od 1 log jtk/g do 3,07 log jtk/g.

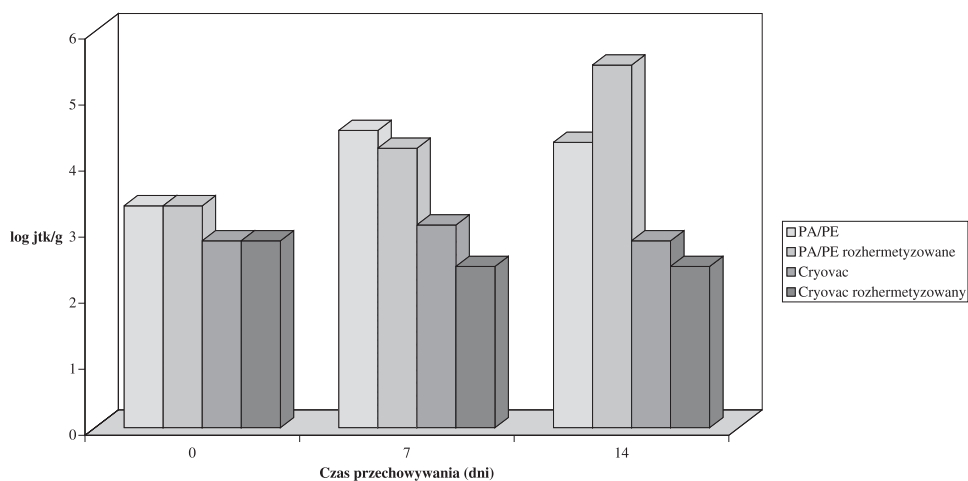
Wielkość populacji gronkowców w czasie przechowywania twarogów była zróżnicowana w obu systemach pakowania (ryc. 1). Po 7 dniach przechowywania obserwowano wzrost liczebności populacji gronkowców w twarogach pakowanych bezpróżniowo o 2 cykle logarytmiczne podczas gdy ich liczba w twarogach pakowanych próżniowo pozostawała na tym samym poziomie. Po 14 dniowym przechowywaniu liczebność populacji *Staphylococcus aureus* w produktach pakowanych próżniowo i bezpróżniowo pozostawała odpowiednio na poziomie 2,66 log jtk/g i 2,32 log jtk/g. Twarogi pochodzące z nieszczelnych opakowań



Ryc. 1. Zmiany liczby gronkowców koagulazo-dodatnich w twarogach przechowywanych w różnych rodzajach opakowań
Changes in count of coagulase positive staphylococci originating from differently packaged lactic acid cheese

charakteryzowały się podobną liczbą gronkowców po 14 dniach przechowywania produktów osiągając odpowiednio wartości 1,99 log jtk/g dla produktów pakowanych próżniowo i 2,74 log jtk/g dla twarogów pakowanych bezpróżniowo (ryc. 1).

W twarogach pakowanych próżniowo liczba gronkowców koagulazo-ujemnych przed przechowywaniem oraz po 7 i 14 dniach była wyższa niż gronkowców koagulazo-ujemnych bez względu na hermetykę stosowanych opakowań (ryc. 2).



Ryc. 2. Zmiany liczby gronkowców koagulazo-ujemnych w twarogach przechowywanych w różnych opakowaniach
Coagulase negative Staphylococci count changes in the lactic acid cheese differently packed

Wzrost gronkowców w hermetycznych opakowaniach próżniowych można było opisać za pomocą równań [1] i [2] (Tab. I). Współczynniki korelacji *Pearsona* wskazywały jednak na słabą zależność liczby gronkowców po 7 dniach od ich liczby w próbie kontrolnej i po 14 od poziomu stwierdzonego po 7 dniach przechowywania.

Zmiany liczebności populacji gronkowców w twarogach pakowanych bezpróżniowo można było zaprezentować za pomocą równań [3] i [4] przedstawionych w tabeli I. Otrzymane współczynniki korelacji liniowej *Pearsona* wskazywały na bardzo słaby wpływ warunków przechowywania twarogów pakowanych bezpróżniowo na zmiany początkowej liczby gronkowców po 7 i 14 dniach przechowywania.

W wyniku przeprowadzonych badań enterotoksynę gronkowcową stwierdzono w 5% badanych próbek, pochodzących zarówno z twarogów pakowanych systemem próżniowym w folie PA/PE, jak i bezpróżniowym w laminaty Cryovac. Wśród próbek twarogów 9% wykazywało obecność gronkowców koagulazo-dodatnich, o wysokiej aktywności (+++) w syntetyzowaniu koagulyazy. Enterotoksynę stwierdzano częściej w próbkach twarogów

Tabela I. Równania regresji opisujące zmiany liczby gronkowców i prawdopodobieństwo izolowania enterotoksyny gronkowcowej w przechowywanych twarogach
Regression equations describing changes in *Staphylococcus* count and probability of *staphylococci* enterotoxins isolation in stored lactic acid cheese

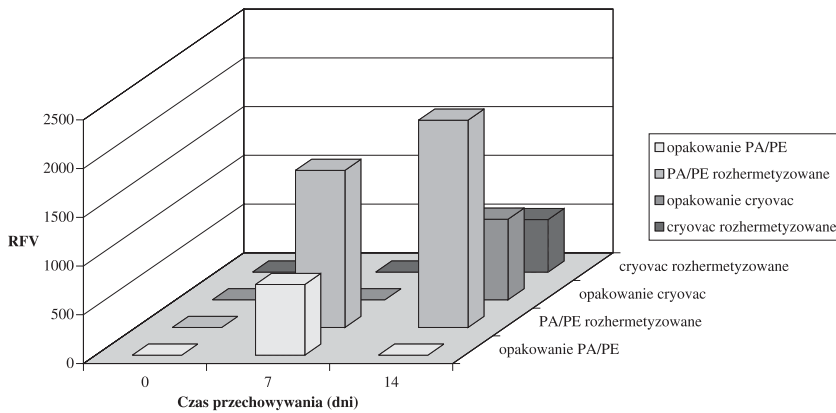
Rodzaj opakowania	Postać równania	Współczynnik determinacji	Współczynnik korelacji	Prawdopodobieństwo testowe p
Opakowanie próżniowe PA/PE hermetyczne	$GK_{p7} = 155,59 + 0,08489 * GK_0$ [1]	0,0342	0,1851	0,1441 (α_1)
	$GK_{p14} = 214,86 + 1,3269 * GK_7$ [2]	0,0570	0,2389	0,0709 (α_1)
	$E_{p7} = -84,7853 + 0,425 * GK_0$ [5]	0,8658	0,8678	0,0010 (α_2)
	$E_{p7} = 79,4059 + 0,3342 * GK_0 + 56,6643K_7$ [7]	0,8678	0,9471	0,0003 (α_2)
Opakowanie próżniowe PA/PE rozhermetyzowane	$E_{rp7} = 211,122 - 0,134925 * GK_0$ [9]	0,1767	-0,1329	0,7143 (α_3)
	$E_{rp14} = 300,907 - 230,4 * (K_{14})^2$ [10]	0,4607	-0,2146	0,5515 (α_3)
Opakowanie bezpróżniowe cryovac hermetyczne	$GK_{bp7} = 4872 - 15,87 * GK_0$ [3]	0,0199	-0,2009	0,2132 (α_1)
	$GK_{bp14} = 236,63 - 0,0068 * GK_7$ [4]	0,1317	-0,1414	0,7624 (α_1)
	$E_{b14} = 38,7367 + 74,0549 * K_0 - 250,317K_{14} + 257,751 * K_7 - 0,3713 * GK_{14} - 0,0165 * GK_7$ [6]	0,9209	0,9822	0,0052 (α_2)
Opakowanie bezpróżniowe cryovac rozhermetyzowane	$E_{rb14} = -21,2696 + 3,21196 * GK_{14} - 1,74943GK_7 - 17002,1 * K_{14}$ [8]	0,8566	0,9509	0,0018 (α_2)

GK – liczba gronkowców, 0, 7, 14 – czas przechowywania twarogów

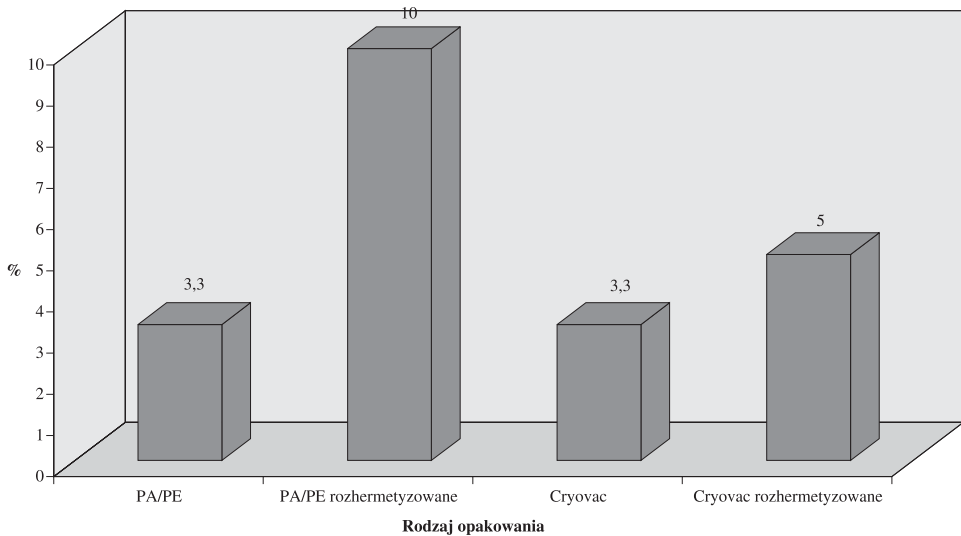
E – enterotoksyna gronkowcowa, K – koagulaza, Indeksy p – próżniowy,

b – bezpróżniowy, r – rozhermetyzowany α – przedział ufności – $\alpha_1 \leq 0,05$, $\alpha_2 \leq 0,01$, $\alpha_3 \leq 0,1$

pakowanych próżniowo po 7 dniach, natomiast w twarogach pakowanych bezpróżniowo po 14 dniach przechowywania badanych produktów (ryc. 3). Częstość izolowania enterotoksyny z badanych próbek produktów wskazywała na znaczący wpływ wymiany gazowej między twarogami a środowiskiem zewnętrznym. Wyższy odsetek próbek, w których stwierdzono występowanie enterotoksyny pochodził z twarogów, których opakowania wykazywały brak szczelności (ryc. 4).



Ryc. 3. Występowanie enterotoksyny gronkowcowej w zależności od czasu przechowywania i rodzaju i hermetyki opakowań
Staphylococci enterotoxins presence in dependance of storage time, tightness and type of packaging



Ryc. 4. Częstość izolowania enterotoksyny w zależności od rodzaju opakowania
Enterotoxin presence frequency dependant on the kind of using packaging

Prawdopodobieństwo występowania enterotoksyny w twarogach pakowanych hermetycznie systemem próżniowym i bezpróżniowym przedstawiono za pomocą równań [5] i [6] (tab. I). Wysokie współczynniki determinacji powyższych równań wskazywały na wysoki stopień dopasowania wartości prognozowanych względem wartości uzyskanych w niniejszym doświadczeniu.

Analiza wariancji poszczególnych zmiennych równania [6] wykazała, że w otrzymanym modelu zmienna GK_{14} (liczba gronkowców po 14 dniach) jest czynnikiem istotnie odpowiedzialnym za obecność enterotoksyny (E_{p14}) po 14 dniach przechowywania twarogów.

Prawdopodobieństwo występowania enterotoksyny E_p w twarogach pakowanych próżniowo można było również wyrazić za pomocą innego modelu matematycznego [7] (tab. I). Współczynnik determinacji R^2 dla tego modelu objaśniał 86,7 % przypadków obecności enterotoksyny jako zależność wynikającą ze stopnia zanieczyszczenia gronkowcami produktu świeżego i aktywności komórek gronkowców w syntezie koagulazy. Wartość prawdopodobieństwa testowego p wskazywała na statystycznie istotny związek między zmiennymi. Stężenie enterotoksyny było zróżnicowane i wyższe w twarogach pakowanych systemem próżniowym, niż w tych twarogach, które były pakowane w folie typu Cryovac (ryc. 3). Obecności enterotoksyny nie wykazano w próbkach pobieranych do badań z twarogów świeżych, natomiast jej obecność stwierdzono w twarogach przechowywanych przez okres 7 i 14 dni (ryc. 3). W przypadku obecności enterotoksyny w twarogach pakowanych bezpróżniowo stwierdzono również istotny statystycznie związek między prawdopodobieństwem pojawienia się enterotoksyny a liczebnością populacji gronkowców w czasie przechowywania i syntezą koagulazy przez te bakterie (tab. I).

Biorąc pod uwagę warunki panujące w produkcji, trudno wnioskować o istnieniu warunków do syntezy enterotoksyny w czasie przechowywania produktu. Obecność wyższych stężeń enterotoksyny w twarogach pakowanych próżniowo przy podobnej liczebności komórek gronkowca w obu produktach można również sugerować, że do syntezy tego metabolitu przez te bakterie bardziej odpowiednie są warunki mikroaerofilne lub możliwość bardziej swobodnego przechodzenia gazów przez opakowania PA/PE wynikająca z innych właściwości barierowych obu laminatów.

Potwierdzeniem znaczącego wpływu środowiska na syntezę enterotoksyny mogą być wyniki oznaczania enterotoksyny w twarogach pakowanych bezpróżniowo pochodzących z opakowań rozhermetyzowanych. Stężenie enterotoksyny w tych twarogach było niższe niż w twarogach pochodzących z opakowań szczelnych i próżniowych (ryc. 3). Liczba gronkowców w tych twarogach nie różniła się znacząco od liczebności populacji stwierdzonej dla twarogów pakowanych hermetycznie w PA/PE i Cryovac i wynosiła $3,74 \log \text{ jtk/g}$ (ryc. 2).

Wielowymiarowa analiza regresji wykazała, że w opakowaniach bezpróżniowych pozbawionych hermetyki prawdopodobieństwo występowania enterotoksyny E_{nb} można wyrazić za pomocą równania [8] (tab. I). Przedstawiony model objaśniał 85,66 % zmienności enterotoksyny w funkcji liczby gronkowców (GK) i intensywności produkcji koagulazy (K). Parametry modelu o wartościach prawdopodobieństwa testowego: $p_{GK14} = 0,0004$, $p_{GK7} = 0,0752$ i $p_{k14} = 0,0003$ wskazywały na istotność zmiennych w tym równaniu. W prezentowanym modelu [8] liczba gronkowców po 7 dniach przechowywania twarogów mogła zostać pominięta jako parametr nieistotny statystycznie ($p = 0,0752$ dla $\alpha < 0,01$).

Analiza statystyczna wykazała, że w przypadku rozhermetyzowanych opakowań próżniowych nie istnieją statystycznie istotne modele syntezy enterotoksyny E_{tp} po 7 i 14

dniach przechowywania produktów przez gronkowce koagulazo-dodatnie. W liniowym modelu [9] zaprezentowanym w tabeli I zaledwie 1,76% zmienności enterotoksyny można było objaśnić liczebnością populacji gronkowców koagulazo-dodatnich w produkcie świeżym. Współczynnik korelacji między zmiennymi wskazywał na niskie zależności między poziomem zanieczyszczenia twarogów przed przechowywaniem, a obecnością enterotoksyny po 7 dniach przechowywania.

Również równanie kwadratowe [10] opisujące zależność między natężeniem produkcji koagulazy (K) a syntezą enterotoksyny (E_{rp}) po 14 dniach przechowywania twarogów wskazywało na istnienie słabego związku między syntezą obu metabolitów przez *Staphylococcus aureus* po 14 dniach przechowywania.

W optymalnych warunkach modelowych wzrost liczby gronkowców i produkcja enterotoksyny wykazują znaczną dynamikę. W 22 °C wzrost gronkowców o 3 cykle logarytmiczne powinien nastąpić po 72 minutach. Według programu komputerowego Pathogen Modeling Program w warunkach tlenowych przy zmianie pH i spadku temperatury do 10–12 °C zmiany liczebności populacji gronkowców o 1 cykl logarytmiczny były obserwowane dopiero po 10–21 dniach. Krótszy o 11 dni czas namnażania gronkowców prognozowany za pomocą tego programu dla beztlenowych warunków wzrostu wskazuje na istotne znaczenie potencjału oksydoredukcyjnego dla rozwoju tych bakterii.

Z badań *Vernozy-Rozard* i wsp. [22] wynika, że liczba gronkowców wewnątrz masy serowej jest zawsze wyższa niż na powierzchni sera dojrzewającego, co może stanowić potwierdzenie odmiennej dynamiki wzrostu tych drobnoustrojów w warunkach zróżnicowanego potencjału oksydoredukcyjnego.

Z niniejszego doświadczenia wynikało, że po 14 dniach przechowywania twarogów w warunkach chłodniczych w opakowaniu PA/PE i cryovac obecna na powierzchni produktów liczba gronkowców wynosiła odpowiednio; 3,33 i 3,62 log jtk/g. Liczba oznaczanych w niniejszym doświadczeniu gronkowców była zbliżona z wynikami uzyskanym przez *Belickową* i wsp. [3], która izolowała z serów twarogowych gronkowca na poziomie od 9×10 do $1,07 \times 10^4$ jtk/g [3]. Autorzy ci stwierdzili również gronkowce na zbliżonym poziomie w innych fermentowanych przetworach mleczarskich takich jak bryndza, maślanka i jogurt, co również może świadczyć o istnieniu pewnej oporności gronkowców na antagonistyczne oddziaływanie bakterii fermentacji mlekowej. Wyniki wielu badań wskazują na wzrost liczby gronkowców w czasie wytwarzania skrzepu przy produkcji serów dojrzewających mimo aktywnego metabolizmu bakterii fermentacji mlekowej [2, 5, 11].

W warunkach hermetycznego pakowania twarogów dodatkowym czynnikiem mogącym mieć wpływ na hamowanie wzrostu gronkowców mogła być zmieniająca się w czasie przechowywania chłodniczego atmosfera gazowa wewnątrz opakowania. Jednakże z uzyskanych w niniejszym doświadczeniu danych wynika, że poziom gronkowców po 14 dniach przechowywania pozostawał na takim poziomie jak w próbie kontrolnej.

W niniejszym doświadczeniu nie obserwowano efektu inhibicji populacji gronkowców przez dwutlenku węgla gromadzący się wewnątrz opakowań twarogów. Efekt hamowania wzrostu gronkowców był obserwowany przez *Kimura* i wsp. [8]. Wyżej wymienieni autorzy stwierdzali wysoki stopień hamowania wzrostu populacji gronkowców w środowiskach od 20 do 100% CO₂ w optymalnej temperaturze wzrostu oraz w temperaturze 15 °C. Jednakże w warunkach niniejszego doświadczenia w twarogach pakowanych hermetycznie istniała możliwość obniżenia stężenia dwutlenku węgla w opakowaniach

PA/PE na skutek, stwierdzonych w naszych wcześniejszych badaniach wzrostu przepuszczalności laminatu PA/PE dla tego gazu w niskiej temperaturze i obecności kwasu mlekowego [21].

Z badań *Vernozy-Rozard* i wsp. wynikało również, że wytwarzanie enterotoksyny jest procesem powolnym [22]. Według cytowanych autorów w serach dojrzewających nie stwierdzano enterotoksyny w świeżym skrzepie ale dopiero po 21 dniach dojrzewania a przy inoculum gronkowców w mleku serowarskim na poziomie 10^4 jtk/g stężenia wytworzonej enterotoksyny nie przekraczało 0,5 ng/g.

W niniejszym doświadczeniu obecności enterotoksyny również nie stwierdzano w próbkach twarogów przed przechowywaniem.

Z danych literaturowych wynika również, że zdolność do syntezy enterotoksyny gronkowcowej nie musi być związana z syntezą koagulazy ponieważ istnieją enterotoksyczne szczepy *Staphylococcus aureus* koagulazo ujemnych produkujące enterotoksynę, a także inne gatunki gronkowców enterotoksycznych takie, jak *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus saprophyticus* czy *Staphylococcus epidermidis* [12].

Istnieje więc możliwość, że populacja koagulazo-ujemnych gronkowców mogła stanowić przyczynę obecności enterotoksyny w badanych produktach pochodzących z rozhermetyzowanych opakowań próżniowych. Za potwierdzeniem tej tezy przemawia 2–3-krotnie wyższe stężenie enterotoksyny po 7 i 14 dniach w twarogach pochodzących z takich opakowań, wyższa niż w produktach pochodzących z pozostałych rodzajów opakowań liczba gronkowców koagulazo-ujemnych oraz postaci przedstawionych równa 9 i 10.

Z badań *Vernozy-Rozard* i wsp. [22] wynikało, że do syntezy enterotoksyny nie jest konieczne wysokie inoculum gronkowców i dlatego autorzy postulowali konieczność rygorystycznego przestrzegania reżimów dotyczących jakości mikrobiologicznej mleka serowarskiego.

Jakkolwiek warunki wytwarzania serów dojrzewających są odmienne od technologii stosowanych w produkcji twarogów, to jednak zaprezentowane wyżej wyniki potwierdzają konieczność przestrzegania zasad Dobrej Praktyki Higienicznej przy doborze mleka do produkcji kwasowych serów twarogowych ze względu na zachowanie gronkowców w tych produktach.

Za pomocą metody immunoenzymatycznej istnieje możliwość wykrywania enterotoksyny gronkowcowej w serach twarogowych. Wykrywanie enterotoksyny tą metodą jest proste i pozwala na skrócenie czasu potrzebnego do oszacowania istniejącego zagrożenia. Badania takie nie są jednak przeprowadzane w przypadku produktów charakteryzujących się nieobecnością gronkowców koagulazo-dodatnich natomiast zawierających określoną liczbę *Staphylococcus aureus* koagulazo-ujemnych lub innych gatunków gronkowców. Uzyskane wyniki mogą wskazywać na fakt, że obecność enterotoksyny w twarogach może być wynikiem obecności gronkowców koagulazo-ujemnych. Fakt ten stanowi utrudnienie dla prawidłowej oceny stanu higienicznego pakowanych hermetycznie twarogów jeżeli uwzględni się dodatkowo „gniazdowe” (losowe) rozmieszczenie gronkowców w produkcji.

Z przedstawionych danych wynika, że istnieje konieczność prognozowania prawdopodobieństwa występowania enterotoksyny w pakowanych hermetycznie twarogach. Wyznaczone modele matematyczne są niezwykle przydatne do szybkiej oceny obecności enterotoksyny i mogą stanowić dodatkowe narzędzie oceny bezpieczeństwa kwasowych serów twarogowych pakowanych w laminaty z tworzyw sztucznych.

WNIOSKI

1. Warunki panujące wewnątrz opakowania twarogów pakowanych próżniowo determinują wyższe prawdopodobieństwo syntezy enterotoksyny niż w twarogach pakowanych bezpróżniowo w czasie przechowywania produktów

2. W twarogach pakowanych bezpróżniowo istnieje wysoka korelacja między syntezą enterotoksyny i koagulazy w produktach w czasie przechowywania. Równanie opisujące zależność może być stosowane w praktyce do oceny prawdopodobieństwa występowania toksyn gronkowcowych po przechowywaniu twarogów w warunkach chłodniczych.

3. Twarogi pakowane hermetycznie przeznaczone do przechowywania w warunkach chłodniczych powinny wykazywać brak obecności gronkowców koagulazo-ujemnych ponieważ znaczna liczba tych mikroorganizmów może stanowić o możliwości pojawiania się enterotoksyny w produktach.

I. Steinka

ASSESSMENT OF PROBABILITY OF ENCOUNTERING STAPHYLOCOCCI ENTEROTOXINS IN LACTIC ACID CHEESE PACKED IN LAMINATES

Summary

Immunoassay methods were used to identify the presence of staphylococcal enterotoxins in lactic acid cheese vacuum and non-vacuum packed. There was assessed the probability of encountering staphylococcal enterotoxin in cheese dependent on different systems of packaging, count of staphylococcal cells, intensiveness of coagulase synthesis and tightness of packaging.

The presence of enterotoxin was identified in 5% of researched samples of products stored for 14 days. The influence of packaging system and tightness on presence of enterotoxin was observed.

The probability of presence of staphylococcal and enterotoxin in relation to researched factors was presented by the mathematical models.

PŚMIENNICTWO

1. *Adesium A.A., Lenz W., Schaal K.P.*: Phage susceptibility and enterotoxin production by *Staphylococcus aureus* strains isolated from Nigerian foods. *J. Food Protect.* 1992, 55, 871–873.
2. *Bachmann H.P., Spahr U.*: The fate of potentially pathogenic bacteria in Swiss hard and semihard cheese made from raw raw milk. *J. Dairy Sci.* 1995, 78, 476–483.
3. *Belickova E., Tkacikova L., Nas H.T., Vargova M., Ondrasovic M., Ondrasovicova O., Obsitnikova D., Toth L.*: *Staphylococci* plate counts in foods of milk origin, *Veterinarni medicina Czech.* 2001, 46, 24–27.
4. *Colavita G., Miotti Scapin R., Giaccone V., Laurelli T., Lucci A., Antonelli V., Manupella A., Ciallella M.L.*: Episodio di intossicazione alimentare da *Staphylococcus aureus* tipo D. *L'Igiene Moderna* 2000, 114, 205–215.
5. *Gomez-Lucia E., Goyache J., Orden J., Domenech A.F.J., Hernandez Quitaria J.A.R., Lopez B., Blanco J.L., Suarez G.*: Growth of *Staphylococcus aureus* and synthesis of enterotoxin during rippening of experimental Manchego-type cheese. *J. Dairy Sci.* 1992, 75, 19–26.
6. *Ingham S., Larson A., Smukowski M., Houck K., Johnson E., Johnson M., Bishop R.*: Potential uses of microbiological testing in cheese plant HACCP and Quality Assurance Systems. *Dairy Food Envir. Sanit.* 1997, 17, 774–780.
7. *Jaszczuk E.*: Przegląd metod izolacji i identyfikacji gronkowców chorobotwórczych oraz ich toksyn występujących w żywności. Postęp w analizie żywności. Warszawa 1990, 142–155.

8. Kimura B., Toshiyama T., Fuji T.J.: Carbon Dioxide Inhibition of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* on pH – adjusted Surface in Model System. Food Sci. 1999, 64, 367–370.
9. Meugnier H., Bes M., Vernoy-Rozand C., Mazuy C., Braun Y., Frenay J., Fleurette J.: Identification and ribotyping of *Staphylococcus xylosum* and *Staphylococcus equorum* strains isolated from goat milk and cheese. Int. J. Food Microbiol. 1996, 31, 325–331.
10. Massa-Calpe C.: Microbiological quality of cheese importance of good handling practices. Aliment. 1996, 270, 69–72.
11. Otero A., Garcia M. C., Garcia M. L., Santos J. A., Moreno B.: Behaviour of *Staphylococcus aureus* strains FRI 137 and FRI 361 during manufacture and ripening of Manchego cheese. Int. Dairy J. 1993, 33, 85–86.
12. Paretten V., Giampa N., Schuler-Schmid U., Tauber M.: Antibiotic resistance genes in coagulase negative staphylococci isolated from food. Systematic and Applied Microbiology 1998, 21, 113.
13. Pereira J.L., Salzberg S.P., Bergdoll M.S.: Production of staphylococcal enterotoxin D in foods by low enterotoxin-producing staphylococci. Int. J. Food Microbiol. 1991, 14, 19–25.
14. Polska Norma PN-93 A-86034/13 Mleko i przetwory mleczarskie *Staphylococcus aureus* (gronkowce chorobotwórcze) – wykrywanie obecności, oznaczanie najbardziej prawdopodobnej liczby (NPL), oznaczanie liczby metodą płytkową.
15. Polska Norma PN-93 A-86034/03 Mleko i przetwory mleczarskie. Badania mikrobiologiczne. Przygotowanie próbek i rozcieńczeń.
16. Rodrigues L.H., Noletto A.L.S.: Diaz de Las Heras, Bergdoll M.S.: Selective enterotoxin production in foods by *Staphylococcus* strains that produce more than one enterotoxin. J. Food Protect. 1993, 56, 538–540.
17. Shu-Er Y., Roch-Chui Y., Cheng-Chun C.: Influence of holding temperature on the growth and survival of *Salmonella spp.* and *Staphylococcus aureus* and the production of staphylococcal enterotoxin in egg products. Int. J. Food Microbiol. 2000, 63, 99–107.
18. Steinka I., Stankiewicz J.: The effect of vacuum packing of cottage cheese on the behaviour staphylococcus during refrigeration storage, Proceedings of 12th IGWT Symposium Poznań – Gdynia, Polska 5–11.1999, 617–621.
19. Steinka I., Stankiewicz J.: System pakowania twarogów – aspekty higieniczne, 4, 21, 105.
20. Steinka I., Stankiewicz J.: Próba zastosowania systemu Mini – Vidas do oznaczania enterotoksyny gronkowcowej w serach twarogowych. Materiały Naukowe XXXI Sesji KTChŻ PAN Poznań 2000, 109–110.
21. Steinka I.: Wpływ metabolizmu bakterii fermentacji mlekowej na zmiany cech folii stosowanych do pakowania twarogów. Materiały I Ogólnokrajowej Konferencji Naukowej „Rozkład i korozja mikrobiologiczna materiałów technicznych”, Łódź 2000, 62.
22. Vernoy-Rozand C., Meyrand A., Mazuy A., Mazuy C., Delignette-Muller M.-L., Joubert G., Perrins G., Lapeyere C., Richard Y.: Behaviour and enterotoxin production by *Staphylococcus aureus* during the manufacture and ripening raw goats’ milk lactic cheeses. J. Dairy Res. 1998, 65, 273–281.
23. Yi-Cheng S., Amy C., Lee W.: Production of staphylococcal enterotoxin H under controlled pH and aeration. Int. J. Food Microbiol. 1998, 39, 87–91.

Otrzymano: 2003.02.06