

Higijensko značenje i postupci izolacije *Staphylococcus aureus* iz namirnica*

M. Hadžiosmanović, J. Živković, B. Mioković i Darinka Pranjić

Revijalni prikaz — Review

UDK: 637.055/579.8

Sažetak

U našim je propisima o bakteriološkim normama za živežne namirnice ograničen nalaz koagulaza-pozitivnih sojeva Staphylococcus za koje se smatra da su u najvećoj mjeri enterotoksični. Ovakav pristup nije zadovoljavajući s obzirom na nalaze koagulaza-negativnih enterotoksičnih sojeva Staphylococcus. Enterotoksični stafilokoki odlikuju se sposobnošću tvorbe enterotoksina čime uzrokuju alimentarnu intoksikaciju ljudi, dok nalaz drugih sojeva Staphylococcus ukazuje na propuste u higijeni proizvodnje i prometu namirnica. Stoga je u namirnicama potrebno ograničiti nalaz svih pripadnika vrste S. aureus i time uskladiti naše propise s trendovima koji su u svijetu općenito prihvaćeni. Rezultati znanstvenih istraživanja pokazuju da nema jedinstvenog postupka koji bi zadovoljio sve potrebne kriterije koji se odnose na dokaz i izolaciju S. aureus iz namirnica. Ipak, istraživanja posljednjih godina pokazuju da, za određivanje ukupnog broja S. aureus iz namirnica, prednost treba dati BP BBL hranjivoj podlozi.

Riječi natuknice: izolacija Staphylococcus aureus iz namirnica, koagulaza-negativni enterotoksični Staphylococcus sojevi, alimentarne intoksikacije, potrebni kriteriji o ograničavanju zastupljenosti Staphylococcus aureus sojeva iz namirnica.

Uvod

Iako je odavno poznato da pored koagulaza-pozitivnih stafilokoka i koagulaza-negativni sojevi mogu uzrokovati intoksikaciju ljudi (Bergdoll, Weiss i Munster, 1967; Breckinridge i Bergdoll, 1971. i dr.) u našim propisima o mikrobiološkim uvjetima kojima moraju udovoljavati živežne namirnice u prometu kao odlučan kriterij uzima se sposobnost koagulacije plazme soja Staphylococcus da bi se namirnica isključila iz prometa i proglasila higijenski neispravnom i štetnom za zdravlje ljudi. S druge strane, velik je broj koagulaza-pozitivnih, ali enterotoksin negativnih sojeva koji su izolirani iz različitih živežnih namirnica (Jay, 1978).

* Ova je rad izložen na «Simpoziju o bakterijama roda Staphylococcus», održanog na Plitvicama od 27.—29. travnja 1988. godine.

Izvori *S. aureus*

U literaturi nalazimo obilje podataka o rasprostranjenosti *S. aureus*. Uglavnom se smatra da je glavni rezervoar enterotoksičnih sojeva nosna šupljina ljudi, te da se odavde prenosi na kožu i mjesta njena oštećenja. Istraživanja su pokazala da su ruke, lice, grlo i probavni sustav mjesta s kojih se stafilokoki prenose na površinu pripreme i prerade namirnica kao i na sirovine iz kojih se namirnice dobivaju pa su to i mjesta najvećeg rizika (Jay, 1978). Zapaženo je, također, da su neke domaće životinje izvori enterotoksičnih stafilokoka (Morrison, Fair i Kennedy, 1960). To se prije svega odnosi na neke uzročnike stafilokoknih mastitisa u krava i ovaca, a prema nekim izvorima, i na sojeve izolirane s površine mesa svježe zaklanih svinja (Siems i sur., 1971). Takvi se sojevi u literaturi nazivaju »animalnim« za razliku od najčešće izoliranih »humanih« sojeva.

Nalaz *S. aureus* u namirnicama

Općenito se smatra da je stafilokoke, pa i one enterotoksične, moguće dokazati gotovo u svim namirnicama (Jay, 1978). O tome je u literaturi obilje podataka. Istraživanja su pokazala da su zagađenja različita, te da rezultati zavise o vrsti namirnica, načinu njihova držanja, upotrebljenoj metodici, kao i o tome koje je svojstvo bilo odlučno u interpretaciji njihova nalaza. Naime, katkada je to koagulacija plazme, katkada nazočnost termonukleaze ili sposobnost tvorbe enterotoksina ili pak drugi morfološki i kulturni pokazatelji. U istraživanjima različitih autora nalazimo podatke o nalazu stafilokoka u mesu i mesnim preradevinama u količinama i do 75% pretraženih uzoraka, mesu peradi do 80%, mlijeku i mliječnim preradevinama u više od 50% uzoraka, ribljem mesu, mesu rakova, školjkaša i glavonožaca, priređenim za neposrednu kulinarsku obradu, do 68%, biljnim namirnicama preko 10% (Frazier i Westhoff, 1978; Jay, 1978. i dr.). I u našoj zemlji koagulaza-pozitivni stafilokoki redovit su nalaz rutinskih bakterioloških pretraga živežnih namirnica o čemu svjedoči obilna domaća stručna i znanstvena periodika.

U odnosu na različite interpretacije nalaza stafilokoka u živežnim namirnicama, danas je općenito prevladalo mišljenje da je, u pogledu opće higijene namirnica, u rutinskim bakteriološkim pretragama potrebno određivati ukupan broj *S. aureus* bez obzira na štetnost za zdravlje u pogledu tvorbe enterotoksina (Jay, 1978; Tham i Hajdu, 1987. i dr.). U tom smislu danas se u svijetu koristi niz različitih hranilišta koja preporučuju različiti proizvođači za dokaz i određivanje ukupnog broja *S. aureus* u namirnicama.

Postupci izolacije *S. aureus* iz namirnica

Prema podacima iz literature, hranilišta koja se najviše koriste u navedenu svrhu zasnivaju se na nekoliko modifikacija, prije svega Baird-Parke-
ra iz 1962. godine. O tome su izvijestili Kusch i Reuter (1971), Stadhouders i sur. (1976), Terplan i Zaadhof (1978) i Niskanen i Aalto (1978), te potvrdili prikladnost navedenih hranilišta u opsežnim istraživanjima za dokaz i izolaciju *S. aureus*. Poznata je, također i modifikacija navedenog hrani-

lišta Ibrahima (1977) koja uključuje dodatne kriterije za dokaz *S. aureus* iz namirnica.

Hranilište koje se također mnogo koristi u navedenu svrhu je Chapmanova podloga (1945) s modifikacijama Gunna i sur. (1972), koje je danas poznato pod nazivom LSM (Lipovitellenin — Salt — Mannitol). Za dokaz i izolaciju *S. aureus* u namirnicama u upotrebi je i hranilište Sinella i Baumgarta (1967) koje je poznato pod nazivom KRANEP (Kalium — Rhodanid — Actidione — Natriumazid — Piruvat). U Švedskoj je preporučeno i hranilište pod nazivom PCVJM (Phosphatidyl Choline Vogel and Johnson Medium). Pored ovih hranilišta u svijetu se za dokaz i izolaciju stafilokoka koristi čitav niz modifikacija s dodatkom krvi poznatih u nas pod nazivom »krvni agar«. Najčešće korištena modifikacija jeste Baird-Parker i Devenport (1965) i Niskanen i Aalto (1978) koje sadrže agarsku osnovu uz dodatak 5% sterilne defibrirane konjske krvi. Sva navedena hranilišta koriste se danas u svrhu dokaza i izolacije te određivanja ukupnog broja *S. aureus* u namirnicama.

Zbog spomenute neujednačenosti u postupku dokaza i izolacije te određivanja ukupnog broja *S. aureus* iz namirnica, u svijetu su izvršena i mnogobrojna komparativna istraživanja koja se odnose na prikladnost upotrebe spomenutih hranilišta. Veoma opsežno istraživanje u tom smislu izvršili su Tham i Hajdu (1987). Ovo je istraživanje obuhvatilo gotovo sve relevantne pokazatelje porasta *S. aureus*, a izvršeno je na šest najčešće korištenih hranilišta. Na osnovi dobivenih rezultata autori su zaključili da ni jedno hranilište nije u potpunosti odgovorilo zahtjevima koji se traže u svestranoj primjeni za dokaz *S. aureus*. Ipak, u odnosu na dosadašnje mogućnosti najbolji rezultati postignuti su primjenom BP BBL hranilišta.

Mnogi istraživači uočili su značajan odnos između populacije *S. aureus*, enzima termonukleaze i enterotoksina. Stafilokokna termonukleaza je, naime, ekstracelularna bjelanjčevina koju stvaraju određeni sojevi stafilokoka, a sastoji se od polipeptidnog lanca sa 149 aminokiselina i molekularne mase od 16807. Taj enzim pokazuje znatnu otpornost prema toplini, niskom pH, dugoj pohrani i mikrobnj aktivnosti u hrani i hranilištima (Ambramson, 1972; Tatini, 1981). Kako je dokaz enterotoksina još uvijek složen i skup postupak za rutinski rad u laboratorijima, a dokaz koagulacije plazme nedovoljno pouzdan kriterij, mnogi su laboratoriji uveli dokaz termonukleaze sumnjivih sojeva stafilokoka. O tome je u literaturi mnoštvo potvrda (Chesbro i Auburn, 1967; Lachica i Hoeprich, 1972; Tatini, Cords i Gramoli, 1976; Tatini, Hoover i Lachica, 1984; National Research Council Washington 1985). Za dokaz stafilokokne termonukleaze u literaturi je opisano nekoliko različitih postupaka. To su prije svega postupci mjerenja uz pomoć viskozimetrije, spektrofotometrije, turbidimetrije i agar-difuzije. U rutinskom se radu najčešće koriste agar-difuzioni postupci koji se zasnivaju na metakromatičnim svojstvima toludin-plavog.

Zaključak

Na osnovi podataka iz literature te vlastitih opažanja i saznanja smatramo potrebnim iznijeti naše mišljenje da u odnosu na dokaz i izolaciju *S. aureus*, kao i interpretaciju njegova nalaza u živežnim namirnicama, u našim propisima treba izvršiti odgovarajuće promjene. To se prije svega odnosi na ograničavanje nalaza svih pripadnika vrste *S. aureus* u namirnicama u smislu relevantne interpretacije njihova ukupnog broja. U tom smislu dosadašnji neprikladni naziv »koagulaza-pozitivni-stafilokoki« za nepoželjne predstavnike ove vrste treba uvesti znanstveno i stručno prihvaćen naziv *S. aureus*. Test koagulacije plazme treba ograničiti samo u smislu njegova korištenja kao pomoćnog postupka, a ne kao do sada, koristiti kao zaključni test za dokaz nepoželjnih stafilokoka. U rutinsku laboratorijsku dijagnostiku, kao obavezan, treba uvesti test termonukleaze, koji je danas u radu sa stafilokokima općenito prihvaćen. U svim sumnjivim slučajevima, kao i u slučajevima dokazanih intoksikacija hranom, treba izvršiti pretragu na nazočnost enterotoksina. osnovne hranjive podloge za određivanje ukupnog broja *S. aureus* u namirnicama treba standardizirati u smislu suvremenih znanstvenih dostignuća i omogućiti njihovu dostupnost svim rutinskim laboratorijima.

HYGIENIC IMPORTANCE AND PROCEDURES OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS ISOLATION FROM FOOD

Summary

Our regulations concerning bacteriological standards for food, limit the coagulase-positive species of Staphylococcus which is considered the most enterotoxic. Such approach does not satisfy not taking into account the findings of coagulase — negative enterotoxic species of Staphylococcus. Enterotoxic Staphylococcus can produce enterotoxines, thus causing alimentary intoxication in humans while findings of other species of Staphylococcus points to the negligence in the hygiene of food production and transportation. That is why the findings of all members of S. aureus species in food should be limited. In such a way our regulations would conform to the trends that are generally accepted throughout the world. The results of scientific research show that there is no unique procedure that would satisfy all the necessary criteria relating to proving and isolating S. aureus in food. However, recent research shows that BP BBL culture medium should be given some advantage in determining the CFU of S. aureus in food.

Additional index words: isolation of Staphylococcus from food, coagulase-negative enterotoxic Staphylococcus species, alimentary intoxications, necessary criteria relative to limitation of Staphylococcus aureus species presence

Literatura

- ABRAMSON, C. (1972): Staphylococci. J. A. Cohen pp. 187—248. New York, Wiley-Interscience.
- BAIRD-PARKER, A. C. (1962): *J. Appl. Bacteriol.* **25**, 12—19.
- BAIRD-PARKER, A. C., Devenport, E. (1965): *J. Appl. Bacteriol.* **28**, 390—402.
- BERGDOLL, M. S., WEISS, K. F., MUNSTER, M. J. (1967): *Bact. Proc.* p 12 (Cit. Jay, 1978).
- BRECKINRIDGE, J. C., BERGDOLL, M. S. (1971): *New Engl. J. Med.* **248**, 541—543.
- CHAPMAN, G. H. (1945): *J. Bacteriol.* **50**, 201—201 (Cit. Tham i Hajdu, 1987).
- FRAIZER, W. C., WESTHOFF, D. C. (1978): Food Microbiology. McGraw-Hill Book Comp USA, 1978.
- GUNN, B. A., DUNKELBERG, W. E., CREITZ, J. R. (1972): *Am. J. Clin. Pathol.* **57**, 236—240.
- IBRAHIM, G. F. (1977): *Aust. J. Dairy Technol.* **32**, 35—38.
- JAY, J. M. (1978): Modern Food Microbiology. Van Nostrand Comp. New York-Cincinnati, 1978.
- KUSCH, D. REUTER, G. (1971): Zentralbl. Bacteriol. Parasitenk. Infektionskr. Hyg. Abt. 1: Org. 217, 23—34.
- SIEMS, H., KUSCH, D., SINELL, H. J., UNTERMANN, F. (1971): *Fleischwirtschaft* **51**, 1529—1533.
- SINELL, H. J., BAUMGART, J. (1967): Zentralbl. Bacteriol. Parasitenk. Infektionskr. Hyg. Abt. 1: Orig. 204, 248—264.
- STADHAUDERS, J., HASSING, F., VAN AALST-VAN MAREN, N. O. (1976): *Neth. Milk Dairy J.* **30** 222—229.
- MORISON, S. M., FAIR, J. F., KENNEDY, K. K. (1961): Pub. Hlth. Rpts. 76, 673—677.
- NATIONAL RESEARCH CONCIL (1985): Anevaluation of the role of microbiological criteria for foods and food ingredients. Washington, National Academy Press.
- NISKANEN, A., AALTO, M. (1978): *Appl. Environ. Microbiol.* **35**, 1233—1236.
- OTERO, A., GARCIA, M. L., GARCIA, M. C., MORENO, B. (1987): *Arch. Lebensmittelhyg.* **38**, 121—148.
- TATINI, S. R. (1981): Antitnutrients and Natural Toxicants in Foods pp. 53—75. Westport. Connecticut. Food and Nutrition Press.
- TATTINI, S. R., CORDS, B. R., GRAMELI, J. (1976): *Food Technol.* **40**, 64—74.
- TATINI, S. R., HOOVER, D. G. (Lachica, R. V. F. (1984): Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 2ndEd. (Ed. M. L. Speck) pp. 411—427. Washington. American Public Health Ass.
- TERPLAN, G., ZAADHOF, K. J. (1978): *Arch. Lebensmittelhyg.* **29**, 132—135.
- THAM, W., HAJDU, L. J. (1987): *Food Microbiology* **4**, 133—146.

Adrese autora — Authors' addresses:

Prof. dr. Mirza Hadžiosmanović
Prof. dr. Josip Živković
Doc. dr. Branimir Mioković
Dr. Darinka Pranjić
Vetereinarski fakultet, Zagreb

Primljeno — Received

15. 9. 1992