

## 5 - 18

### ТЕСТ ЗА ТОКСИЧНОСТ НА МИКРОКОКИ И СТАФИЛОКОКИ, ИЗПОЛЗВАНИ КАТО СТАРТЕРНИ КУЛТУРИ

Р.Бранкова, Мл.Радева, М.Юлиянова - ИМЛ-София

Т.Пеева- НИГХ - София

Едно от най-важните изисквания при прилагане на стартерни култури в месопропашлеността е те да не представляват проблем по отношение безвредността на готовия продукт /Hechelmann, 1981/ поради което могат да бъдат използвани само подбрани и контролирани микроорганизми /Frey, 1983/. За получаване на по-добър цвят, вкус и аромат. Микрококките инхибират образуването на зреещите месни продукти микрококки имат синергичен ефект заедно с лактобацилите и с това предпазват от гравийност и получаване на лош вкус и цвят /Andres 1977/. От р. *Lactobacillus* вероятността да се открият патогени или пропултивни токсични вещества чамове е ниска.

Fischer /1980/ изследва сурово сушени колбаси и установява, че 61% от представителите на сем. *Micrococcaceae* са стафилококи и 39% - микрококки. Той счита, че наличието на *Staph.aureus* в суреви колбаси е изключение. Бранкова и Динчев /1981/ доказват, че изолираните микроорганизми от български суреви сушени колбаси от сем. *Micrococcaceae* предимно към *Staph.saprophyticus* и по-малко към *M.varians* и *M.luteus*. Равнодължното на микроорганизмите от сем. *Micrococcaceae* на р. *Micrococcus* разграничаването на *Staphylococcus* обикновено се извършва на базата на техния метаболизъм по отношение разграждането на въглехидрати. При използване на стафилококки като стартерни култури е необходимо да се изключи възможността за попадане на *Staph.aureus* /Hechelmann 1981/. Идентификацията на последните се извършва на базата на тестове

за патогенност-продукция на коагулаза и ДНК-аза. Всичко това показва необходимостта внасяните в месните продукти микроорганизми да продуцират ензими, прилагани в рутинната практика като тестове за патогенност. От значение за готовия продукт е и антагонистичното действие на стартерните култури по отношение на патогени и хигиенно-показателни микроорганизми.

Целта на настоящата разработка е да се установи тест за токсичност на микрококи и стафилококи, използвани като стартерни култури в месопромишлеността, за осигуряване на тяхната безвредност.

#### ЛИТЕРАТУРЫ И МЕТОДИ

Използвани бяха 10 селекционирани щама от сем. *Micrococcaceae*. Те се отнасят към р. *Micrococcus/M. varians* - M<sub>25</sub>, Ср<sub>1</sub>, С<sub>42</sub>, M<sub>24</sub>, M<sub>16</sub>, M<sub>19</sub> и р. *Staphylococcus* - M<sub>96</sub>, M<sub>98</sub>, П<sub>106</sub>, предварително идентифицирани по *Bergery/1974*.

Щамовете са гетерогени за коагулаза, използвайки цитратна заешка плазма, по общо-приетия метод. ДНК-азата се определяше по *Jeffries* и сътр./1957/ в модификация по *Bassille* и сътр./1964/, основан на деполимеризация на ДНК, включена в средата от обработване ензим. Освен термолабилните ензими, бе проучена и възможността за обработване и на термостабилна дезоксирибонуклеаза. Приложен бе модифициран метод на *Zachica* /1971/, Неева, 1983/. За контрол бяха използвани щамове *Staph.aureus*,

*Staph.epidermidis*. Антагонистичното действие на стартерните култури бе изпитано по отношение на патогени и хигиенно-показателни микроорганизми - *Staph.aureus*, *Staph.typhimurium*, *P.vulgaris*, *Str.faecalis*, *B.subtilis*. За целта бе приложен приховия метод 1969.

#### РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪДЯНЕ

На табл.1 са показани данните от проучването способността на щамове микрококи и стафилококи да образуват коагулаза и ДНК-аза. Чито една от културите *M.varians*, *Staph.saprophyticus* не продуцират посочените ензими. Това съвпада с физиологичната характеристика на *Staph.saprophyticus* предложена от някои автори *Devriese* и съавт., 1978, *Heddaeus* и съавт., 1978, *Kloss* и *Schleifer*, 1975/. Следователно свойството да продуцират коагулаза и ДНК-аза не е специфично за *Staph.aureus*, но и за *Staph.saprophyticus*. То е характерно предимно за *Staph.aureus*. При този вид стафилококи е доказана зависимост между коагулазна и ДНК-азна активност *Norton, Cohn* 1972/. Установена е тясна корелативна връзка на ентеротоксигенността на *Staph.aureus* и пролукцията на термонуклеаза. 95-100% от тях са и термонуклеазаподомитни *Lachica* 1971/, Неева, 1983/. Определянето на този ензим е бързо и отчетливо /сн.1/. Изпитваните щамове микрококи и стафилококи, използвани като стартерни култури не

образуват експрецелуларни ензими, които в рутинната практика се използват като тестове за патогенност.

Проверено бе и антагонистичното действие на проучваните микрококи спрямо патогени и хигиенно-показателни микроорганизми /сн.1/. Резултатите се отчитат като стерила зона между растежната зона на изследвания щам и тази на тест-микроорганизма. Установено е най-силно потискащо действие спрямо *B.subtilis* - 9-16 mm стерила зона, следвано от това по отношение *Staph.aureus*.

Антагонистичният ефект е по-силно изразен от представителите на *Staphylococcus* в сравнение с този на р. *Micrococcus*.

Стафилококите и микрококите потискат развитието на някои видове от нежеланата микробиофа, което ги прорви пригодни за използване като стартерни култури. Извъншите проучвания дават основание да се направи заключение, че стартерните култури *Staph.saprophyticus* и *M.varians*, не продуцират ензими - коагулаза и ДНК-аза, прилагани като тестове за патогенност. Те имат изразено антагонистично действие спрямо патогени и хигиенно-показателни микроорганизми, което е от значение за качеството на безопасността на готовия месен продукт.

ЛИТЕРАТУРА  
Бранкова Р., Д. Динчев, 1981-НГ. Еропр. XXXVII Техн. панаир, Пловдив

Неева Т. 1983-Хигиенно микробиологични проучвания на *Staph.aureus* в хр.пр., дълс.

Andres, C. 1977, Food Processing, 1, 132-133

Bassille D, et al, 1964, Ann.de l'Institut Pasteur de Lille, XV, 157

Bergey, Manual, 1974

Devriese L.A, V.Hajck, P.Olding, 1978, Int.J.System Bact., v.28, p 482

Fischer, U., K.Schleiger, 1980, Fleischfleisch, 605, 1046-1051

Frey, W, 1983, Fleischerei, 2, 67-87

Hechelmann, H, 1981, Fleischerei, 32, 9, 657-662

Heddaeus H, et al. 1978, FEMS-Microbiol. Lett, 3, 135

Jeffries, C, D.Holman, D.Juse, 1957, J.Bacteriol., 73, 590

Kafel S, -J.Ayres, 1969-J.Appl.Bacteriology, 32, 2, 217-232

Lachica R, P.Hoeprich, C.Genigeorgis, 1971, Appl.Microbiol, 21, 823

Morton, H.J.Cohn, 1972, Appl.Microbiol, 23, 4, 725

Издадено от УЧИЛЪЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛСТВО ВЪВ ВЪДРОГИИ. Издадено във ВЪДРОГИИ

издава и издадено във ВЪДРОГИИ приложено във ВЪДРОГИИ

във ВЪДРОГИИ във ВЪДРОГИИ във ВЪДРОГИИ

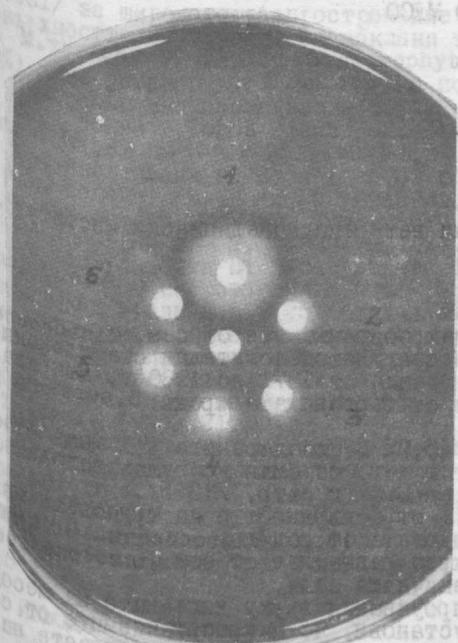
Таблица 1. Исследования за плазмоагулаза, термонуклеаза и ДНК-аза на селекционированные шамове микрококки

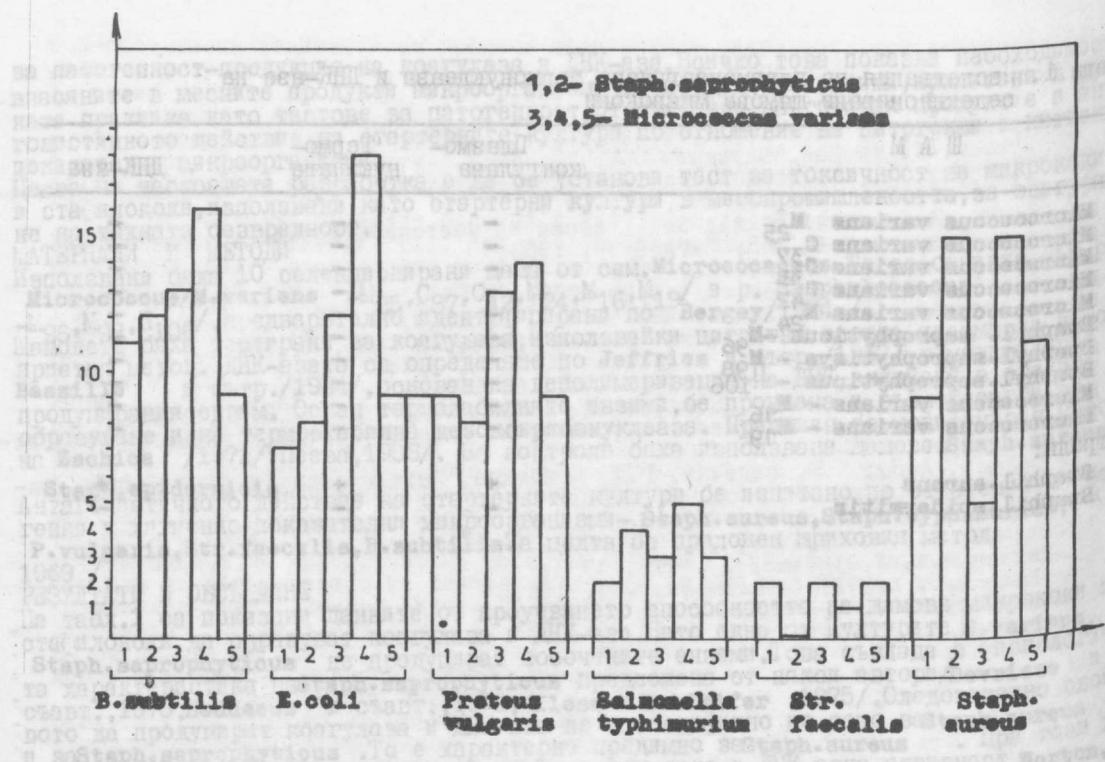
№ по ред	ЩАМ	Плазмо- коагулаза	Термо- нуклеаза	ДНК-аза
1.	<i>Micrococcus varians</i> M <sub>25</sub>	+	-	-
2.	<i>Micrococcus varians</i> C <sub>37</sub>	+	-	-
3.	<i>Micrococcus varians</i> C <sub>38</sub>	+	-	-
4.	<i>Micrococcus varians</i> C <sub>42</sub>	+	-	-
5.	<i>Micrococcus varians</i> M <sub>24</sub>	+	-	-
6.	<i>Staphyl. saprophyticus</i> - M <sub>96</sub>	+	-	-
7.	<i>Staphyl. saprophytis</i> - M <sub>98</sub>	+	-	-
8.	<i>Staphyl. saprophyticus</i> - 106	+	-	-
9.	<i>Micrococcus varians</i> - M <sub>16</sub>	+	-	-
10.	<i>Micrococcus varians</i> - M <sub>19</sub>	+	-	-
Контроли:				
11.	<i>Staphil.aureus</i>	+	+	+
12.	<i>Staphil.epidermitis</i>	-	-	-

Фиг.1 Определяне на термоустойчивата нуклеаза

1. контрола-термонуклеаза-положителен щам / *S.aureus*/
  2. контрола-термонуклеаза-отрицателен щам / *S.epidermidis* /

3.4.5.6. - изследвани бактериални





Фиг.1 Антагонистична активност на микропокри