

Ocena zagrożeń mikrobiologicznych związanych z systemem i hermetyką pakowania twarogów

IZABELA STEINKA, JULIANNA KURLEND*^{*}

Katedra Towaroznawstwa i Ładunkoznawstwa Wydziału Administracyjnego WSM ul. Morska 81-87, 81-225 Gdynia
^{*}Zakład Bakteriologii Klinicznej Wojewódzkiego Szpitala Zespołowego, ul. Nowe Ogrody 1-6, 80-803 Gdańsk

Steinka I., Kurlenda J

Assessment of the microbiological hazard connected with the system and airtightness of lactic acid cheese packaging

Summary

The aim of the test was to assess the dangers connected with vacuum and non-vacuum packaging of lactic acid cheese during refrigeration. The tests covered samples of airtight and non-air-tight packed lactic acid cheese.

The active acidity (pH) as well as the amount of yeast, enterococci, staphylococci and *Escherichia coli* were measured.

The active acidity (pH), the amount of fungi, enterococci, staphylococci and *Escherichia coli* as well as the presence of staphylococcal enterotoxin were assayed in the tested lactic acid cheese on the purchase date, and again after 7 and 14 days of storage. Also a species diagnostics of yeast and enterococci was carried out.

During the refrigeration the vacuum and non-vacuum packed lactic acid cheese showed a diversified microbiological quality.

Enterococci and yeast constituted the dominant micro-flora in the lactic acid cheese packed in both systems after 7 and 14 days of storage. The following species of yeast were isolated in the tested lactic acid cheese: *Candida famata*, *Candida guilliermondii*, *Candida lusitanae* and *Candida inconspicua*.

During the storage of the lactic acid cheese the number of *Escherichia coli* diminished. The presence of staphylococci was detected in all tested lactic acid cheeses and staphylococcal enterotoxin was detected in 4.5% of the tested samples, regardless of the packaging system and the integrity of the package. The staphylococcal enterotoxin was detected after 7 and 14 days of refrigeration.

A high correlation between the packaging system and the increase in the level of yeast in the stored lactic acid cheese was noted. The number of other micro-organisms in the stored product did not show such high correlation with the packaging system.

The air-tightness of the packages had a crucial influence on the level of staphylococci in the stored product.

The dangers noted in the tested lactic acid cheese were mainly related to the presence of staphylococcal enterotoxin.

Keywords: microflora, lactic acid cheese, packaging system, airtightness

Jakość mikrobiologiczna żywności w okresie przydatności do spożycia zależy m.in. od liczby i rodzaju mikroflory obecnej w produkcie przed jej pakowaniem. Niezwykle ważnym etapem w procesie wytwarzania żywności przeznaczonej do przechowywania chłodniczego jest właściwy dobór rodzaju opakowania i systemu pakowania.

W ocenie trwałości kwasowych serów twarogowych nastąpiła w ostatnich latach zmiana związana z zastosowaniem opakowań z tworzyw sztucznych. Wprowadzenie nowych rodzajów opakowań miało również na celu ograniczenie wycieku serwatki zmniejszenie prawdopodobieństwa występowania ususzki powierzchniowej i zahamowanie rozwoju mikroflory tlenowej. W chwili obecnej w Polsce stosowane są dwa systemy pakowania serów twarogowych w opakowa-

nia z tworzyw sztucznych – pakowanie próżniowe w folie PA/PE i bezpróżniowe w laminat firmy Grace tzw. cryovac. Do pakowania próżniowego twarogów stosowane są zazwyczaj torebki wykonane z wielowarstwowej folii polietylenowo-poliamidowej o grubości 80 μm z jedno- lub dwustronnym nadrukiem. Folie te stosowane są ze względu na znaczną barierowość w stosunku do pary wodnej pozostającą na poziomie 2-3 $\text{g/m}^2 \times 24$ godz. Laminat typu cryovac jest rodzajem laminatu barierowego wytwarzanego metodą koekstruzji o znacznej termokurczliwości. Opakowania tego rodzaju pozwoliły producentom na wydłużenie okresu przydatności do spożycia z 2 do 14 dni w warunkach temperatury chłodniczej.

Jakość mikrobiologiczna serów twarogowych docierających do konsumenta pod koniec okresu przy-

datności do spożycia zależy jednak nie tylko od rodzaju zastosowanego opakowania i systemu pakowania, ale także od warunków stymulowanych sposobem przechowywania produktów (16, 17).

Celem badań była ocena: a) zagrożeń mikrobiologicznych w czasie przechowywania twarogów pakowanych systemem próżniowym i bezpróżniowym w okresie ustalonej przez producenta ich przydatności spożywczej, b) wpływu integralności opakowania na jakość mikrobiologiczną badanych twarogów.

Material i metody

Badaniom poddano 20 partii twarogów pochodzących z dwóch zakładów mleczarskich. Dziesięć partii stanowiły twarogi pakowane systemem próżniowym w folie PA/PE z zakładu mleczarskiego L, 10 pozostałych partii to twarogi pakowane systemem bezpróżniowym w folie typu cryovac C. Badania mikrobiologiczne wykonywano w dniu zakupu oraz po 7 i 14 dniach przechowywania twarogów w temp. 6-8°C.

Z każdej partii twarogu pobierano losowo próbki w postaci kostek lub klinków. Ogółem badaniom poddano 100 próbek. Jedną kostkę lub klinek z każdej partii badano w dniu zakupu, a pozostałe cztery po 7 i 14 dniach przechowywania chłodniczego, próbki z każdej badanej partii reprezentowały produkty pakowane hermetycznie i pochodzące z opakowań nieszczelnych. Materiał do posiewów pobierano z powierzchniowej warstwy produktu, ze wszystkich powierzchni twarogu mających styk z opakowaniem. Rozszczelnienie opakowań uzyskiwano poprzez rozcięcie jałowym skalpelem opakowania na długości 2 cm.

W badanym materiale oznaczano: kwasowość czynną (pH), liczbę grzybów, enterokoków, gronkowców i pałeczek *E. coli* oraz obecność enterotoksyny gronkowcowej. Przeprowadzono także diagnostykę gatunkową drożdży i enterokoków.

Do badań pobierano próbki twarogu o masie 20 g i rozcieńczano w 180 cm³ roztworu cytrynianu sodowego, dalsze rozcieńczenia wykonywano stosując płyn fizjologiczny z peptonem. Z każdego rozcieńczenia posiewano po 1 cm³ materiału badanego na płytki Petriego i zalewano odpowiednią pożywką (9, 10). Liczbę drożdży oznaczano na pożywce YGC z chloramfenikolem firmy Merck po inkubacji przez 96 godzin w temperaturze 25°C zgodnie z PN (11). Liczbę enterokoków oznaczano na pożywce D – coccosel, a liczbę *E. coli* na chromogennej pożywce Coli ID (13, 14 w modyfikacji własnej). Oba rodzaje bakterii inkubowano przez 48 godzin w temperaturze 37°C. Liczbę gronkowców oznaczano na podłożu Baird-Parkera RPF po 48 godzinnej inkubacji w temp. 37°C (12).

Obecność enterotoksyny gronkowcowej oznaczano metodą immunoenzymatyczną za pomocą Mini-Vidas firmy bioMerieux. Oznaczenia enterotoksyny dokonywano po ekstrakcji badanego materiału za pomocą buforu wchodzącego w skład zestawu. Materiał homogenizowano i po termicznej inaktywacji fosfatazy alkalicznej 0,5 cm³ supernatantu nanoszono na pasek testowy urządzenia.

Za wynik dodatni oznaczający obecność enterotoksyny w badanej próbce twarogu uznawano wartość przekraczającą 13 jednostek.

Określenie gatunku wyizolowanych drożdży przeprowadzono po ich inkubacji na płynnej pożywce BBL, podłożu agarowym z krwią i podłożu Saburauda. Identyfikacji gatunkowej dokonywano za pomocą ATB Expression. Diagnostykę gatunkową enterokoków przeprowadzono również zestawem ATB Expression przy zastosowaniu paska Rapid ID 32 Strep (BioMerieux) i inkubacji w 30°C przez 6 godz.

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej za pomocą programu statystycznego Statistica version 5. W celu oceny istotności różnic między liczebnością populacji w czasie przechowywania twarogu wykorzystano test Hotelinga i test T. Wyznaczono również współczynnik korelacji Pearsona przy określonym poziomie istotności w celu oceny siły związku między systemem pakowania i hermetryką a jakością mikrobiologiczną produktów po określonym czasie przechowywania chłodniczego.

Wyniki i omówienie

Kwasowość badanych twarogów w opakowaniu próżniowym kształtowała się na poziomie od 4,9 w dniu zakupu, kwasowość twarogów pakowanych bezpróżniowo w laminaty typu cryovac wykazywała w tym czasie wartość 4,75. Z wcześniejszych badań wynika, że pakowane próżniowo twarogi wykazują znaczną stabilizację kwasowości w czasie przechowywania chłodniczego (16). W niniejszych badaniach, w przypadku twarogów pakowanych bezpróżniowo zaobserwowano mniejszy wzrost kwasowości po 7 dniach niż w przypadku twarogów pochodzących z opakowań próżniowych. Po 14 dniach przechowywania produktów średnia kwasowość obu grup produktów była podobna. Twarogi pochodzące z opakowań próżniowych pozbawionych hermetyki w pierwszym tygodniu przechowywania wykazywały większy wzrost kwasowości niż twarogi pakowane bezpróżniowo. Jednakże pH twarogów po 14 dniach przechowywania nie spadało dla obu rodzajów opakowania poniżej wartości 4,55.

W dniu zakupu badane twarogi pochodzące z opakowań hermetycznych wykazywały znaczne zanieczyszczenie mikroflorą względnie beztlenową, tj. enterokokami i drożdżami (tab. 1, 2). Liczba tych drobnoustrojów kształtowała się na poziomie 10³ do 10⁵ jtk/g w przypadku obu wymienionych grup, przy czym wyższy poziom początkowego zakażenia enterokokami wykazywały twarogi pakowane bezpróżniowo. Stwierdzono, że w przypadku serów pakowanych próżniowo następuje w czasie przechowywania intensywny ich wzrost. W czasie 7-dniowego przechowywania twarogów odnotowano wzrost liczby paciorkowców kałowych do 3,2×10⁵ jtk/g. W systemie pakowania próżniowego przechowywanie twarogu przez dalsze 7 dni powodowało wzrost liczebności enterokoków, podczas gdy w twarogach pakowanych w cryovac następował jej spadek (tab. 1, 2). Po 14 dniach przechowywania liczebności populacji enterokoków, wzrastała o dwa cykle logarytmiczne w twarogach pochodzących z opakowań próżniowych, natomiast w twarogach pakowanych bezpróżniowo dochodziła do 1,0×10⁴ jtk/g.

Tab. 1. Zmiany liczebności populacji drobnoustrojów w twarogach pakowanych systemem próżniowym w zależności od hermetyki opakowania i czasu przechowywania (jtk/g)

Rodzaj drobnoustrojów	Opakowania					
	hermetyczne			rozhermetyzowane		
	czas (dni)			czas (dni)		
	0	7	14	0	7	14
Drożdże	$6,2 \times 10^5$	$1,3 \times 10^6$ ab	$1,3 \times 10^6$ a	$6,2 \times 10^5$	$1,4 \times 10^6$	$1,5 \times 10^6$
Enterokoki	$6,1 \times 10^3$	$2,3 \times 10^5$	$4,8 \times 10^5$ a	$6,1 \times 10^3$	$2,3 \times 10^4$	$7,7 \times 10^5$
<i>E. coli</i>	$1,6 \times 10^3$	$1,4 \times 10^2$ b	$1,7 \times 10^1$ b	$1,6 \times 10^3$	$1,7 \times 10^1$	$1,4 \times 10^2$
Gronkowce	$5,4 \times 10^2$	$8,9 \times 10^2$	$4,6 \times 10^2$	$5,4 \times 10^2$	$9,9 \times 10^2$	$9,9 \times 10^1$

Objaśnienia: a – średnie różnią się istotnie w zależności od hermetyki opakowań w danym systemie pakowania, b – średnie różnią się istotnie w zależności od systemu pakowania bez względu na hermetykę opakowań ($\alpha \leq 0,05$)

Tab. 2. Zmiany liczebności populacji drobnoustrojów w twarogach pakowanych systemem bezpróżniowym w zależności od hermetyki opakowania i czasu przechowywania (jtk/g)

Rodzaj drobnoustrojów	Opakowania					
	hermetyczne			rozhermetyzowane		
	czas (dni)			czas (dni)		
	0	7	14	0	7	14
Drożdże	$6,3 \times 10^3$	$1,8 \times 10^4$ a	$8,2 \times 10^5$ a	$6,3 \times 10^5$	$6,3 \times 10^5$	$1,2 \times 10^6$
Enterokoki	$1,5 \times 10^5$	$7,0 \times 10^3$	$1,9 \times 10^4$	$1,5 \times 10^3$	$6,1 \times 10^3$	$9,7 \times 10^3$
<i>E. coli</i>	$1,6 \times 10^2$	$9,0 \times 10^0$	0 a	$1,6 \times 10^2$	$5,0 \times 10^0$	0
Gronkowce	$9,1 \times 10^1$	$3,5 \times 10^3$	$2,1 \times 10^2$	$9,1 \times 10^1$	$1,7 \times 10^1$	$5,6 \times 10^2$

Najczęściej izolowanym z twarogów paciorkowcem kałowym był *Enterococcus faecalis*.

Analiza statystyczna wykazała istotne statystycznie różnice między poziomem wzrostu enterokoków w obu systemach pakowania. Stwierdzono istnienie słabej korelacji między systemem pakowania a liczbą enterokoków po przechowywaniu przez 7 i 14 dni ($r_{xy} = -0,2437$, $r_{xy} = -0,3594$). Nie stwierdzono istnienia korelacji między wzrostem enterokoków w produkcie a hermetyką opakowań przy bezpróżniowym systemie pakowania. W próżniowym systemie pakowania stwierdzone korelacje były istotne na poziomie $\alpha < 0,05$.

Liczba drożdży w produktach pakowanych systemem próżniowym i bezpróżniowym wzrastała w czasie przechowywania chłodniczego i po 14 dniach osiągała poziom 10^6 jtk w 1 gramie twarogów z wyjątkiem produktów pochodzących z hermetycznych opakowań w laminat typu cryovac (tab. 1, 2).

Analiza statystyczna wykazała, że średni wzrost poziomu drożdży przy obu systemach pakowania był istotny statystycznie ($\alpha \leq 0,05$), po 7 dniach przechowywania. Współczynnik korelacji wskazywał na silny związek między systemem pakowania a liczebnością populacji drożdży ($r_{xy} = 0,8168$). Stwierdzono rów-

nież wysoką korelację między liczbą drożdży a hermetyką opakowań przy bezpróżniowym systemie pakowania ($r_{xy} = 0,5242$). W obu systemach pakowania obserwowano istotne różnice między wzrostem liczby drożdży w twarogach pakowanych tym systemem a hermetyką opakowań ($\alpha \leq 0,05$).

W badanych twarogach stwierdzono głównie występowanie czterech gatunków drożdży. *Candida inconstans* izolowany był najczęściej z twarogów pakowanych bezpróżniowo. Pozostałe gatunki, tj. *C. quilliermondii*, *C. lusitaniae* i *C. famata* występowały w twarogach pakowanych w folie PA/PE.

Obecność *Candida lusitaniae* w twarogach świadczy o złej jakości surowca stosowanego do wyrobu twarogów, gdyż grzyb ten towarzyszy mikroflorze bakteryjnej izolowanej od krów w przypadku zapalenia wymion oraz mikroflorze przewodu pokarmowego i moczowego (4). *Candida quilliermondii* zasiedla glebę i skórę zwierząt hodowlanych. Występuje również jako składnik prawidłowej mikroflory człowieka wykazując jednak względną chorobotwórczość (5). *Candida famata* izolowana z twarogów pakowanych próżniowo zasiedla skórę i powietrze,

ale może niekiedy powodować schorzenia skóry (4). Obecność obu drobnoustrojów w badanych twarogach świadczy o nie najlepszej jakości sanitarnej zakładu.

W twarogach pakowanych zarówno systemem próżniowym, jak i bezpróżniowo obserwowano spadek liczby pałeczek *E. coli*, jednakże tempo redukcji tych bakterii było większe w twarogach pakowanych bezpróżniowo (tab. 1, 2). Stwierdzono słabą korelację między systemem pakowania a wzrostem *E. coli* w twarogach w czasie przechowywania ($r_{xy} = -0,3885$, $r_{xy} = -0,3433$). Analiza statystyczna wykazała również istnienie korelacji między zmianą liczebności populacji *E. coli* a hermetyką opakowań dla bezpróżniowego systemu pakowania. Brocklehurst i wsp. (2) w badaniach dotyczących cottage cheese wykazali, że spośród mikroflory należącej do rodziny *Enterobacteriaceae* mikroorganizmem najczęściej izolowanym z tych produktów mlecznych był *Enterobacter agglomerans*. W niniejszych badaniach stwierdzono oprócz *E. coli* w czasie przechowywania twarogu, że bez względu na system pakowania występowała niewielka liczba pałeczek z rodzaju *Enterobacter*.

We wszystkich twarogach stwierdzono niewielką liczbę gronkowców w momencie zakupu produktu. W

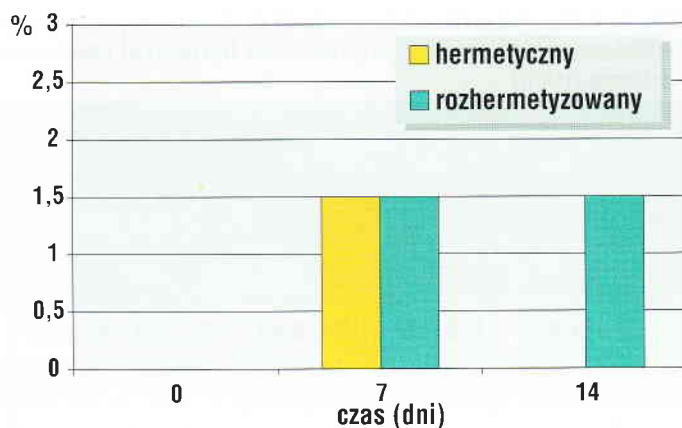
twarogach pakowanych próżniowo początkowa liczba gronkowców wynosiła średnio $5,4 \times 10^2$ jtk/g, a w twarogach pochodzących z opakowań bezpróżniowych $8,7 \times 10^1$ jtk/g (tab. 1, 2). W twarogach pakowanych zarówno próżniowo jak i bezpróżniowo w opakowania hermetyczne obserwowano wzrost gronkowców po 7 dniach przechowywania, natomiast ich spadek w próbkach pochodzących z opakowań rozhermetyzowanych (tab. 1, 2). Jednakże wzrost liczby gronkowców w badanych twarogach nie był istotny statystycznie.

W twarogach uzyskiwanych z aktywnych szczepionek gronkowce nie znajdują sprzyjających warunków do rozwoju. Dynamika procesu wymierania tych drobnoustrojów uzależniona jest od ich początkowej liczby i pH środowiska (8). Przeprowadzone badania wskazują jednakże na znaczenie opakowań i ich hermetyki dla rozwoju gronkowców w przechowywanym produkcie. Analiza statystyczna wykazała korelację między hermetyką opakowań a poziomem wzrostu gronkowców w czasie przechowywania w obu systemach pakowania.

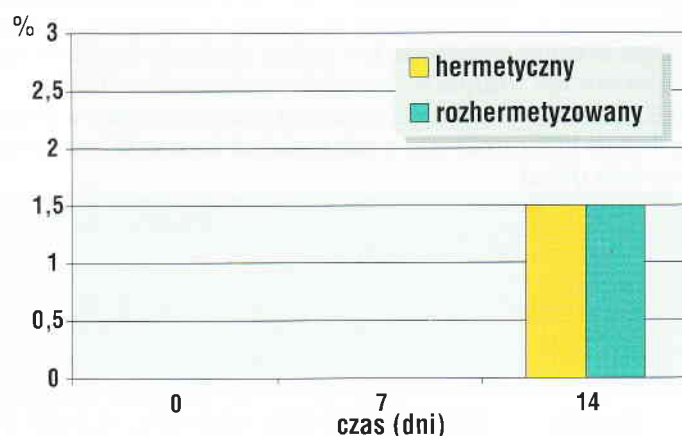
Stwierdzono natomiast istnienie słabej korelacji ($r_{xy} = -0,1784$ i $r_{yx} = -0,1392$) między zmiennością liczby gronkowców po 7 i 14 dniach przechowywania a systemem pakowania produktów.

Uzyskane wyniki badań własnych różnią się znacznie od danych innych autorów (3, 6, 17, 18). Wynika to z faktu, że ich badania dotyczyły przeważnie twarogów wytwarzanych w warunkach modelowych przy zastosowaniu nowych technologii produkcji, a także produktów przechowywanych bez opakowań. Uzyskane wyniki własne odbiegają również od danych dla twarogów pakowanych w zmodyfikowanej atmosferze w opakowania z tworzyw sztucznych (6, 7).

W 8 partiach badanych twarogów pakowanych bezpróżniowo i systemem próżniowym określono obecność enterotoksyny gronkowcowej. Obecność toksyny stwierdzono zaledwie w 4,5% badanych twarogów, ale wykryto ją zarówno w twarogach pakowanych próżniowo w folie PA/PE, jak i w twarogach pakowanych bezpróżniowo. Nie stwierdzano obecności enterotoksyny w produktach w dniu zakupu, natomiast po 7 i 14 dniach wykrywano jej obecność zarówno w twarogach opakowanych hermetycznie jak i z opakowań rozhermetyzowanych (ryc. 1, 2). Stwierdzono spadek liczby próbek zawierających enterotoksynę gronkowcową po 14 dniach dla twarogów pakowanych próżniowo i wzrost dla twarogów pakowanych systemem bezpróżniowym. Uzyskane wyniki mogą świadczyć o syntezie toksyny w twarogach, aczkolwiek dane piśmiennictwa (19) nie potwierdzają, że przechowywane twarogi mogą stanowić podłoże sprzyjające wydzielaniu enterotoksyny do produktu. Jest to jednak zgodne z tendencją rozwoju gronkowców stwierdzoną we wcześniejszych badaniach własnych (16) i z danymi dotyczącymi uwarunkowań środowiskowych stymulujących produkcję enterotoksyny gronkowcowej typu A (1).



Ryc. 1. Odsetek próbek twarogów wykazujących obecność enterotoksyny (pakowanie próżniowe)



Ryc. 2. Odsetek próbek twarogów wykazujących obecność enterotoksyny (pakowanie bezpróżniowe)

Różnice zaobserwowane w zachowaniu mikroflory w twarogach pakowanych próżniowo i bezpróżniowo wynikają prawdopodobnie z warunków panujących w przestrzeni między powierzchnią twarogu i wewnętrzną stroną stosowanego opakowania. Pakowanie próżniowe powoduje, że przestrzeń między powierzchnią produktu a powierzchnią opakowania jest ograniczona i możliwości rozwoju znajduje mikroflora zdolna do wzrostu w warunkach mikroaerofilnych.

W świetle polskich wymagań mikrobiologicznych dla serów twarogowych (15) badane twarogi nie powinny posiadać tak długiego terminu przydatności do spożycia ponieważ już w dniu zakupu liczby drożdży w 1 g produktu przekracza dopuszczalną normę. Badane twarogi zawierały ponadto gronkowce i pałeczki *E. coli* w 1 g produktu.

Przeprowadzone badania wskazują na konieczność skrócenia czasu przechowywania twarogów pakowanych systemem próżniowym z uwagi na znaczny rozwój enterokoków i względnie patogennych grzybów. Skrócenie okresu przechowywania twarogów w warunkach chłodniczych przy obu systemach pakowania produktów jest również zasadne ze względu na obecność i metabolizm gronkowców. Wyniki uzyskane dla twarogów pochodzących z opakowań pozbawionych szczelności wskazują natomiast na konieczność zwracania uwagi na integralność opakowania w przypadku

stosowania do twarogów pakowania zarówno próżniowego jak i bezpróżniowego.

Wnioski

1. Mikrobiologiczna jakość twarogów przechowywanych przez okres przydatności do spożycia w warunkach chłodniczych jest zróżnicowana w zależności od systemu pakowania i integralności stosowanych opakowań.

2. Brak hermetyki opakowania powoduje, że twarogi pakowane systemem próżniowym wykazują gorszą jakość mikrobiologiczną pod koniec okresu przydatności do spożycia niż twarogi pakowane bezpróżniowo.

3. Przechowywanie twarogów w warunkach chłodniczych przez okres ponad 7 dni może obniżać bezpieczeństwo produktów ze względu na pojawianie się enterotoksyny gronkowcowej. Obecność enterotoksyny w twarogach nie jest zależna od rodzaju opakowania, systemu pakowania, lecz od czasu przechowywania produktu w warunkach chłodniczych.

4. Wśród mikroflory dominującej w przechowywanych chłodniczo twarogach występują gatunki oportunistycznych drożdży świadczące o tym, że twarogi produkowane były z surowca pochodzącego od chorych krów, a zakłady produkujące twarogi cechował niski stan sanitarny i nie przestrzeganie zasad Dobrej Praktyki Higienicznej.

Piśmiennictwo

1. Adams M. R., Moss M. O.: Food Microbiology. The Royal Society of Chemistry London, 1995, s. 207.
2. Brocklehurst T. F., Lund B. M.: The effect of pH on the initiation growth of cottage cheese spoilage bacteria. Int. J. Food Microbiol. 1988, 6, s. 43-49.
3. Cais D., Wojciechowski J.: Zmiany wybranych parametrów jakościowych serów twarogowych w trakcie przechowywania, Przem. Spoż. 1996, 50, s. 177-179.

4. Ellis D. H.: Clinical Mycology. The human oportunist mycoses, Pfizer Inc, New York, 1994, s. 29-31.
5. Jawetz E., Melnick J. L., Adleberg E. A.: Przegląd Mikrobiologii lekarskiej. PZWL Warszawa 1991, s. 480.
6. Maniar A. B., Mercy J. E., Bishop R., Duncan S. E.: Modified atmosphere packaging to maintain direct-set cottage cheese. J. Food Sci. 1994, 59, s. 1305-1308, 1327.
7. Panfil-Kuncewicz H., Kuncewicz A., Szpendowski J.: Pakowanie twarogów w atmosferze dwutlenku węgla. VI Sesja Nauk.: Postęp w technologii, technice i organizacji mleczarstwa, Olsztyn, 1997, s. 294.
8. Piątkiewicz A.: Mikroflora mleka i produktów mleczarskich. Przem. Spoż. 1988, 41, s. 24-26.
9. Polska Norma PN-93/A-86034/02. Mleko i przetwory mleczarskie. Badania mikrobiologiczne. Ogólne zasady badań.
10. Polska Norma PN-93/A-86034/03. Mleko i przetwory mleczarskie. Badania mikrobiologiczne. Przygotowanie próbek i rozcieńczeń.
11. Polska Norma PN-93/A-86034/07. Mleko i przetwory mleczarskie. Pleśnie i drożdże – oznaczanie liczby metodą płytkową w temperaturze 25°C.
12. Polska Norma PN-93/A-86034/13. Mleko i przetwory mleczarskie. Staphylococcus aureus – wykrywanie obecności, oznaczanie najbardziej prawdopodobnej liczby (NPL), oznaczanie metodą płytkową.
13. Polska Norma PN-93/A-86034/08. Mleko i przetwory mleczarskie. Badania mikrobiologiczne. Bakterie z grupy coli – wykrywanie obecności, oznaczanie najbardziej prawdopodobnej liczby (NPL) i oznaczanie liczby metodą płytkową.
14. Polska Norma PN-93/A-86034/10. Mleko i przetwory mleczarskie. Badania mikrobiologiczne. Enterokoki – wykrywanie obecności, oznaczanie liczby metodą płytkową.
15. Polska Norma PN-91/A-86300. Mleko i przetwory mleczarskie. Sery twarogowe niedojrzewające.
16. Steinka J., Stankiewicz J.: Mat. Konf. Nauk. PTTŻ Zanieczyszczenia chemiczne i fizyczne żywności. Analiza ryzyka zdrowotnego i żywieniowego. Warszawa 1999, s. 195.
17. Śmietana Z., Świigoń J., Szpendowski J., Bochdziewicz K., Derengiewicz W.: Propozycja techniczno-technologiczna produkcji serów twarogowych. Mat. VI Sesji Nauk. Postęp w technologii, technice i organizacji Mleczarstwa, Olsztyn 1997, s. 198-200.
18. Śmietana Z., Derengiewicz W., Jankowski A., Wojdyński T.: Nowa technika i technologia produkcji twarogów, Przegl. Mlecz. 1998, s. 288-292.
19. Vernozy-Rozand C., Mayrand A., Mazuy C., Delignette-Muller M. L., Jaubert G., Prrin G., Lapeyre C., Yves R.: Behavior and enterotoxin production by Staphylococcus aureus during the manufacture and ripening of raw goats' milk lactic cheeses. J. Dairy Res. 1998, 65, s. 273-28.

Adres autora: dr Izabela Steinka, ul. Gryfa Pomorskiego 56 E/11, 81-575 Gdynia; e-mail: izas@vega.wsm.gdynia.pl

SUTER C., MULLER-DOBLIES U. U., HATT J. M., DEPLAZES P.: Zapobieganie i leczenie fenbendazolem zarażenia wywołanego u królików przez *Encephalitozoon cuniculi*. (Prevention and treatment of *Encephalitozoon cuniculi* infection in rabbits with fenbendazole). Vet. Rec. 148, 478-480, 2001 (15)

Encephalitozoon cuniculi może wywołać u królików infekcję bezobjawową utrzymującą się latami. Jawną postać choroby występuje sporadycznie, niezależnie od wieku i płci królików. Fenbendazol w dawce 20 mg/kg masy ciała zastosowano profilaktycznie przez okres 7 dni przed zakażeniem oraz leczniczo do 21 dnia po zakażeniu eksperymentalnym królików dawką wynoszącą 10^6 spor *E. cuniculi*. Badaniom poddano 8 królików w wieku 4-7 miesięcy o masie 2,5-3,5 kg. Krew do badań pobierano z żyły usznej raz w tygodniu, a króliki zabito po 6 miesiącach. Króliki otrzymujące fenbendazol były seronegatywne do 120 dnia po zakażeniu. Nie izolowano od nich *E. cuniculi* z mózgu. W grupie kontrolnej przeciwciała dla *E. cuniculi* pojawiały się pomiędzy 23 i 40 dniem po zakażeniu. Od 7 z 9 królików z grupy kontrolnej wyosobniono z mózgu *E. cuniculi*.

G.

BAKER S. E., BASHIRUDDIN J. B., AYLING R. D., NICHOLAS R. A. J.: Molekularne metody wykrywania *Mycoplasma conjunctivae* u owiec w Anglii z zakaźnym zapaleniem rogówki i spojówek. (Molecular detection of *Mycoplasma conjunctivae* in English sheep affected by infectious keratoconjunctivitis). Vet. Rec. 148, 240-241, 2001 (8)

Zakaźne zapalenie rogówki i spojówek (IKC) występuje u małych przeżuwaczy i dotyczy jednej lub obydwu gałek ocznych. U owiec IKC wywołuje najczęściej *Mycoplasma conjunctivae*, a ponadto *Chlamydia sp.*, i *Rickettsia sp.* Badania wymazów z worka spojówkowego owiec dotyczyły ustalenia przyczyny IKC. Z 4 z 39 wymazów z worka spojówkowego wyizolowano *M. conjunctivae*. Osad z hodowli płynnej badano dodatkowo techniką PCR. Charakterystyczne DNA dla *M. conjunctivae* stwierdzono w 8 na 39 badanych wymazów. W stadzie z klinicznymi objawami IKC obecność *M. conjunctivae* potwierdzono zarówno badaniem hodowlanym jak i techniką PCR. Ponadto u 4 owiec, u których nie występowały objawy IKC wykazano też obecność *M. conjunctivae*. Nosicielstwo *M. conjunctivae* wykrywano częściej testem PCR aniżeli metodami hodowlanymi.

G.