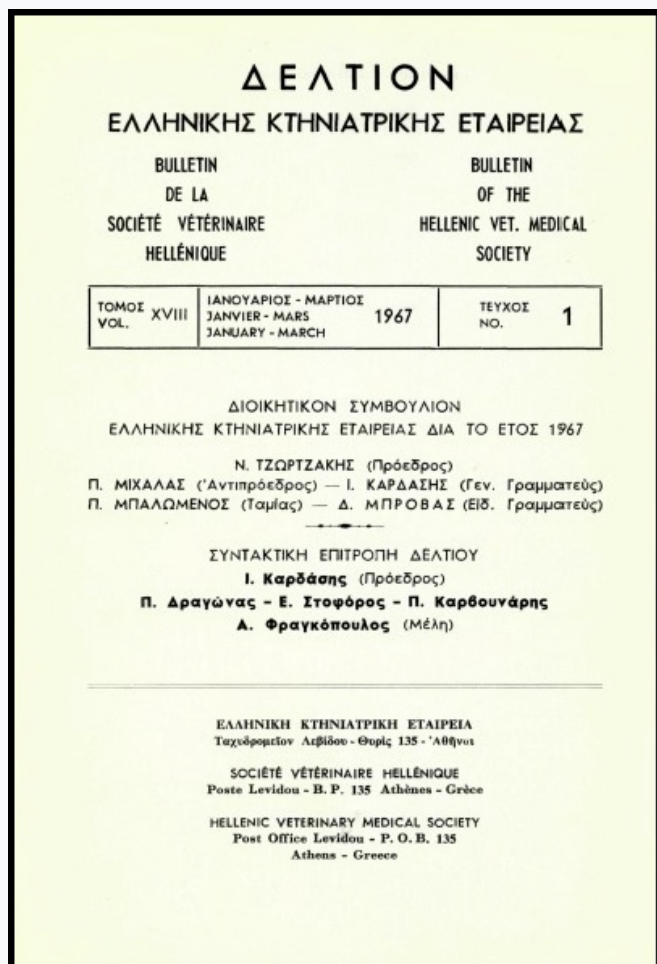


Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society

Vol 18, No 1 (1967)



ΤΟ ΠΡΟΒΛΗΜΑ ΤΩΝ ΣΤΑΦΥΛΟΚΟΚΚΙΚΩΝ ΤΡΟΦΟΔΗΛΗΤΗΡΙΑΣΕΩΝ

ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ Α. ΓΕΝΗΓΙΩΡΓΗΣ

doi: [10.12681/jhvms.18822](https://doi.org/10.12681/jhvms.18822)

Copyright © 2018, ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ Α. ΓΕΝΗΓΙΩΡΓΗΣ



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

To cite this article:

ΓΕΝΗΓΙΩΡΓΗΣ Κ. Α. (1967). ΤΟ ΠΡΟΒΛΗΜΑ ΤΩΝ ΣΤΑΦΥΛΟΚΟΚΚΙΚΩΝ ΤΡΟΦΟΔΗΛΗΤΗΡΙΑΣΕΩΝ. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 18(1), 31–54. <https://doi.org/10.12681/jhvms.18822>

ΤΟ ΠΡΟΒΛΗΜΑ ΤΩΝ ΣΤΑΦΥΛΟΚΟΚΚΙΚΩΝ ΤΡΟΦΟΔΗΛΗΤΗΡΙΑΣΕΩΝ*

Υ π ό

Κωνσταντίνου Α. Γενηγιώργη MS, PhD, DVM

Τμήμα 'Επιδημιολογίας και

Προληπτικής 'Ιατρικής του

Πανεπιστημίου της Καλιφορνίας, Davis

Ε Ι Σ Α Γ Ω Γ Η

Τελευταίως ὁ ἀριθμὸς τῶν σταφυλοκοκκικῶν τροφοδηλητηριάσεων ηὐξήθη σημαντικῶς. Ἡ αὔξησης αὕτη ἀποτελεῖ σοβαρὸν πρόβλημα πρὸς λύσιν, τόσον ὑπὸ τῶν εἰδικῶν τῆς ὑγιεινῆς τῶν τροφίμων ὅσον καὶ ὑπὸ τῶν βιομηχανιῶν τροφίμων.

Κί σταφυλόκοκκοι ἀποτελοῦν τὴν κυριώτεραν αἰτίαν τροφικῶν δηλητηριάσεων εἰς τὰς Η.Π.Α. (Lewis 1964). Ἐν ἀντιθέσει, εἰς τὴν Ἀγγλίαν καὶ τὴν Οὐαλίαν, αἱ σαλμονέλλαι ἦσαν ὑπεύθυνοι διὰ 92-95% τῶν περιπτώσεων κατὰ τὰ ἔτη 1961-1963 καὶ οἱ σταφυλόκοκκοι ἦσαν ὑπεύθυνοι διὰ 2-5% τῶν περιπτώσεων. Εἰς τὴν Ὀλλανδίαν ὁ μεγαλύτερος ἀριθμὸς περιπτώσεων ὀφείλεται εἰς τὸν *Bacillus cereus*, μετ' ἐλαχίστων περιπτώσεων σταφυλοκοκκικῶν τροφοδηλητηριάσεων. Εἰς τὴν Ἰαπωνίαν περισσότερον τοῦ ἡμίσεος τῶν περιπτώσεων ὀφείλεται εἰς τὴν κατανάλωσιν ἰχθύων μολυθέντων ὑπὸ τοῦ *Vibrio parahemolyticus*.

Ἡ διαφορετικὴ συχνότης τῶν σταφυλοκοκκικῶν τροφοδηλητηριάσεων ἀπὸ χώρας εἰς χώραν ἀποδίδεται μᾶλλον εἰς διαφοράς εἰς τὴν διατροφήν καὶ συνηθείας τῶν λαῶν. Τὴν μεγάλην συχνότητα τῶν σταφυλοκοκκικῶν τροφοδηλητηριάσεων εἰς ΗΠΑ τὴν ἀποδίδομεν εἰς τὸν τεράστιον ἀριθμὸν καὶ ὄγκον τῶν φαγητῶν εὐκολίας, καταναλισκομένων ὑπὸ τῶν ἀμερικανῶν. Ἡ συνήθεια αὕτη ἤρχισεν ἤδη μεταδιδομένη καὶ εἰς τὴν Εὐρώπην, συμβαδίζουσα μετὰ τῆς αὐξήσεως τοῦ ἀριθμοῦ, ὡς καὶ τῆς χωρητικότητος τῶν ψυκτικῶν χώρων. Ὡς ἐκ τούτου ἀναμένομεν αὔξησιν τῶν σταφυλοκοκκικῶν τροφοδηλητηριάσεων.

Ἀκόμη καὶ εἰς τὰς πλέον προηγμένας χώρας, ὁ ἀριθμὸς τῶν ἀνακρινουμένων εἰς τὰς ἐπισήμους στατιστικὰς τροφικῶν δηλητηριάσεων δὲν ἀνταποκρίνεται πρὸς τὴν πραγματικότητα. Τοῦτο ὀφείλεται εἰς δύο λό-

* Ἔργασία παρουσιασθεῖσα εἰς τὴν Κτηνιατρικὴν Ἑταιρείαν κατὰ τὴν ἑκτακτον συνεδρίασιν τῆς 3ης Ὀκτωβρίου 1966.

γους: Πρῶτον, εἰς τὸ γεγονὸς ὅτι τὰ περισσότερα τῶν ἀτόμων καταφεύγουν εἰς τὰς ἱατρικὰς ἀρχὰς μόνον εἰς σοβαρὰς περιπτώσεις δηλητηριάσεων. Δεύτερον, εἰς τὸ γεγονὸς ὅτι εἰς τὰς περισσότερας τῶν χωρῶν ἡ μελέτη ἐκάστης περιπτώσεως, ὡς καὶ ἡ συγκέντρωσις στατιστικῶν στοιχείων εἶναι ἑλλειπής. Ἐκλεκτὸν παράδειγμα ἀποτελεῖ ἡ Καλιφόρνια, εἰς τὰς ΗΠΑ, ἡ ὁποία εἰς τὰς ἐπισήμους στατιστικὰς φέρεται, ὡς παρουσιάζουσα τὴν μεγαλυτέραν συχνότητα τροφικῶν δηλητηριάσεων εἰς ὁλόκληρον τὴν χώραν. Ἐκ πρώτης ὄψεως, τὸ γεγονὸς αὐτὸ φαίνεται ἀντικατοπτρίζον ἑλλειπὴ ὑγειονομικὸν ἔλεγχον τῶν τροφίμων, ὡς καὶ πτωχὰ ὑγειονομικὰ προγράμματα εἰς τοὺς χώρους παρασκευῆς καὶ προσφορᾶς τῶν τροφίμων. Εἰς τὴν πραγματικότητα συμβαίνει τὸ ἀντίθετον. Ἡ ὀργάνωσις τῆς ὑπηρεσίας δημοσίας ὑγείας, ὡς καὶ ὁ τρόπος ἐλέγχου τῶν τροφίμων θεωρεῖται ὡς ὁ καλύτερος εἰς ὁλόκληρον τὴν χώραν. Ἐπὶ πλέον καὶ οἱ κάτοικοι καταφεύγουν ἀμέσως εἰς τὰς ἱατρικὰς ἀρχὰς ἢ διώκουν δικαστικῶς τὴν ὑπεύθυνον βιομηχανίαν τροφίμων. Διὰ τοὺς ὡς ἄνω ἐκτεθέντας λόγους νομίζομεν ὅτι ὁ ἀριθμὸς τῶν σταφυλοκοκκικῶν τροφοδηλητηριάσεων τῶν ἀνακοινουμένων εἰς τὰς στατιστικὰς, ἀποτελεῖ μόνον μικρὸν ποσοστὸν τῆς πραγματικότητος. Εἰς τὸ γεγονὸς αὐτὸ συντελεῖ καὶ ἡ σχετικῶς ἡπία μορφή τῶν συμπτωμάτων, ὡς καὶ ἡ ταχεῖα ἀποκατάστασις τῆς ὑγείας τοῦ ἀσθενοῦς.

Τὸ θέμα τῶν σταφυλοκοκκικῶν τροφοδηλητηριάσεων ἀποτελεῖ ἐπὶ τοῦ παρόντος ἐν τῶν πλέον «θερμῶν» προβλημάτων εἰς τὴν ὑγιεινὴν τῶν τροφίμων καὶ ἑκατοντάδες ἐπιστημόνων ἀσχολοῦνται εἰς τὴν συγκέντρωσιν περισσότερων πληροφοριῶν σχετικῶν μετὰ τοῦ αἰτίου, ὑπὸ ποίας συνθήκας παρουσιάζεται, πῶς προλαμβάνεται ἢ καὶ πῶς θεραπεύεται. Κατὰ τὰ τελευταῖα ἔτη μεγάλη πρόοδος συνετελέσθη εἰς ὅλους τοὺς τομεῖς τοῦ προβλήματος καὶ πολλὰ νέα στοιχεῖα ἀνεκοινώθησαν. Κατὰ τὸ διεθνὲς συμπόσιον τῆς προστασίας τῶν τροφίμων, ὁ (Dack 1963) ἀνεκεφαλαίωσε τὰς γνώσεις μας ἐπὶ τοῦ θέματος, ἐνῶ ὁ Brandly (1965) τὰς ἀνεκεφαλαίωσε μερικῶς κατὰ τὸ 4ον παγκόσμιον συνέδριον κτηνιάτρων ὑγιεινολόγων τροφίμων. Νέα ἀνακεφαλαίωσις κρίνεται ἐπὶ τοῦ παρόντος ἀπαραίτητος, λόγῳ τῶν νέων συσσωρευθεισῶν γνώσεων καὶ αὐτὸς εἶναι ὁ σκοπὸς τοῦ παρόντος ἄρθρου.

Ι Σ Τ Ο Ρ Ι Κ Ο Ν

Ὁ ρόλος τῶν σταφυλοκόκκων ὡς αἰτίου τροφικῶν δηλητηριάσεων ἀνεγνωρίσθη διὰ πρώτην φοράν ὑπὸ τοῦ Barber τὸ 1914 (Dack 1956). Παρ' ὅλα αὐτά, ἱατρικαὶ περιγραφαὶ τροφοδηλητηριάσεων, ἀκόμη πολὺ πρὸ τῆς ἀνακαλύψεως τῶν σταφυλοκόκκων ὑπὸ τοῦ Koch (1878) καὶ τοῦ Pasteur (1880), ἀποδεικνύουν ὅτι οἱ σταφυλόκοκκοι προεκάλλουν τροφικὰς δηλητηριάσεις ἐπὶ αἰῶνας (Dack 1956). Τὸ 1930 ὁ Dack καὶ οἱ συνε-

γάται του ὅχι μόνον ἀπεμόνωσαν τοὺς σταφυλοκόκκους ἐκ τῆς ὑπευθύνου διὰ τροφοδηλητηρίασιν τροφῆς, ἀλλὰ καὶ ἀναπαρήγαγον τὴν νόσον διὰ τῆς χορηγήσεως καλλιεργητικῶν διηθημάτων εἰς ἐθελοντάς. Ὡς ἐκ τούτου, τὸ ἔτος αὐτὸ θεωρεῖται ὡς ἡ ἀρχὴ τῆς ἱστορίας τῶν σταφυλοκοκκικῶν δηλητηριάσεων.

ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ

1. Γενικά

Αἱ σταφυλοκοκκικαὶ τροφοδηλητηριάσεις ὀφείλονται εἰς τὴν κατανάλωσιν τροφίμων περιεχόντων προσχηματισθείσας ἐξωτοξίνας (ἐντεροτοξίνας), παραχθείσας ὑπὸ στελεχῶν τοῦ εἶδους **Staphylococcus aureus**. Ὑπὸ ὥρισμένας συνθήκας, νόσος παρουσιάζουσα τὰ αὐτὰ συμπτώματα δυνατόν νὰ ὀφείλεται εἰς τὴν ἀνάπτυξιν τοῦ **S. aureus** εἰς τὸ πεπτικὸν σύστημα ἢ ἄλλα μέρη τοῦ σώματος (Casman 1965).

Ἡ ταξινόμησις τῶν Gram (+), Καταλάση (+) κόκκων ἀνηκόντων εἰς τὰ γένη τῆς οἰκογενείας Micrococcaceae, ὅπου καὶ ὁ **S. aureus**, παρουσιάζει ἀκόμη καὶ σήμερον διχογνωμίας. Προσφάτως, ἡ διεθνὴς ὑποεπιτροπὴ ἐπὶ τῶν σταφυλοκόκκων καὶ μικροκόκκων (1965) προέτεινε τὸν διαχωρισμὸν τῶν ὀργανισμῶν αὐτῶν εἰς δύο γένη: τὸ γένος *Staphylococcus* καὶ τὸ γένος *Micrococcus*. Τὸ γένος *Staphylococcus* περιλαμβάνει κυρίως παρασιτικούς προαιρετικῶς ἀναερόβιους κόκκους, παράγοντας ὀξύ ἐκ τῆς γλυκόζης ἀναερόβιως. Τὸ γένος *Micrococcus* περιλαμβάνει τοὺς κυρίως σαπροφυτικούς κόκκους, οἱ ὅποιοι παράγουν ὀξύ ἐκ τῆς γλυκόζης μόνον ἀερόβιως. Τὸ γένος *Staphylococcus* διαιρεῖται εἰς τὸν **S. aureus**, παράγοντα σταφυλοπηκτάσιν καὶ τὸν **S. epidermidis**, μὴ παράγοντα. Ἡ περαιτέρω διαίρεσις τοῦ **S. epidermidis** εἰς 5 ὑποομάδας καὶ τοῦ γένους *Micrococcus* εἰς 8 προχωρεῖ διὰ τῆς χρήσεως διαφόρων ἄλλων χαρακτηριστικῶν, λεπτομέρειαι τῶν ὁποίων ἐδημοσιεύθησαν ἤδη (Baird-Parker 1962, 1965, 1966). Κατὰ τὸ κλασσικὸν Bergey's Manual (1957), τὸ γένος *Staphylococcus* διακρίνεται τοῦ γένους *Micrococcus*, κατὰ τὰ ἀνωτέρω ἐκτεθέντα χαρακτηριστικά, ἡ δὲ διάκρισις τοῦ **S. aureus** ἐκ τοῦ **S. epidermidis** βασίζεται εἰς τὴν παραγωγὴν σταφυλοπηκτάσης καὶ τὴν ἀναερόβιον ζύμωσιν τῆς μαννιτόλης. Ἐπὶ πλέον περιγράφει ἕν μόνον εἶδος, τὸ τοῦ **S. epidermidis**.

Ἐπὶ τοῦ παρόντος, οἱ εἰδικοὶ συμφωνοῦν εἰς τὸ ὅτι αἱ ἐντεροτοξίναι παράγονται μόνον ὑπὸ ὥρισμένων στελεχῶν τοῦ εἶδους **S. aureus**. Ἐν τούτοις, εἰς τὴν βιβλιογραφίαν, περιεγράφησαν καὶ τὰ εἶδη **Micrococcus flavus**, **M. aurantiacus**, **M. conglomeratus**, **M. freundenreichii** καὶ **M. epidermidis** (νῦν **S. epidermidis**), ὡς παράγοντα ἐντεροτοξίνας (Haynes καὶ Hucker 1945, Thatcher καὶ Simon 1956, Genigeorgis 1963). Ἐκτὸς τῆς περιπτώσεως τοῦ **S. aureus**, οὐδὲν τῶν ὡς ἄνω εἰδῶν

ἀπεδείχθη παράγον έντεροτοξίνας, επί τῇ βάσει τῶν προσφάτων χρησιμοποιομένων ὁρολογικῶν μεθόδων ἀνιχνεύσεως των.

Ἐφ' ὅσον αἱ έντεροτοξίναι παράγονται ὑπὸ ὠρισμένων στελεχῶν τοῦ εἴδους *S. aureus*, ἐκτεταμέναι μελέται ἔλαβον χώραν ἐν τῇ προσπαθείᾳ ὅπως συσχετισθῇ ἡ παραγωγή των μετ' ἄλλων φυσικοχημικῶν χαρακτηριστικῶν τῶν έντεροτοξικῶν ἢ μὴ στελεχῶν. Ὡς ἀποτέλεσμα τῶν ἐντόνων αὐτῶν μελετῶν, κατὰ τὰ τελευταῖα 30 ἔτη, μέγας ἀριθμὸς χαρακτηριστικῶν ἐμελετήθη καὶ πολλὰ ἐκ τῶν χαρακτηριστικῶν αὐτῶν συσχετίσθησαν μὲ τὴν παραγωγὴν έντεροτοξινῶν. Ἡ παραγωγή σταφυλοπηκτάσης, φωσφατάσης, λιπάσης, ζελατινάσης, αἱμολυσινῶν, χρωστικῶν, ἢ ζύμωσις τῆς μαννιτόλης, ἢ ἀντοχὴ εἰς ὠρισμένα ἀντιβιωτικά καὶ τέλος ἡ εὐαισθησία εἰς ὠρισμένους βακτηριοφάγους, προετάρησαν ὑπὸ πολλῶν ὡς ἔμμεσοι δείκται παραγωγῆς έντεροτοξινῶν. Σήμερον πιστεύομεν ὅτι ἡ πλειονότης τῶν έντεροτοξικῶν στελεχῶν ἀποτελεῖ μίαν ἀρκετὰ ὁμοίομορφον ὁμάδα, ἢ ὁποῖα, μέχρις ἐνὸς ὁρίου, παρουσιάζει κοινὰ χαρακτηριστικά, ὅπως ἡ παραγωγή σταφυλοπηκτάσης, φωσφατάσης, ζελατινάσης, λιπάσης, μιᾶς τοῦλάχιστον τῶν αἱμολυσινῶν α, β ἢ δ, χρυσίζουσας χρωστικῆν καὶ εὐαισθησίαν εἰς τοὺς βακτηριοφάγους τῆς ὁμάδας III. Ἡ συσχέτισις τῆς παραγωγῆς έντεροτοξίνης μεθ' ἐνὸς ἐκάστου τῶν ὡς ἄνω χαρακτηριστικῶν καθίσταται δύσκολος, διότι τὰ ἴδια χαρακτηριστικά συχνὰ εὐρέθησαν καὶ εἰς μὴ έντεροτοξικά στελέχη (Genigeorgis 1963). Παράδειγμα ἀποτελεῖ ἡ παραγωγή σταφυλοπηκτάσης ὑπὸ ὅλων τῶν έντεροτοξικῶν, ὡς καὶ ὑπὸ μὴ έντεροτοξικῶν στελεχῶν. Σήμερον παραδεχόμεθα ὅτι ἡ παραγωγή έντεροτοξινῶν ἀποτελεῖ ἴδιον χαρακτηριστικὸν ὠρισμένων στελεχῶν καὶ ὅτι ἐλέγχεται γενετικῶς. Ἀπεδείχθη ἤδη, ὅτι διὰ τῆς χρήσεως βακτηριοφάγων, ἡ ἰδιότης δύναται νὰ μεταδοθῇ ἐκ τοξικῶν εἰς μὴ τοξικά στελέχη (Transubution). Τὸ φαινόμενον αὐτὸ ἐπετεύχθη πειραματικῶς διὰ τὴν έντεροτοξίνην A (Casman 1965). Προσπάθειαι διὰ τὴν μετάδοσιν τῆς παραγωγῆς έντεροτοξίνης B ἀπέτυχον μέχρι σήμερον (Casman personal communication). Στελέχη παράγοντα έντεροτοξίνην A καὶ ἔχοντα βακτηριοφάγους εἰς λανθάνουσας μορφήν (lysogenic strains-temperate bacteriophage) δύνανται νὰ ἀπελευθερώσουν τοὺς βακτηριοφάγους, τῇ ἐπιδράσει ὑπεριωδῶν ἀκτίνων. Οἱ ἀπελευθερωθέντες βακτηριοφάγοι δύνανται νὰ φέρουν εἰς τὸ χρωμόσωμά των καὶ γόνους ἐκ τοῦ μικροβιακοῦ κυττάρου (γόνος ἐλέγχον τὴν παραγωγὴν έντεροτοξίνης A). Οἱ γόνοι αὐτοὶ ἐκφράζονται μόνον ὅταν ὁ φέρων αὐτοὺς βακτηριοφάγος μολύνῃ ἄλλο μικροβιακὸν κύτταρον καὶ μετατραπῇ εἰς λανθάνοντα (temperate). Οἱ ἀπόγονοι τοῦ μολυνθέντος μικροβιακοῦ κυττάρου (lysogenic cells) φέρουν τὸ χαρακτηριστικὸν παραγωγῆς έντεροτοξίνης A.

2. Τύποι καὶ ιδιότητες έντεροτοξινών

Τέσσερες άντιγονικῶς διαφορετικοὶ τύποι έντεροτοξινών άνεγνωρίσθησαν μέχρι σήμερα. Ὑπάρχουν ένδείξεις συντόμου περαιτέρω αύξήσεως τοῦ αριθμοῦ. Οἱ διάφοροι τύποι χαρακτηρίζονται διὰ τῶν κεφαλαίων λατινικῶν γραμμάτων Α, Β, C, D κ.λ.π. (Casman et al. 1965, Casman et al. 1966).

Έντεροτοξίνη Β: Εἶναι ἡ πλέον έκτεταμένως μελετηθεῖσα έντεροτοξίνη, ληφθεῖσα εἰς χημικῶς καθαρὰν μορφήν ($> 99.99\%$) (Bergdoll et al. 1965, Schantz et al. 1965). Εἶναι ἀπλή πρωτεΐνη, ἄκρως ὕγροσκοπική, ἀποτελουμένη μόνον ἀπὸ ἀμινοξέα, καὶ πλουσία εἰς ἀσπαρτικὸν καὶ λυσίνη. Τὰ τελικά της ἀμινοξέα εἶναι τὸ γλουταμικὸν (N-terminal) καὶ ἡ λυσίνη (C-terminal). Τὸ μόριον εἶναι μᾶλλον ἀπλοῦν πολυπεπτιδίου, ἔχον ἓν Ν καὶ ἓν C ἄκρον κατὰ μόριον πρωτεΐνης. Τὸ μοριακὸν βάρος εἶναι 35.300 (Spero et al. 1965) ἢ 30.000 ± 1000 (Bergdoll et al. 1965), τὸ δὲ ἰσοηλεκτρικὸν σημεῖον 8.55. Παρουσιάζει μεγίστην ἀπορρόφησην τοῦ φωτός εἰς μῆκος κύματος 277 μμ. Τὸ ὥς ἄνω ὕλικὸν προκαλεῖ ἔμετον εἰς 50% τῶν πιθήκων (*Macaca mullata*), ένδοφλεβίως μὲν εἰς δόσιν 0,11 μgr/Kgr, per os δὲ εἰς δόσιν 0.9 μgr/Kgr ζῶντος βάρους. Τὸ αὐτὸ ὕλικὸν εἶναι τοξικὸν ἐπίσης εἰς γαλαῖς, ένδοφλεβίως καὶ ένδοπεριτοναϊκῶς, οὐχὶ ὅμως καὶ per os.

Ἡ έντεροτοξίνη Β εἶναι θερμοανθεκτική, ἡ δὲ παλαιὰ μέθοδος άνιχνεύσεώς της καὶ γενικὰ τῶν έντεροτοξινῶν ἐβασίζετο εἰς τὸν βρασμὸν τοῦ ἐκχυλίσματος τοξικῆς τροφῆς ἢ θρεπτικοῦ ὑποστρώματος ἐπὶ 30 λεπτά καὶ ἓν συνεχεῖα χορηγήσεως τοῦ ὕλικου ένδοφλεβίως ἢ ένδοπεριτοναϊκῶς εἰς γαλαῖς (Dack 1956). Ἡ καθαρὰ τοξίνη Β παρουσιάζει 50% μείωσιν τῆς τοξικότητός της μετὰ θέρμανσιν 5 λεπτῶν εἰς 100° C καὶ παρὰ τὸ γεγονὸς ὅτι πῆξις λαμβάνει χώραν. Οὐδεμία μείωσις τῆς τοξικότητος παρουσιάζεται μετὰ θέρμανσιν εἰς 60° C, pH 7.3 καὶ μέχρι 16 ὥρων. Ἡ θερμοανθεκτικότης της καθαρᾶς καὶ μὴ έντεροτοξίνης Β εἰς ρυθμιστικὸν διάλυμα veronal (0.04 M, pH 7.2) (Read καὶ Brandshaw 1966a) καὶ διὰ τὰς θερμοκρασίας 210° F (98.9° C), 230° F (110.0° C), καὶ 250° F (121.1° C) ὑπέλογίσθη, διὰ μὲν τὴν καθαρὰν εἰς 52.3, 23.5 καὶ 9.9 λεπτά, διὰ δὲ τὴν ἀκάθαρτον 64.5, 29.7 καὶ 11.4 λεπτά (τιμαὶ D¹). Εἰς τὸ ὡμὸν γάλα 30 μg/ml δραστηκῆς τοξίνης ἐμειώθη εἰς ὀλιγώτερον τοῦ 0.5 mg/ml, μετὰ 134.2, 90.5, 51.2, 32.6, 18.4 καὶ 12.1 λεπτά εἰς τὰς θερμοκρασίας 210° F, 220° F (104.4° C), 230° F, 240° F (115.5° C) 250° F καὶ 260° F (126.7° C).

1. — Τιμὴ D = χρόνος, εἰς λεπτά, ἀπαιτούμενος διὰ τὴν καταστροφὴν 90% τῆς τοξίνης ἢ τοῦ ἀριθμοῦ τῶν μικροβίων εἰς τὴν ἀντίστοιχον θερμοκρασίαν.

Ἡ τιμὴ Z^0 τῆς ἀδρανοποιήσεως τῆς τοξίνης εἰς τὸ γάλα ὑπελογίσθη εἰς 46.6°F^0 ($8,11^\circ\text{C}$) (Read καὶ Brandshaw 1966b).

Ἡ τοξίνη παρέμεινε σταθερὰ ἐπὶ μίαν ἑβδομάδα εἰς φωσφορικὸν ρυθμιστικὸν διάλυμα 0.05 M, pH 4–7.3 καὶ εἰς θερμοκρασίαν δωματίου ($22-24^\circ\text{C}$). Μετὰ τὸν χρόνον αὐτόν, ἡ βιολογικὴ τῆς ἀξία ἐμειώθη καὶ ἀδιάλυτον ὕλικόν παρουσιάσθη. Ἡ τοξικότης διετηρήθη εἰς pH 10 ἐπὶ μερικὰς ἑβδομάδας. Ὁ Daek (1965) ἀναφέρει ὅτι ἡ ἑντεροτοξίνη (δὲν καθορίζει τύπον) παρέμεινε δραστικὴ εἰς pH 4.5–8.2 μετὰ 24 ὥρας εἰς 37°C , εἰς pH 3.0 καὶ 10 μετὰ 4 ὥρας εἰς $22-24^\circ\text{C}$ καὶ εἰς pH 3.5 μετὰ 22 ὥρας εἰς 27°C . Ἡ τοξικότης ἀπωλέσθη εἰς pH 12 μετὰ 12 ὥρας εἰς $22-24^\circ\text{C}$. Οὐδεμία ἀπώλεια τῆς τοξικότητος καὶ τῆς διαλυτότητος παρουσιάσθη μετὰ κατάψυξιν, ἀποξήρανσιν καὶ διατήρησιν εἰς 4°C . Ἐν ἀντιθέσει, τὸ αὐτὸ ὕλικόν διατηρηθὲν εἰς θερμοκρασίαν δωματίου ἠλλοιώθη. Ἡ καθαρὰ τοξίνη εἶναι ἀνθεκτικὴ εἰς τὰ πρωτεολυτικὰ ἔνζυμα: trypsin, chymotrypsin, tennin καὶ papain, οὐχὶ ὅμως εἰς τὴν ficin καὶ protease. Ἡ pepsin καταστρέφει τὴν τοξίνην μόνον εἰς pH μικρότερον τοῦ 2 (Schantz et al 1965).

Ἑντεροτοξίνη Α. Ἐλήφθη εἰς καθαρὰν μορφήν ὑπὸ τοῦ Bergdoll καὶ Schantz (unpublished data). Εἶναι πρωτεΐνη τοῦ αὐτοῦ περίπου μοριακοῦ βάρους μετὰ τῆς ἑντεροτοξίνης Β. Εἶναι ἀνθεκτικὴ εἰς τὴν trypsin καὶ εἰς τὸν βρασμὸν ἐπὶ 30 λεπτά καὶ παραμένει τοξικὴ εἰς παρατεταμένην διατήρησιν εἰς τὸ ψυγεῖον καὶ τὴν κατάψυξιν. Παρουσιάζει τὴν αὐτὴν τοξικότητα μετὰ τῆς Β. Τὰ λεπτομερῆ φυσικοχημικὰ τῆς χαρακτηριστικὰ τελοῦν αὐτὴν τὴν στιγμὴν ὑπὸ μελέτην. Εἶναι τοξικὴ εἰς τοὺς πιθήκους καὶ τὰς γαλαῖς. Ἡ τιμὴ Z διὰ τὴν ἑντεροτοξίνην Α, εἰς ἀπεσταγμένον ὕδωρ, ὑπελογίσθη εἰς 48°F (8.89°C), εὐρέθη δὲ ἀνθεκτικὴ εἰς 250°F (121.1°C) ἐπὶ 11 λεπτά ($F_{250}^{48} = 11$).

Ἑντεροτοξίνη Β. Περιεγράφη καὶ ἐλήφθη εἰς καθαρὰν μορφήν ($> 99\%$) ὑπὸ τοῦ Bergdoll et al. (1965). Παρουσιάζει τὴν αὐτὴν τοξικότητα, ὥς καὶ αἱ Α καὶ Β ἑντεροτοξίναι. Τὰ βιολογικὰ καὶ χημικὰ τῆς χαρακτηριστικὰ τελοῦν, αὐτὴν τὴν στιγμὴν, ὑπὸ μελέτην. Δύο ἀντιγονικοὶ ὑποτύποι διεπιστώθησαν καὶ εἶναι γνωστοὶ ἀνεπισήμως ὥς C_1 καὶ C_2 (Bergdoll personal communications). Ἡ τοξίνη αὕτη δὲν προκαλεῖ ἔμετον εἰς τὰς γαλαῖς καὶ διὰ τὸν λόγον αὐτὸν διέφυγε τῆς προσοχῆς τῶν ἐρευνητῶν ἐπὶ ἄρκετὸν χρονικὸν διάστημα.

Ἑντεροτοξίνη Δ. Διεπιστώθη ὑπὸ τοῦ Casman et al (1966). Προκαλεῖ ἔμετον εἰς τὰς γαλαῖς καὶ τοὺς πιθήκους καὶ παρήχθη ἐκ δύο στελεχῶν ὑπευθύνων τροφικῶν δηλητηριάσεων εἰς ΗΠΑ καὶ εἰς τὴν Ἀγγλίαν. Λοιπὰ στοιχεῖα ἐλλείπουν.

2. — Τιμὴ Z = θερμοκρασία εἰς βαθμοὺς, οἱ ὅποιοι αὐξάνουν ἢ μειώνουν τὴν τιμὴν D κατὰ 1 λογαριθμικὴν μονάδα ἢ 90% .

“Άλλαι έντεροτοξίναι. ‘Υπάρχουν ένδείξεις ότι καί άλλαι έντεροτοξίναι παράγονται υπό τών σταφυλοκόκκων. Μή θερμοανθεκτικά (30 λεπτά εις 100° C), έμετικά διὰ τὰς γαλακ ούσαι διεπιστώθησαν υπό τοῦ Casman (1965) εις καλλιεργητικά ὕλικά, ή σημασία των ὅμως διὰ τόν ἄνθρωπον δέν διεπιστώθη είσέτι.

Ο Ι Κ Ο Λ Ο Γ Ι Α

1. Διαβίωσις.

Οί σταφυλόκοκκοι εἶναι εὐρέως διαδεδομένοι εις τὸ περιβάλλον, ὡς κυρία των ὅμως πηγή θεωρεῖται ὁ βλεννογόνος τοῦ ρινοφάρυγγος καί τὸ δέρμα τοῦ ἀνθρώπου καί των ζῶων (Elek 1959). Συμφώνως πρὸς τὴν ἀνασκόπῃσιν τῆς διαδόσεως των σταφυλοκόκκων υπό τοῦ Williams (1963), οἱ σταφυλόκοκκοι εἶναι ἀποτελεσματικά παράσιτα τοῦ ἐπιθηλίου τῆς ρινὸς καί εις μικρότερον βαθμὸν τοῦ δέρματος τοῦ ἀνθρώπου καί μερικῶν ζῶων. Ὁ ἴδιος συγγραφεὺς ἀναφέρει ὅτι 30—50 % των ὑγίων ἀτόμων εἶναι φορεῖς σταφυλοκόκκων εις τὰς ρινικὰς κοιλότητας. Τὸ ποσοστὸν αὐτὸ εις τοὺς ἀσθενεῖς καί τὸ προσωπικὸν των νοσοκομείων ἀνέρχεται εις 60—80 %. ‘Υγιεῖς φαρυγγικοὶ φορεῖς παρουσιάζονται εις συχνότητα 4—7 % εις τὰς ΗΠΑ καί Ἀγγλίαν καί 40—70 % εις τὰς Σκανδιναυικὰς χώρας. Τὸ δέρμα εἶναι μεμολυσμένον εις 4—44 % των περιπτώσεων, αἱ δὲ χεῖρες 14—40 %.

‘Υπάρχουν ένδείξεις, ὅτι οἱ σταφυλόκοκκοι, οἱ παρουσιάζόμενοι εις τὸν ἄνθρωπον καί τὰ ζῶα, δέν εἶναι χαρακτηριστικοὶ τοῦ εἴδους καί ὅτι ὑπάρχει ἀμφίδρομος ἀνταλλαγὴ των ἐκ τοῦ ἀνθρώπου εις τὰ ζῶα καί τἀνάπαλιν (Genigeorgis καί Sadler 1966c).

2. Εἶδη τροφίμων.

Ὁρισμένα εἶδη τροφίμων εἶναι περισσότερον κατάλληλα ἄλλων διὰ τὴν ἀνάπτυξιν των σταφυλοκόκκων καί τὴν παραγωγὴν έντεροτοξινῶν. Κατὰ τὴν ἀνάλυσιν 137 περιπτώσεων ἀποδειχθεῖσων σταφυλοκοκκικῶν δηλητηριάσεων, αἱ ὁποῖαι συνέβησαν εις τὰς ΗΠΑ κατὰ τὰ ἔτη 1956—1961, τὰ προϊόντα κρέατος ἦσαν ὑπεύθυνα διὰ 57 περιπτώσεις (45 ὠφείλοντο εις ζαμπόν), εἶδη σακχαροπλαστικῆς διὰ 25, κρέας πουλερικῶν διὰ 23 (ινδιάνων 14, ὀρνίθων 9), σαλάτα πατάτας 10, γάλα καί τυρὸς 8, ἰχθεῖς 5, σαλάτα ὠν 2 καί διάφοροι ἄλλαι τροφαὶ 11. Συμφώνως πρὸς τὰς στατιστικὰς τῆς Ἀγγλικῆς Ὑπηρεσίας Δημοσίας Ὑγείας (Pantoleon 1965), ἐκ 239 περιπτώσεων σταφυλοκοκκικῶν τροφοδηλητηριάσεων, αἱ ὁποῖαι συνέβησαν κατὰ τὰ ἔτη 1957—1961, αἱ 166 ὠφείλοντο εις κρέατα, 14 εις ἰχθεῖς, 16 εις γάλα, 15 εις εἶδη σακχαροπλαστικῆς, 2 εις ὠά, 25 εις λαχανικά καί 1 εις ἄλλας τροφάς. Εἰς ἀμφότερας τὰς περιπτώσεις τὰ ἀλίπαστα κρέατα ἀπετέλεσαν τὴν κυρίαν πηγὴν τῆς έντεροτοξίνης.

Πολλοὶ παράγοντες ἐπηρεάζουν τὴν καταλληλότητα μιᾶς τρο-

φής, ως θρεπτικοῦ ὑποστρώματος, διὰ τὴν ἀνάπτυξιν τῶν σταφυλοκόκκων καὶ τὴν παραγωγὴν ἐντεροτοξινῶν. Βασικοὶ παράγοντες εἶναι ἡ χημικὴ σύνθεσις τῆς τροφῆς, τὸ pH, ἡ παρουσία ἄλλων μικροβίων (μικροβιακὴ χλωρίς), ἡ ἀτμόσφαιρα, ἡ θερμοκρασία, εἰς τὴν ὁποίαν διατηρεῖται ἡ τροφή, ὡς καὶ ὁ τρόπος παραγωγῆς καὶ διαθέσεως. Τὸ τελευταῖον καθορίζει, μέχρις ἐνὸς σημείου, καὶ τὸν βαθμὸν μόλυνσεως τοῦ προϊόντος διὰ σταφυλοκόκκων, προερχομένων ἐκ τῶν ἐργατῶν ἢ τοῦ περιβάλλοντος.

3. Μικροβιακὴ χλωρίς τῶν τροφίμων.

Ἡ μικροῦ βαθμοῦ ἱκανότης τῶν σταφυλοκόκκων, ὡς πρὸς τὸν συναγωνισμόν των μετὰ τῶν ἄλλων μικροβίων παρόντων εἰς τὰ τρόφιμα, ἀνεγνωρίσθη ἤδη (Miller καὶ Smull 1955, Peterson et al 1962, Troller καὶ Frazier 1963 α, β, Casman et al 1963). Ἡ μικροβιακὴ φύσεως παρεμπόδισις τῆς ἀναπτύξεως τῶν σταφυλοκόκκων καὶ τῆς παραγωγῆς ἐντεροτοξινῶν ὀφείλεται κυρίως εἰς τὸν συναγωνισμόν διὰ οὐσιώδη θρεπτικά ὑλικά, τὴν παραγωγὴν τοξικῶν οὐσιῶν, (ἀντιβιωτικά) (Troller καὶ Frazier 1963α), ἢ τέλος τὴν ἀλλαγὴν τοῦ pH. (Dack καὶ Lippitz 1962, Kao καὶ Frazier 1966). Κατὰ τὸν Peterson et al (1962), ἡ πλειονότης τῶν σταφυλοκοκκικῶν τροφοδηλητηριάσεων ὀφείλετο εἰς τρόφιμα, τῶν ὁποίων ἡ μικροβιακὴ χλωρίς ἐμειώθη σημαντικῶς. Ὡς ἐκ τούτου, ἡ ἐπακολουθήσασα σταφυλοκοκκικὴ μόλυνσις παρέμεινεν ἄνευ σοβαροῦ συναγωνισμοῦ καὶ κατέληξεν εἰς πλουσίαν ἀνάπτυξιν καὶ παραγωγὴν ἐντεροτοξίνης. Κλασικὸν παράδειγμα ἐλλείψεως σοβαροῦ συναγωνισμοῦ ἀποτελεῖ ἡ περίπτωσις τῶν ἀλιπάστων κρεάτων (cured meats), ὡς τὸ ζαμπόν. Συμφώνως πρὸς τὰς διεθνεῖς στατιστικὰς, τὰ ἀλίπαστα κρέατα ἀποτελοῦν τὴν κυριωτέραν αἰτίαν τροφικῶν δηλητηριάσεων. Ἡ μεγάλη περιεκτικότης τῶν κρεάτων αὐτῶν εἰς χλωριούχον νάτριον, καὶ ὡς ἐκ τούτου ἡ μείωσις τῆς μικροβιακῆς χλωρίδος τῶν νωπῶν, κατὰ τὴν διάρκειαν τῆς κατεργασίας, ἀποτελεῖ τὴν μόνην ἐξήγησιν τῆς περαιτέρω πλουσίας σταφυλοκοκκικῆς ἀναπτύξεως. Πειραματισμοὶ ἐπὶ μὴ ἐπεξεργασμένων κρεάτων ἀπέδειξαν ὅτι οἱ σταφυλόκοκκοι ἀνεπτύχθησαν καὶ παρήγαγον ἐντεροτοξίνην Ἀ μόνον ὅταν ἐνωφθαλμίσθησαν εἰς τὴν ἐπιφανείαν τοῦ ὠμοῦ κρέατος καὶ ἀνεξαρτήτως σημείου εἰς ἐψημένον. Ἀντιθέτως, ἡ ἀνάπτυξις των ἦτο πενιχρά, ὅταν ἐνωφθαλμίσθησαν ὁμοιομόρφως εἰς ὅλην τὴν μᾶζαν μυττωτοῦ (Casman et al 1963). Τυπικὸν ἐπίσης παράδειγμα συναγωνισμοῦ εἶναι ἡ σταφυλοκοκκικὴ ἐντερίτις, ἐμφανιζομένη εἰς ἀσθενεῖς μετὰ ἔντονον ἀντιβιωτικὴν θεραπείαν. Τέλος, ὁ κίνδυνος αὐξήσεως τῆς πιθανότητος πλουσίας σταφυλοκοκκικῆς ἀναπτύξεως, κατόπιν ἐφαρμογῆς ἰονιζουσῶν ἀκτινοβολιῶν ἐπὶ τῶν τροφίμων, ἀπεδείχθη ὑπὸ τοῦ Eddy καὶ Ingram (1962).

Οὗτοι παρετήρησαν ὅτι σταφυλόκοκκοι ἐνοφθαλμισθέντες εἰς bacon καὶ εἰς ἀριθμὸν $1 \times 10^3/\text{gr}$ ἠυξήθησαν μετὰ ἀναερόβιον ἐπώασιν εἰς $1 \times 10^4 - 1 \times 10^5/\text{gr}$. Ἐὰν ὅμως ἡ πλουσία μικροβιακὴ χλωρίς τοῦ bacon ἐμειοῦτο διὰ τῆς χρήσεως ἰονίζουσῶν ἀκτινοβολιῶν, τότε ὁ τελικὸς ἀριθμὸς τῶν σταφυλοκόκκων, ὑπὸ τὰς αὐτὰς συνθήκας ἐπώα-
σεως, ἀνῆλθεν εἰς $1 \times 10^7/\text{gr}$.

Γενικῶς, τὸ ἀποτέλεσμα τοῦ συναγωνισμοῦ τῶν σταφυλοκόκκων μετὰ τῶν ἄλλων μικροβίων ἐξαρτᾶται ἀπὸ τὰ εἶδη, τὰς ἀναλογίας τῶν, ὡς καὶ τὸ περιβάλλον (θερμοκρασία, ΡΗ, σύνθεσις τροφῆς) (Digiacinto καὶ Frazier 1966 καὶ Kao καὶ Frazier 1966). Μέχρι πρό τινος ἐπιστεῦετο ὅτι ὁ μικροβιακὸς συναγωνισμὸς κατέληγε πάντοτε εἰς βάρος τῆς σταφυλοκοκκικῆς ἀναπτύξεως. Προσφάτως οἱ Mc Coy καὶ Faber (1966) ἀπέδειξαν ὅτι τοῦτο δὲν εἶναι ἀληθές. Κατὰ τὴν μελέ-
την μεγάλου ἀριθμοῦ μικροβιακῶν εἰδῶν παρετήρησαν δύο τύπους συναγωνισμοῦ. Ὁ εἰς παρημπόδιζε τὴν ἀνάπτυξιν τῶν σταφυλοκόκ-
κων καὶ ὁ ἄλλος τὴν παραγωγὴν τοξίνης, ἄνευ ἐμφανῶν ἀποτελε-
σμάτων ἐπὶ τῆς ἀναπτύξεως. Οἱ σταφυλόκοκκοι παρημπόδισαν τὴν ἀνάπτυξιν δύο εἰδῶν, ἐνῶ ὁ *Bacillus cereus* ἐβεβλτίωσε τὴν ταχύ-
τητα ἀναπτύξεως καὶ παραγωγῆς ἐντεροτοξίνης Α.

4. Ἐπίδρασις ἀτμοσφαίρας.

Οἱ σταφυλόκοκκοι χαρακτηρίζονται ὡς προαιρετικὰ ἀναερόβια μικρόβια, παρουσιάζοντα καλυτέραν ἀνάπτυξιν ἐπὶ παρουσίᾳ O_2 καὶ μὴ ἀναπτυσσόμενοι ἐν πλήρει ἀπουσίᾳ CO_2 (Gladstone et al 1935). Ἀτμόσφαιρα περιέχουσα 10-40% CO_2 ἐχρησιμοποιεῖτο παλαιόθεν διὰ πλουσίαν ἀνάπτυξιν τῶν σταφυλοκόκκων καὶ παραγωγὴν ἐντερο-
τοξινῶν εἰς καλλιεργητικά ὑλικά (Dolman and Wilson 1940, Hammon 1941). Τελευταίως, μετὰ τὴν ἀνακάλυψιν ἡμισυνθετικῶν θρεπτικῶν ὑποστρωμάτων, ἡ χρῆσις ἀτμοσφαίρας ὑψηλῆς εἰς ποσοστὸν CO_2 ἀν-
τεκατεστάθη δι' ἀφθόνου χορηγήσεως ἀέρος, καὶ τοιουτοτρόπως ἠυ-
ξήθη ἡ παραγωγὴ ἐντεροτοξίνης.

Ἡ χρῆσις χαμηλῶν θερμοκρασιῶν, διὰ τὴν αὔξησιν τοῦ χρόνου συντηρήσεως τῶν τροφίμων, ὡς καὶ τὴν μείωσιν τῶν κινδύνων τρο-
φικῶν δηλητηριάσεων, ἔχει ἐπιβληθῇ ὑπὸ τῶν βιομηχανιῶν τροφίμων, ὡς καὶ τῶν ἀρχῶν δημοσίας υγείας εἰς ὁλόκληρον τὸν κόσμον. Ὁ ὄγκος τῶν τροφίμων, τὰ ὅποια διατηροῦνται κατ' αὐτὸν τὸν τρόπον αὐξάνει συνεχῶς καὶ συμβαδίζει, εἰς ἐκάστην χώραν, μετὰ τῆς αὐ-
ξήσεως τοῦ δυναμικοῦ τῶν διαθεσίμων ψυκτικῶν θαλάμων. Χαμηλαὶ θερμοκρασίαι 2 - 4° C δὲν ἐπιτρέπουν ἀνάπτυξιν παθογόνων μικρο-
βίων, ἐπιτρέπουν ὅμως τὴν ἀνάπτυξιν ψυχροφίλων σαπροφυτικῶν μικροβίων καὶ μυκήτων ἐπηρεαζόντων τὴν ποιότητα τῶν προϊόντων. Ἐχει ἤδη ἀποδειχθῇ ὅτι τὸ μεγαλύτερον ποσοστὸν τῆς σαπροφυτι-

κής χλωρίδος αποτελείται έξ αεροβίων μικροοργανισμών καί μυκήτων. Τò γεγονòς αὐτò ὠθησε τὰς βιομηχανίας τροφίμων, ὅπως ἀρχίσουν συσκευασίαν τῶν εὐαισθητῶν τροφίμων εἰς πλαστικά φύλλα (cellophane films κ.λ.π.) καί ὑπὸ κενόν. Τὰ πλαστικά φύλλα εἶναι ἀδιαπέραστα ὑπὸ τοῦ O_2 , ἐνῶ τὸ CO_2 , τὸ ὁποῖον παράγεται εἰς ὠρισμένα προϊόντα, ὅπως τὸ νωπὸν κρέας, δὲν διαφεύγει καί παραμένον δρᾷ ἀνασταλτικῶς ἐπὶ τῆς ἀναπτύξεως τῶν μικροβίων. Διὰ τῆς νέας αὐτῆς μεθόδου, ἡ ζωὴ τῶν εὐαισθητῶν τροφίμων ηὐξήθη σημαντικῶς. Ἡ νέα μέθοδος συσκευασίας εἶναι ἐλευθέρα κινδύνων, ἐφ' ὅσον τὸ προϊόν διατηρεῖται εἰς 2 - 3° C. Ἐάν ὅμως ἡ θερμοκρασία ἀνέλθῃ, λόγω βλαβῶν εἰς τὰ ψυκτικά μηχανήματα κατὰ τὴν μεταφορὰν ἢ τὴν πώλησιν, ἰδιαζούσης φύσεως προβλήματα παρουσιάζονται, τὰ ὁποῖα εἴλκυσαν τὸ ἐνδιαφέρον τῶν εἰδικῶν ἐπὶ τῶν τροφίμων ἐπιστημόνων. Αἱ ἀναερόβιοι συνθῆκαι, ἐπιτυχανόμεναι διὰ τῆς νέας συσκευασίας, ἐξασφαλίζουν κατάλληλον περιβάλλον διὰ τὴν ἀνάπτυξιν ἀναεροβίων μικροβίων. (*Cl. botulinum*, *Cl. perfringens*). Ἐπὶ πλεόν, ἡ ἐξουδετέρωσις τῆς ἀεροβίου μικροβιακῆς χλωρίδος μειώνει τὸν συναγωνισμόν τῶν σταφυλοκόκκων καί ὥς ἐκ τούτου δημιουργεῖ ἀρίστας συνθήκας διὰ τὴν παραγωγὴν ἐντεροτοξινῶν. Οἱ Thatcher et al (1962), εἰς τὸν Καναδᾶν, ἀναφέρουν παραγωγὴν ἐντεροτοξίνης εἰς καναδικὸν bacon, ἐνοφθαλμισθὲν διὰ 1×10^6 /gr σταφυλοκόκκων καί ἐπωασθὲν εἰς ἀτμόσφαιραν ἀέρος, N_2 , H_2 ἢ μίγματος O_2 μετὰ 5% CO_2 . Παρομοίως φύσεως πειράματα ἔχομεν ἤδη ἀρχίσει εἰς τὸ ἐργαστήριόν μας, χρησιμοποιοῦντας σταφυλοκόκκους καί *Cl. botulinum*. Τὰ πειράματα αὐτὰ ἀπέδειξαν ὅτι ἡ ἐντεροτοξίνη Β παράγεται εἰς ζαμπὸν (ham) ἀναεροβίως, εἰς ποσότητα μικροτέραν ἀπὸ ὅ,τι ἀεροβίως. Τὸ χρησιμοποιοῦν ζαμπὸν ἦτο ἐμπορικὸν ἢ κατασκευασθὲν εἰς τὸ ἐργαστήριον. Ἀξιοσημεῖωτον εἶναι τὸ γεγονòς, ὅτι ἡ μόλυνσις τοῦ ζαμπὸν διὰ 1500 σταφυλοκόκκων κατὰ γραμμάριον ὠδήγησεν εἰς καλὴν ἀνάπτυξιν καί παραγωγὴν ἐντεροτοξίνης (1 μgr/gr εἰς 96 ὥρας εἰς 22° C) (Genigeorgis 1965). Ἡ σημασία τοῦ ἀποτελέσματος αὐτοῦ εἶναι μεγίστη. Ὁ ἀριθμὸς τῶν ἐνοφθαλμισθέντων κυττάρων ἦτο ἐντὸς τῶν ὁρίων τῆς φυσικῆς μολύνσεως εἰς τὸ ἐργοστάσιον κατὰ τὴν ὥραν τοῦ τεμαχισμοῦ τοῦ ζαμπὸν καί τῆς συσκευασίας. Εἰς ἄλλα πειράματα ἀνεύρομεν ὅτι ἀναλόγως τῆς συνθέσεως τοῦ προϊόντος (περιεχόμενον εἰς H_2O , $NaNO_3$, $NaCl$, PH), ἡ μικρὰ μόλυνσις δύναται νὰ ὀδηγήσῃ εἰς πλουσίαν ἀνάπτυξιν καί παραγωγὴν ἐντεροτοξίνης εἰς 10° C, ὑπὸ ἀναεροβίους συνθήκας, ἢ διατηρηθῇ εἰς λανθάνουσιν κατὰστασιν ἐπὶ 4 τουλάχιστον μῆνας. Ἡ διατήρησις λανθάνουσῶν μικροβιακῶν ἀποικιῶν ἀποτελεῖ ἐνδιαφέρον πρόβλημα καί ἐγκυμονεῖ ἐμφανεῖς κινδύνους. Αἱ μικραὶ ἀποικίαι δύνανται εὐκόλως νὰ ὀδηγήσουν εἰς πλουσίαν σταφυλοκοκκικὴν ἀνάπτυξιν καί παρα-

γωγὴν ἐντεροτοξίνης, εὐθὺς ὥς ἡ θερμοκρασία αὐξηθῇ καὶ τὸ περιβάλλον μεταβληθῇ ἀπὸ ἀναερόβιον εἰς ἀερόβιον, (προπαρασκευὴ σάντουιτς καὶ λήψις εἰς ἐκδρομὴν). Μεγάλου ἐνδιαφέροντος εἶναι ἐπίσης καὶ τὸ γεγονός ὅτι ὑπὸ ἀναεροβίων συνθήκας τὸ χρῶμα καὶ ἡ ὁσμὴ τοῦ τοξικοῦ ζαμπὸν διετηρήθη εἰς ἀρίστην κατάστασιν ἐπὶ ἓνα μῆνα, παρ' ὅλον τὸν μέγαν ἀριθμὸν τῶν παρόντων σταφυλοκόκκων. Τὰ πειράματα τοῦ εἵδους αὐτοῦ συνεχίζονται.

5. Ἐπίδρασις pH.

Αἱ παρουσιαζόμεναι εἰς τὴν διεθνῇ βιβλιογραφίαν κατώτεραι καὶ ἀνώτεραι τιμαὶ τοῦ pH, εἰς τὰς ὁποίας δύνανται νὰ ἀναπτυχθοῦν οἱ σταφυλοκόκκοι, δὲν συμφωνοῦν. Τοῦτο ὀφείλεται εἰς τὰς διαφόρους χρησιμοποιοιθεῖσας πειραματικὰς συνθήκας, ὡς καὶ τὰ διάφορα θρεπτικά ὑποστρώματα. Ὡς ὅρια pH, ἐντὸς τῶν ὁποίων εἶναι δυνατὴ ἡ ἀνάπτυξις τῶν σταφυλοκόκκων, θεωροῦνται αἱ τιμαὶ 4.5 - 9.0. Οἱ Dack καὶ Lippitz (1962) ἀναφέρουν ὅτι ἀσθενὴς ἀνάπτυξις σταφυλοκόκκων ἔλαβε χώραν ἀεροβίως εἰς ἀποψυχθεῖσας πίττας, εἰς pH 4.5, πλουσία εἰς pH 5.0 καὶ οὐδεμία εἰς pH 4.0, 4.1 καὶ 4.3. Cι Lechowich et al (1956) ἀναφέρουν ὅτι οὐδεμία ἀνάπτυξις ἔλαβε χώραν ἀναεροβίως εἰς κρέατα ἔχοντα pH 4.8 - 5.0. Εἰς ὑπόστρωμα ζωμοῦ κρέατος, ἡ ἀνάπτυξις ἔπαυσεν ἀναεροβίως εἰς pH 5.6 καὶ ἀεροβίως εἰς pH 4.8. Χρησιμοποιῶντας τὸν αὐτὸν ζωμὸν, κατόπιν προσθήκης 0.25 % ἀσκορβικοῦ ὀξέος, εὗρομεν ὅτι ἀκόμη καὶ ἐν κύτταρον κατὰ κ.ε. ζωμοῦ ἀνεπτύχθη εἰς πλήρη καλλιέργειαν ἀναεροβίως εἰς pH 4.7, ἐντὸς δύο ἡμερῶν (30° C), καὶ εἰς pH 7.9 ἐντὸς μιᾶς ἡμέρας. Ἀναερόβιος ἀνάπτυξις ἦτο δυνατὴ εἰς τὸν αὐτὸν ζωμὸν εἰς 8.97, κατόπιν πλουσίου ἐνοφθαλμισμοῦ (Genigeorgis, unpublished data). Χρησιμοποιῶντας ζαμπὸν διαφόρου περιεκτικότητος εἰς H₂O, NaCl, NaNO₂ καὶ διαφορετικοῦ pH παρατηρήσαμεν, εἰς μερικὰς περιπτώσεις, καλὴν ἀναερόβιον ἀνάπτυξιν εἰς pH 4.8 καὶ ἀσθενῇ εἰς pH 4.63. Εἰς ἄλλας περιπτώσεις, pH 4.62 ἔδρασεν ἀνασταλτικῶς ἐπὶ τῆς σταφυλοκοκκικῆς ἀναπτύξεως, ὁ δὲ ἀριθμὸς τῶν σταφυλοκόκκων ἐμειώθη σημαντικῶς. Εἰς παρατεταμένην ἐπώασιν τῶν ζαμπὸν αὐτῶν (μέχρις 16 ἑβδομάδων), ὁ ἀριθμὸς τῶν σταφυλοκόκκων ὑπερέβη τὸν ἀρχικῶς ἐνοφθαλμισθέντα, σημεῖον ἐνδεικτικὸν ἀναπτύξεως (Genigeorgis, unpublished data). Τὸ γεγονός αὐτὸ παρουσιάζει ἰδιαιτέρον ἐνδιαφέρον, διότι ἀποδεικνύει ὅτι τυχὸν ἐπιζήσαντες τοῦ χαμηλοῦ pH σταφυλοκόκκοι δύνανται ἀργότερον νὰ ἀναπτυχθοῦν πλουσίως, λόγω ἀνόδου τῆς τιμῆς τοῦ pH. Εἰς τὰς ὡς ἄνω περιπτώσεις ἀνεύρομεν ὅτι τὸ pH ἀνέρχεται διὰ τῆς παρόδου τοῦ χρόνου, ὡς ἀποτέλεσμα βιοχημικῶν μεταβολῶν ἐνζυμικῆς, μικροβιακῆς ἢ αὐτοκαταλυτικῆς, προελεύσεως. Ἐπίσης ἀνάλογον φαινόμενον παρατηρήσαμεν καὶ κατὰ τὴν παρακολούθησιν ἰδιοσκευασμάτων, ἀπὸ τὴν στιγμὴν τῆς παραγωγῆς των μέχρι τῆς καταναλώσεως. Τοιουτοτρόπως σκευάσματα ἀλιπάστων κρεάτων, ἔχοντα ἀρ-

χικόν pH 5.7 - 5.9 εύρέθησαν εις διάφορα καταστήματα έχοντα pH 6.0 - 6.9. Ἡ αύξησις αὐτῇ τοῦ pH ὀφείλεται εις κακομεταχείρησιν τῶν προϊόντων κατὰ τὰς μεταφοράς, ὡς καὶ ἔκθεσιν εις ηὔξημένας θερμοκρασίας, ἔχουσιν ὡς ἀποτέλεσμα τὴν ἐπιτάχυνσιν τῶν βιοχημικῶν μεταβολῶν. Τὸ γεγονός ὅτι ἄνοδος τοῦ pH ἀπὸ 4.8 εις 7.0 αύξάνει τὴν ταχύτητα ἀναπτύξεως τῶν σταφυλοκόκκων (Nunheimer καὶ Fabian 1940, Lechowich et al 1956, Genigeorgis καὶ Sadler 1966 d) καθιστᾷ ἐμφανῆ τὸν ἐγκυμονούμενον κίνδυνον ἐκ τῆς μὴ ὀρθῆς συντηρήσεως τῶν ὡς ἄνω προϊόντων.

Ἐνῶ ἡ ἐπίδρασις τοῦ pH ἐπὶ τῆς ἀναπτύξεως τῶν σταφυλοκόκκων ἐμελετήθη εύρέως (Peterson et al 1962, Lechowich et al 1956, Nunheimer καὶ Fabian 1940), ἡ βιβλιογραφία ἐπὶ τῆς ἐπιδράσεως τοῦ pH ἐπὶ τῆς παραγωγῆς ἐντεροτοξινῶν εἶναι πολὺ πτωχὴ ἢ σχεδὸν ἀνύπαρκτος. Ὁ Bergdoll (1962) ἀναφέρει καλυτέραν παραγωγὴν ἐντεροτοξίνης B εις pH 6.0, ἔναντι 5.0, 7.0 καὶ 8.0, εις ἡμισυνθετικὰ ὑποστρώματα, ἔχοντα ὡς βάσιν ἐνζυμικὰ προϊόντα τῆς καζείνης. Ἐν ἀντιθέσει οἱ Genigeorgis καὶ Sadler (1966 d) ἀναφέρουν μεγαλυτέραν παραγωγὴν ἐντεροτοξίνης B κατόπιν βαθμιαίας αύξήσεως τοῦ pH ζωμοῦ κρέατος ἀπὸ 5.1 εις 6.9. Οἱ τελευταῖοι παρετήρησαν ἐπίσης ὅτι ἡ πλουσία μικροβιακὴ ἀνάπτυξις δὲν συνωδεύετο πάντοτε καὶ ὑπὸ παραγωγῆς ἐντεροτοξίνης. Οἱ Casman καὶ Bennett (1963) ἀναφέρουν καλυτέραν παραγωγὴν ἐντεροτοξίνης A εις ἡμισυνθετικὸν ὑπόστρωμα εις pH 5.5, ἐνῶ εις ζωμὸν κρέατος ἡ εἰκὼν ἦτο ἡ ἰδίᾳ, ὡς καὶ ἐκείνη τοῦ Genigeorgis καὶ Sadler. Οὐδεμία ἐργασία ἐδημοσιεύθη μέχρι σήμερον, ἀφορῶσα τὴν ἐπίδρασιν τοῦ pH τῶν τροφίμων ἐπὶ τῆς παραγωγῆς ἐντεροτοξινῶν. Ἐχομεν ἐνδείξεις, (Genigeorgis, unpublished data) ὅτι ἡ ἐντεροτοξίνη B παράγεται εις ζαμπὸν, ἀεροβίως καὶ ἀναεροβίως, ἐντὸς 95 ὥρῶν εις pH 5.3 καὶ θερμοκρασίαν 22° C. Ἐπίσης κατόπιν 4 καὶ 6 ἑβδομάδων εις pH 6.34 καὶ 6.05, καὶ εις θερμοκρασίαν 10° C. Ἐπίσης ἔχομεν ἐνδείξεις ὅτι ἡ παραγωγή τῆς ἐντεροτοξίνης B αύξάνει διὰ τῆς αύξήσεως τοῦ pH ἀπὸ 5.3 εις 7.0.

6. Ἐπίδρασις θερμοκρασίας καὶ χρόνου.

Ἀναλόγως τοῦ ὑποστρώματος, οἱ σταφυλόκοκκοι ἀναπτύσσονται εις θερμοκρασίας 6.7° C - 45.6° C, ἔχοντες optimum 35° C - 36° C (Angelotti et al 1961 α, β). Διὰ τὴν παραγωγὴν ἐντεροτοξινῶν, θερμοκρασία 21° C - 36° C θεωρεῖται optimum (Frazier 1958). Τὸ ἀνώτατον ὄριον θερμοκρασίας, εις τὴν ὁποίαν παράγεται ἐντεροτοξίνη, εἶναι ἄγνωστον. Κατὰ τοὺς Segalove καὶ Dack (1941), τὸ κατώτατον ὄριον εἶναι 18° C. Ἐχομεν ἐνδείξεις, ὅτι τοῦλάχιστον ἡ ἐντεροτοξίνη B παράγεται καὶ εις 10° C, μετὰ μακροχρόνιον ἐπώασιν τῶν μολυνθέντων τροφίμων (Genigeorgis, unpublished data). Γενικῶς, οἱ σταφυλόκοκκοι δὲν θεωροῦνται θερμοανθεκτικοί. Τὸ περιβάλλον (pH, ἅλατα, λίπη, πρωτεῖναι, ὕδωρ κ.λ.π.), ὡς καὶ ἡ φάσις ἀναπτύξεως, εἶναι παράγοντες ἐπηρεάζοντες τὴν θερμοαντοχὴν (Han-

sen και Rieman 1963). Οι Angelotti et al (1961 b) αναφέρουν ότι έντερο-τοξικοί σταφυλόκοκκοι. ένοφθαλμισθέντες εις custard (είδος πουτίγγας), εις αριθμόν $1 \times 10^7/\text{gr}$, έμειώθησαν εις μη άνιχνέσιμα έπίπεδα, μετά έκθεσιν εις 60°C έπί $5.9'$. Τρία εκ τών 236 στελεχών, άπομονωθέντων εκ τυρών και ένοφθαλμισθέντων εις γάλα, επέζησαν εκθέσεως εις θερμοκρασίαν 66.6°C έπί $21'$, παρουσιάζσαντα μείωσιν του αριθμού τών κυττάρων από 1×10^6 εις 5 κατά 100 κ.έ. γάλακτος (Zottola et al 1965). Διά την καταστροφήν 99.99% τών σταφυλοκόκκων, παρόντων εις τρία διαφορετικά υλικά, άπητήθησαν οι κάτωθι συνδυασμοί θερμοκρασίας και χρόνου: α) Εις φωσφορικόν ρυθμιστικό διάλυμα M/15 PH 7.0 $7.0'$ εις 58°C , $4.5'$ εις 59°C , $2.6'$ εις 60°C . β) Εις άποβουτυρωμένο γάλα $13.2'$ εις 58°C , $4.5'$ εις 60°C , και $2.6'$ εις 62°C . γ) Εις κανονικό γάλα, $7.3'$ εις 58°C , 3.0 εις 60°C και $1.4'$ εις 62°C .

Οι σταφυλόκοκκοι παύουν αναπτυσσόμενοι εις θερμοκρασίας κατωτέρως τών 6.7°C . Εις τās θερμοκρασίας αυτές, πλην της άναστολής της άναπτύξεως, παρουσιάζεται και ηύξημένο ποσοστόν θανάτου. 'Η ταχύτης, διά της όποίας άποθνήσκουν, έξαρτάται εκ της θερμοκρασίας, τών φυσικοχημικών ιδιοτήτων του ύποστρώματος, ως και του χρόνου έκθέσεως. 'Η τύχη τών μικροβίων, τών ύπευθύνων διά τās τροφικάς δηλητηριάσεις εις τās χαμηλάς θερμοκρασίας, άποτελεί, έπί του παρόντος, ένδιαφέρον έρευνητικό πρόβλημα, ιδίως λόγω της τεραστίας έξαπλώσεως, την όποιαν έλαβεν ή χρήσις κατεψυγμένων τροφίμων. Σήμερον πιστεύομεν ότι ύπάρχει άμεσος θάνατος, άμέσως μετά την κατάψυξιν, ποικίλων άναλόγως του είδους. 'Η άναλογία τών κυττάρων. τών επιζώντων άμέσως μετά την κατάψυξιν, είναι άνεξάρτητος της ταχύτητος καταψύξεως. Τα επιζώντα της καταψύξεως κύτταρα άποθνήσκουν βαθμιαίως κατά την συντήρησιν. Τέλος ή ταχύτης, με την όποιαν άποθνήσκουν, μειούται μετά της καθόδου της θερμοκρασίας (Ingram 1951). Τοιουτοτρόπως ή μείωσις του αριθμού τών μικροβίων είναι ταχύτερα εις -2°C , έναντι της -20°C . Οι Woodburn και Strong (1960) και Georgala και Hurst (1963) αναφέρουν ταχύτερον θάνατον τών σταφυλοκόκκων εις -11°C , έναντι -30°C , και έξάρτησιν της ταχύτητος εκ τών φυσικοχημικών ιδιοτήτων του ύποστρώματος. 'Η μείωσις του αριθμού είναι συνεχής, έν σχέσει με τον χρόνον. 'Ο Weiser (1962) αναφέρει ότι ό *S. aureus* επέζησεν εκθέσεως εις θερμοκρασίας -182°C και -252°C έπί 20 και 2 ώρας άντιστοιχως. 'Εν συμπεράσματι, κατεψυγμένοι τροφαί, μολυνθεΐσαι ύπό σταφυλοκόκκων πρό της καταψύξεως, έγκυμονούν πάντοτε τον κίνδυνον προκλήσεως τροφικής δηλητηριάσεως, εάν δέν διατηρηθούν εις θερμοκρασίαν κατωτέραν της 5.6°C , κατά και μετά την απόψυξιν.

Ο χρόνος, ό άπαραίτητος διά την παραγωγήν έντεροτοξινών, εις τα τρόφιμα. είναι άγνωστος. 'Ελάχιστα πειράματα έδημοσιεύθησαν μέχρι σήμερα, ένεκα της έλλείψεως καλής μεθόδου άνιχνέσεως τών έν λόγω

έντεροτοξινών. 'Ο Dack (1965) αναφέρει αποτελέσματα πειραμάτων, βασιζομένων εις την χρῆσιν ἐθελοντών. Κατ' αὐτόν, κρέμα γάλακτος κατέστη τοξική, κατόπιν ἐκθέσεως εις θερμοκρασίαν δωματίου (24-25° C) ἐπὶ 5 ὥρας, πατάτες πουρὲ μετὰ γάλακτος ἐντὸς 6 ὥρων, στρείδια ἐντὸς 72 ὥρων εις 37° C, κονσερβοποιημένος ἀραβόσιτος ἐντὸς 96 ὥρων εις 37° C, Bacon σάντουιτς ἐντὸς 22 ὥρων εις 37° C. Χρησιμοποιούντες τὰς νέας ὁρολογικὰς μεθόδους τῶν φθοριζόντων ἀντισωμάτων καὶ τῆς διαχύσεως εις ζέλ (Gel-diffusion) (Genigeorgis καὶ Sadler 1966 α, β) ἀνεύρομεν ὅτι ζαμπὸν ἐνοφθαλμισθὲν διὰ 1500 σταφυλοκόκκων κατὰ γραμμάριον καὶ ἐπωασθὲν εις 24° C καὶ 30° C ἀεροβίως καὶ ἀναεροβίως κατέστη τοξικόν, (1μgr τοξίνης/gr), μετὰ 72, 96, 48 καὶ 96 ὥρας, ἀντιστοίχως. Χρησιμοποιώντας τὴν τεχνικὴν τῶν φθοριζόντων ἀντισωμάτων, παρατηρήσαμεν τὴν παραγωγὴν μικροτέρων ποσῶν ἐντεροτοξίνης B εις 12, 12, 9 καὶ 12 ὥρας. (Genigeorgis unpublished data). Οἱ Donelly et al. (1966) ἀναφέρουν παραγωγὴν ἐντεροτοξίνης A εις παστεριωμένον καὶ χαμηλῆς μολύνσεως γάλα ἐντὸς 9-12 ὥρων εις 35° C, 12-18 ὥρων εις 30° C, 18-48 ὥρων εις 25° C καὶ 72-96 ὥρων εις 20° C. Ἡ παραγωγὴ ἐντεροτοξίνης A παρατηρήθη εις τὰς θερμοκρασίας 25, 30 καὶ 35° C, ὅταν ἤδη ὁ ἀριθμὸς τῶν σταφυλοκόκκων ἦτο περίπου 1×10^8 κύτταρα/κ.έ. Τὰ πειράματα αὐτὰ ἐβασίσθησαν εις τὴν τεχνικὴν τῆς διαχύσεως εις ζέλ.

7. Ἐπίδρασις ὑγρασίας.

Μελέται καὶ πειράματα ἐπὶ τῆς συντηρήσεως τῶν τροφίμων διὰ τῆς μεθόδου τῆς καταψύξεως - ἀποξηράνσεως (freeze-drying) ἔλαβον τελευταίως τεραστίαν ἔκτασιν. Ἡ σημασία τῆς μεθόδου ἔγκειται εις τὸ γεγονὸς ὅτι δυνάμεθα νὰ διατηρήσωμεν εις θερμοκρασίαν δωματίου προϊόντα, τὰ ὁποῖα ἄλλως ἡλλοιοῦντο καὶ καθίσταντο ἀκατάλληλα πρὸς βρῶσιν ἐντὸς ὥρων. Ἐν ὅψει τῆς ἐπεκτάσεως τῶν μεθόδων τῆς καταψύξεως - ἀποξηράνσεως ἢ καὶ ἀπλῆς ἀποξηράνσεως, ὡς μεθόδων συντηρήσεως τῶν τροφίμων, τὸ πρόβλημα τῆς ἐπιβιώσεως καὶ πολλαπλασιασμοῦ τῶν μικροοργανισμῶν, τῶν ἐπικινδύνων διὰ τὴν δημοσίαν ὑγίαν εις τὰ ὡς ἄνω τρόφιμα, παρουσιάζει ἰδιαιτερον ἐνδιαφέρον. Δεδομένου ὅτι αἱ ἀναφερθεῖσαι μέθοδοι συντηρήσεως βασίζονται ἐπὶ τῆς ἀφαιρέσεως τοῦ ὕδατος, καθίσταται ἀναγκαῖον ὅπως ἐξετάσωμεν τὴν ἐπίδρασιν τοῦ παράγοντος αὐτοῦ ἐπὶ τῆς σταφυλοκοκκικῆς ἀναπτύξεως, ὡς καὶ τῆς παραγωγῆς ἐντεροτοξινῶν.

Τὸ ὕδωρ εἶναι ἀπαραίτητον διὰ τὴν ἀνάπτυξιν τῶν μικροοργανισμῶν. Ἡ ἀνάπτυξις μικροβίων ἐπὶ μιᾶς τροφῆς δὲν ἐξαρτᾶται ἐκ τοῦ ποσοῦ τοῦ ὁλικοῦ περιεχομένου ὕδατος, ἀλλὰ ἐκ τοῦ ποσοῦ τοῦ ἐλευθέρου ὕδατος, διαθεσίμου διὰ τὰς φυσικοχημικὰς ἀντιδράσεις (Scott 1961). Πρὸς διευκρίνισιν τοῦ προβλήματος θὰ χρησιμοποιήσω-

μεν τὸν ὅρον «ἐνεργὸν ὕδωρ» ἢ E_u , ὁ ὁποῖος περιγράφει τὴν σχέσιν τῆς πιέσεως τῶν ὑδρατμῶν τοῦ ὕδατος, τοῦ περιεχομένου εἰς τὴν τροφήν, ἔναντι τῆς πιέσεως τῶν ὑδρατμῶν τοῦ καθαροῦ ὕδατος εἰς τὴν αὐτὴν θερμοκρασίαν (ἐνεργὸν ὕδωρ = $\frac{\text{πίσεις ὑδρατμῶν ὕδατος τροφῆς}}{\text{πίσεις ὑδρατμῶν ὕδατος}}$

ἢ $E_u = \frac{\Pi}{\Pi_0}$). Ἡ σχετικὴ ὑγρασία τῆς ἀτμοσφαίρας, εἰς ἰσορροπίαν (equilibrium) μετὰ τῆς τροφῆς, ἀντιστοιχεῖ εἰς 100 X E_u . Δύο τροφαὶ ἔχουσαι τὸ αὐτὸ περιεχόμενον εἰς ὕδωρ δὲν σημαίνει ὅτι ἔχουν τὸ αὐτὸ E_u καὶ ἀντιθέτως, θρεπτικὸς ζῶμος μετὰ μίγματος ἀλάτων εἶχεν $E_u = 0.86$ καὶ περιεχόμενον εἰς ὕδωρ 315 % τῆς ξηρᾶς οὐσίας. Δεῖγμα γάλακτος ἔχον $E_u = 0.86$ περιεῖχεν ὕδωρ 23 % τῆς ξηρᾶς οὐσίας. Τὰ ὡς ἄνω θρεπτικὰ ὑλικά, διαφέροντα 14 περίπου φορές, ὡς πρὸς τὸ ποσὸν τοῦ περιεχομένου ὕδατος, εἶχον τὴν αὐτὴν τιμὴν E_u , ἡ ὁποία καὶ εὐρέθῃ ἀποτελοῦσα τὸ κατώτατον ὅριον, ἐπιτρέπον ἀνάπτυξιν σταφυλοκόκκων (Scott 1961). Τὸ ὡς ἄνω παράδειγμα καθιστᾷ ἐμφανῆ τὴν σημασίαν τοῦ E_u .

Πειραματικῶς εὐρέθῃ ὅτι οἱ σταφυλόκοκκοι ἀναπτύσσονται εἰς $E_u > 0.86$ ἐπὶ παρουσίᾳ O_2 καὶ εἰς $E_u > 0.90$ ἐν ἀπουσίᾳ O_2 . Ὡς χαμηλοτέρα τιμὴ E_u , ἡ ὁποία ἐπέτρεψε τὴν ἀνάπτυξιν μικροοργανισμῶν, ἀναφέρεται ἡ τιμὴ $E_u = 0.62$. Εἰς τὴν τιμὴν αὐτὴν ἀναπτύσσονται μόνον ὁσμόφιλοι ζῦμαι. Οἱ μύκητες ἀπαιτοῦν τιμὰς $E_u > 0.72$, ἀναλόγως τῆς θερμοκρασίας, καὶ διὰ τὸν λόγον αὐτὸν δύνανται νὰ ἀναπτυχθοῦν εἰς ἀπεξηραμμένας τροφάς. Τὸ ποσοστὸν ὑγρασίας τῶν ἀπεξηραμμένων τροφῶν εἶναι συνήθως, διὰ προϊόντα κρέατος, ἰχθύων, γάλακτος, < 3 %, ἐνῶ διὰ τὰ φυτικά προϊόντα < 5 %. Αἱ τιμαὶ E_u , ἀντιστοιχοῦσαι εἰς τὰς ὡς ἄνω ὑγρασίας, εἶναι 0.05 - 0.25, καὶ ὡς ἐκ τούτου, ὑπ' αὐτάς τὰς συνθήκας, καθίσταται ἀδύνατος ἡ ἀνάπτυξις μικροβίων. (Christian 1963). Ἐνῶ αἱ χαμηλαὶ τιμαὶ τοῦ E_u ἀναστέλλουν τὴν ἀνάπτυξιν τῶν μικροοργανισμῶν, αἱ ἴδιαι τιμαὶ ἀποτελοῦν καὶ ἰδεώδεις συνθήκας διὰ τὴν διατήρησιν των. Εὐρέθῃ ὅτι τὸ ποσοστὸν τῶν ἐπιζώντων μικροβίων αὐξάνει, ὅσον τὸ E_u μειοῦται κάτω τῆς τιμῆς 0.80, ἔχον μεγίστην ἀπόδοσιν εἰς $E_u = 0.10$, εἰς τὴν περίπτωσιν κόνεως γάλακτος (Christian 1953). Ἀπεξηραμμένοι σταφυλόκοκκοι, παρασκευασθέντες διὰ τῆς τεχνικῆς τῆς καταψύξεως - ἀποξηράνσεως διετηρήθησαν ἐπὶ δεκαετίαν εἰς θερμοκρασίαν δωματίου, ἐντὸς ἐσφραγισμένων φιαλιδίων (Steel καὶ Ross 1963).

8. Ἐπίδρασις χλωριούχου νατρίου.

Ἀνεφέραμεν προηγουμένως ὅτι τὰ ἀλίπαστα κρέατα ἀποτελοῦν τὰς πλέον συχνὰς πηγὰς σταφυλοκοκκικῶν τροφοδηλητηριάσεων. Ἐξηγήσαμεν τὸ γεγονός αὐτό, ὡς ὀφειλόμενον εἰς τὴν ἐξουδετέρωσιν

της μικροβιακής χλωρίδος υπό τοῦ ὕψηλοῦ περιεχομένου των εἰς χλωριοῦχον νάτριοι καὶ ὡς ἐκ τούτου τὴν ἀνευ συναγωνισμοῦ πλουσίαν σταφυλοκοκκικήν ἀνάπτυξιν. Γενικῶς, ἡ αὐξησις τῆς περιεκτικότητος τῆς τροφῆς εἰς χλωριοῦχον νάτριοι μειώνει τὴν τιμὴν τοῦ ἐνεργοῦ ὕδατος καὶ ὡς ἐκ τούτου παρεμποδίζει τὴν ἀνάπτυξιν πολλῶν μικροβίων. Ἡ ἐπίδρασις τοῦ ἁλατος ἐπὶ τῆς ἀναπτύξεως τῶν σταφυλοκοκκῶν ἐμελετήθη εὐρέως (Nunheimer καὶ Fabian 1940, Lechowich et al 1956, Parfentjev καὶ Catelli 1964). Τελευταίως, οἱ Genigeorgis καὶ Sadler (1966) ἐμελέτησαν τὴν ἐπίδρασιν τοῦ ἁλατος ἐπὶ τῆς ἀναπτύξεως τῶν σταφυλοκοκκῶν καὶ τῆς παραγωγῆς ἐντεροτοξίνης B. Παρατηρήθη ὅτι ἡ ταχύτης ἀναπτύξεως αὐξάνει μὲ τὴν μείωσιν τοῦ περιεχομένου εἰς τὸν θρεπτικὸν ζυμὸν ἁλατος (0 - 16 %). Οἱ σταφυλόκοκοι ἐπέζησαν εἰς ἄλμην περιέχουσαν 23,5 % ἁλατος, ἐνῶ ἀνάπτυξις παρατηρήθη εἰς ἄλμην περιέχουσαν 17,5 % ἁλατος. Ὁ Genigeorgis (1965) ἀναφέρει παραγωγὴν ἐντεροτοξίνης B εἰς ζυμὸν περιέχοντα μέχρι 10 % ἁλατος καὶ pH 6.9. Ὑπάρχει πιθανότης, αὐξησις τοῦ pH εἰς τιμὰς ἀνωτέρας τοῦ pH 6.9, ὅπως ἐπιτρέψη παραγωγὴν ἐντεροτοξίνης καὶ εἰς ἄλμην περιέχουσαν πλέον τοῦ 10 % ἁλατος.

Κ Λ Ι Ν Ι Κ Α Ι Μ Ο Ρ Φ Α Ι

Αἱ σταφυλοκοκκικαὶ ἐντεροτοξίναι εἶναι ὑπεύθυνοι διὰ δύο κλινικὰς μορφάς :

Τυπικὴ τροφικὴ δηλητηρίασις. Ἡ μορφή αὐτὴ ὀφείλεται εἰς τὴν κατανάλωσιν τροφίμων περιεχόντων προσχηματισθείσας τοξίνας. Αἱ περισσότεραι τῶν περιπτώσεων εἰς τὰς ΗΠΑ ὀφείλονται εἰς τὴν ἐντεροτοξίνην A (Casman 1965). Ἐν τούτοις, μετὰ τὴν ἀνακάλυψιν τῆς ἐντεροτοξίνης C (Bergdoll et al 1965), ἀπεδείχθη ὅτι ἡ τελευταία εἶναι ὑπεύθυνος διὰ μεγάλον ἀριθμὸν περιπτώσεων. Πολὺ μικρὸς ἀριθμὸς περιπτώσεων ὀφείλεται εἰς τὴν B. Ὑπάρχουν ἤδη ἐνδείξεις ὅτι ἡ τελευταίως διαπιστωθεῖσα τοξίνη D παρουσιάζεται εἰς δευτέραν κατὰ σειρὰν συχνότητα μετὰ τὴν A. (Casman, personal communication). Στοιχεῖα διὰ τὴν συχνότητα τῶν τεσσάρων ἐντεροτοξινῶν εἰς ἄλλας χώρας ἐλλείπουν. Ὁ χρόνος ἐπώσεως τῆς νόσου ποικίλλει ἀπὸ 1-6 ὥρας, συνήθως 3, καὶ ἐξαρτᾶται ἐκ τῆς δόσεως καὶ τῆς εὐαισθησίας τοῦ ἀτόμου. Ἡ νόσος εἶναι ὀξείας μορφῆς καὶ χαρακτηρίζεται ὑπὸ ἐμέτου, ναυτίας, κοιλιακῶν σπασμῶν, διάρροιας καὶ συχνὰ κεφαλαλγίας. Μικρὰ μεταβολὴ τῆς θερμοκρασίας εἶναι συνήθης. Ἡ νόσος παύεται μετὰ 24 - 72 ὥρας.

Ἡ ποσότης τῆς τοξίνης, ἀπαραίτητος διὰ τὴν πρόκλησιν συμπτωμάτων εἰς τὸν ἄνθρωπον, εἶναι ἄγνωστος. Ὁ Bergdoll et al (1965) ηῶρον ὅτι ὕψηλοῦ βαθμοῦ καθαρότητος τοξίνην A, B καὶ C παρουσιάζουν τὴν αὐτὴν περίπου τοξικότητα εἰς τοὺς πηθήκους καὶ per os.

Καθαρὰ έντεροτοξίνη Β δίδει συμπτώματα εις 50 % τών πιθήκων (*Macaca mullata*) ένδοφλεβίως, εις τήν δόσιν 0.1μgr/Kgr. ζώντος βάρους, καί per os εις τήν δόσιν 0.9μgr/Kgr (Schantz et al. 1965).

Οί Casman καί Bennet (1963), βασιζόμενοι εις τόν άριθμόν τών σταφυλοκόκκων, άπομονωθέντων έκ τροφίμων ύπευθύνων διά τροφικάς δηλητηριάσεις, καί τοϋ άριθμοϋ καί ποσοϋ τής έντεροτοξίνης Α, παραγομένης εις θρεπτικόν ζωμόν, ύπελόγισαν ότι αί τροφαί περιεΐχον περίπου 0.01 - 0.04μgr τοξίνης κατά γραμμάριον. Έάν ύποτεθῇ ότι 50 - 100 gr τροφής κατηναλώθησαν, τότε ή δραστική δόσις τοξίνης Α εΐναι περίπου 0.5 - 4μgr.

Ή δευτέρα κλινική μορφή όνομάζεται σταφυλοκοκκική έντερΐτις καί παρουσιάζεται συνήθως εις άσθενείς ύπό άντιβιωτικήν θεραπείαν. Ή πλειονότης τών περιπτώσεων άναφέρεται εις άτομα είσαχθέντα εις νοσοκομεία διά χειρουργικήν επέμβασιν. Μετά παρέλευσιν 4 - 6 ήμερών, άπό τής έναρξεως τής άντιβιοτικής θεραπείας, τά άτομα παρουσιάζουν διαφόρου βαθμοϋ έντερΐτιδα, συνήθως σοβαράς μορφής (Warren et al 1963, Van Prohaska et al 1959, Dearing et al 1963). Εις τας ώς άνω περιπτώσεις, μέγας άριθμός σταφυλοκόκκων άπομονοϋται εις τά κόπρανα (φυσιολογικώς ό άριθμός εΐναι μικρός) Ή χρυσομυκίνη καί ή γαιομυκίνη εΐναι περισσότερον συχνά ύπεύθυνοι άπό ό,τι ή πενικιλλίνη καί στρεπτομυκίνη. Ή νόσος άναπαρήχθη εις *Chincillas* καί ή τελεία σχέσις μεταξύ τοϋ ποσοϋ τής έντεροτοξίνης Β καί τής σοβαρότητος τής νόσου άπεδείχθη. Έτέρα νόσος καλουμένη ψευδομεμβρανώδης έντερΐτις ή έντεροκωλίτις, ή όποία συνήθως άκολουθεΐ τήν δι' άντιβιωτικών θεραπείαν (πενικιλλίνη, στρεπτομυκίνη, τετρακυκλίνη) έχει άρκετήν πειραματικήν ύποστήριξιν διά νά θεωρηθῇ ώς όφειλομένη εις τας έντεροτοξΐνας, παρ' όλον ότι πολλάκις τά κόπρανα εΐναι άρνητικά διά σταφυλοκόκκους (Dearing et al 1958).

Π Ρ Ο Λ Η Ψ Ι Σ

Κατόπιν τής έκτεταμένης άνασκοπήσεως τής οϊκολογίας τών σταφυλοκόκκων καθίσταται εύκόλως άντιληπτός ό τρόπος άντιμετωπίσεως τοϋ προβλήματος τών σταφυλοκοκκικών τροφοδηλητηριάσεων. Τά ληπτέα μέτρα άποβλέπουν :

Εις τήν μείωσιν τών σταφυλοκόκκων εις τό περιβάλλον,
εις τήν άποφυγήν μολύνσεως τών τροφίμων,
εις τήν παρεμπόδισιν τής άναπτύξεως τών σταφυλοκόκκων καί τής παραγωγής έντεροτοξινών,
εις αύξησιν τών έρευνητικών μελετών επί τής βιοχημείας, παραγωγής έντεροτοξινών, επί τής παθογενείας τής νόσου καί τέλος επί τής θεραπευτικής άγωγής.

Οί σταφυλόκοκκοι εΐναι εύρέως διαδεδομένοι εις τό περιβάλλον

καί ιδίως μεταξύ τῶν ἀνθρώπων. Ὡς ἐκ τούτου ἡ ἀπομάκρυνσις τῶν φορέων εἰς τὰς βιομηχανίας τροφίμων καθίσταται δύσκολος. Ἡ παραγωγή τροφίμων κατὰ τελείως αὐτόματον τρόπον ἀποτελεῖ τὴν λύσιν τοῦ ἐγγύς μέλλοντος. Ἡ αὐτοματοποίησις ἔχει ὥς ἀποτέλεσμα τὴν μείωσιν τῶν ἐργατικῶν χειρῶν καί ὥς ἐκ τούτου μείωσιν τῆς πιθανότητος μολύνσεων τῶν παραγομένων τροφίμων. Ἐπὶ τοῦ παρόντος ἡ μόνη λύσις εἶναι ἡ διατήρησις τῆς ἀτομικῆς ὑγιεινῆς τῶν ἐργατῶν, καθαρότητος τοῦ περιβάλλοντος, καί τέλος ἡ μείωσις τῆς ἐπαφῆς ἐργατικῶν χειρῶν μετὰ τῶν τροφίμων, διὰ τῆς χρήσεως ἐργαλείων εὐκόλως ἀποστειρουμένων.

Ἐφ' ὅσον ἡ τελεία ἀποφυγὴ μολύνσεων τῶν τροφίμων καθίσταται ἀδύνατος, ἡ ἀναστολὴ τῆς μικροβιακῆς ἀναπτύξεως ἐνδείκνυται. Ἐπὶ τοῦ παρόντος ἡ ἀναστολὴ αὐτὴ ἐπιτυγχάνεται διὰ τῆς χρήσεως χαμηλῶν θερμοκρασιῶν ($< 5.4^{\circ}\text{C}$) κατὰ τὸ στάδιον παραγωγῆς, μεταφορᾶς καί πωλήσεως τῶν τροφίμων.

Ἡ ἔκθεσις τῆς εὐαισθήτου τροφῆς εἰς ὑψηλὰς θερμοκρασίας πρέπει νὰ εἶναι ἐλαχίστη.

Ὁ συνδυασμὸς χαμηλῆς θερμοκρασίας μετὰ συσκευασίας εἰς πλαστικοὺς σάκκους ὑπο κενὸν ἀπεδείχθη ἐξαίρετος μέθοδος συντηρήσεως, λόγῳ παρεμποδίσσεως τῆς ἀναπτύξεως τῆς φυσικῆς ἀεροβίου μικροβιακῆς χλωρίδος. Εἰς τὴν περίπτωσιν αὐτὴν ἰδιαίτερα σημασία δίδεται εἰς τὴν διατήρησιν τῆς χαμηλῆς θερμοκρασίας, διότι τὸ ὑπὸ κενὸν συσκευασθὲν προϊόν ἀποτελεῖ ἐξαίρετον ὑπόστρωμα διὰ τὴν ἀνάπτυξιν τῶν παθογόνων ἀναεροβίων, ὥς καὶ τῶν σταφυλοκόκκων. Ἡ μείωσις τοῦ ΡΗ τῆς τροφῆς, ὥς μέσου ἐλέγχου τῆς σταφυλοκοκκικῆς ἀναπτύξεως καὶ παραγωγῆς ἐντεροτοξινῶν, εἶναι δυνατὴ. Ἐν τούτοις, ἡ μείωσις αὐτὴ πρέπει νὰ εὐρίσκεται εἰς ἰσορροπίαν μὲ τὰς μεταβολὰς εἰς τὴν γευστικότητα τῆς τροφῆς, παράγοντος σπουδαίου διὰ τὸν καταναλωτὴν. Τὸ αὐτὸ ἰσχύει καὶ διὰ τὴν χρῆσιν χλωριούχου νατρίου. Ἡ χρῆσις ἀντιβιωτικῶν δὲν ἀποτελεῖ λύσιν, ἄνευ χρήσεως χαμηλῶν θερμοκρασιῶν, καὶ τοῦτο διότι ὁ ἔθισμὸς τῶν σταφυλοκόκκων καὶ ἡ ἐξουδετέρωσις τῶν ἄλλων μικροβίων ὁδηγεῖ τελικῶς εἰς πλουσίαν σταφυλοκοκκικὴν ἀνάπτυξιν, ὥς εἰς τὴν περίπτωσιν τῆς ἀναφερθείσης ἐντερίτιδος. Ἡ ἀνεύρεσις ἄλλων χημικῶν οὐσιῶν, αἱ ὁποῖαι προστιθέμεναι εἰς τὰς τροφὰς θὰ ἐλέγξουν τὴν σταφυλοκοκκικὴν ἀνάπτυξιν, εἶναι ὑπὸ μελέτην.

Ἡ χρῆσις ἰονιζουσῶν ἀκτινοβολιῶν διὰ τὴν παστερίωσιν ἢ ἀποστείρωσιν τῶν τροφίμων ἀποτελεῖ μίαν λύσιν, ἡ ὁποία ἤδη μελετᾶται ἐντόνως. Ἐν τούτοις, ἡ λύσις αὐτὴ δὲν εἶναι ἐλευθέρως κινδύνων. Τὸ στεῖρον προϊόν ἀποτελεῖ ἐκλεκτὸν ὑπόστρωμα διὰ τὴν σταφυλοκοκκικὴν ἀνάπτυξιν, λόγῳ ἐξουδετερώσεως τῆς χλωρίδος καὶ ἐλλείψεως μικροβιακοῦ συναγωνισμοῦ. Τοιοῦτοτρόπως ἀκόμη καὶ μικρὰ νέα

σταφυλοκοκκική μόλυνσις δυνατόν νά καταλήξη εἰς πλουσίαν ἀνάπτυξιν. Τέλος αἱ νέσι μέθοδοι συντηρήσεως τῶν τροφίμων διὰ καταψύξεως - ἀποξηράνσεως, ἐνῶ αὐξάνουν τὴν ζωὴν τοῦ προϊόντος, οὐδὲν προσθέτουν εἰς τὴν ἀντιμετώπισιν τοῦ σταφυλοκοκκικοῦ προβλήματος. Ἐπὶ τοῦ παρόντος, ὡς μόνη λύσις προτείνεται ἡ χρῆσις χαμηλῶν θερμοκρασιῶν.



THE PROBLEM OF STAPHYLOCOCCAL FOOD INTOXICATIONS

A REVIEW

Constantin A. Genigeorgis MS, PhD, DVM

Department of Epidemiology and Preventive Medicine

University of California, Davis

Considerable progress has been achieved lately in the area of staphylococcal food poisonings. New types of enterotoxins have been discovered. The chemistry of one of these new types has been studied extensively. Yet the effect of various environmental conditions upon the mechanism of the production of enterotoxins by staphylococci is still obscure and much has to be further accomplished.

In this review an effort has been made to compile available information concerning mainly the effect of environmental factors such as substrate, bacterial flora, atmosphere, pH, temperature, water activity and sodium chloride firstly upon production and stability of enterotoxins and secondly upon staphylococcal growth.

Recent developments in the detection of staphylococcal enterotoxins will be the subject of a following article.

B I B Λ I O Γ Ρ Α Φ Ι Α

1. Angelotti R., M. J. Foter and K. H. Lewis. 1961a. Time temperature effects on Salmonellae and staphylococci in foods. I. Behavior in broth cultures and refrigerated foods. (Am. J. Publ. Health 51: 76 - 83).
2. Angelotti R., M. J. Foter and K. H. Lewis. 1961b. Time temperature effects on Salmonella and staphylococci in foods. II. Behavior at warm holding temperatures. (Am. J. Publ. Health **51**:83-88).
3. Baird - Parker A.C. (1962). The occurrence and enumeration, according to a new classification of micrococci and staphylococci in bacon and on human and pig skin* (J. Appl. Bact., **25**, 352 - 361).
4. Baird - Parker AC. (1965). Staphylococci and their classification Ann N. Y. (Acad. Sc., **128**, 4 - 7).
5. Baird - Parker AC. (1966). Methods for classifying staphylococci and micrococci. In identification methods for microbiologists. (Acad. Press 1. 59 - 64).
6. Bergdoll M. S. 1962. The chemistry and detection of staphylococcal enterotoxin. (Am. Meat Inst. Circular No. 70, p. 47).
7. Bergdoll M. S., C. R. Borja and R. M. Avena. 1965a, Identification of a new enterotoxin C. (J. Bacterial **90**: 1481 - 1485).
8. Bergey's manual of Determinative Bacteriology 1957. The Williams and Wilking Co.
9. Brandly P. J., 1965. Trichinosis, Botulism, Staphylococcal food
10. Casman E. P. and R. W. Bennett. 1963. Culture medium for the production of staphylococcal enterotoxin A. (J. Bacteriol. **86**:18-23.)
11. Casman E. P., M. S. Bergdoll and J. Robinson. 1963. Designation of staphylococcal enterotoxins. (J. Bacteriol. **85**: 715 - 716).
12. Casman E. P., D. W. Mc Coy and P. J. Brandly. 1963. Staphylococcal growth and enterotoxin production in meat. (Appl. Microbiol. **11**: 498 - 500).
13. Casman E. P. and R. W. Bennett. 1965. Detection of staphylococcal enterotoxin in food. (Appl. Microbiol. **13**: 181 - 189).
14. Casman E. P., 1965. Staphylococcal enterotoxin. Ann. New York (Acad. Sci. **128**: 124 - 131).
15. Casman E. P., R. W. Bennett and R. E. Kephart. 1966. Detection of a new staphylococcal enterotoxin (Bacteriol. Proc. p. 13.)
16. Christian J.H.B. 1963. Microbiological spoilage problems of dehydrated foods in Microbiological Quality of Foods Symposium. (Acad. Press. p. 223 - 228.)
17. Dack G. M. 1956. Food Poisoning. University of Chicago Press, Chicago. Third Edition.

18. Dack G. M. 1962. Staphylococcal enterotoxin. In chemical and biological hazards in foods. (Iowa State University Press, Ames, pp. 320 - 329).
19. Dack G. M. and G. Lippitz. 1962. Fate of staphylococci and enteric microorganism introduced into slurry of frozen pot pies. (Appl. Microbiol. 10 : 472 - 479).
20. Dearing W. H., A. H. Baggenstoss and L. A. Weed. 1958. Studies on the relationship of *Staphylococcus aureus* to pseudomembranous enteritis and to postantibiotic enteritis. (Proc. World Congress of Gastroenterology Washington, D. C. U.S.A. 1958. p. 726 - 736).
21. Di Giacinto J. V. and W. C. Frazier. 1966. Effect of Coliform and *Proteus* bacteria on growth of *Staphylococcus aureus*. (Appl. Microbiol. **14** : 124 - 127).
22. Dolman C. E. and R. J. Wilson. 1940. The kitten test for staphylococcus enterotoxin. (Canad. J. Public Health **31** : 68 - 71).
23. Donnelly C. B., J. E. Leslie and L. A. Black. 1966. Production of enterotoxin A in milk. (Bacteriol. Proc. p. 13.)
24. Eddy B. P. and M. Ingram. 1962. The occurrence and growth of staphylococci on packed bacon, with special reference to *Staphylococcus aureus*. (J. Appl. Bacteriol. **25** : 237 - 247).
25. Elek S. D. 1959. *Staphylococcus pyogenes* and its relation to disease. E. S. Livingstone Ltd. London.
26. Frazier W. C. 1958. Food microbiology. Mc Graw - Hill Book Co., Inc., New York.
27. Genigeorgis C. 1963. Comparison of staphylococci isolated from poultry meat and food poisoning outbreaks. M. S. Thesis, Univer. California.
28. Genigeorgis C. 1965. Studies on the production and identification of staphylococcal enterotoxins. Ph. D. Thesis, Univer. California.
29. Genigeorgis C. and W. W. Sadler. 1966a. Immunofluorescent detection of staphylococcal enterotoxin B. I. Detection in culture media (J. Food Sci. **31** : 441 - 449).
30. Genigeorgis C. and W. W. Sadler. 1966b. Immunofluorescent detection of staphylococcal enterotoxin B. II. Detection in foods (J. Food Sci. **31** : 605 - 609).
31. Genigeorgis C. and W. W. Sadler. 1966c. Characterization of strains of *Staphylococcus aureus* isolated from livers of commercially slaughtered poultry. (Pou. Sci. **45** : 973 - 980).
32. Genigeorgis C. and W. W. Sadler. 1966d. Effect of sodium chloride and pH on enterotoxin B. production. (J. Baeteriol. **92**:1383-87).

33. Georgala D. L. and A. Hurst. 1963. The survival of food poisoning bacteria in frozen foods. (J. Appl. Bacteriol. **26** : 346 - 358).
34. Gladstone G. P., P. Fildes and G. M. Richardson. 1935. Carbon dioxide as an essential factor in the growth of bacteria. (British J. Exper. Pathol. **16** : 372 - 377).
35. Hammon W. McD. 1941. Staphylococcus enterotoxin. An improved cat test, chemical and immunological studies. (Am. J. Public Health **31** : 1191 - 1198.)
36. Hansen N. H. and H. Riemann. 1963. Factors affecting the heat resistance of nonsporing organisms. (J. Appl. Bact. **26** : 314 - 333).
37. Haynes W. Mc and Hucker G. J. studies on coccaceae. XVIII. 1945. The enterotoxin producing micrococci (N. Y. Agric. Exp. Sta. Technol. Bull. **275** : 1 - 82).
38. Ingram M. 1951. The effect of cold on micro-organism in relation to food. (Proc. Soc. Appl. Bact. **14** : 243 - 260).
39. International Subcommittee on Staphylococci and micrococci, 1965. Recommendations of subcommittee. (Int. Bull. Bact. Normal Toxon **15**, 109).
40. Kao C. T. and W. C. Frazier - 1966. Effect of lactic acid bacteria on growth of *Staphylococcus aureus*. (App. microbiol. **14** : 251 - 255).
41. Lechowich R. V., J. B. Evans and C. F. Niven, Jr. 1956. Effect of curing ingredients and procedures on the survival and growth of staphylococci in and on cured meats. (App. Microbiol. **4** : 360 - 363).
42. Lewis K. H. 1964. Food microbiology training course manual. Robert Taft Sanitary Engineering Center, p. 9 - 8.
43. Matheson B. H, and F. S. Thatcher. 1955. Studies with staphylococcal toxins. I. A reappraisal of the validity of the kitten test as an indication of staphylococcal enterotoxin. (Can J. Microbiol. **31** : 469 - 473).
44. McCoy D. W. and J. E. Faber. 1966. Influence of food microorganisms on staphylococcal growth and enterotoxin production in Meat. (Appl. Microbiol. **14** : 372 - 377).
45. Miller W. A. and M. L. Smull. 1955. Efficiency of cooling practices in preventing growth of micrococci. J. Am. Dietet. Assoc. **31**:469-473.
46. Nunheimer T. D., and F. W. Fabian. 1940. Influence of organic acid, sugar and sodium chloride upon strains of food poisoning staphylococci. (Am. J. Public Health **30** : 1040 - 1049).
47. Pantaleon J. 1965. Les intoxications alimentaires d'origine bactérienne. (4th International Symposium of Veterinary Food Hygienists. Lincoln, Nebraska, U.S.A).
48. Parfentjev I. A. and A. P. Catelli. 1964. Tolerance of Staphylo-

- coccus aureus to sodium chloride. (J. Bacteriol. **88** : 1 - 3).
49. Peterson A. C. J. J. Black and M. F. Gunderson. 1962b. Staphylococci in competition. II. Effect of total numbers and proportion of staphylococci in mixed cultures on growth in artificial medium. (Appl. Microbiol. **10** : 23 - 30).
 50. Read R. B. and J. C. Bradshaw. 1966a. Thermal inactivation of staphylococcal enterotoxin **B** in veronal buffer. (Appl. Microbiol. **14** : 130 - 132).
 51. Read R. B. and J. C. Bradshaw. 1966b. Staphylococcal enterotoxin **B** thermal inactivation in milk (J. Dairy Sci **49** : 202).
 52. Report of the Public Health Laboratory Service - Food Poisoning in England, and Wales, Food Poisoning of all types. (Monthly Bull. Min. Health and Public Health Laboratory Service. **21** : 180, 1962 ; **22** : 200, 1963, **23** : 189, 1964).
 53. Schantz E. J., W. C. Roessler, J. Wagman, L. Spero, D. A. Dunnery and M. S. Bergdoll. 1965. Purification of Staphylococcal enterotoxin. (Biochemistry **4** : 1011 - 1016).
 54. Scott W. J. 1961. Available water and microbial growth. Proceedings Low Temperature (Microbiology Symposium Campbell Soup Company. p. 89 - 105).
 55. Segalove M. and C. M. Dack. 1941. Relation of time and temperature to growth and enterotoxin production of staphylococci. (Food res. **6** : 127 - 133).
 56. Spero L. D., Stefanye P. L. Brecher H. M. Jacoby J. E. Dalidowicz and E. J. Schantz. 1965. Amino Acid composition and terminal amino acid of staphylococcal enterotoxin **B**. (Biochemistry **4** : 1024 - 1030).
 57. Steel K. J. and H. E. Ross. 1963. Survival of freeze dried bacteria cultures. (J. Appl. Bacteriol. **26** : 370 - 375).
 58. Thatcher F. S. and W. A. Simon. 1956. Comparative appraisal of the properties of staphylococci isolated from clinical sites and from dairy products. (Can. J. Microbiol. **2** : 703 - 714).
 59. Thatcher F. S., J. Robinson and I. Erdman. 1962. The «vacuum pack» method of packaging foods in relation to the formation of the botulinum and staphylococcus toxins. (J. Appl. Bacteriol. **25** : 120 - 124).
 60. Troller J. A. and W. C. Frazier. 1963a. Repression of Staphylococcus aureus by food bacteria. I. Effect of environmental factors on inhibition. (Appl. Microbiol. **11** : 11 - 14).
 61. Troller J. A. and W. C. Frazier. 1963b. Repression Staphylococcus aureus by food bacteria. II. Causes of inhibition. (Appl. Microbiol. **11** : 163 - 165).

62. Van Prohaska J. M., J. Jacobson, C. T. Drake and T. Tan. 1959. Staphylococcus enterotoxin enteritis. (Surgery, Gyn. Obst. **109** : 73 - 77).
 63. Warren S. E., H. Sugiyama and J. Van Prohaska. 1963. Correlation of staphylococcal enterotoxins with experimentally induced enterocolitis. (Surg. Gyn. Obst. **116** : 29 - 33).
 64. Weiser H. H. 1962. Practical Food Microbiology and Technology. p. 90. The AVI Publishing Company Inc. Westport, Connecticut. U.S.A.
 65. Williams R.E.O. 1963. Healthy carriage of Staphylococcus aureus : its prevalence and importance. (Bacteriol. Rev. **27** : 56 - 71).
 66. Woodburn M. M. and D. H. Strong. 1960. Survival of Salmonella Typhimurium, Staphylococcus aureus and Streptococcus faecalis frozen in simplified food substrates. (Appl. Microbiol. **8** : 109).
 67. Zottola E. A. and Al-Dulaimi and J. J. Jeseski. 1965. Heat resistance of Staphylococcus aureus isolated from milk and cheese. (J. Dairy Sci. **48** : 774).
-