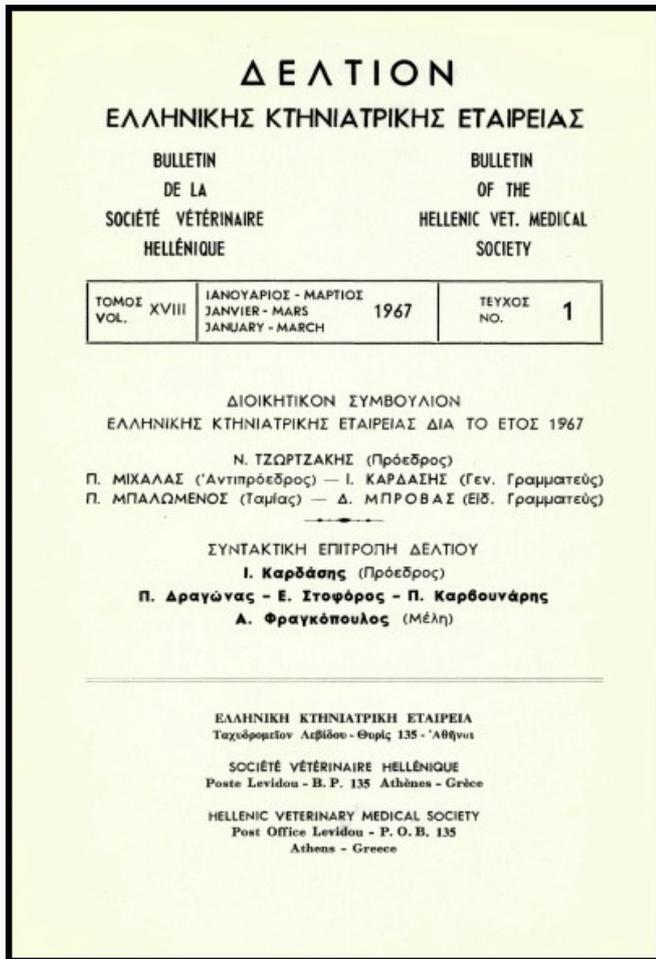


# Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society

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\*

Ἵ π ὀ

Κωνσταντίνου Α: Γενηγιώργη MS, PhD, DVM  
Τμήμα Ἐπιδημιολογίας καὶ  
Προληπτικῆς Ἱατρικῆς τοῦ  
Πανεπιστημίου τῆς Καλιφορνίας, Davis

## Ε Ι Σ Α Γ Ω Γ Η

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

Οἱ σταφυλόκοκκοι ἀποτελοῦν τὴν κυριωτέραν 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 διαφορὰς 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 αὐτὴ ἤρχισεν ἤδη μεταδιδόμενη καὶ εἰς τὴν Εὐρώπην, συμβαδίζουσα μετὰ τῆς αὔξησεως 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 Ἐταιρείαν κατὰ τὴν ἑκτακτον συνεδρίασιν τῆς 3ης Ὀκτωβρίου 1966.

γους: Πρῶτον, εἰς τὸ γεγονός ὅτι τὰ περισσότερα τῶν ἀτόμων καταφεύγουν εἰς τὰς ἱατρικὰς ἀρχὰς μόνον εἰς σοβαρὰς περιπτώσεις δηλητηριάσεων. Δεύτερον, εἰς τὸ γεγονός ὅτι εἰς τὰς περισσότερας τῶν χωρῶν ἡ μελέτη ἐκάστης περιπτώσεως, ὡς καὶ ἡ συγκέντρωσις στατιστικῶν στοιχείων εἶναι ἔλλιπής. Ἐκλεκτὸν παράδειγμα ἀποτελεῖ ἡ Καλιφόρνια, εἰς τὰς ΗΠΑ, ἡ ὁποία εἰς τὰς ἐπισήμους στατιστικὰς φέρεται, ὡς παρουσιάζουσα τὴν μεγαλύτεραν συχνότητα τροφικῶν δηλητηριάσεων εἰς ὁλόκληρον τὴν χώραν. Ἐκ πρώτης ὄψεως, τὸ γεγονός αὐτὸ φαίνεται ἀντικατοπτρίζον ἔλλιπῆ 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 γεγονός αὐτὸ συντελεῖ καὶ ἡ σχετικῶς ἡπία μορφή τῶν συμπτωμάτων, ὡς καὶ ἡ ταχεῖα ἀποκατάστασις τῆς ὑγείας τοῦ ἀσθενοῦς.

Τὸ θέμα των σταφυλοκοκκικῶν τροφοδηλητηριάσεων ἀποτελεῖ ἐπὶ τοῦ παρόντος ἓν τῶν πλέον «θερμῶν» προβλημάτων εἰς τὴν ὑγιεινὴν τῶν τροφίμων καὶ ἑκατοντάδες ἐπιστημόνων ἀσχολοῦνται εἰς τὴν συγκέντρωσιν περισσοτέρων 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

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

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

## Α Ι Τ Ι Ο Λ Ο Γ Ι Α

### 1. Γενικά

Αἱ σταφυλοκοκκικαὶ τροφοδηλητηριάσεις ὀφείλονται εἰς τὴν κατανώλωσιν τροφίμων περιεχόντων προσχηματισθείσας ἐξωτοξίνιας (ἐντεροτοξίνιας), παραχθείσας ὑπὸ στελεχῶν τοῦ εἶδους **Staphylococcus aureus**. Ὑπὸ ὠρισμένας συνθήκας, νόσος παρουσιάζουσα τὰ αὐτὰ συμπτώματα δυνατὸν 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 ὄξύ ἐκ τῆς γλυκόζης ἀναερόβιως. Τὸ γένος *Micrococcus* περιλαμβάνει τοὺς κυρίως σαπροφυτικούς κόκκους, οἱ ὅποιοι παράγουν ὄξύ 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 σταφυλοπηκτάσιν καὶ τὴν ἀναερόβιον ζύμωσιν τῆς μαννιτόλης. Ἐπὶ πλέον περιγράφει ἕν μόνον εἶδος, τὸ τοῦ **S. epidermidis**.

Ἐπὶ τοῦ παρόντος, οἱ εἰδικοί συμφωνοῦν εἰς τὸ ὅτι αἱ ἐντεροτοξίναι παράγονται μόνον ὑπὸ ὠρισμένων 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 ἐντεροτοξίνιας (Haynes καὶ Hucker 1945, Thatcher καὶ Simon 1956 Genigeorgis 1963). Ἐκτὸς τῆς περιπτώσεως τοῦ **S. aureus**, οὐδὲν τῶν ὡς ἄνω εἰδῶν

ἀπεδείχθη παράγον έντεροτοξίνης, επί τῇ βάσει τῶν προσφάτων χρησιμοποιομένων ὀρολογικῶν μεθόδων ἀνιχνεύσεως των.

Ἐφ' ὅσον αἱ έντεροτοξίναι παράγονται ὑπὸ ὀρισμένων στελεχῶν τοῦ εἴδους **S. aureus**, ἐκτεταμέναι μελέται ἔλαβον χώραν ἐν τῇ προσπαθείᾳ ὅπως συσχετισθῆ ἡ παραγωγή των μετ' ἄλλων φυσικοχημικῶν χαρακτηριστικῶν τῶν έντεροτοξικῶν ἢ μὴ στελεχῶν. Ὡς ἀποτέλεσμα τῶν έντόνων 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 ὀρισμένα ἀντιβιοτικά καὶ τέλος ἡ εὐαισθησία εἰς ὀρισμένους βακτηριοφάγους, προετάθησαν ὑπὸ πολλῶν ὡς ἔμμεσοι δεῖκται παραγωγῆς έντεροτοξινῶν. Σήμερον πιστεύομεν ὅτι ἡ πλειονότης τῶν έντεροτοξικῶν στελεχῶν ἀποτελεῖ μίαν ἀρκετὰ ὁμοίμορφον ὁμάδα, ἢ ὁποῖα, μέχρις ἐνὸς ὀρίου, παρουσιάζει κοινὰ χαρακτηριστικά, ὅπως ἡ παραγωγή σταφυλοπηκτάσης, φωσφατάσης, ζελατινάσης, λιπάσης, μιᾶς τούλάχιστον τῶν αἱμολυσινῶν α, β ἢ δ, χρυσιζοῦσαν χρωστικὴν 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 ὄλων τῶν έντεροτοξικῶν, ὡς καὶ ὑπὸ μὴ έντεροτοξικῶν στελεχῶν. Σήμερον παραδεχόμεθα ὅτι ἡ παραγωγή έντεροτοξινῶν ἀποτελεῖ ἴδιον χαρακτηριστικὸν ὀρισμένων στελεχῶν καὶ ὅτι ἐλέγχεται γενετικῶς. Ἀπεδείχθη ἤδη, ὅτι διὰ τῆς χρήσεως βακτηριοφάγων, ἡ ἰδιότης δύναται νὰ μεταδοθῆ ἐκ τοξικῶν εἰς μὴ τοξικά στελέχη (Transubction). 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 λανθάνουσαν 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 μολύνη ἄλλο μικροβιακὸν κύτταρον καὶ μετατραπῆ εἰς λανθάνοντα (temperate). Οἱ ἀπόγονοι τοῦ μολυνθέντος μικροβιακοῦ κυττάρου (lysogenic cells) φέρουν τὸ χαρακτηριστικὸν παραγωγῆς έντεροτοξίνης **A**.

## 2. Τύποι και ιδιότητες έντεροτοξινών

Τέσσερες αντιγονικῶς διαφορετικοὶ τύποι έντεροτοξινῶν 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  $30.000 \pm 1000$  (Bergdoll et al. 1965), τὸ δὲ ἰσοηλεκτρικὸν σημεῖον 8.55. Παρουσιάζει μεγίστην ἀπορρόφησην τοῦ φωτός εἰς μήκος κύματος 277 μμ. Τὸ ὦς 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 γαλάς, ένδοφλεβίως καὶ ένδοπεριτοναϊκῶς, οὐχὶ ὅμως καὶ per os.

Ἡ έντεροτοξίνη Β εἶναι θερμοανθεκτική, ἡ δὲ παλαιὰ μέθοδος ἀνιχνεύσεως της καὶ γενικὰ τῶν έντεροτοξινῶν ἐβασίζετο εἰς τὸν βρασμὸν τοῦ ἐκχυλίσματος τοξικῆς τροφῆς ἢ θεραπευτικοῦ ὑποστρώματος ἐπὶ 30 λεπτά καὶ ἓν συνεχεῖα χορηγήσεως τοῦ ὕλικου ένδοφλεβίως ἢ ένδοπεριτοναϊκῶς εἰς γαλάς (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) ὑπελογίσθη, 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 D<sup>1</sup>). Εἰς τὸ ὠμὸν 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  $Z^2$  τῆς ἀδρανοποιήσεως τῆς τοξίνης εἰς τὸ γάλα ὑπελογίσθη εἰς  $46.6 F^0$  ( $8,11^0 C$ ) (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 ( $22–24^0 C$ ). 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 ἔντεροτοξίνη (δὲν καθορίζει τύπον) παρέμεινε δραστικὴ εἰς pH 4.5–8.2 μετὰ 24 ὥρας εἰς  $37^0 C$ , εἰς pH 3.0 καὶ 10 μετὰ 4 ὥρας εἰς  $22–24^0 C$  καὶ εἰς pH 3.5 μετὰ 22 ὥρας εἰς  $27^0 C$ . Ἡ τοξικότης ἀπωλέσθη εἰς pH 12 μετὰ 12 ὥρας εἰς  $22–24^0 C$ . Οὐδεμίαν ἀπώλεια τῆς τοξικότητος καὶ τῆς διαλυτότητος παρουσιάσθη μετὰ κατάψυξιν, ἀποξηράνσιν καὶ διατήρησιν εἰς  $4^0 C$ . 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).

**Ἐντεροτοξίνη Α.** Ἐλήφθη εἰς καθαρὰν μορφήν ὑπὸ τοῦ Bergdoll καὶ Schantz (unpublished data). Εἶναι πρωτεΐνη τοῦ αὐτοῦ περιῖπου μοριακοῦ βάρους μετὰ τῆς ἔντεροτοξίνης 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 ἔντεροτοξίνην Α, εἰς ἀπεσταγμένον ὕδωρ, ὑπελογίσθη εἰς  $48^0 F$  ( $8.89^0 C$ ), εὐρέθη δὲ ἀνθεκτικὴ εἰς  $250^0 F$  ( $121.1^0 C$ ) ἐπὶ 11 λεπτά ( $F_{250}^{48} = 11$ ).

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

**Ἐντεροτοξίνη 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 βαθμούς, οἱ ὅποιοι αὐξάνουν ἢ μειώνουν τὴν τιμὴν  $D$  κατὰ 1 λογαριθμικὴν μονάδα ἢ  $90\%$ .

**Άλλαι έντεροτοξίνοι.** Ύπάρχουν ένδειξεις ότι και άλλαι έντεροτοξίνοι παράγονται υπό τών σταφυλοκόκκων. Μή θερμοανθεκτικά (30 λεπτά εις 100° C), έμετικά διά τας γαλαξ ούσαι διεπιστώθησαν υπό του Casman (1965) εις καλλιεργητικά ύλικά, ή σημασία των όμως διά τόν άνθρωπον δέν διεπιστώθη είσέτι.

## Ο Ι Κ Ο Λ Ο Γ Ι Α

### 1. Διαβίωσις.

Οί σταφυλόκοκκοι είναι εύρέως διαδεδομένοι εις τò περιβάλλον, ώς κυρία των όμως πηγή θεωρείται ó βλεννογόνοσ του ρινοφάρυγγοσ και τò δέρμα του ανθρώπου και τών ζώων (Elek 1959). Συμφώνωσ πρόσ τήν άνασκόπησιν τήσ διαδόσεωσ τών σταφυλοκόκκων υπό του Williams (1963), οί σταφυλόκοκκοι είναι άποτελεσματικά παράσιτα του έπιθηλίου τήσ ρινόσ και εις μικρότερον βαθμόν του δέρματοσ του ανθρώπου και μερικών ζώων. Ό ίδιοσ συγγραφεύσ άναφέρει ότι 30-50% τών ύγιών άτόμων είναι φορείσ σταφυλοκόκκων εις τάσ ρινικάσ κοιλότητασ. Τó ποσοστόν αύτό εις τουσ άσθενείσ και τò προσωπικόν των νοσσοκομείων άνέρχεται εις 60-80%. Ύγιεισ φαρυγγικοί φορείσ παρουσιάζονται εις συχνότητα 4-7% εις τάσ ΗΠΑ και Άγγλίαν και 40-70% εις τάσ Σκανδιναυικάσ χώρασ. Τò δέρμα είναι μεμολυσμένον εις 4-44% τών περιπτώσεων, αί δέ χείρεσ 14-40%.

Ύπάρχουν ένδειξεις, ότι οί σταφυλόκοκκοι, οί παρουσιαζόμενοι εις τόν άνθρωπον και τά ζώα, δέν είναι χαρακτηριστικοί του είδουσ και ότι ύπάρχει άμφίδρομοσ άνταλλαγή των έκ του ανθρώπου εις τά ζώα και τάνάπαλιν (Genigeorgis και Sadler 1966c).

### 2. Εϊδη τροφίμων.

Ώρισμένα είδη τροφίμων είναι περισσότερον κατάλληλα άλλων διά τήν άνάπτυξιν των σταφυλοκόκκων και τήν παραγωγήν έντεροτοξινών. Κατά τήν άνάλυσιν 137 περιπτώσεων άποδειχθεισών σταφυλοκοκκικών δηλητηριάσεων, αί όποϊαι συνέβησαν εις τάσ ΗΠΑ κατά τά έτη 1956 — 1961, τά προϊόντα κρέατοσ ήσαν ύπεύθυνα διά 57 περιπτώσεισ (45 ώφείλοντο εις ζαμπόν), είδη σακχαροπλαστικήσ διά 25, κρέασ πουλερικών διά 23 (ινδιάνων 14, όρνίθων 9), σαλάτα πατάτασ 10, γάλα και τυρόσ 8, ιχθείσ 5, σαλάτα ώων 2 και διάφοροι άλλαι τροφαί 11. Συμφώνωσ πρόσ τάσ στατιστικάσ τήσ Άγγλικήσ Ύπηρεσίασ Δημοσίασ Ύγείασ (Pantoleon 1965), έκ 239 περιπτώσεων σταφυλοκοκκικών τροφοδηλητηριάσεων, αί όποϊαι συνέβησαν κατά τά έτη 1957 — 1961, αί 166 ώφείλοντο εις κρέατα, 14 εις ιχθείσ, 16 εις γάλα, 15 εις είδη σακχαροπλαστικήσ, 2 εις ώά, 25 εις λαχανικά και 1 εις άλλασ τροφάσ. Εις άμφοτέρασ τάσ περιπτώσεισ τά άλίπαστα κρέατα άπετέλεσαν τήν κυρίαν πηγήν τήσ έντεροτοξίνησ.

Πολλοί παράγοντεσ επηρεάζουν τήν καταλληλότητα μιáσ τρο-

φής, ως θρεπτικού υποστρώματος, δια τήν ανάπτυξιν τών σταφυλοκόκκων καί τήν παραγωγήν έντεροτοξινών. Βασικοί παράγοντες εἶναι ἡ χημική σύνθεσις τῆς τροφῆς, τὸ pH, ἡ παρουσία ἄλλων μικροβίων (μικροβιακή χλωρίς), ἡ ἀτμόσφαιρα, ἡ θερμοκρασία, εἰς τὴν ὁποίαν διατηρεῖται ἡ τροφή, ὡς καί ὁ τρόπος παραγωγῆς καί διαθέσεως. Τὸ τελευταῖον καθορίζει, μέχρις ἑνὸς σημείου, καί τὸν βαθμὸν μόλυνσεως τοῦ προϊόντος δια σταφυλοκόκκων, προερχομένων ἐκ τῶν ἐργατῶν ἢ τοῦ περιβάλλοντος.

### 3. Μικροβιακή 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 καί Smull 1955, Peterson et al 1962, Troller καί Frazier 1963 α, β, Casman et al 1963). Ἡ μικροβιακῆ φύσεως παρεμπόδισις τῆς ἀναπτύξεως τῶν σταφυλοκόκκων κατ' τῆς παραγωγῆς έντεροτοξινῶν ὀφείλεται κυρίως εἰς τὸν συναγωνισμόν δια οὐσιώδη θρεπτικά ὑλικά, τὴν παραγωγήν τοξικῶν οὐσιῶν (ἀντιβιωτικά) (Troller καί Frazier 1963α), ἢ τέλος τὴν ἀλλαγὴν τοῦ pH. (Dack καί Lippitz 1962, Kao καί Frazier 1966). Κατὰ τὸν Peterson et al (1962), ἡ πλειονότης τῶν σταφυλοκοκκικῶν τροφοδηλητηριάσεων ὀφείλετο εἰς τρόφιμα, τῶν ὁποίων ἡ μικροβιακή χλωρίς ἐμειώθη σημαντικῶς. Ὡς ἐκ τούτου, ἡ ἐπακολουθήσασα σταφυλοκοκκική μόλυνσις παρέμεινεν ἄνευ σοβαροῦ συναγωνισμοῦ καί κατέληξεν εἰς πλουσίαν ἀνάπτυξιν καί παραγωγήν έντεροτοξίνης. Κλασικὸν παράδειγμα ἐλλείψεως σοβαροῦ συναγωνισμοῦ ἀποτελεῖ ἡ περίπτωσις τῶν ἀλιπάστων κρεάτων (cured meats), ὡς τὸ ζαμπόν. Συμφώνως πρὸς τὰς διεθνεῖς στατιστικάς, τὰ ἀλίπαστα κρέατα ἀποτελοῦν τὴν κυριωτέραν αἰτίαν τροφικῶν δηλητηριάσεων. Ἡ μεγάλη περιεκτικότης τῶν κρεάτων αὐτῶν εἰς χλωριούχον νάτριον, καί 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 καί παρήγαγον έντεροτοξίνην Ἀ μόνον ὅταν ἐνωφθαλμίσθησαν εἰς τὴν ἐπιφανείαν τοῦ ὠμοῦ κρέατος καί 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 σταφυλοκοκκική έντεροίτις, ἐμφανιζομένη εἰς ἀσθενεῖς μετὰ έντονον ἀντιβιωτικὴν θεραπείαν. Τέλος, ὁ κίνδυνος αὐξήσεως τῆς πιθανότητος πλουσίας σταφυλοκοκκικῆς ἀναπτύξεως, κατόπιν ἐφαρμογῆς ἰονιζουσῶν ἀκτινοβολιῶν ἐπὶ τῶν τροφίμων, ἀπέδειχθη ὑπὸ τοῦ Eddy καί Ingram (1962).

Οὔτοι παρετήρησαν ὅτι σταφυλόκοκκοι ἑνοφθαλμισθέντες εἰς bacon καὶ εἰς ἀριθμὸν  $1 \times 10^3$ /gr ἠυξήθησαν μετὰ ἀναερόβιον ἐπώασιν εἰς  $1 \times 10^4$  -  $1 \times 10^5$ /gr. Ἐὰν ὅμως ἡ πλουσία μικροβιακὴ χλωρίς τοῦ bacon ἐμειοῦτο διὰ τῆς χρήσεως ἰονιζουσῶν ἀκτινοβολιῶν, τότε ὁ τελικὸς ἀριθμὸς τῶν σταφυλοκόκκων, ὑπὸ τὰς αὐτὰς συνθήκας ἐπώα-σεως, ἀνῆλθεν εἰς  $1 \times 10^7$ /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) (Digiacindo καὶ Frazier 1966 καὶ Kao καὶ Frazier 1966). Μέχρι πρό τινος ἐπιστεῦετο ὅτι ὁ μικροβιακὸς συναγωνισμὸς κατέληγε πάντοτε εἰς βᾶρος 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 παρημποδίζε τὴν ἀνάπτυξιν τῶν σταφυλοκόκ-κων καὶ ὁ ἄλλος τὴν παραγωγὴν τοξίνης, ἄνευ ἐμφανῶν ἀποτελε-σμάτων ἐπὶ τῆς ἀναπτύξεως. Οἱ σταφυλόκοκκοι παρημποδίσαν τὴν ἀνάπτυξιν δύο εἰδῶν, ἐνῶ ὁ *Bacillus cereus* ἐβελτίωσε 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). Ἄτμόσφαιρα περιέχουσα 10-40%  $CO_2$  ἐχρησιμοποιεῖτο παλαιόθεν διὰ πλουσίαν ἀνάπτυξιν τῶν σταφυλοκόκκων καὶ παραγωγὴν ἐντερο-τοξινῶν εἰς καλλιεργητικὰ 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 ἠύ-ξηθή 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 ἐπιβληθῆ 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 αὔξάνει συνεχῶς καὶ οὐμβαδίζει, εἰς ἐκάστην χώραν, μετὰ τῆς αὔ-ξησεως 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 μυκῆτων ἐπηρεαζόντων τὴν ποιότητα τῶν προϊόντων. Ἐχει ἤδη ἀποδειχθῆ ὅτι τὸ μεγαλύτερον ποσοστὸν τῆς σαπροφυτι-

κῆς χλωρίδος ἀποτελεῖται ἐξ ἀεροβίων μικροοργανισμῶν καὶ μυκήτων. Τὸ γεγονός αὐτὸ ὤθησε τὰς βιομηχανίας τροφίμων, ὅπως ἀρχίσουν συσκευασίαν τῶν εὐαισθητῶν τροφίμων εἰς πλαστικά φύλλα (cellophane films κ.λ.π.) καὶ 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 καὶ παραμένον δρᾶ ἀνασταλτικῶς ἐπὶ τῆς ἀναπτύξεως τῶν μικροβίων. Διὰ τῆς νέας αὐτῆς μεθόδου, ἡ ζωὴ τῶν εὐαισθητῶν τροφίμων ηὐξήθη σημαντικῶς. Ἡ νέα μέθοδος συσκευασίας εἶναι ἐλευθέρᾳ 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 συναγωνισμὸν τῶν σταφυλοκόκκων καὶ ὡς ἐκ τούτου δημιουργεῖ ἀρίστως συνθήκας διὰ τὴν παραγωγὴν ἐντεροτοξινῶν. Οἱ Thatcher et al (1962), εἰς τὸν Καναδᾶν, ἀναφέρουν παραγωγὴν ἐντεροτοξίνης εἰς καναδικὸν bacon, ἐνοφθαλμισθὲν διὰ  $1 \times 10^8$ /gr σταφυλοκόκκων καὶ ἐπωασθὲν εἰς ἀτμόσφαιραν ἀέρος,  $N_2$ ,  $H_2$  ἢ μίγματος  $O_2$  μετὰ 5%  $CO_2$ . Παρομοίᾳς φύσεως πειράματα ἔχομεν ἤδη ἀρχίσει εἰς τὸ ἐργαστήριόν μας, χρησιμοποιοῦντας σταφυλοκόκκους καὶ *Cl. botulinum*. Τὰ πειράματα αὐτὰ ἀπέδειξαν ὅτι ἡ ἐντεροτοξίνη Β παράγεται εἰς ζαμπὸν (ham) ἀναεροβίως, εἰς ποσότητα μικροτέραν ἀπὸ ὅ,τι ἀεροβίως. Τὸ χρησιμοποιηθὲν ζαμπὸν ἦτο ἐμπορικὸν ἢ κατασκευασθὲν εἰς τὸ ἐργαστήριον. Ἀξιοσημείωτον εἶναι τὸ γεγονός, ὅτι ἡ μόλυνσις τοῦ ζαμπὸν διὰ 1500 σταφυλοκόκκων κατὰ γραμμᾶριον ὠδήγησεν εἰς καλὴν ἀνάπτυξιν καὶ παραγωγὴν ἐντεροτοξίνης (1 mg/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 μόλυνσεως εἰς τὸ ἐργαστήριον κατὰ τὴν ὥραν τοῦ τεμαχισμοῦ τοῦ ζαμπὸν καὶ τῆς συσκευασίας. Εἰς ἄλλα πειράματα ἀνεύρομεν ὅτι ἀναλόγως τῆς συνθέσεως τοῦ προϊόντος (περιεχόμενον εἰς  $H_2O$ ,  $NaNO_3$ ,  $NaCl$ , PH), ἢ μικρὰ μόλυνσις δύναται νὰ ὀδηγήσῃ εἰς πλουσίαν ἀνάπτυξιν καὶ παραγωγὴν ἐντεροτοξίνης εἰς 10° C, ὑπὸ ἀναεροβίους συνθήκας, ἢ διατηρηθῇ εἰς λανθάνουσαν κατάστασιν ἐπὶ 4 τουλάχιστον μῆνας. Ἡ διατήρησις λανθάνουσῶν μικροβιακῶν ἀποικιῶν ἀποτελεῖ ἐνδιαφέρον πρόβλημα καὶ ἐγκυμονεῖ ἐμφανεῖς κινδύνους. Αἱ μικραὶ ἀποικίαι δύνανται εὐκόλως νὰ ὀδηγήσουν εἰς πλουσίαν σταφυλοκοκκικὴν ἀνάπτυξιν καὶ παρα-

γωγὴν ἐντεροτοξίνης, εὐθὺς ὡς ἡ θερμοκρασία αὐξηθῆ καὶ τὸ περιβάλλον μεταβληθῆ ἀπὸ ἀναερόβιον εἰς ἀερόβιον, (προπαρασκευῆ σάντουιτς καὶ λήψις εἰς ἐκδρομὴν). Μεγάλου ἐνδιαφέροντος εἶναι ἐπίσης καὶ τὸ γεγονός ὅτι ὑπὸ ἀναεροβίους 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 εἴδους αὐτοῦ συνεχίζονται.

### 5. Ἐπίδρασις pH.

Αἱ παρουσιαζόμεναι εἰς τὴν διεθνή βιβλιογραφίαν κατώτεροι καὶ ἀνώτεροι τιμαὶ τοῦ pH, εἰς τὰς ὁποίας δύνανται νὰ ἀναπτυχθοῦν οἱ σταφυλοκόκκοι, δὲν συμφωνοῦν. Τοῦτο ὀφείλεται εἰς τὰς διαφόρους χρησιμοποιοθεύσας πειραματικὰς συνθήκας, ὡς καὶ τὰ διάφορα θρεπτικὰ 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, εὐρομεν 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. Ἄναερόβιος ἀνάπτυξις ἦτο δυνατὴ εἰς τὸν αὐτὸν ζωμὸν εἰς 8.97, κατόπιν πλουσίου ἐνοφθαλμισμοῦ (Genigeorgis, unpublished data). Χρησιμοποιῶντας ζαμπὸν διαφόρου περιεκτικότητος εἰς H<sub>2</sub>O, NaCl, NaNO<sub>2</sub> καὶ διαφορετικοῦ pH παρατηρήσαμεν, εἰς μερικὰς περιπτώσεις, καλὴν ἀναερόβιον ἀνάπτυξιν εἰς pH 4.8 καὶ ἀσθενῆ εἰς pH 4.63. Εἰς ἄλλας περιπτώσεις, pH 4.62 ἔδρασαν ἀνασταλτικῶς ἐπὶ τῆς σταφυλοκοκκικῆς ἀναπτύξεως, ὁ δὲ ἀριθμὸς τῶν σταφυλοκόκκων ἐμειώθη σημαντικῶς. Εἰς παρατεταμένην ἐπάωσιν 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. Τοιοῦτοτρόπως σκευάσματα ἀλιπάστων κρεάτων, ἔχοντα ἀρ-

χικόν pH 5.7 - 5.9 εύρέθησαν εις διάφορα καταστήματα έχοντα pH 6.0 - 6.9. Ἡ αύξησις αὐτῆ τοῦ pH ὀφείλεται εις κακομεταχείρησιν τῶν προϊόντων κατὰ τὰς μεταφοράς, ὡς καὶ ἔκθεσιν εις ηὔξημέναν θερμοκρασίαν, ἔχουσαν 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 εὐρέως (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 καλύτεραν παραγωγὴν ἐντεροτοξίνης B εις pH 6.0, ἔναντι 5.0, 7.0 καὶ 8.0, εις ἡμισυνθετικὰ ὑποστρώματα, έχοντα ὡς βάσιν ἐνζυμικὰ προϊόντα τῆς καζεΐνης. Ἐν ἀντιθέσει οἱ Genigeorgis καὶ Sadler (1966 d) ἀναφέρουν μεγαλύτεραν 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 καλύτεραν παραγωγὴν ἐντεροτοξίνης A εις ἡμισυνθετικὸν ὑπόστρωμα εις pH 5.5, ἐνῶ εις ζωμὸν κρέατος ἡ εἰκὼν ἦτο ἡ ἰδίαν, 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, έχοντες 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 ἐπάσιν τῶν μολυνθέντων τροφίμων (Genigeorgis, unpublished data). Γενικῶς, οἱ σταφυλόκοκκοι δὲν θεωροῦνται θερμοανθεκτικοί. Τὸ περιβάλλον (pH, ἄλατα, λίπη, πρωτεΐναι, 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 έντεροτοξικοί σταφυλόκοκκοι. ένοφθαλμισθέντες εις custard (είδος πουτίγγας), εις αριθμόν  $1 \times 10^7/\text{gr}$ , έμειώθησαν εις μη άνιχνεύσιμα έπίπεδα, μετά έκθεσιν εις  $60^\circ \text{C}$  έπι 5.9'. Τρία εκ τών 236 στελεχών, άπομονωθέντων εκ τυρών και ένοφθαλμισθέντων εις γάλα, επέζησαν εκθέσεως εις θερμοκρασίαν  $66.6^\circ \text{C}$  έπι 21', παρουσιάσαντα μείωσιν του αριθμού τών κυττάρων από  $1 \times 10^6$  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  $58^\circ \text{C}$ ,  $4.5'$  εις  $59^\circ \text{C}$ ,  $2.6'$  εις  $60^\circ \text{C}$ . β) Εις άποβουτυρωμένο γάλα  $13.2'$  εις  $58^\circ \text{C}$ ,  $4.5'$  εις  $60^\circ \text{C}$ , και  $2.6'$  εις  $62^\circ \text{C}$ . γ) Εις κανονικό γάλα,  $7.3'$  εις  $58^\circ \text{C}$ ,  $3.0$  εις  $60^\circ \text{C}$  και  $1.4'$  εις  $62^\circ \text{C}$ .

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

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

έντεροτοξινών. Ὁ Dack (1965) ἀναφέρει ἀποτελέσματα πειραμάτων, βασιζομένων εἰς τὴν χρῆσιν ἑθελοντῶν. Κατ' αὐτόν, κρέμα γάλακτος κατέστη τοξική, κατόπιν ἐκθέσεως εἰς θερμοκρασίαν δωματίου (24-25° C) ἐπὶ 5 ὥρας, πατάτες πουργεὶ μετὰ γάλακτος ἐντὸς 6 ὥρων, στρεΐδια ἐντὸς 72 ὥρων εἰς 37° C, κονσερβοποιημένος ἀραβόσιτος ἐντὸς 96 ὥρων εἰς 37° C, Bacon σάντουιτς ἐντὸς 22 ὥρων εἰς 37° C. Χρησιμοποιούντες τὰς νέας ὁρολογικὰς μεθόδους τῶν φθοριζόντων ἀντισωμάτων καὶ τῆς διαχύσεως εἰς ζέλ (Gel-diffusion) (Genigeorgis καὶ Sadler 1966 α, β) ἀνεύρομεν ὅτι ζαμπόν ἐνοφθαλμισθὲν διὰ 1500 σταφυλοκόκκων κατὰ γραμμάριον καὶ ἐπωασθὲν εἰς 24° C καὶ 30° C ἀεροβίως καὶ ἀναεροβίως κατέστη τοξικόν, (1μgr τοξίνης/gr), μετὰ 72, 96, 48 καὶ 96 ὥρας, ἀντιστοίχως. Χρησιμοποιῶντας τὴν τεχνικὴν τῶν φθοριζόντων ἀντισωμάτων, παρατηρήσαμεν τὴν παραγωγὴν μικροτέρων ποσῶν ἐντεροτοξίνης B εἰς 12, 12, 9 καὶ 12 ὥρας. (Genigeorgis unpublished data). Οἱ Donelly et al. (1966) ἀναφέρουν παραγωγὴν ἐντεροτοξίνης A εἰς παστεριωμένον καὶ χαμηλῆς μολύνσεως γάλα ἐντὸς 9-12 ὥρων εἰς 35° C, 12-18 ὥρων εἰς 30° C, 18-48 ὥρων εἰς 25° C καὶ 72-96 ὥρων εἰς 20° C. Ἡ παραγωγὴ ἐντεροτοξίνης A παρατηρήθη εἰς τὰς θερμοκρασίας 25, 30 καὶ 35° C, ὅταν ἤδη ὁ ἀριθμὸς τῶν σταφυλοκόκκων ἦτο περίπου  $1 \times 10^8$  κύτταρα/κ.έ. Τὰ πειράματα αὐτὰ ἐβασίσθησαν εἰς τὴν τεχνικὴν τῆς διαχύσεως εἰς 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 εἰς τὸ γεγονός ὅτι δυνάμεθα νὰ διατηρήσωμεν εἰς θερμοκρασίαν δωματίου προϊόντα, τὰ ὁποῖα ἄλλως ἠλλοιοῦντο καὶ καθίσταντο ἀκατάλληλα πρὸς βρῶσιν ἐντὸς ὥρων. Ἐν ὄψει 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 εἰς τὰ ὡς ἄνω τρόφιμα, παρουσιάζει ἰδιαίτερον 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 ὀλικοῦ περιεχομένου ὕδατος, ἀλλὰ ἐκ τοῦ ποσοῦ τοῦ ἐλευθέρου ὕδατος, διαθεσίμου διὰ τὰς φυσικοχημικὰς ἀντιδράσεις (Scott 1961). Πρὸς διευκρίνισιν τοῦ προβλήματος θὰ χρησιμοποιήσω-

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

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 ζυμὸς 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  $E_u$ , ἢ ὁποῖα καὶ εὐρέθη ἀποτελοῦσα τὸ κατώτατον ὄριον, ἐπιτρέπον ἀνάπτυξιν σταφυλοκόκκων (Scott 1961). Τὸ ὡς ἄνω παράδειγμα καθιστᾷ ἐμφανῆ τὴν σημασίαν τοῦ  $E_u$ .

Πειραματικῶς εὐρέθη 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  $E_u$ , ἢ ὁποῖα ἐπέτρεψε τὴν ἀνάπτυξιν μικροοργανισμῶν, ἀναφέρεται ἡ τιμὴ  $E_u = 0.62$ . Εἰς τὴν τιμὴν αὐτὴν ἀναπτύσσονται μόνον ὁσμόφιλοι ζῦμοι. 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 φυτικὰ προϊόντα < 5%. Αἱ τιμαὶ  $E_u$ , ἀντιστοιχοῦσαι εἰς τὰς ὡς ἄνω ὑγρασίας, εἶναι 0.05 - 0.25, καὶ ὡς ἐκ τούτου, ὑπ' αὐτὰς 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. Εὐρέθη 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.

Ἄνεφεραμεν 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 του ύψηλου περιεχομένου των εις χλωριούχον νάτριον και ώς έκ τούτου την άνευ συναγωνισμού πλουσίαν σταφυλοκοκκικήν ανάπτυξιν. Γενικώς, ή αύξησις της περιεκτικότητας της τροφής εις χλωριούχον νάτριον μειώνει την τιμήν του ένεργου ύδατος και ώς έκ τούτου παρεμποδίζει την ανάπτυξιν πολλών μικροβίων. Ή επίδρασις του άλατος επί της αναπτύξεως των σταφυλοκόκκων έμελετήθη εύρέως (Nunheimer και Fabian 1940, Lechowich et al 1956, Parfentjev και Catelli 1964). Τελευταίως, οί Genigeorgis και Sadler (1966) έμελέτησαν την επίδρασιν του άλατος επί της αναπτύξεως των σταφυλοκόκκων και της παραγωγής έντεροτοξίνης Β. Παρατηρήθη ότι ή ταχύτης αναπτύξεως αύξάνει με την μειώσιν του περιεχομένου εις τον θρεπτικόν ζωμόν άλατος (0 - 16%). Οί σταφυλόκοκκοι επέζησαν εις άλμην περιέχουσαν 23,5% άλατος, ένω ανάπτυξις παρετηρήθη εις άλμην περιέχουσαν 17,5% άλατος. Ο Genigeorgis (1965) αναφέρει παραγωγήν έντεροτοξίνης Β εις ζωμόν περιέχοντα μέχρι 10% άλατος και pH 6,9. Ύπάρχει πιθανότης, αύξησις του pH εις τιμάς άνωτέρας του pH 6,9, όπως έπιτρέψη παραγωγήν έντεροτοξίνης και εις άλμην περιέχουσαν πλέον του 10% άλατος.

#### Κ Λ Ι Ν Ι Κ Α Ι Μ Ο Ρ Φ Α Ι

Αί σταφυλοκοκκικά έντεροτοξίνα είναι ύπεύθυνοι δια δύο κλινικάς μορφάς :

**Τυπική τροφική δηλητηρίασις.** Ή μορφή αυτή όφείλεται εις την κατανάλωσιν τροφίμων περιεχόντων προσχηματισθείσας τοξίνας. Αί περισσότεραι των περιπτώσεων εις τας ΗΠΑ όφείλονται εις την έντεροτοξίνην Α (Casman 1965). Έν τούτοις, μετά την ανακάλυψιν της έντεροτοξίνης C (Bergdoll et al 1965), άπεδείχθη ότι ή τελευταία είναι ύπεύθυνος δια μεγάλον αριθμόν περιπτώσεων. Πολύ μικρός αριθμός περιπτώσεων όφείλεται εις την Β. Ύπάρχουν ήδη ένδείξεις ότι ή τελευταίως διαπιστωθείσα τοξίνη D παρουσιάζεται εις δευτέραν κατά σειράν συχνότητα μετά την Α. (Casman, personal communication). Στοιχεία δια την συχνότητα των τεσσάρων έντεροτοξινών εις άλλας χώρας έλλείπουν. Ο χρόνος έπώασεως της νόσου ποικίλλει από 1-6 ώρας, συνήθως 3, και έξαρτάται έκ της δόσεως και της ευαισθησίας του άτομου. Ή νόσος είναι όξειας μορφής και χαρακτηρίζεται υπό έμέτου, ναυτίας, κοιλιακών σπασμών, διαρροίας και συχνά κεφαλαλγίας. Μικρά μεταβολή της θερμοκρασίας είναι συνήθης. Ή νόσος παρέρχεται μετά 24 - 72 ώρας.

Ή ποσότης της τοξίνης, άπαραιτήτου δια την πρόκλησιν συμπτωμάτων εις τον άνθρωπον, είναι άγνωστος. Ο Bergdoll et al (1965) ηδρον ότι ύψηλου βαθμού καθαρότητος τοξίνα Α, Β και C παρουσιάζουν την αυτήν περίπου τοξικότητα εις τους πιθήκους και per os.

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

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

Ή δευτέρα κλινική μορφή όνομάζεται σταφυλοκοκκική έντερΐτις και παρουσιάζεται συνήθως εις άσθενείς ύπό άντιβιωτικήν θεραπείαν. Ή πλειονότης τών περιπτώσεων αναφέρεται 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 και ή γαιομυκίνη εΐναι περισσότερο συχνά ύπεύθυνοι άπό ό,τι ή πενικιλΐνη και στρεπτομυκίνη. Ή νόσος αναπαρήχθη εις *Chincillas* και ή τελεία σχέσις μεταξύ τοϋ ποσοϋ τής έντεροτοξίνης Β και τής σοβαρότητος τής νόσου άπεδείχθη. Έτέρα νόσος καλουμένη ψευδομεμβρανώδης έντερΐτις ή έντεροκωλίτις, ή όποία συνήθως άκολουθεΐ τήν δι' άντιβιωτικών θεραπείαν (πενικιλΐνη, στρεπτομυκίνη, τετρακυκΐνη) έχει άρκετήν πειραματικήν ύποστήριξιν διά νά θεωρηθη ώς όφειλομένη εις τας έντεροτοξΐνας, παρ' όλον ότι πολλακίς τά κόπρανα εΐναι άρνητικά διά σταφυλοκόκκους (Dearing et al 1958).

## Π Ρ Ο Λ Η Ψ Ι Σ

Κατόπιν τής έκτεταμένης άνασκοπήσεως τής οΐκολογίας 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 και τής παραγωγής έντεροτοξινών,  
 εις αύξησιν τών έρευνητικών μελετών επί τής βιοχημείας, παραγωγής έντεροτοξινών, επί τής παθογενείας τής νόσου και τέλος επί τής θεραπευτικής άγωγής.

Οί σταφυλόκοκκοι εΐναι εύρέως διαδεδομένοι εις τό περιβάλλον

καί ίδίως 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 ὡς ἀποτέλεσμα τὴν μείωσιν τῶν ἐργατικῶν χειρῶν καὶ ὡς 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, καὶ 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 καὶ πωλήσεως τῶν τροφίμων.

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

Ὁ συνδυασμὸς χαμηλῆς θερμοκρασίας μετὰ συσκευασίας εἰς πλαστικοὺς σάκκους ὑπο κενὸν ἀπεδείχθη ἐξαίρετος μέθοδος συντηρήσεως, λόγῳ παρεμποδίσεως 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, ὡς καὶ τῶν σταφυλοκόκκων. Ἡ μείωσις τοῦ ΡΗ τῆς τροφῆς, ὡς μέσου ἐλέγχου τῆς σταφυλοκοκκικῆς ἀναπτύξεως καὶ παραγωγῆς ἐντεροτοξινῶν, εἶναι δυνατὴ. Ἐν τούτοις, ἡ μείωσις αὐτὴ πρέπει νὰ εὐρίσκειται εἰς ἰσορροπίαν μετὰ τὰς μεταβολὰς εἰς τὴν γευστικότητα τῆς τροφῆς, παράγοντος σπουδαίου διὰ τὸν καταναλωτὴν. Τὸ αὐτὸ ἰσχύει καὶ διὰ τὴν χρῆσιν χλωριούχου νατρίου. Ἡ χρῆσις ἀντιβιοτικῶν δὲν ἀποτελεῖ λύσιν, ἄνευ χρήσεως χαμηλῶν θερμοκρασιῶν, καὶ τοῦτο διότι ὁ ἔθισμὸς τῶν σταφυλοκόκκων καὶ ἡ ἐξουδετερώσεως τῶν ἄλλων μικροβίων ὀδηγεῖ τελικῶς εἰς πλουσίαν σταφυλοκοκκικὴν ἀνάπτυξιν, ὡς 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 δυνατὸν νὰ καταλήξῃ 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.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

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. Mc Coy 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).
-