

JERZY MOLENDĄ

## Problem zakażenia mięsa końskiego pałeczkami *Salmonella*

Zakład Higieny Weterynaryjnej we Wrocławiu  
Kierownik: lek. wet. Z. SEMKA

Problem zakażenia produktów żywnościowych zwierzęcego pochodzenia pałeczkami z rodzaju *Salmonella* był przedmiotem wielu prac (1, 2, 4, 6, 8). Badania te, nie dotyczyły jednak sprawy zakażenia tymi pałeczkami mięsa końskiego. Z badań Meuszyńskiego (6) wynika, że w latach 1946—1965 wydzielono 125 szczepów *Salmonella* od koni, co stanowi 5% ogółu szczepów wyizolowanych w tym okresie od różnych gatunków zwierząt. Z danych Służewskiej i Truszczyńskiego (10) obejmujących lata 1964—1968 wynika, że w tym okresie izolowano ośmiokrotnie pał. *Salmonella* od koni. Dane te oparte są na wynikach izolacji pałeczek *Salmonella* zarówno z materiału patologicznego pochodzącego od zwierząt padłych jak i od koni poddanych ubojowi, przy czym autorzy nie podają stosunków ilościowych między tymi dwoma grupami.

Liczne publikacje (1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10) ukazujące się w ostatnich latach a dotyczące zagadnienia salmoneloz u zwierząt świadczą o ciągłej aktualności tego problemu. Celem niniejszej pracy było przebadanie stosunkowo dużej ilości prób mięsa końskiego dla zorientowania się w jakim stopniu jest ono zakażone salmonelami. Zakażone mięso stanowić może jeszcze jedno ogniwo w łańcuchu powiązań środowiskowych ludzi i zwierząt i tym samym być przyczyną zatruc pokarmowych.

### Materiał i metody

Ogółem przebadano 229 prób mięsa końskiego mrożonego, które przesłano w ciągu roku 1971 do ZHW, w celu stwierdzenia ewentualnego zakażenia pałeczkami *Salmonella*. Materiał pochodził z jednego z zakładów w którym dokonywano rozbioru tusz końskich przesyłanych z innych rzeźni. Mięso pakowano w kartony i wysyłano do chłodni składowej, gdzie je zamrażano i przechowywano. Próby do kontroli bakteriologicznej pobierano losowo, po jednej próbie z partii surowca wyprodukowanego w ciągu poszczególnych dni. Stosowano równolegle dwie metody badań:

Metoda I: 20 g rozdrobnionej tkanki mięsnej wysiewano do 100 ml bulionu z mannitołem (1000 ml bulionu, 10 g mannitolu oraz 2,25 ml 1,6% alkoholowego roztworu purpury bromokrezolowej) i inkubowano w temp. 43°C przez 24 godz. Następnie przesiewano 3 ml bulionu do podłoża Müllera-Kauffmanna w ilości 15 ml i inkubowano w temp. 43°C przez 48 godz. Z podłoża Müllera-Kauffmanna dokonywano przesiewu na podłoże stałe z zielenią brylantową (BG), które inkubowano w temp. 43°C przez 18 godz.

Metoda II: 2 g tkanki mięsnej wysiewano bezpośrednio na 10 ml podłoża namnażającego z kwaśnym seleninem sodu i inkubowano w temp. 37°C przez 48 godz. Z podłoża z kwaśnym seleninem sodu wykonywano przesiewy na agar Mc Conkey'a, który inkubowano w temp. 37°C przez 18 godz.

Powyższe metody postępowania stosowano dla próbek mięsa pobieranego z wyjałowionej powierzchni

bloku mięsnego (przyżeganie), oraz dla próbek równoległych, pobieranych z powierzchni niewyjałowionej.

Wyizolowane szczepy *Salmonella* badano biochemicznie, serologicznie, oraz określano ich wrażliwość na działanie lityczne faga. Analizę właściwości biochemicznych wykonano zgodnie ze wskazaniem schematu PZH (7). Badania serologiczne wykonano według schematu White-Kauffmanna, posługując się surowicami przeciw antygenom O poszczególnych grup *Salmonella*, oraz surowicami przeciw fazom swoistym i nieswoistym antygenów rząskowych tych drobnoustrojów. Większość wyizolowanych szczepów należących do grupy E była badana w Krajowym Ośrodku *Salmonella* w celu ostatecznego zaszeregowania serotypowego. Wrażliwość na działanie lityczne bakteriofaga wykonano przy pomocy faga O<sub>1</sub>. Właściwością faga O<sub>1</sub> jest szeroki zakres działania litycznego, przy czym cechuje go swoistość rodzajowa. Typowanie fagiem przeprowadzono wg metody opisanej przez Ugorskiego (1). Każdorazowo wykonywano równoległą próbę kontrolną używając szczep *Salmonella typhimurium* B-309.

### Wyniki i omówienie

Ogółem w roku 1971 przebadano bakteriologicznie w kierunku *Salmonella* 229 prób mięsa końskiego otrzymując w 27 przypadkach wyniki pozytywne, co stanowi 11,8% badanych prób. Wyizolowano 15 szczepów *S. meleagridis*, po 4 szczepy *S. enteritidis* i *S. anatum*, 2 szczepy *S. typhimurium*, oraz po jednym szczepie *S. abortus equi* i *S. choleraesuis*. Wyniki badań serologicznych, biochemicznych oraz stopień wrażliwości na działanie lityczne faga O<sub>1</sub> przedstawiono w tab. 1. Zwraca uwagę fakt możliwości różnicowania biochemicznego *S. meleagridis*, *S. anatum* i *S. newington* na podstawie ich zachowania się w stosunku do inozytolu. *S. meleagridis* hydrolizuje inozytol, natomiast dwie pozostałe odmiany są nieczynne wobec tego substratu. Wszystkie wyizolowane szczepy były wrażliwe na działanie lityczne faga O<sub>1</sub>, dając zjawisko kompletnej lizy (Cl) w miejscu nałożenia faga. Test fagowy wydaje się być godnym polecenia w rutynowej diagnostyce, pozwala bowiem na szybkie i bezwzględnie pewne ustalenie przynależności wyizolowanego szczepu do rodzaju *Salmonella*. Wyniki izolacji pał. *Salmonella* uzyskane przy zastosowaniu w/w metod z uwzględnieniem posiewów prób mięśni pobranych z powierzchni wyjałowionej i niewyjałowionej przedstawia tab. 2. Z analizy tab. 2 wynika że znacznie lepsze efekty uzyskano w metodzie I, stosując preinkubację w temp. 43°C, i to bez względu na wyjałowienie czy też nie powierzchni bloku przed pobraniem prób. W metodzie II zwraca uwagę wyraźnie mniejsza ilość wyizolowanych szczepów. Należy przy tym zaznaczyć, że wszystkie serotypy

Tab. 1. Właściwości biochemiczne, serologiczne oraz wrażliwość na działanie faga O<sub>1</sub> wyizolowanych pałeczek *Salmonella*

Ilość szczepów	Serotyp	Wrażli. na dz. faga	Antygen O	Antygen H		Arabinoza	Dulcytol	Inozytol	Trechaloza	Ksyloza	Podt. glic. Sterna	H <sub>2</sub> S	Żelatyna	d-winian	Cytrynian	Mucynian
				Faza swoista	Faza nieswoista											
15	<i>S. meleagridis</i>	CI	E	eh	lw	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
4	<i>S. anatum</i>	CI	E	eh	1,6	++	+	-	++	++	++	++	-	++	++	+
2	<i>S. enteritidis</i>	CI	D	gm	-	++	-	-	+	+	+	+	-	+	+	-
2	<i>S. enteritidis</i>	CI	D	gm	-	++	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-
2	<i>S. typhimurium</i>	CI	B	i	1,5	++	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+
1	<i>S. choleraesuis</i>	CI	C	-	1,5	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-
1	<i>S. abortus equi</i>	CI	B	-	enx	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+

CI — zupełna liza. Okres obserwacji — 14 dni.

wydzielone w metodzie II pokrywały się z serotypami wydzielonymi z tych prób w metodzie I. Różnice w ilościach dodatnich izolacji uzyskanych w met. II między próbami pobieranymi z powierzchni wyjałowionej i niewyjałowionej wydają się być przypadkowe, zwłaszcza w porównaniu z wynikami uzyskanymi w metodzie I. Pozwala to z dużym prawdopodobieństwem wykluczyć możliwość wtórnego zakażenia prób podczas ich pobierania i transportu do laboratorium, wynikiem którego mogła być zawyżona liczba dodatnich wyników w odniesieniu do rzeczywistego stopnia zakażenia badanego mięsa.

Tab. 2. Stosunek ilości szczepów *Salmonella* wyizolowanych w metodzie I, II do ogólnej ilości wyizolowanych szczepów z uwzględnieniem rodzaju powierzchni, z której pobrano próby

Metoda	Ilość szczepów wyizolowanych z powierzchni		Stosunek ilości wyizolowanych szczepów w danej metodzie, do ogólnej ilości wyizolowanych szczepów z powierzchni	
	wyjałowionej	niewyjałowionej	wyjałowionej	niewyjałowionej
I	27	27	27/27	27/27
II	12	14	12/27	14/27

Z powyższych danych wynika, że metoda I wydatnie zwiększa ilość izolacji pał. *Salmonella* w badanym materiale, co w diagnostyce rutynowej ma podstawowe znaczenie. Kwestia czułości tej metody, tzn. oznaczenia najmniejszego stężenia pał. *Salmonella* w badanym materiale uwzględniając rozmaity stopień ilościowego i jakościowego (antagonizm bakteryjny) zanieczyszczenia inną florą bakteryjną, przy którym uzyskuje się pozytywne wyniki wymaga dalszych badań. Wydaje się jednak, że na wyższą czułość tej metody wpływa między innymi stosowanie preinkubacji w dość wysokiej temperaturze. Inkubacja w temp. 43°C w odniesieniu

do pał. *Salmonella* znacznie skraca tzw. „fazę zastoju”, tzn. okres czasu po upływie którego następują podziały komórek. Ma to szczególne znaczenie w przypadku zakażenia badanego materiału innymi pał. jelitowymi, np. pał. okrężnicy której faza zastoju w tej temperaturze ulega wydłużeniu i tym samym powstaje mniejsza liczba generacji pał. okrężnicy niż pał. *Salmonella*. Inkubacja w temp. 43°C koryguje więc stosunki ilościowe między różnymi pał. jelitowymi predystynując pał. *Salmonella*. Poza tym na gorsze wyniki uzyskane w metodzie II rzutuje niewątpliwie fakt wysiewu znacznie mniejszych (dziesięciokrotnie) ilości materiału w porównaniu z metodą I.

Z zestawienia wyników zawartych tab. 2 wynika, że próby mięsa końskiego które zbadano bakteriologicznie na przestrzeni roku 1971, wykazywały znaczny procent (11,8) zakażenia pał. *Salmonella*. Wśród wyizolowanych serotypów zwraca uwagę duża przewaga *S. meleagridis* nad innymi serotypami; a więc serotypu dotychczas stosunkowo rzadko izolowanego tak z materiału patologicznego jak i środków spożywczych zwierzęcego pochodzenia. Wyniki własne wydają się potwierdzać spostrzeżenia innych autorów (6) o obserwowanym wzroście zakażeń środków spożywczych salmonelami z grupy E. Wśród 27 wyizolowanych serotypów (tab. 1) aż 19 zaklasyfikowano do grupy E. Szerzej prac (1, 2, 4, 6, 8, 9) zwraca uwagę na zakażenie salmonelami środowiska rzeźni oraz wpływ tego faktu na zakażenie mięsa i jego przetworów. Wydaje się że również w badaniach własnych stosunkowo wysoki odsetek zakażeń mięsa końskiego tłumaczyć można niskim poziomem higieny hal ubojowych i środków transportu, częstym nosicielstwem pał. *Salmonella* u innych zwierząt poddawanych ubojowi (głównie świń), a także pracowników rzeźni (4) jak również gryzoni i ptaków bytujących na terenie rzeźni.

Przeprowadzone badania pozwalają na wysunięcie następujących wniosków:

1. Badane próbki mięsa końskiego wykazały

znaczny stopień zakażenia pał. *Salmonella* (11,8%).

2. Wśród wyizolowanych serotypów dominowały pał. *Salmonella* należące do grupy E.

3. Lepsze wyniki przy badaniu bakteriologicznym mięsa końskiego uzyskano w metodzie I, w której stosowano preinkubację w 43°C, oraz posiewano dziesięciokrotnie większe ilości materiału.

#### Piśmiennictwo

1. Buczowski S., Strzelecki E., Pietkiewicz K., Cader-Strzelecka B.: *Medycyna Wet.* 26, 449, 1970.

2. Dziadek A., Kempski W., Łosiński T., Wystouch W.: *Medycyna Wet.* 26, 149, 1970.
3. Furowicz A., Butrym-Malczewska B., Wachowicz R.: *Medycyna Wet.* 25, 407, 1969.
4. Goliszewski K., Meuszyński S., Terech J.: *Medycyna Wet.* 27, 106, 1971.
5. Meuszyński S., Popielewicz K.: *Medycyna Wet.* 26, 155, 1970.
6. Meuszyński S.: *Medycyna Wet.* 26, 453, 1970.
7. Maciarewicz M., Brandes S.: Wykrywanie i różnicowanie drobnoustrojów z rodziny Enterobacteriaceae, cz. II, PZH 1964.
8. Pankiewicz Z.: *Medycyna Wet.* 23, 426, 1967.
9. Sylwester K., Adamczyk E.: *Medycyna Wet.* 27, 42, 1971.
10. Stuzewska M., Truszczyński M.: *Medycyna Wet.* 26, 455, 1970.
11. Ugorski L.: Biuletyn IV Zjazdu PTNW 1970.

Adres autora: lek. wet. Jerzy Molenda, Wrocław, ul. Rodakowskiego 6.

## FIZJOLOGIA I PATOLOGIA ROZRODU ORAZ SZTUCZNE UNASIENIANIE

MONIKA PIASECKA-SERAFIN

### Wpływ osadu nagromadzonego w kontenerach na zakażenie nasienia zamrażanego w kulkach i przechowywanego w ciekłym azocie (−196° C)

Zakład Fizjologii Rozrodu i Sztucznego Unasieniania Zwierząt  
Instytutu Zootechniki

Kierownik: prof. dr S. WIERZBOWSKI

Zastosowanie ciekłego azotu (−196°C) do przechowywania materiału biologicznego otwiera nowy zakres badań mikrobiologicznych. Wraz z materiałem biologicznym możemy bowiem w sposób niezamierzony przechowywać drobnoustroje, które mogą stanowić zagrożenie dla konserwowanego materiału oraz jego biorcy, możemy również stworzyć rezerwuuar drobnoustrojów na okres, kiedy ich obecne niektóre populacje zwalczane przez człowieka wyginą lub zmieniają swoje cechy biologiczne.

Wykazano, że w środowisku ciekłego azotu komórki bakteryjne pozbawione jakiegokolwiek osłony cząstek organicznych lub innych zachowują swoje właściwości enzymatyczne i zjadliwość (Piasecka 1970).

Wprowadzenie do praktyki inseminacyjnej nasienia konserwowanego w ciekłym azocie stworzyło równocześnie zagrożenie przechowywania wraz z nasieniem różnych drobnoustrojów. Metoda konserwowania nasienia w ciekłym azocie w postaci nieosłoniętych kulek, wniosła znaczne uproszczenie techniczne dając dobre wyniki inseminowania. Szereg autorów zwróciło uwagę na przenoszenie zarazków za pośrednictwem ciekłego azotu z kulek zakażonego nasienia na kulki nie zawierające drobnoustrojów (1, 2, 4, 8).

Wykazano jednak, że zakażenie jednych kulek nasienia od drugich za pośrednictwem ciek-

łego azotu wymaga bardzo dużej koncentracji zarazków w kulkach stanowiących źródło zakażenia (4, 5).

W pracy niniejszej pragnęliśmy prześledzić proces utworzenia się osadu w kontenerze w czasie przechowywania nasienia w kulkach oraz ustalić czy osad nagromadzony w czasie przechowywania kulek zawierających bakterie odgrywa rolę w zakażeniu nasienia wolnego od drobnoustrojów i w jakim czasie następuje jego ewentualna infekcja.

#### Materiał i metody

##### I. Nagromadzenie zakażonego osadu

1. Kontener typu LRN-25 produkcji Union Carbide został wyjałowiony po czym umieszczono w nim 5 pojemników, z których każdy zawierał po 12 plastikowych dziurkowanych pudełeczek, w których znajdowały się kulki zakażone lub jałowe. W celu zakażenia tworzącego się osadu włączone zostały do kontenera pudełeczka z kulkami zakażonymi, które stanowiły 1/3 część zawartości kontenera i zostały umieszczone na różnych wysokościach. Kulki jałowe umieszczone w oddzielnych pudełeczkach posłużyły do wypełnienia wnętrza i stworzenia warunków zbliżonych do naturalnych dla nagromadzenia osadu w czasie przechowywania nasienia w ciekłym azocie.

2. Jałowo przygotowany rozcieńczalnik cytrynianowo-glicerynowo-żółtkowy został użyty zamiast nasienia dla przygotowania kulek jałowych (4).

3. Szczepy bakteryjne o ustalonych właściwościach biochemicznych *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, pałeczka otoczkowa, zostały użyte do przygotowania kulek zakażonych w sposób opisany (4).