

MEDYCYNĄ WETERYNARYJNĄ

ORGAN POLSKIEGO TOWARZYSTWA NAUK WETERYNARYJNYCH

CZASOPISMO POSWIĘCONE NAUCE I PRAKTYCE WETERYNARYJNEJ
ZAŁOŻONE W 1945 R. PRZEZ WYDZIAŁ WETERYNARYJNY W LUBLINIE

REDAKCJA

Redaktor naczelny: prof. dr Edmund PROST

Członkowie Komitetu Redakcyjnego: prof. dr Ryszard BADURA, prof. dr Jerzy MAZURCZAK,
prof. dr Abdon STRYSZAK, doc. dr Stanisław WOŁOSZYN,

Sekretarz naukowy: dr Ryszard SŁUŻEWSKI.

RADA PROGRAMOWA

Dr Anatol BACHAREWICZ, prof. dr Henryk BALBIERZ, prof. dr Władysław BIELAŃSKI, prof. dr Stanisław CAKAŁA, prof. dr Zygmunt EWY, prof. dr Roman HOPPE, prof. dr Tadeusz JASTRZEBSKI, prof. dr Lech JAŚKOWSKI, plk. doc. dr Stefan KOSSAKOWSKI, prof. dr Zdzisław LARSKI, dyr. dr Henryk LIS, dr Władysław LUTYŃSKI, prof. dr Wincenty PEZACKI, prof. dr Wiktor STEFANIAK, prof. dr Marian TRUSZCZYŃSKI, prof. dr Janusz WELENTO, prof. dr Aleksander ZAKRZEWSKI, prof. dr Eugeniusz ŻARNOWSKI.

HIGIENA I TECHNOLOGIA ŚRODKÓW SPOŻYWCZYCH

STANISŁAW ZALESKI
Szczecin

Drobnoustroje enteropatogenne w surowcach zwierzęcych pochodzenia wodnego

Wprowadzane do obrotu zwierzęta wodne w stanie świeżym lub zakonserwowanym jedną ze stosowanych metod pochodzą zawsze z określonego zbiornika wodnego, który w sposób zasadniczy limituje możliwość wystąpienia na nich lub w nich drobnoustrojów chorobotwórczych.

Stąd można w tej chwili stwierdzić, że w odniesieniu do zwierząt wodnych otwartych mórz i oceanów teza o ich bezpieczeństwie jako artykułu spożywczego jest słuszna. W tych zbiornikach wodnych nie występują drobnoustroje, które obecnie są uważane za chorobotwórcze dla człowieka a ponieważ mikroflora zwierząt wodnych jest odbiciem jakościowym i ilościowym mikroflory środowiska, mogą one być traktowane jako wyjściowo wolne od drobnoustrojów chorobotwórczych.

Pod pojęciem zbiornika otwartego nie można jednak rozumieć strefy przybrzeżnej mórz i oceanów, ich zatok, zalewów oraz ujść rzek, jak też niektórych mórz typu śródziemnego, czy też typu przybrzeżnego półzamkniętego. Do mórz pierwszego typu zalicza się np. Morze

Bałtyckie i Morze Czarne, do drugiego natomiast Morze Japońskie. W obu typach mórz północnej hemisfery stwierdza się nagminne występowanie laseczek jadu kiełbasianego typu E.

Naturalnym siedliskiem tej bakterii jest muł denny i brzeg morski, z których w szeregu przypadków udało się ją wyosobnić. Z badań Morza Bałtyckiego warto przypomnieć wyniki (13) wykazujące obecność tego drobnoustroju w 100% prób pobranych z dna samego morza, Sundu, Kattegatu oraz Skagerraku. W polskich badaniach południowej części dna Morza Bałtyckiego (16) stwierdzono obecność tej bakterii w 44% badanych prób. Badania polskiej linii brzegowej Bałtyku (24) wykazały obecność *Cl. botulinum* typu E w 34% prób, przy czym najwyższy odsetek wyników dodatnich uzyskano badając brzeg Zatoki Gdańskiej, w szczególności w okolicy Pucka.

Reperkusją występowania tego drobnoustroju w dnie morskim jest jego występowanie w rybach. Ciekawym przy tym jest, że u ryb, u których z racji ich sposobu bytowania, a więc

w szczególności u płastug i częściowo u dorsza nie występuje on najczęściej. W badaniach szwedzkich z 1963 roku był on w tych rybach stwierdzany tylko w 63% badanych sztuk (13) a ostatnie badania polskie, przeprowadzone na niepatroszonych i mrożonych flądrach bałtyckich (18) wykazały, że w 10% badanych przewodów pokarmowych i 2% mięśni uzyskano wynik dodatni. Głównym rezerwuarem okazał się śledź, u którego w 100% z łowisk Sundu i 55% z łowisk Bałtyku wykazano obecność tego drobnoustroju. U śledzi łowisk Skagerraku, ryb Morza Północnego oraz w wodach przybrzeżnych Wysp Brytyjskich obecności tej bakterii nie stwierdzono (6), choć w tych ostatnich stwierdzano występowanie laseczki jadu kiełbasianego typu B (5). Zastanawiając się nad przyczyną częstego występowania *Cl. botulinum* typu E u śledzi warto przypomnieć ciekawą informację stwierdzającą, że ikra śledziowa jest tym drobnoustrojem zanieczyszczona już w okresie tarła.

Cl. botulinum typu E określane jest mianem typ morski. Badania ostatnich lat wydają się jednak podważać słuszność tej nazwy. Już w 1963 roku (13) wykazano wysoką częstotliwość występowania tego drobnoustroju w większych i mniejszych jeziorach przybrzeżnych Szwecji. W 1971 roku stwierdzono obecność tej bakterii w stawach pstrągowych RFN, u ryb, które stały się przyczyną zatruc pokarmowych (4), a w 1973 roku wykazano *Cl. botulinum* w 4 stawach pstrągowych Danii (12). W ostatnim z cytowanych badań ryby dla ich oczyszczenia z *Cl. botulinum* odpijano w basenach plastikowych i normalnych przez 14 dni. Choć pstrągi trzymane w czystej wodzie bez karmienia wynik był negatywny. Z wyjściowej ilości 64% osobników zanieczyszczonych tą bakterią po 7 dniach odpijania ich ilość w basenach plastikowych zmniejszyła się do 26% a w pozostałych do 21%. Po upływie dalszych 7-dni w basenach plastikowych ilość nosicieli *Cl. botulinum* zwiększyła się do 30%, w drugim nieznacznie zmalała, do poziomu 20%.

Ten krótki, pobieżny i wycinkowy przegląd problemu *Cl. botulinum* typu E w środowisku wodnym i u zwierząt wodnych wskazuje jednoznacznie na wagę zagadnienia. Polska uzyskuje z łowisk Bałtyckich obecnie ok. 150 tys. ton ryb rocznie, które albo są rozprowadzane w stanie świeżym lub mrożonym albo też są przeznaczane do przerobu określonymi technologiami. Z podanych wyżej przyczyn wyłania się konieczność ścisłego przestrzegania obowiązujących zasad przerobu oraz stwarzania takich warunków przy przechowywaniu surowca, jak i gotowego produktu, które uniemożliwiłyby lub też w sposób istotny przyhamowałyby możliwości toksynotwórcze tego szczepu.

Aktualnie do najistotniejszych problemów technologicznych związanych z tym zagadnieniem należy zaliczyć sprawę pakowania ryb wędzonych w woreczki próżniowe metodą

próżniową na multiwaku. Poglądy reprezentowane w tym zakresie w piśmiennictwie światowym nie są jednoznacznie zgodne. Jedni stwierdzają (1), że w przypadku rozmrożonych filetów śledziowych takie pakowanie powoduje, iż przy przechowywaniu w temp. 20°C powstają lepsze warunki dla produkcji egzotoksyny niż przy zamknięciu w woreczkach bez wytwarzania próżni lub w woreczkach otwartych. Inni w odniesieniu do ryb wędzonych twierdzą, że brak istotnych różnic w toksynotwórczości przy pakowaniu próżniowym, gazach obojętnych lub powietrzu.

Ten brak zgodności spowodował, że dla zapobieżenia zatruciom na tle *Cl. botulinum* po spożyciu wędzonych ryb wydano w Stanach Zjednoczonych jednoznaczne i bardzo ostre przepisy. Przewidują one, że:

1. każda ryba i każdy jej kawałek muszą w czasie wędzenia posiadać temperaturę 82,2°C przez 30 minut
2. na przestrzeni 2 godzin, w oddzielnym pomieszczeniu ryba po uwędzeniu musi być schłodzona i zapakowana
3. na opakowaniu należy umieścić napis „Towar łatwo psujący się — trzymać w chłodnym miejscu”
4. opakowanie nie może być zamknięte w sposób uniemożliwiający wymianę powietrza
5. opakowanie powinno posiadać oznakowaną datę produkcji i datę zdatności spożywczej
6. każda ryba wędzona musi być przetrzymywana w temperaturze nie wyższej niż 4,5°C od chwili zapakowania przez czas transportu i w obrocie detalicznym
7. spożycie ryby wędzonej nie może mieć miejsca później niż 7 dni od chwili uwędzenia.

Kończąc omawianie problemu zatruc pokarmowych na tle *Cl. botulinum* po spożyciu ryb warto chyba ocenić sytuację w tym względzie w Polsce. Według istniejących danych (2) zatrucia po spożyciu ryb na tle tej bakterii w latach 1959—1969 na terenie 8 województw kraju stanowiły łącznie 6,8% zatruc na tle *Cl. botulinum*. Po przerobie domowym ryb wystąpiły 42 ogniska zatruc, 54 ogniska wywołało spożycie ryb przetworzonych przemysłowo. Badanych 165 surowic od chorych — zatrutych jadem kiełbasianym w 20,6% przypadków nie wykazały obecności przeciwciał anty A lub anty B. Choć autor tego nie podaje, wolno jednak chyba przypuszczać, że chorzy ci, w głównej swej mierze, zachorowali pod wpływem toksyny typu E. W świetle tej sytuacji wydaje się, że problemowi zatruc w Polsce na tle typu E laseczki jadu kiełbasianego warto poświęcić więcej uwagi.

Następne drobnoustroje, którym warto poświęcić parę słów to pałeczki z grupy *Salmonella*. O występowaniu tych drobnoustrojów w wodach słodkich i przybrzeżnych morskich istnieje szereg doniesień. W Polsce wykazano, że jedną z przyczyn wystąpienia pałeczek z grupy

Salmonella w wodzie stawów rybnych i zanieczyszczenia nimi ryb była epizootia współhodowanego ptactwa wodnego (10). Ci sami badacze stwierdzają, że ogólnie 6% ryb słodkowodnych polskich rzek i jezior jest nosicielami pałeczek tej grupy. Drobnoustroje te wykazano jako nagminnie występujące w przybrzeżnych odcinkach Zatoki Gdańskiej a ostatnio stwierdzono je w wodach bliskich plażom w Świnoujściu i w rzece Świnie przy ujściu do Bałtyku (11). Ostatnie badania, przeprowadzone w latach 1969—1972 wykazały, że procent prób dodatnich w kolejnych latach był następujący: 5,3% — 0% — 0,6% — 0,3%.

Interesujący przypadek miał miejsce we Wiedniu w okresie Bożego Narodzenia 1970 r. Sadze dla żywych ryb urządzono w zanieczyszczonych kanałach Dunaju i zbadane po okresie przetrzymania karpie wykazały u 14,5% sztuk obecność pałeczek z grupy *Salmonella*. Dla zbadania czy u wolnożyjących ryb Dunaju występują pałeczki *Salmonella* na przełomie lipca i sierpnia 1971 r. zbadano 50 ryb. U 64% wykazano obecność tej bakterii bądź na skórze, bądź na skrzelach a ich bliższa identyfikacja pozwoliła stwierdzić, że należały one do 20 różnych serotypów.

Podstawowym produktem rybnym, po spożyciu którego dochodzi do zatruc na tle pałeczek *Salmonella* są w warunkach europejskich, jak poprzednio, ryby wędzone. Przypadki takie opisano w NRD (8) i miały miejsce po spożyciu piklingów. Że u ryb morskich strefy przybrzeżnej występowanie pałeczek z grupy *Salmonella* nie należy do rzadkości świadczy fakt, iż na 51 zbadanych fląder z wód przybrzeżnych Bałtyku u 3 stwierdzono te drobnoustroje (22). Dwa razy stwierdzono *S. typhimurium* i raz *S. manchester* a stwierdzono je w przewodzie pokarmowym, wątrobie i żółci.

Ciekawostką godną wzmianki jest stwierdzenie nosicielstwa *S. typhimurium* u raków (10). W wyniku doświadczonego skarmienia raków nie będących nosicielami mięsem zanieczyszczonym *S. typhimurium* procent nosicieli był wysoki a wprowadzony szczep stwierdzano w mięśniach i przewodzie pokarmowym.

Ograniczając się tylko do zasygnalizowania problemu pałeczek jelitowych, obecnie chciałbym parę słów poświęcić gronkowcom. Również w Polsce wykazano ich obecność w rybach zdrowych i chorych na posocznicę, słodkowodnych zdrowych i u karpia chorych na posocznicę (7). Szczepy pochodzące od tych ostatnich posiadały zdolność produkowania enterotoksyny.

Niezależnie od przyżyciowego występowania tego drobnoustroju u ryb słodkowodnych pojawia się on często u ryb morskich po połowie. Stąd Shewan (21) proponuje, by u ryby świeżej dopuścić obecność gronkowca w ilości mniejszej niż 100 w 1 g. Uważa on, że częste nosicielstwo tego drobnoustroju u ludzi jest wystarczającym tego uzasadnieniem.

Na rolę etiologiczną gronkowców w zatruciach pokarmowych rzuciły ciekawe światło badania ostatnich lat. Od dawna było wiadomym, że enterotoksyna gronkowcowa jest ciepłostała. Zmienne wyniki uzyskiwane przez różnych badaczy nie pozwalały na jednoznaczne ustalenie poziomu ciepłostołości. Uzyskanie enterotoksyny w postaci czystej umożliwiło wykazanie, że związek ten produkowany przez różne szczepy różni się budową antygenową i spośród dotychczas znanych typów serologicznych enterotoksyn typ A jest najbardziej ciepłostały. Wartość F_{250} przy stężeniu 5 $\mu\text{g/ml}$ tej toksyny wynosiła 27 minut. Wyniki tych badań już dziś pozwalają na stwierdzenie, że brak szans na jej zainaktywowanie przy stosowanych obecnie parametrach procesów sterylizacji konserw. Może to w dużym stopniu wyjaśnić istniejące różnice poglądów w piśmiennictwie światowym dotyczące zatruc pokarmowych po spożyciu konserw rybnych.

Do bakterii, które w ostatnich latach zdobyły duży rozgłos jako drobnoustroje powodujące zatrucia pokarmowe po spożyciu zwierząt pochodzenia wodnego należy *Vibrio parahaemolyticus*. Niezależnie od różnic w budowie antygenowej i w cechach biochemicznych szczepy te różnią się od klasycznego *Vibrio cholerae* i odmiany El-Tor tym, że spośród 2 czynników pato-fizjologicznych tych szczepów, a mianowicie czynnika enterotoksycznego i czynnika przenikania *V. parahaemolyticus* posiada tylko czynnik enterotoksyczny. Właśnie on jest odpowiedzialny za przebieg schorzenia, które w stosunkowo wysokim procencie przypadków kończy się śmiertelnie. Drobnoustrój ten występuje w wodach morskich, a szczególnie przybrzeżnych Azji, Europy i Ameryki, zbierając główne pokłosie zachorowań w Japonii. W latach 1964—1965 ponad 60% wszystkich przypadków zatruc było wywołanych tam przez *Vibrio parahaemolyticus*, z których ponad 30% zakończyło się śmiertelnie. W cyfrach bezwzględnych zachorowaniu uległo ponad 20 tys. osób.

Choć przypadki zachorowań występują w różnych krajach świata, w tym również Europy, to jednak przodownictwo Japonii w tym zakresie jest bezdyskusyjne. Najprawdopodobniej jest ono związane ze spożywaniem produktów morza w stanie surowym lub półsurowym.

Pierwsze badania nad tym drobnoustrojem w naszej strefie geograficznej przeprowadzono w RFN (19, 20). Początkowo jako materiału użyto ryb bałtyckich pobranych na jednym z targów rybnych i na pięć badanych prób we wszystkich stwierdzono obecność poszukiwanego szczepu. W dalszych badaniach, ci sami autorzy, nie byli w stanie wykazać obecności *V. parahaemolyticus* u ryb pełnego Bałtyku, natomiast u ryb poławianych przybrzeżnie procent nosicieli wahał się w zależności od pory roku. W okresie zimowym szczep stwierdzano

u 3% badanych osobników, w lecie natomiast 31% było ich nosicielem.

Również w dalszych badaniach pełnego Bałtyku Zachodniego (3) nie wykazano tego drobnoustroju ani w wodzie morskiej, ani u ryb tych łowisk. Badając jednak wodę morską i ryby z okolic Kilonii, Grossenbrock i Kopenhagi stwierdzono obecność *V. parahaemolyticus* w 74% pobranych próbach wody i 68% badanych ryb, skorupiaków i mięczaków. Badania ryb Morza Północnego przeprowadzono w Holandii (15) pobierając próby ze sklepów rybnych. Na 407 prób w jednej, co stanowi 0,25%, stwierdzono obecność *V. parahaemolyticus*.

W warunkach polskich zbadano na obecność *V. parahaemolyticus* 309 ryb bałtyckich, z czego 106 pochodziło z połowów na łowiskach kołobrzESCO-darłowskiCH a 203 złowiono u brzegów Środkowego Wybrzeża (24). W żadnej z badanych prób obecności *V. parahaemolyticus* nie wykazano.

Generalizując dotychczasowe informacje na temat *V. parahaemolyticus* można stwierdzić, że drobnoustrój ten zrobił zadziwiającą karierę. Nie mając uzasadnienia dla takiego twierdzenia pozwalam sobie na przypuszczenie, że jest to gatunek, który w wyniku zaistnienia określonych warunków biocenotycznych, w zmienionym ekosystemie, w ostatnim czasie uzjadliwił się. Jego brak u ryb naszych łowisk bałtyckich może być spowodowany bardzo niskim stopniem ich zasolenia oraz niską temperaturą wody. Ale dziś nikt nie potrafi przewidzieć ani jego zdolności adaptacyjnych, ani też roli jaką będzie odgrywał w takich krajach, jak Polska. Może warto w tym momencie przypomnieć, że kilkanaście lat temu bardzo podobną sytuację mieliśmy w odniesieniu do łaseczek jadu kielbasianego typu E.

Penetracja przez polskie rybołówstwo dalekomorskie coraz to nowych akwenów oraz przywożenie do kraju nie znanych dotychczas gatunków zwierząt wodnych powoduje konieczność zwrócenia uwagi na fakt, że niektóre z nich, a w szczególności mięczaki są często przyczyną zachorowań na tle wirusowym. Tyczy to, rzecz jasna, wirusów, które nie muszą wywoływać objawów ze strony przewodu pokarmowego, dla których jednak ten układ jest bramą wejścia. Z pośród tych wirusów szczególnie dwa są przenoszone przez mięczaki, a to wirus Polio oraz wirus żółtaczkowej zakaźnej. O znaczeniu mięczaków w wywoływaniu tej drugiej jednostki w Stanach Zjednoczonych niech świadczy fakt, że w okresie od listopada 1963 r. do czerwca 1964 r. w stanie Connecticut z ogólnej ilości 468 przypadków zachorowań, 123 wystąpiły po spożyciu mięczaków.

Skoro wspomniano wyżej o mięczakach, wydaje się koniecznym uogólnić ich rolę w zatruciach pokarmowych. Są one zwierzętami wodnymi, żyjącymi w naturalnych i hodowlanych wodach przybrzeżnych bardzo blisko ładu i przez to w wodach silnie zanieczyszczonych.

Ponieważ równocześnie ich sposób pobierania pokarmu polega na przesączaniu, filtrowaniu wody, następuje nagromadzenie się w nich drobnoustrojów w mianie nieporównywalnie wyższym niż w otaczającej wodzie. Tyczy to nie tylko drobnoustrojów saprofitycznych, lecz również i patogennych, czego wyrazistym przykładem może być zeszłoroczny wybuch epidemii cholery we Włoszech.

Piśmiennictwo

1. Abrahamson K., De Silva N. N., Motin N.: Can. J. Microbiol. 11, 523, 1965.
2. Anusz Z.: Polski Tyg. lek. 26, 1491, 1971.
3. Asakawa Y., Hechelmann H., Leistner L.: Fleischwirtschaft 50, 682, 1970.
4. Bach R., Wenzel S., Muller-Prasuhn G., Glasker H.: Arch. Lebensmittelhyg. 22, 107, 1971.
5. Cann D. C., Wilson B. B., Hobbs G.: J. appl. Bact. 31, 511, 1968.
6. Cann D. C., Wilson B. B., Hobbs G., Shewan J. M.: J. appl. Bact. 28, 426, 1965.
7. Chodynecki A., Zaleski S.: Zbl. Bakt. I Orig. 196 A, 452, 1965.
8. Dedek J.: Mh. Vet-Med. 22, 424, 1967.
9. Gaugusch Z., Malwińska K.: Medycyna Wet. 12, 276, 1956.
10. Gaugusch Z., Malwińska K.: Medycyna Wet. 13, 717, 1957.
11. Golba J., Nozdrzykowski E., Far J., Stankiewicz J.: Roczniki PZH 24, 749, 1973.
12. Huss H. H.: Materiały 6th Intern. Symp. WAVFH, Elsinore 1973.
13. Johannsen A.: J. appl. Bact. 26, 43, 1963.
14. Johannsen A.: J. appl. Bact. 28, 90, 1965.
15. Kampelmacher E. H., Mosset D. A. A., Noorle J. M., Vincentie H.: J. Hyg., Camb. 68, 189, 1970.
16. Kochanowski J.: Prace MIR — Tom Jubileuszowy 453, 1971.
17. Kohl W.: Zbl. Bakt. I Ref. 230, 404, 1972.
18. Mierzejewski J.: Problemy Higieny w Przemysle Rybnym. NOT-Sekcja Przem. Rybnego oraz Sekcja Higieny Produktów Zw. PTNW — Szczecin 1973.
19. Nakanishi H., Leistner L., Baumgart J.: Arch. Lebensmittelhyg. 18, 201, 1967.
20. Nakanishi H., Leistner L., Hechelmann H., Baumgart J.: Arch. Lebensmittelhyg. 19, 49, 1968.
21. Shewan J. M.: Chemy Ind. 6, 193, 1970.
22. Wuthe H. H., Findel G.: Arch. Lebensmittelhyg. 23, 110, 1972.
23. Zaleski S., Daczkowska E., Fik A.: V Doroczna Sesja Naukowa Komitetu Techn. Chemii Żywn. PAN, Gdańsk 1974.
24. Zaleski S., Fik A., Daczkowska E.: Materiały 6th Intern. Symp. WAVFH, Elsinore 1973.

Adres autora: prof. dr Stanisław Zaleski, ul. K. Królewicza 65 m. 7, 71-551 Szczecin.

JOHNSTON L. A. Y., PEARSON R. D., LEATCH G.: Ocena odczynu immunofluorescencji pośredniej stosowanego do wykrywania zakażeń u krów wywołanych przez Babesia argentina. (Evaluation an indirect fluorescent antibody test for detecting Babesia argentina infection in cattle). Aust. vet. J. 49, 373-377, 1973 (8).

Autorzy opisali sposób wykonania odczynu immunofluorescencji pośredniej w zastosowaniu do wykrywania przeciwciał u bydła zakażonego Babesia argentina. Jako antygenem posługiwano się rozmazami krwi zawierającymi krwinki zakażone pasożytem. Na antygen nakraplano kolejne rozcieńczenia surowicy i po inkubacji w temp. 29°C i przemyciu zbuforowanym płynem fizjologicznym pokrywano rozmaz surowicą odpornościową królika przeciwko gammaglobulinie krów znakowaną izotiocjanianem fluoresceiny. Surowice 297 krów niezakażonych reagowały dodatnio w mianach poniżej 1:64, jedynie 11 surowic reagowało w mianie wyższym. Natomiast spośród 297 surowic pochodzących od krów zakażonych B. argentina 96 reagowało w odczynie immunofluorescencji pośredniej w mianie 1:64 lub wyżej, a tylko jedna surowica reagowała w niższym mianie. Analiza statystyczna wykazała, że wynik dodatni odczynu w mianie 1:64 przemawia za zakażeniem B. argentina. Prawdopodobieństwo uzyskania wyników fałszywie dodatnich w odczynie immunofluorescencji pośredniej wynosi, 0,028.

R.