

EDWARD GRAWIŃSKI  
Władysławowo

## Ocena mikrobiologiczna sieci i włóków używanych do połowu ryb na Bałtyku

Wykazano, że utrzymanie cech świeżości i zabezpieczenie trwałości ryb oraz przetworów rybnych zależy w dużej mierze od higieny sprzętu, z którym styka się ryba na poszczególnych etapach przetwórstwa morskiego i lądowego.

Wpływ stanu sanitarnego sprzętu i maszyn na stopień zanieczyszczeń ryb stwierdzono w wielu pracach badawczych. Opublikowane materiały dotyczą najczęściej zakażenia bakteryjnego pokładów, ścian i ładowni kutrów rybackich (2), powierzchni użytkowej urządzeń przetwórczych i sprzętu na statku przetwórczym (6) lub stopnia zakażenia opakowań drewnianych do ryb, powszechnie stosowanych w polskim rybołówstwie bałtyckim (3, 5). Brak natomiast danych dotyczących oceny mikrobiologicznej sieci i włóków używanych przez rybołówstwo morskie.

Z uwagi na to, że sprzęt połowowy jest pierwszym ogniwem w łańcuchu przetwórstwa rybnego, które stanowi okazję do zetknięcia się ryby z florą bakteryjną spoza jej naturalnego środowiska, uznano za wskazane zbadanie stopnia zakażenia narzędzi połowu.

### Materiał i metody

Badania przeprowadzono w latach 1971—1974 w oparciu o materiał, jakim dysponuje jedno z przedsiębiorstw połowowo-przetwórczych oraz rybacy indywidualni. Przedmiotem badań były sieci zastawne — żaki, nety, mance i ciągnione (włoki) wykonane z przędzy bawełnianej, sizalu oraz włókien syntetycznych (poliamidy, poliestry, polialkeny i in.). Narzędzia połowu pobierano do badań z następujących miejsc: magazyn składowy, suszarnia i sieciarnia, nabrzeża portowe i pokłady jednostek łowczych. Porównawczo badano sieci nowe, po jednorazowym użyciu i wykorzystywane wielokrotnie. Doświadczenia przeprowadzono na materiale obejmującym ogółem 212 sieci i włóków.

Z dowolnie wybranej powierzchni narzędzia połowu wycinano kawałek materiału sieciowego. Do wykonania badań odważano w sterylnej kolbie 10 g próbkę sieci, którą zalewano 90 ml jałowej 0,1% wody peptonowej. Do kolby dodawano szklane kulki dla dokładniejszego oddzielenia bakterii od badanego materiału, poddając ją kilkakrotnemu energicznemu wstrząsaniu, a następnie pozostawiano naczynie przez 15 minut w temperaturze pokojowej celem ustania się płynu. Następnie z rozcieńczenia wyjściowego 1:10 wykonywano kolejne rozcieńczenia celem oznaczenia: ogólnej liczby bakterii psychrofilnych, miana coli, miana enterokoków, bakterii z rodzaju *Salmonella* i rodzaju *Clostridium*.

Ogólną liczbę bakterii psychrofilnych określano na stałym podłożu agarowym o pH = 7,4, przygotowanym na wyciągu rybnym. Do dwóch równoległych płytek podłoża wysiewano po 0,5 ml homogenizatu poszczególnych rozcieńczeń metodą posiewu na powierzchnię. Inkubację przeprowadzano w temperaturze 15°C przez 6 dni. Otrzymane wyniki z posiewów przeliczano na

ilość 1 g sieci. Miano coli oznaczano na podłożu płynnym z żółcią i zielenią brylantową, a miano enterokoków na płynnym podłożu Peury i Hajna, posiewy inkubowano w 37°C przez 24—48 godzin. Następnie namnażano pałeczki z grupy *Salmonella* na podłożu z czterotioanem sodowym wg Kauffmanna, inkubując posiewy w 37°C przez 24—48 godzin. Materiał podejrzany przesiewano na stałe podłoża McConkeya i z zielenią brylantową (BGA), które termostutowano w 37°C przez 24 godziny. Podejrzane kolonie przesiewano na agar skośny i po 24 godzinach inkubacji wykonywano aglutynację z surowicą HM i z surowicami grupowymi oraz dalsze badania identyfikacyjne zgodnie z normą PN-64/A-04023.

Bakterie z rodzaju *Clostridium* badano na podłożu Wrzoska. Posiew wykonywano do trzech probówek: jedną wstawiano bezpośrednio do termostatu, drugą pasteryzowano przez ogrzanie do 80°C przez 10 min. w celu zniszczenia bakterii nieprzeżywalnych, a trzecią pasteryzowano w 80°C przez 3 minuty (materiał podejrzany o obecność *Cl. botulinum* typu E). Posiewy z podłożem Wrzoska pasteryzowane przez 10 minut inkubowano w temperaturze 37°C, a podłoże pasteryzowane przez 3 min. w temperaturze 25°C przez 24—72 godz. Posiewy reagujące dodatnio przesiewano z podłoża Wrzoska na stałe podłoże Mc Clunga i Wilson-Blaira. Po wyhodowaniu szczepów bezwzględnych beztlenowców dalsze badania identyfikacyjne prowadzono wg metody Beerensa podanej przez Burbiankę (1).

Tab. 1. Stopień bakteryjnego zakażenia narzędzi połowu

Rodzaj badanych próbek	Liczba próbek	Liczba bakterii psychrofilnych/g				
		10 <sup>1</sup> -10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup> -10 <sup>6</sup>	10 <sup>6</sup> -10 <sup>8</sup>	10 <sup>8</sup> -10 <sup>9</sup>	>10 <sup>9</sup>
NpN	48	45 (93,7%)	3 (6,3%)	0	0	0
NpUJ	65	0	11 (16,9%)	52 (80,1%)	2 (3,0%)	0
NpUW	109	0	0	19 (17,3%)	75 (68,8%)	15 (13,9%)

Objaśnienia: NpN = narzędzia połowu nowe, NpUJ = narzędzia połowu po jednorazowym użyciu, NpUW = narzędzia połowu używane wielokrotnie.

### Wyniki i omówienie

Z danych zawartych w tab. 1 wynika, że pobierane bezpośrednio z magazynu nowe, nie używane sieci, zgodnie z przypuszczeniem, wykazały w 93,7% znikome zanieczyszczenie bakteryjne. Nieznaczny wzrost zakażenia w 6,3% próbek najprawdopodobniej wynikał z niehigienicznych warunków produkcji, transportu bądź składowania sieci w magazynie. Stwierdzono natomiast, że jednorazowe wykorzystanie do połowu nowych sieci i włóków powodowało znaczny wzrost zakażenia florą psychrofilną, drobnoustrojami o znaczeniu sanitarnym oraz w 61,5% badanego materiału beztlenowymi la-szczkami przetrwalnikującymi (tab. 1, 2, 3).

Niezwykle wysokie zakażenie wykryto podczas badania używanych wielokrotnie narzędzi połowu, które dochodziło do  $1,4 \times 10^9$  bakt./g (tab. 1). Dotychczas za najbardziej zanieczyszczony sprzęt, badany pod względem mikrobiologicznym (3, 5), uznawane są opakowania drewniane (skrzynie i beczki) będące w powszechnym użyciu w polskim rybołówstwie, tymczasem, jak wykazują otrzymane wyniki, nie dorównują one nawet w 50% stwierdzonemu zakażeniu sieci i włóków.

bloconym nabrzeżu przed i po wyładunku z kutra) jak i samej eksploatacji na jednostkach połowowych (8). Badania wpływu grzybów i pleśni na rozkład przędzy narzędzi połowu w warunkach magazynowych wykazały (7), że w naszym rybołówstwie konserwacja sprzętu rybackiego polega wyłącznie na usuwaniu uszkodzeń mechanicznych, a sporadycznie na jego suszeniu. Wskazania dotyczące pielęgnacji i dezynfekcji materiałów sieciowych nie są realizowane (9).

Tab. 2. Wskaźnik sanitarny narzędzi połowu

Rodzaj badanych prób	Liczba prób	Miano coli i enterokoków										
		< 10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>	
NpN	C	45 (93,7%)	3 (6,3%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	E	48 (100%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
NpUJ	C	2 (3,0%)	4 (6,0%)	7 (10,0%)	33 (50,8%)	10 (15,5%)	8 (12,4%)	1 (1,5%)	0	0	0	0
	E	6 (9,3%)	18 (27,7%)	20 (30,7%)	11 (16,9%)	5 (7,7%)	0	0	0	0	0	0
NpUW	C	0	0	2 (1,9%)	14 (12,8%)	43 (39,5%)	18 (16,5%)	14 (12,8%)	12 (11,0%)	6 (5,5%)	0	0
	E	0	0	6 (5,5%)	51 (46,8%)	31 (28,4%)	12 (11,0%)	7 (6,4%)	2 (1,9%)	0	0	0

Objaśnienia: NpN = narzędzia połowu nowe, NpUJ = narzędzia połowu po jednorazowym użyciu; NpUW = narzędzia połowu używane wielokrotnie; C = coli; E = enterokoki.

Potwierdzeniem bardzo wysokiego stopnia zakażenia narzędzi połowu używanych wielokrotnie są wielkości wskaźników sanitarnych — miana coli i enterokoków rzędu 10<sup>-4</sup>—10<sup>-9</sup>, występujące w znacznym procencie badanych prób (tab. 2). Szczególnie niepokojący jest fakt obecności w badanym materiale sieciowym chorobotwórczych pałeczek *S. typhimurium* i *S. dublin* oraz szczepów *Clostridium m. in. Cl. botulinum* typu E, *Cl. perfringens*, *Cl. oedematiens* i in. (tab. 3). Przyczyny tak wysokiego zakażenia na-

Bakteryjne zakażenie narzędzi połowu jest tematem, który od dłuższego czasu nie był podejmowany, toteż trudno o obszerniejsze omówienie tego zagadnienia. Niemniej stwierdzić można, że wysokie zakażenie narzędzi połowu wykazane w rezultacie przedstawionych tu badań wynika z tego, iż nie zapobiega się zanieczyszczeniom mechanicznym i organicznym oraz nie stosuje się żadnych środków dezynfekcyjnych.

Ponieważ wyniki badania surowca rybnego poławianego w Bałtyku (4) wykazały stosunkowo wysoki stopień zakażenia bakteryjnego na powierzchni ryb bezpośrednio po ich wydobyciu na pokład, a zwłaszcza obecność patogennej bakterii z rodzaju *Clostridium*, należy przypuszczać, że silnie zakażone narzędzia połowu wpływają w sposób istotny na kształtowanie się zakażenia ryb.

Tab. 3. Zestawienie wyizolowanych z narzędzi połowu szczepów z rodzaju *Salmonella* i *Clostridium*

Rodzaj badanych prób	Liczba prób	Pałeczki <i>Salmonella</i>		Beztlenowce przeźwalnikujące								
		<i>S. typhimurium</i>	<i>S. dublin</i>	<i>Cl. botulinum</i> typu E	<i>Cl. perfringens</i>	<i>Cl. perfringens</i> typu A	<i>Cl. bifermentans</i>	<i>Cl. oedematiens</i> typu A	<i>Cl. oedematiens</i> typu C	<i>Cl. histolyticum</i>	<i>Cl. tetani</i>	Szczepy <i>Clostridium</i> nieznane
NpN	48	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
NpUJ	65	0	0	0	15	2	10	2	0	0	0	13
NpUW	109	3	1	2	33	6	26	15	3	3	2	19

Objaśnienia: NpN = narzędzia połowu nowe, NpUJ = narzędzia połowu po jednorazowym użyciu, NpUW = narzędzia połowu używane wielokrotnie.

zędzi połowu należy upatrywać w niewłaściwym ich zabezpieczeniu przed zanieczyszczeniem zarówno w czasie czynności na lądzie (składowanie w magazynach, usuwanie mechanicznych uszkodzeń w sieciarniach, przewóz zanieczyszczonymi środkami transportu, bezpośrednio składowanie na brudnym i często za-

Wnioski

1. Narzędzia połowu, zwłaszcza te, których używano wielokrotnie, posiadały bardzo wysoki stopień bakteryjnego zakażenia.
2. Prawdopodobne, iż włoki i sieci używane do połowu ryb na Bałtyku mają wpływ na powierzchniowe zakażenie ryb.
3. Należy wprowadzić oczyszczanie sprzętu połowowego i skuteczną dezynfekcję przed każdorazowym jego wykorzystaniem.

Piśmiennictwo

1. Burbianka M., Pliszka A., Janczura E., Teisseyre T., Zaleska H.: Mikrobiologia Żywności. PZWL, 1971.
2. Fischer E.: Prace MIR. 7, Wyd. Komunik. 1954.
3. Grawiński E.: Medycyna Wet. 4, 231, 1970.
4. Grawiński E.: Medycyna Wet. 9, 563, 1974.
5. Kochanowski J.: Prace MIR, Gdynia, 12/B, 91, 1964.
6. Kochanowski J.: Symp. Nauk. NOT i PTNW, Szczecin, 37, 1973.

7. Maciejowska M.: Prace MIR, Gdynia, 12/B, 9, 1964.  
 8. Pierełman A. I., Szastina L. A.: Konserwacja rybactkich materiałów sieciowych. Wyd. Komunik. 1955.  
 9. Zaucha J.: Prace MIR, Gdynia, 12/C, 125, 1972.

Adres autora: dr Edward Grawiński, ul. Rybacka 2/34, 84-120 Władysławowo.

Гравиньски Э. — Микробиологическая оценка сетей и волокуш применяемых для ловли рыб в Балтийском море.

Исследовали сети и волокуши новые, после первого употребления и после многократного использования. Установили, что самое большое микробное загрязнение проявляют сети многократно употребляемые. Оно доходило до  $1,4 \times 10^9$  бактерий/г

а титр coli и энтерококков равнялся  $10^5$ — $10^9$  кроме того установили присутствие в сетях патогенных бактерий Salmonella и Clostridium.

Grawiński E. — Microbiological assay of fishing-nets and trawls used in the Baltic sea.

There were examined new fishing-nets and trawls used once and many times in fishing. It was found that the utensils used several times were most contaminated and the number of bacteria reached up to  $1.4 \times 10^9$  bacteria per g. The titre of E. coli and enterococci was  $10^{-5}$ — $10^{-9}$ . In addition there were noted the bacteria of Salmonella and Clostridium sp.

## CHOROBY ZAKAŻNE I INWAZYJNE

MARIAN TRUSZCZYŃSKI

### Charakterystyka Mycoplasmatales i ich znaczenie w wywoływaniu chorób u zwierząt

Z Zakładu Mikrobiologii Instytutu Weterynarii w Puławach

*Mycoplasmatales*, zwane też mikoplazmami lub mykoplazmami, stanowią obecnie przedmiot intensywnych badań. Ich wyniki przyczyniają się do szybkiego wzbogacenia wiadomości na temat tej grupy drobnoustrojów.

Celem obecnego opracowania jest przedstawienie nowych osiągnięć, dotyczących zasad klasyfikacji oraz właściwości mikoplazm, jak też ich znaczenia w wywoływaniu chorób u zwierząt. Staje się ono coraz większe w związku z intensyfikacją produkcji zwierzęcej i towarzyszącym często temu procesowi obniżaniem się odporności naturalnej zwierzęcia na infekcję.

Od 1898 r., to jest wykrycia pierwszego gatunku *Mycoplasmatales* — *M. mycoides* var. *mycoides* — do chwili obecnej wyosobniono i scharakteryzowano liczne gatunki tej grupy drobnoustrojów. Jest ich obecnie ponad 50.

Zgodnie z propozycjami Podkomitetu Taksonomii *Mycoplasmatales* (1967) drobnoustroje te nie powinny stanowić X rzędu klasy *Schizomycetes* wg klasyfikacji Bergeya (1957), lecz odrębną klasę o nazwie *Mollicutes* (6, 11).

Podstawą do utworzenia odrębnej klasy jest występująca u większości przedstawicieli *Mollicutes* zależność ich wzrostu od obecności w pożywce steroli. W przeciwieństwie do tego żaden z przedstawicieli klasy *Schizomycetes* nie wymaga do wzrostu steroli. Drugą podstawową różnicą jest wielkość genomu, który u *Mollicutes* jest o około połowę mniejszy niż u bakterii klasy *Schizomycetes*.

W obrębie rzędu *Mycoplasmatales* rozróżnia się obecnie dwie rodziny: *Mycoplasmataceae*

i *Acholeplasmataceae* (7, 8). Wszystkie gatunki, które wymagają do wzrostu steroli zaliczone zostały do rodziny *Mycoplasmataceae* a pozostałe do rodziny *Acholeplasmataceae*. W obrębie każdej z wymienionych rodzin jest jeden rodzaj, odpowiednio *Mycoplasma* i *Acholeplasma*. Określenie przynależności do wymienionych rodzajów wykonuje się na podłożach, które zawierają sterole i takich, w których one nie występują. Istniejące różnice można określić również przy pomocy digitoniny. Stanowi ona związek konkurencyjny w stosunku do cholesterolu, istotnego dla *Mycoplasma*. Związek ten, dodany do pożywki w stężeniu 1,5% hamuje wzrost wymienionych drobnoustrojów, nie przeciwdziała natomiast wzrostowi *Acholeplasmataceae* (11).

Oprócz podanych dwóch rodzajów *Mycoplasmatales*, znana jest odrębna grupa, określaną mianem mikoplazm T. Najprawdopodobniej zostanie ona ujęta w odrębny rodzaj.

Zgodnie z danymi Hayflicka i Chanocka (23) oraz Freundta (11) *Mycoplasmatales* stanowią grupę bakterii o następujących właściwościach: 1. mogą rozmnażać się w bezkomórkowym podłożu, lecz również w komórkach zwierzęcych; 2. najmniejsza jednostka reprodukcyjna ma wymiary 125—150 mμ, co wskazuje, iż *Mycoplasmatales* należą do najmniejszych znanych bakterii; 3. nie posiadają sztywnej ściany komórkowej a tylko trójwarstwową błonę cytoplazmatyczną, co powoduje niestabilność kształtu; 4. wszystkie gatunki są bezwzględnie odporne na penicylinę i inne antybiotyki, które hamują tworzenie się ściany komórki bakteryjnej przez interferowanie w proces polimeryzacji jej pre-