

HIGIENA I TECHNOLOGIA ŻYWNOSTI ZWIERZĘCEGO POCHODZENIA

RYSZARD SŁUŻEWSKI

Drobnoustroje rodzaju *Clostridium* w mięsie i narządach wewnętrznych świń ubijanych z konieczności

Z Katedry Higieny Produktów Zwierzęcych Wydziału Weterynaryjnego AR w Lublinie

Uboje z konieczności, będące zwykle następstwem wystąpienia chorób o gwałtownym przebiegu lub nieszczęśliwych wypadków, przeprowadzane są szczególnie często u świń. Ilość ich zwiększa się zwykle w porze letniej, przy wysokiej temperaturze otoczenia, jak też po długotrwałych przewozach zwierząt do punktów ubojowych.

Przy ubojach z konieczności brak jest najczęściej badania przedubojowego i stąd też, stosownie do obowiązujących w Polsce przepisów sanitarno-weterynaryjnych (Rozp. Min. Rolnictwa z dnia 29 stycznia 1929 r., zał. nr 5) należy w takich przypadkach poddać badaniu bakteriologicznemu tak tuszę jak i narządy wewnętrzne.

Badania bakteriologiczne przeprowadzane są z reguły w kierunku obecności chorobotwórczych drobnoustrojów tlenowych, a zwłaszcza rodzaju *Salmonella*, oraz stanu ilościowego zakażenia drobnoustrojami saprofitycznymi. Rzadziej natomiast wykonywane jest badanie w kierunku beztlenowych drobnoustrojów rodzaju *Clostridium*, wśród których znajdują się także potencjalnie chorobotwórcze dla człowieka. Wynika to m. in. również z braku możliwości technicznych odnośnych laboratoriów.

Celem badań własnych było stwierdzenie stanu ilościowego i jakościowego zakażenia drobnoustrojami rodzaju *Clostridium* u świń poddawanych ubojowi z konieczności.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na 60 szt. świń poddanych ubojowi z konieczności. Uboje dokonywane były w rzeźni sanitarnej, chociaż niektóre przeprowadzane były również w transporcie. Głównymi przyczynami ubojów były: podejrzenia chorób zakaźnych, wyczerpanie spowodowane transportem, urazy mechaniczne, zatrucia pokarmowe itp.

Łącznie zbadano 340 próbek pobieranych z następujących miejsc: 1) tkanka mięśniowa (mięśnie prostowniki i zginacze) obu kończyn, 2) węzły chłonne (*ln. cervicalis superficialis* i *ln. popliteus*), 3) nerka, 4) śledziona, 5) wątroba, 6) treść jelit.

Badania bakteriologiczne prób wykonywano w stosunkowo krótkim czasie po ich pobraniu, wykonując zarówno badania jakościowe jak i ilościowe w kierunku drobnoustrojów rodzaju *Clostridium*. Posiewy wykonywano na następujące podłoża:

a) badanie jakościowe — próbki posiewano na 2 buliony Wrzosa, z których jeden pasteryzowano (80° przez 10 min.). Po 24—48 godz. namnażaniu w temp. 37° wykonywano z podłoża wykazującego wzrost z obecnością gazu, a w preparacie mikroskopowym obecność laseczek G+ przesiewy na podłożu Horodnicanu i Sasarmana (6). Hodowlę w warunkach beztlenowych prowadzono metodą pyrogalolową z jednoczesną kontrolą hodowli w warunkach tlenowych.

Wyizolowane czyste szczepy różnicowano badaniem biochemicznym na następujących cukrach: glikoza, maltoza, sacharoza, laktoza, mannitol, salicyna, eskulina oraz mleku z lakmusem i na żelatynie.

b) badanie ilościowe — przeprowadzano przy użyciu metody płytkowej Kocha stosując rozcieńczenia od 1:10 do 1:10 000. Hodowlę prowadzono na podłożu Wilson-Blaira w warunkach beztlenowych, stosując jednocześnie kontrolę tlenową. Do rozcieńczeń użyto jałowego płynu fizjologicznego z dodatkiem 0,04% chlorowodoru cysteiny i 1% glukozy jako czynników redukujących.

Przeprowadzono również badanie termooporności wyizolowanych szczepów *Cl. perfringens*, stosując temp. 100° przez następujący okres czasu: 5, 10, 20, 30, 40, 60, 90 i 120 min. Kontrolę przeżywania termicznego sprawdzano przez posiewy na podłożu Wrzosa z dodatkiem 0,2% NaHCO₃ i termostatowano przez 2 tygodnie w temp. 37° z następowym posiewem na podłożu agarowe z krwią w warunkach beztlenowych.

Wyniki i omówienie

Wyniki badań nad występowaniem drobnoustrojów rodzaju *Clostridium* w tkance mięśniowej, w mięśniowych węzłach chłonnych, narządach wewnętrznych i treści jelit świń poddanych ubojowi z konieczności podano w tab. 1. Wskazują one na szczególnie częste występowanie *Clostridium* w tkance mięśniowej i węzłach chłonnych (21,7—25,0%), natomiast rzadsze w narządach wewnętrznych (8,3—18,2%). Wśród narządów wewnętrznych najczęściej zakażona była tymi drobnoustrojami wątroba (18,2%), następnie śledziona (13,2%) oraz nerki (8,3%).

Konfrontując wyniki badań własnych z piśmiennictwem należy stwierdzić, że zakażenie tkanki mięśniowej drobnoustrojami rodzaju *Clostridium* u zwierząt poddawanych ubojowi z konieczności wg innych autorów (5, 9, 18, 20) było jeszcze wyższe i wahało się od 30,7—61,4%. Porównując natomiast stan zakażenia

tkanki mięśniowej zwierząt poddanych ubojowi z konieczności i zwierząt zdrowych — był on u tych ostatnich stosunkowo rzadszy i wahał się od 5,5—13,2% (7, 14, 16, 19), chociaż niektórzy autorzy (4, 11, 13) stwierdzali częstsze zakażenie (30,0—50,0%) tkanki mięśniowej tymi drobnoustrojami, niż uzyskano w badaniach własnych.

ginęło w temp. 100°, 19 szczepów wytrzymało tę temperaturę przez 5—60 min., a jedynie trzy szczepy były termooporne, tzn. przetrzymywały temp. 100° przez 120 min. Wyizolowane termooporne szczepy pochodziły: 2 z treści jelit, a jeden z wątroby i można je uważać za potencjalnie chorobotwórcze.

Tab. 1. Drobnoustroje rodzaju *Clostridium* w tkance mięśniowej i narządach wewnętrznych świń poddawanych ubojowi z konieczności

Rodzaj próbki	Liczba prób	Obecność <i>Clostridium</i>	Zakażenie ilościowe <i>Clostridium</i> w 1 g			
			10 ¹	10 ²	10 ³	10 ⁴
Tkanka mięśniowa	60	15 (25,0%)	9 (15,0%)	4 (6,7%)	2 (3,3%)	—
Węzły chłonne	60	13 (21,7%)	6 (10,0%)	3 (5,0%)	4 (6,7%)	—
Nerka	60	5 (8,3%)	4 (6,7%)	1 (1,6%)	—	—
Śledziona	60	8 (13,2%)	5 (8,3%)	2 (3,3%)	1 (1,6%)	—
Wątroba	60	11 (18,2%)	2 (3,3%)	5 (8,3%)	3 (5,0%)	1 (1,6%)
Treść jelit	40	21 (52,5%)	2 (5,0%)	3 (7,5%)	6 (15,0%)	10 (25,0%)
Razem:	340	73 (21,4%)	28 (8,2%)	18 (5,3%)	16 (4,7%)	11 (3,2%)

Stan zakażenia drobnoustrojami rodzaju *Clostridium* narządów wewnętrznych, uzyskany w badaniach własnych, w pewnym stopniu odpowiadał wynikom otrzymanym przez innych autorów (1, 2, 3, 10), wg których zakażenie wątroby wynosiło od 11—20%, śledziona 0,7—22,0%, a nerek 5,6—21,0%. Porównując wyniki badań własnych z danymi piśmiennictwa odnośnie występowania *Clostridium* w narządach wewnętrznych zwierząt zdrowych (2, 3, 23) stwierdzić należy, że częstość zakażenia u zwierząt pochodzących z ubojów z konieczności była dużo wyższa.

Ilościowe zakażenie próbek tkanki mięśniowej, narządów wewnętrznych i treści jelit wahało się w granicach 10¹—10⁴/g próbki, przy czym najwyższe ilościowe zakażenie (10³—10⁴ na 1 g) stwierdzono w treści jelit (40% prób) i wątroby (6,6%), a najniższe w nerkach (zakażenie 10²/g w 1,6%).

Z 340 badanych prób wyizolowano 85 szczepów *Clostridium*, wśród których, na podstawie testów biochemicznych, zidentyfikowano następujące gatunki: *Cl. perfringens* w 57 (67,0%) przypadkach, *Cl. bifermentans* w 11 (13,0%), *Cl. sporogenes* w 6 (7,0%), *Cl. sordelli* w 3 (3,6%), *Cl. septicum* w 2 (2,4%), niezidentyfikowano w 6 (7,0%). Jak wynika z przeprowadzonych badań własnych dominującym gatunkiem był *Cl. perfringens*, co zgodnie podkreślają również inni autorzy (2, 5, 7, 8, 10, 15, 17, 19, 21, 23).

Dane piśmiennictwa (12, 22), mówiące o stosunkowo wysokim procencie termoopornych szczepów *Cl. perfringens*, będących odpowiedzialnymi za zatrucia pokarmowe, skłoniły do poddania wyosobnionych 57 szczepów tego drobnoustroju badaniu w kierunku termooporności zarodników. Stwierdzono, że 35 szczepów

Wnioski

Na podstawie przeprowadzonych badań można stwierdzić:

1. tkanka mięśniowa jak i narządy wewnętrzne świń poddawanych ubojowi z konieczności wykazują zarówno większe ilościowo jak i częstsze zakażenie drobnoustrojami rodzaju *Clostridium* w porównaniu do świń zdrowych,

2. najczęściej występującym gatunkiem był *Cl. perfringens*,

3. w tkankach świń rzeźnych występują termooporne szczepy *Cl. perfringens*, mające znaczenie w higienie i przetwórstwie mięsnym,

4. w badaniach bakteriologicznych mięsa wskazanym jest również uwzględnić badania w kierunku drobnoustrojów rodzaju *Clostridium*.

Piśmiennictwo

1. Ackermann W.: Untersuchungen über das Vorkommen und die bakteriologischen Eigenschaften von Clostridium Perfringens-Stämmen bei Schweinen und Kälbern in Hessen. Praca doktorska. Tierärztliche Hochschule Hannover 1973.
2. Cygan Z.: Clostridia w narządach zwierząt zdrowych i padłych. Praca doktorska. WSR Lublin 1967.
3. Cygan Z.: Medycyna Wet. 24, 164, 1968.
4. Hall H. E., Angelotti R.: Appl. Microbiol. 13, 352, 1965.
5. Hoof, J., Dedeken L., Fievez L.: Vlaams diergeneesk. Tijdschr. 37, 441, 1968.
6. Horodniceanu T., Sasarman A.: Arch. Roum. Path. exp. Microbiol. 23, 633, 1964.
7. Ienistea C., Roman A.: Inds Aliment. anim. 25, 135, 1974.
8. Kohler B., Beer J., Reschke B., Gayer H., Jonas M.: Arch. exp. VetMed 24, 1325, 1970.
9. Kossakowska A.: Medycyna Wet. 22, 274, 1966.
10. Narayan K. G.: Acta Vet. hung 17, 179, 1967.
11. Niezporuk W.: Mjas. Ind. SSSR 39, 34, 1968.
12. Oka S.: Jap. J. vet. Res. 14, 131, 1966.

13. Piątkowska H.: Badania nad występowaniem i zachowaniem się *Clostridium perfringens* w procesie produkcyjnym kiełbasy zwyczajnej. Praca doktorska. SGGW Warszawa 1971.
14. Püschner J.: Fleischwirtschaft 45, 1459, 1965.
15. Püschner J.: Fleischwirtschaft 50, 279, 1970.
16. Seligmann R.: Refuah vet. 30, 4, 1973.
17. Shinjo T., Ogata M.: Jap. J. vet. Sci. 27, 263, 1965.
18. Sidorenko G. I.: Gig. Sanit. 30, 38, 1955.
19. Skjelkvale R. L. H., Tjaberg T. B.: Nord. VetMed 26, 387, 1974.
20. Takacs J. T., Okalyi E.: Magy. Allatorv. Lap. 19, 183, 1964.
21. Wawrzekiewicz J., Cygan Z.: Medycyna Wet. 22, 157, 1966.
22. Włewanta E. A.: Cornell Vet. 62, 26, 1972.
23. Zagajewski I. S.: Veterinarija, Moskwa 49, 101, 1973.

Adres autora: dr Ryszard Służewski, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin.

STANISŁAW ZALESKI, ANNA FIK

Optymalizacja metod izolowania drobnoustrojów z mrożonych farszów rybnych. II. Ogólna ilość drobnoustrojów i drobnoustroje proteolityczne

Z Zakładu Mikrobiologii Żywności Instytutu Technologii Żywności Pochodzenia Morskiego AR w Szczecinie

Odzyskiwanie bakterii z materiału mrożonego wymaga innej techniki postępowania niż przy badaniu materiału świeżego. W produkcji mrożonym część populacji bakteryjnej przeżywającej proces zamrażania, składowania w stanie zamrożonym i rozmrażania jest metabolicznie uszkodzona. Komórki uszkodzone tracą zdolność do akumulowania niektórych rozpuszczonych substancji zewnątrzkomórkowych, mają zmienione wymagania odżywcze i w związku z tym mogą nie rozwijać się na niektórych podłożach bakteriologicznych. W dostępnym piśmiennictwie istnieją jednoznaczne dane stwierdzające, że w zależności od użytego podłoża odzysk ogólnej ilości bakterii może być różny (7, 10). Brak możliwości rozwoju komórek uszkodzonych nie jest równoznaczny z brakiem tej możliwości w żywności. Po rozmrożeniu, w szeregu produktach spożywczych po nieco wydłużonej fazie spoczynkowej stwarzane są warunki dla powstania populacji z komórek fizjologicznie uszkodzonych. Tym samym te ostatnie są po regeneracji równie aktywne w procesie psucia jak komórki nieuszkodzone. Stąd dobór optymalnych podłoży dla określania w mrożonych farszach rybnych ogólnej ilości drobnoustrojów, w tym też proteolitycznych, uwzględniając nie tylko komórki pełnosprawne ale i metabolicznie uszkodzone był celem przeprowadzonych doświadczeń.

Materiały i metody

Doświadczenia przeprowadzono używając farszu dowolnego pochodzenia — dorszowego, przygotowanego w pracowni ze świeżego dorsza, zamrożonego i składowanego w temp. -10°C oraz mrożonych farszów otrzymanych z Zakładu Technologii Żywności Pochodzenia Morskiego AR w Szczecinie.

Oznaczanie ilości drobnoustrojów przeprowadzano standardową metodą rozcieńczeń i posiewów powierzchniowych na podłoża agarowe. Jako płynu rozcieńczającego używano 0,1% wody peptonowej. Pięciogramowe próby farszu homogenizowano przez 2 minuty z 45 ml wody peptonowej w jałowych workach plastikowych przy użyciu „Stomachera”. Po 0,1 ml kolejnych rozcieńczeń próby posiewano powierzchniowo

na podwójne płytki każdego z porównywanych podłoży odżywczych. Stosowano 48 godzinny czas inkubacji w temp. 24°C . Ilość otrzymanych bakterii w 1 g interpretowano posługując się wzorem Farmiloe i wsp. (3).

Podłoża. Przy określaniu ogólnej ilości drobnoustrojów w mrożonych farszach rybnych porównywaną wydajność 6 podłoży odżywczych, przy czym 5 z nich było sporządzonych w dwóch wariantach — na wodzie destylowanej i syntetycznej wodzie morskiej. Ostatnie z wymienionych podłoży przygotowano tylko na wodzie morskiej. Były to podłoża następujące:

1. Suche podłoże agarowe zwykłe (Wytw. Surowic i Szczep. W-wa)
2. Podłoże oparte na suchym bulionie mięsny (3% suchy bulion mięsny, 1% casamino acids, 2,5% agar)
3. Podłoże TPN (0,5% bacto tryptone, 0,5% bacto peptone, 0,25% ekstrakt drożdżowy, 0,1% glukoza, 0,5% NaCl, 1,5% agar)
4. Podłoże TGEA (beef ekstrakt 0,3%, bacto tryptone 0,5%, glukoza 0,1%, agar 1,5%)
5. Agar żelatynowy (0,3% ekstrakt drożdżowy, 0,5% bacto tryptone, 0,4% żelatyna, 1,5% agar)
6. Agar mleczny sporządzony jako podłoże dwuwarstwowe, w którym dolna warstwa zawierała 2% odtłuszczonego mleka sproszkowanego i 1,5% agaru, drugą warstwę natomiast stanowiło podłoże TGEA na wodzie morskiej.

Syntetyczna woda morska zawierała w 1 litrze następujące składniki: NaCl 23,4 g, KCl 0,66 g, Na_2SO_4 3,91 g, NaHCO_3 0,19 g, MgCl_2 4,96 g. Do podłoży dodawano 3 części wody morskiej i 1 część wody destylowanej. W porównywanych podłożach pH ustalano na 7,2. Agar żelatynowy i mleczny służyły równocześnie do oznaczania drobnoustrojów proteolitycznych.

Wyniki

Ogólna ilość drobnoustrojów.

Odzyskiwanie ogólnej ilości drobnoustrojów w tym też proteolitycznych przy stosowaniu różnych podłoży odżywczych zestawiono w tab. 1. Wyniki przedstawiono jako średni % otrzymanych komórek, przy czym za 100% przyjęto ilości dla posiewów na suche podłoże agarowe zwykłe, sporządzone na wodzie destylowanej. W początkowym okresie doświadczeń przeprowadzano próby w różnych układach porównując poszczególne podłoża ze sobą, niektóre podłoża wyeliminowano a następnie w 13