

EWA POGORZELSKA, STANISŁAW KAFEL

Wpływ rozcieńczania materiału przednamnażanego na częstość izolacji salmoneli z mięsa mrożonego

Katedra Higieny Produktów Zwierzęcych Wydziału Weterynaryjnego ART,
10-957 Olsztyn-Kortowo

Z danych piśmiennictwa (1, 2, 5, 6, 7) wynika, że izolacja salmoneli z żywności zawierającej równocześnie znaczne ilości innych drobnoustrojów napotyka często na trudności. Thomson (11) stwierdził, że wykrycie salmoneli w podłożach wybiórczo-namnażających jest wyraźnie utrudnione, gdy stosunek bakterii z grupy coli do salmonel wynosi 10:1. Również inne drobnoustroje jak *Pseudomonas* i *Proteus* często utrudniają badania.

Wielu autorów (1, 2, 7) wskazuje na konieczność podjęcia badań nad podniesieniem efektywności izolacji salmoneli z materiału silnie zanieczyszczonego mikroflorą towarzyszącą. Dotyczy to między innymi mięsa i produktów mięsnych poddanych zabiegom konserwującym, w których przy oznaczaniu obecności salmoneli konieczne jest stosowanie tzw. przednamnażania. W procesie tym wzrasta znacznie ogólny poziom mikroflory, która znajdowała się w produkcie i często utrudnia ona wykrycie zwłaszcza niewielkich ilości bakterii z grupy *Salmonella*.

W czasie badań własnych zauważono, że posiewy na podłoża namnażająco-wybiórcze rozcieńzanego materiału po przednamnażaniu da-

wały więcej pozytywnych wyników niż posiewy materiału nie rozcieńczonego. Podjęto więc badania, których celem było określenie wpływu rozcieńczeń przednamnażanego materiału na izolację salmoneli z mięsa mrożonego.

Materiał i metody

Do badań użyto szczepów *Salmonella choleraesuis* nr 1236 otrzymanych z kolekcji Instytutu Weterynarii w Puławach.

Mięso wołowe pochodzące z Zakładów Mięsnych w Olsztynie po zmieleniu w maszynce do mięsa zakażano jednodniową hodowią bulionową badanych szczepów, dokładnie mieszano, dzielono na porcje o wadze 200 g. Tak przygotowany materiał przechowywano w zamrażarce w temp. -27°C . Z każdej porcji mięsa po rozmrożeniu przygotowywano homogenizat w zbuforowanej wodzie peptonowej w stosunku 1:10 i inkubowano go w temp. 37°C przez około 20 godz. (wg PN-73/A-82054). Następnie sporządzano 8 kolejnych dziesięciokrotnych rozcieńczeń tego materiału w zbuforowanej wodzie peptonowej. Z rozcieńczeń 10^{-2} , 10^{-4} , 10^{-6} , 10^{-8} oraz z materiału nie rozcieńczonego wprowadzano po 1 ml do 9 ml podłoża Müller-Kauffmanna, które inkubowano w temp. 43°C przez 24 godz. (zgodnie z 3, 7, 9, 10). Otrzymane hodowle przesiewano eż na agar z zielenią brylantową i czerwieńią fenolową (BGA) oraz agar SS.

Przebadano po 10 próbek mięsa zakażonego *S. ty-*

Tab. 1. Wpływ rozcieńczania materiału przednamnażanego na częstość izolacji salmoneli z mięsa

Rozcieńczenia	Stosowane podłoża agarowe	<i>S. typhimurium</i>			<i>S. choleraesuis</i>		
		Ilość wyników dodatnich w 200 posiewach	Wykrywalność w %	Srednio %	Ilość wyników dodatnich w 200 posiewach	Wykrywalność w %	Srednio %
Materiał nie rozcieńczony	BGA	124	62,0	67,25	118	59,0	62,75
	SS	145	72,5		133	66,5	
10^{-2}	BGA	154	77,0	78,0	147	73,5	74,5
	SS	158	79,0		151	75,5	
10^{-4}	BGA	166	83,0	82,0	124	62,0	62,75
	SS	162	81,0		127	63,5	
10^{-6}	BGA	77	38,5	36,0	59	29,5	29,0
	SS	67	33,5		57	28,5	
10^{-8}	BGA	5	2,5	2,5	4	2,0	2,25
	SS	5	2,5		5	2,5	

phimurium oraz *S. choleraesuis*. Z każdej próbki wykonano 20 powtórzeń.

Wyniki i omówienie

Uzyskane wyniki zestawiono w tab. 1. W mięsie zakażonym *S. typhimurium* po rozcieńczeniu materiału przednamnożonego do 10^{-2} wykrywalność tych bakterii wzrosła średnio o 11% w porównaniu z materiałem nie rozcieńczonym, a po rozcieńczeniu do 10^{-4} o 15%. W przypadku *S. choleraesuis* po rozcieńczeniu do 10^{-2} wykrywalność wzrosła o 12%, a po rozcieńczeniu do 10^{-4} była podobna jak w próbkach z materiału nie rozcieńczonego. Dalsze rozcieńczenie powodowało już zmniejszenie stopnia wykrywalności salmoneli. Galton (2) podaje, że pomyślne rezultaty można uzyskać poprzez rozcieńczenie podłoży płynnych namnażająco-wybiórczych po inkubacji w nich badanego materiału, a Jamson (4, 5) McCoy (8) i Galton (1, 2) zalecają powtarne namnażanie selektywne na tych samych podłożach. W dostępnym piśmiennictwie nie spotkano jednak prac nad wpływem rozcieńczenia próbek po przednamnażaniu na efektywność izolacji salmoneli w żywności.

W trakcie prowadzenia badań zauważono, że ze wzrostem rozcieńczenia materiału przednamnożonego, w końcowym efekcie na podłożach agarowych różnicująco-wybiórczych zmniejszała się wyraźnie liczba kolonii bakterii towarzyszących. Przy rozcieńczeniu 10^{-4} uzyskiwano już najczęściej czyste hodowle salmoneli.

Wnioski

1. Rozcieńczenie 10^{-2} — 10^{-4} materiału przednamnożonego w zbuforowanej wodzie peptonowej zwiększa szanse wyizolowania salmoneli z mięsa.

THIERMANN A. B., GARRETT L. A.: Zastosowanie odczynu ELISA do wykrywania przeciwciał dla *Leptospira interrogans* serovar. hardjo i pomona u bydła. (Enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of antibodies to *Leptospira interrogans* serovar. hardjo and pomona in cattle). Am. J. vet. Res. 44, 884—887, 1983 (5).

Porównano przydatność odczynu aglutynacji mikroskopowej i odczynu ELISA do wykrywania w surowicy bydła przeciwciał dla *Leptospira interrogans* serovar. hardjo i pomona. Jako antygen w odczynie ELISA zastosowano wyciąg fenolowy sporządzony wg Bauma i wsp. W odczynie ELISA z użyciem surowicy antyglobulinowej reagowało z antygenem hardjo 64% surowic, z antygenem pomona 78% surowic. W odczynie aglutynacji mikroskopowej z antygenem hardjo reagowało dodatnio tylko 18% surowic, zaś z antygenem pomona 23% surowic. Ponadto w odczynie ELISA nie występowały reakcje fałszywie dodatnie.

G.

2. Rozcieńczenie materiału przednamnożonego ułatwia uzyskanie czystych hodowli salmoneli z mięsa na podłożach agarowych BGA i SS.

Piśmiennictwo

1. Galton M. M.: U. S. Livestock Sanitary Association, 65 Annual Meeting, 1961.
2. Galton M. M., Morris G. K., Martin W. T.: Salmonellae in foods and feeds — Review of isolation methods and recommended procedures, Natl. Communicable Disease Center, Atlanta, 1968.
3. Harvey R. W. S., Thomson S.: Monthly Bull. Minist. Health (Lond.) 12, 149, 1953.
4. Jameson J. E.: J. Hyg., Camb. 59, 1, 1961.
5. Jameson J. E.: J. Hyg., Camb. 60, 193, 1962.
6. Jameson J. E.: J. appl. Bact. 26, 112, 1963.
7. Kafel S., Bryan F. L.: Appl. Environ. Microbiol. 34, 285, 1977.
8. McCoy J. H.: J. appl. Bact. 25, 213, 1962.
9. Silliker J. H., Gabis D. A.: Can. J. Microbiol. 20, 813, 1974.
10. Smith H. W.: J. Hyg., Camb. 50, 21, 1952.
11. Thomson S.: J. Hyg., Camb. 53, 217, 1955.

Adres autora: dr Ewa Pogorzelska, ul. Pstrowskiego 17 m. 36, 10-601 Olsztyn

Погожельская Э., Кафель С. — Влияние разбавления преднамноживаемого материала на частоту изоляции *Salmonella* из замороживаемого мяса

Исследовали влияние разбавления преднамноживаемого материала в буферированной пептоновой воде на обнаруживаемость *Salmonella* в замороживаемой говядине. Показали, что разбавление 10^{-2} — 10^{-4} увеличивает шансы изолирования *Salmonella* из мяса и облегчает получение чистых культур этих бактерий на дифференцирующие-избирательных средах BGA и SS.

Pogorzelska E., Kafel S. — Influence of a dilution of premultiplication material on frequency of *Salmonella* isolation from frozen meat

The influence of a dilution in a buffered pepton water of premultiplication material on the frequency of detection of *Salmonella* in a frozen beef meat has been examined. It was found that a dilution 10^{-2} — 10^{-4} increases the chance of isolation of *Salmonella* from meat and facilitates to obtain pure cultures of these bacteria on differential-selective culture media BGA and SS.

PLANT J. W., WALKER K. H., ACLAND H. M., GARD G. P.: Zmiany patologiczne u płodów owiec spowodowane przez pestiwirus owiec. (Pathology in the ovine foetus caused by a ovine pestivirus). Aust. Vet. J. 60, 137—140, 1983 (5).

Owce w 19—88 dniu ciąży zakażono homogenatem rdzenia kręgowego jagnięcia, zawierającym niecytopatogeny szczep pestiwirusa. U 29 z 35 zakażonych owiec pojawiły się swoiste przeciwciała dla pestiwirusa. Zakażenie pestiwirusem powodowało śmierć płodów u wszystkich owiec zakażonych przed 35 dniem ciąży, duży odsetek ronień u owiec zakażonych między 45 i 72 dniem ciąży, zmiany w owłosieniu, osłabienie mielinizacji u większości jagniąt pochodzących od owiec zakażonych między 19—72 dniem ciąży oraz zaburzenia rozwojowe śródczaszkowe u jagniąt pochodzących od matek zakażonych między 45 i 72 dniem ciąży. Osłabienie mielinizacji i zaburzenia rozwojowe śródczaszkowe występowały także u jagniąt urodzonych w terminie.

G.