Zmienność zanieczyszczenia mikrobiologicznego mięsa ślimaków jadalnych w zależności od gatunku i miejsca ich pozyskania¹⁾

WALDEMAR PASZKIEWICZ, KRZYSZTOF SZKUCIK, MONIKA ZIOMEK,
RENATA PYZ-ŁUKASIK, ŁUKASZ DROZD, ZBIGNIEW BEŁKOT

Katedra Higieny Żywności Zwierzęcego Pochodzenia, Wydział Medycyny Weterynaryjnej,
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin

Otrzymano 30.12.2017

Zaakceptowano 17.07.2018

Paszkiewicz W., Szkucik K., Ziomek M., Pyz-Łukasik R., Drozd Ł., Bełkot Z.

Variability of microbial contamination of edible snail meat depending on species and place of their collection

Summary

The objective of the research was to determine the microbiological status of raw and frozen (cooked) snail meat obtained from both free-living and farmed edible snails. The research material comprised meat samples (10 g each) collected from three snail species, i.e. Roman snail (*Helix pomatia* – HP), small brown garden snail (*Cornu aspersum aspersum* – CAA) and large brown garden snail (*Cornu aspersum maxima* – CAM). Roman snails were collected in their natural environment in Greater Poland Voivodeship (region A: HP_A) and Lower Silesian Voivodeship (region B: HP_B). The *Cornu* genus snails were obtained from two different heliciculture farms in Greater Poland Voivodeship (farm A: CAA_A and CAM_A) and Lower Silesian Voivodeship (farm B: CAA_B and CAM_B). In both farms, snails were maintained under the mixed rearing system. Raw meat samples, taken from the edible portion of snails, that is, the foot with the collar and a fragment of the mantle, were obtained after the snails had been sacrificed in the laboratory. Frozen meat samples came from a snail meat processing facility. The samples were analyzed to determine the total aerobic bacterial count and the counts of Enterobacteriaceae, *Escherichia coli*, Enterococcus, Staphylococcus, Pseudomonas and Aeromonas, as well as psychotropic and proteolytic bacteria counts. Proteolytic bacteria were counted according to appropriate methodology, whereas the counts of other groups of microorganisms were obtained in accordance with the Polish Standards. Bacterial contamination levels (expressed as log cfu/g) were analyzed using the Statistica software (version 10.0). All values are presented as means and standard deviations. The total aerobic bacteria counts for HP_A, HP_B, CAA_A, CAM_A, CAA_B and CAM_B samples were, respectively, 5.78, 5.10, 6.00, 6.55, 5.12 and 5.21 log cfu/g in the case of raw meat, and 4.59, 4.75, 4.60, 5.13, 4.25 and 4.68 log cfu/g in the case of frozen meat. It was found that bacteria from the Enterobacteriaceae family were prevalent in both raw and frozen snail meat. The percentage of contaminated samples oscillated between 73.3% (HP_B and CAM_B) and 96.7% (CAA_A and CAA_B) for raw meat and between 20% (CAA_A) and 100% (CAM_A) for frozen meat. The quantitative contamination of raw meat with Enterobacteriaceae varied from 2.54 (HP_B) to 4.75 log cfu/g (CAA_A) and was higher by 1.0 to almost 2.0 log in farm snail meat as compared to Roman snail meat. The quantitative contamination of frozen meat was lower, ranging from 0.5 (HP_A, CAA_A and CAM_A) to 1.65 log cfu/g (CAM_B). All samples of raw and frozen snail meat were free from *E. coli* (contamination below 1 log cfu/g).

In the raw snail meat, enterococci were recovered from 3 (10%) HP_A, 6 (20%) HP_B, 9 (30%) CAA_A, 18 (60%) CAM_A, 6 (20%) CAA_B and 17 (56.6%) CAM_B samples. The contamination levels for HP_A, HP_B, CAA_A, CAM_A, CAA_B and CAM_B raw meat samples were, respectively, 0.3, 0.63, 0.42, 2.0, 0.66 and 1.57 log cfu/g. In the frozen snail meat, enterococci were detected in 13 (43.3%) HP_A, 13 (43.3%) HP_B, 6 (20%) CAA_A, 16 (53.3%) CAM_A, 1 (3.3%) CAA_B and 10 (30%) CAM_B samples. The contamination level was similar for all kinds of samples, ranging between 0.48 (CAA_A) and 2.11 log cfu/g (CAM_A). The percentages of raw and frozen meat samples contaminated with staphylococci were similar, ranging from 50% (HP_A) to 86.7% (CAM_B) for raw meat and from 50% (HP_A) to 100% (CAA_A, CAM_A and CAM_B) for frozen meat. Quantitative contamination levels were also similar, oscillating between 1.48 (HP_A) and 2.84 log cfu/g (CAM_B) for raw meat and between 1.89 (HP_A) and

¹⁾ Praca finansowana w ramach projektu badawczego N N308 574540.

3.28 log cfu/g (CAM_A) for frozen meat. The percentage of samples contaminated with psychotropic bacteria was also similar for raw and frozen snail meat, varying from 90% to 100%. Quantitative contamination with these bacteria oscillated between 3.17 (HP_B) and 5.53 log cfu/g (CAM_A) for raw meat and between 2.95 (HP_A) and 4.12 log cfu/g (CAM_A) for frozen meat. Bacteria from the *Pseudomonas* genus were confirmed in 63.3% of raw meat samples, in which the contamination level ranged from 2.22 (HP_A) to 4.15 log cfu/g (CAA_A), and in 96.7% of frozen meat samples, which contained from 1.12 (CAM_A) to 2.21 log cfu/g (HP_B) of these microorganisms. In raw meat, bacteria from *Aeromonas* genus were identified in all HP_A samples as well as in 29 (96.7%) HP_B, 26 (86.7%) CAA_A, 21 (70%) CAM_A, 29 (96.7%) CAA_B and 17 (56.7%) CAM_B samples. These bacteria were also present in a similar proportion of frozen meat samples (46.7-100%). The contamination level for raw meat samples oscillated between 2.74 (CAM_B) and 4.73 log cfu/g (CAA_A), whereas for frozen meat samples, it was substantially lower, ranging between 1.14 (CAM_A) and 2.58 log cfu/g (CAA_B). Proteolytic microbes were isolated more frequently from frozen snail meat. The percentage of contaminated samples varied from 80% (HP_B and CAA_A) to 100% (the rest) for frozen meat and from 36.7% (CAM_A) to 93.3% (CAM_B) for raw meat. The quantitative contamination level for frozen meat ranged from 3.17 (CAA_A) to 4.44 log cfu/g (CAM_A) and was generally lower than in the raw meat, where it varied between 2.07 (HP_A) and 4.90 log cfu/g (CAM_A). Snail meat is characterized by a high level of total microbiological contamination. The species of snails and the place where they live are often significant factors determining the level of contamination, which is higher in farm snail meat than in Roman snail meat. Heat treatment reduced the counts of bacteria found in raw meat. The increase in the number of staphylococci and enterococci in frozen meat (statistically significant only for staphylococci in snail meat from farm A) suggests the possibility of a secondary contamination of heat-treated meat. Therefore, a necessary condition for obtaining a safe and durable product is absolute compliance by the staff with appropriate procedures for hand hygiene and proper handling of food during production.

Keywords: Cornu genus, *Helix pomatia*, snail meat, microbiological contamination

Głównym kryterium oceny każdego środka spożywczego jest jego jakość zdrowotna rozumiana jako zespół cech i kryteriów, przy pomocy których charakteryzuje się żywność pod względem bezpieczeństwa dla zdrowia konsumenta, wartości odżywczej i jakości organoleptycznej. Jest ona wypadkową zastosowanych w procesie produkcji surowców, procesów technologicznych oraz sposobów magazynowania i dystrybucji. Bezpieczeństwo mikrobiologiczne jest jednym z kryteriów warunkujących możliwość wprowadzenia żywności do obrotu. Obowiązujące przepisy prawne w zakresie jakości mikrobiologicznej jadalnych tkanek (mięsa) ślimaków lądowych wyznaczają kryteria bezpieczeństwa dla gotowanego mięsa (półproduktu) oraz żywności gotowej do spożycia (RTE) wytworzonej z udziałem takiego mięsa (26). Nie odnoszą się natomiast do surowego mięsa ślimaków oraz nie określają wymagań w zakresie higieny procesu pozyskiwania półproduktu, którym jest gotowane mięso ślimaków. Brak jest więc wskaźnikowych wartości zanieczyszczenia, które pozwalałyby zaakceptować jakość mikrobiologiczną procesu produkcji lub uznać ją za niezadowalającą. Dane piśmiennictwa również nie dają wyczerpujących informacji nt. statusu mikrobiologicznego mięsa ślimaków.

Celem badań było określenie rodzaju i poziomu zanieczyszczenia mikrobiologicznego surowego i mrożonego (po gotowaniu) mięsa trzech gatunków ślimaków jadalnych pozyskiwanych w Polsce w zależności od ich gatunku i miejsca pozyskania oraz etapu obróbki technologicznej mięsa.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na próbkach surowego i mrożonego (po gotowaniu) mięsa trzech gatunków ślimaków: winniczka (*Helix pomatia* – HP), ślimaka szarego małego (*Cornu aspersum aspersum* – CAA) i szarego dużego (*Cornu aspersum maxima* – CAM). Winniczki, o średnicy muszli większej niż 3 cm, żyjące w warunkach naturalnych, pochodziły ze zbiorów dokonywanych w okresie od 20 kwietnia do 31 maja na terenie województw: wielkopolskiego (region A – HP_A) i dolnośląskiego (region B – HP_B), a pozyskiwano je zgodnie z zasadami określonymi rozporządzeniami ministra środowiska (27, 28). Ślimaki z rodzaju *Cornu* pozyskano z 2 różnych hodowli zlokalizowanych na terenie województw: wielkopolskiego (ferma A – CAA_A i CAM_A) i dolnośląskiego (ferma B – CAA_B i CAM_B). W obu gospodarstwach prowadzono chów w systemie mieszanym, w którym paszę zieloną stanowiły rzepik i gorczyca, a dodatkowo ślimaki dokarmiano wyprodukowaną w tych gospodarstwach zbilansowaną paszą, gdzie głównym źródłem białka był makuch rzepakowy. Przeznaczone do badań próbki mięsa surowego pozyskiwano w laboratorium po uśmierceniu ślimaków przy użyciu chloroformu. Z ciał ślimaków, z zachowaniem warunków jałowości, izolowano przeznaczoną do badań część jadalną. Próbkę analityczną o masie 10 g stanowiło mięso pozyskane z 3-4 osobników winniczka i ślimaka szarego dużego oraz 5-6 osobników ślimaka szarego małego. Przeznaczone do badań próbki mięsa mrożonego (po 10 g) izolowano z pozyskiwanych w zakładzie przetwarzającym mięso ślimaków próbek laboratoryjnych o masie 500 g. Każdą próbkę laboratoryjną kolekcjonowano z różnych części partii produkcyjnej na etapie sortowania oczyszczonego, poddanego gotowaniu i schłodzonego mięsa, a następnie próbki zamrażano

w temperaturze -26°C . Do czasu badania próbki przechowywane były w temperaturze nie wyższej niż -18°C .

Próbki do badań przygotowano, a zawiesinę wyjściową i rozcieńczenia dziesięciokrotne sporządzono według zasad zawartych w Polskich Normach (19, 20, 22). Oznaczenia poziomu zanieczyszczenia ($\log \text{ jtk/g}$) mięsa ślimaków poszczególnymi grupami drobnoustrojów przeprowadzono według odpowiednich Polskich Norm, a w przypadku ich braku – według powszechnie przyjętych metodyk laboratoryjnych. W wymienionym materiale oznaczono liczbę: drobnoustrojów tlenowych (18), bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* (25), *E. coli* (23), enterokoków (16), gronkowców (21), drobnoustrojów psychrotrofowych (24) i z rodzaju *Pseudomonas* (17) oraz bakterii z rodzaju *Aeromonas* (15) i proteolitycznych (3). Do wymienionych oznaczeń wykorzystano następujące pożywki i testy mikrobiologiczne: Plate Count Agar LAB-AGAR™ (Biocorp Polska Sp. z o.o., nr kat. PS37), Violet Red Bile with Glucose LAB-AGAR™ (Biocorp Polska Sp. z o.o.; nr kat. PS73), Tryptone Bile X-glucuronide LAB-AGAR™ (Biocorp Polska Sp. z o.o., nr kat. PS135), Slanetz and Bartley LAB-AGAR™ (Biocorp Polska Sp. z o.o.; nr kat. PS67), Baird Parker LAB-AGAR™ (Biocorp Polska Sp. z o.o.; nr kat. PS33), Cetrimide, fucidin and cephaloridine Broth (BTL Polska Sp. z o.o.; nr kat. P-0250), Aeromonas Medium Base (Oxoid; nr kat. CM0833) i Frazier Medium (BTL Polska Sp. z o.o.; nr kat. P-0235), Oxitest (Erba Lachema, Czechy, nr kat. 10003324), Triple Sugar Iron LAB-AGAR™ (Biocorp Polska Sp. z o.o.; nr kat. PS44), Brain Heart Infusion Broth LAB-AGAR™ (Biocorp Polska Sp. z o.o.; nr kat. PS04), Rabbit Coagulase Plasma (Pro-Lab Diagnostes, Wielka Brytania; nr kat. PL.850-3), bezodczynnikiowy zestaw identyfikacyjny STAPHYtest 24 (Erba Lachema, Czechy; nr kat. 10010233) oraz sporządzony we własnym laboratorium odczynnik do stwierdzania rozkładu żelatyny (3). W obrębie każdego gatunku, każdego regionu i każdej hodowli badaniu mikrobiologicznemu poddano po 30 próbek.

Wyniki oznaczeń ilościowych poddano analizie statystycznej, wyliczając średnie arytmetyczne i odchylenia standardowe. Wartości zanieczyszczenia uzyskane dla poszczególnych grup drobnoustrojów porównano pomiędzy 3 gatunkami ślimaków. Natomiast w obrębie każdego gatunku porównano wymienione wartości pomiędzy dwoma rodzajami mięsa i dwoma miejscami pozyskania ślimaków. Wpływ czynników zmienności na oznaczane parametry określono w oparciu o jednoczynnikową analizę wariancji na poziomie istotności wynoszącym 5%. W celu ustalenia statystycznie istotnych różnic pomiędzy porównywanymi grupami zastosowano test post-hoc wielokrotnych przedziałów ufności T Tukeya dla $p < 0,05$. Do obliczeń wykorzystano pakiet Statistica 10 firmy StatSoft.

Wyniki i omówienie

Wyniki zanieczyszczenia mięsa ślimaków drobnoustrojami tlenowymi, bakteriami z rodziny *Enterobacteriaceae*, paciorkowcami kałowymi, gronkow-

Tab. 1. Ogólna liczba bakterii tlenowych ($\log \text{ jtk/g}$) w surowym i mrożonym mięsie w zależności od miejsca pochodzenia i gatunku ślimaków ($n = 30$, $\bar{x} \pm s$)

Gatunek ślimaka	Region/Ferma A		Region/Ferma B	
	Mięso			
	surowe	mrożone	surowe	mrożone
HP	5,78 ^{Aa*} $\pm 0,55$	4,59 ^{Ba} $\pm 0,48$	5,10 ^{Aa*} $\pm 0,57$	4,75 ^{Ba} $\pm 0,48$
CAM	6,55 ^{Ab*} $\pm 0,37$	5,13 ^{Bb*} $\pm 0,41$	5,21 ^{Aa*} $\pm 0,85$	4,68 ^{Ba*} $\pm 0,47$
CAA	6,00 ^{Aa*} $\pm 0,75$	4,60 ^{Ba*} $\pm 0,43$	5,12 ^{Aa*} $\pm 0,79$	4,25 ^{Bb*} $\pm 0,41$

Objaśnienia: A, B – średnie dla mięsa surowego i mrożonego w obrębie regionu/ferry (w poziomie) oznaczone różnymi literami różnią się istotnie przy $p < 0,05$; a, b – średnie dla mięsa surowego i mrożonego poszczególnych gatunków (w pionie) oznaczone różnymi literami różnią się istotnie przy $p < 0,05$; * – średnie dla mięsa surowego i mrożonego między regionami/fermami (w poziomie) oznaczone * różnią się istotnie przy $p < 0,05$

cami, drobnoustrojami psychrotrofowymi, z rodzaju *Pseudomonas*, z rodzaju *Aeromonas* i proteolitycznymi przedstawiono w tab. 1-8.

W większości przypadków (tab. 1) nie stwierdzono istotnych różnic między ogólnym zanieczyszczeniem bakteryjnym surowego mięsa pozyskanego od poszczególnych gatunków ślimaków. Wyjątkiem było mięso CAM_A, które wykazywało istotnie wyższy (6,55 $\log \text{ jtk/g}$) poziom zanieczyszczenia w porównaniu do mięsa HP_A i CAA_A. Istotne zależności wystąpiły w zanieczyszczeniu surowego mięsa w zależności od miejsca jego pozyskania. Wyższym zanieczyszczeniem charakteryzowało się zarówno mięso winniczków z regionu A, jak i ślimaków hodowlanych z fermy A w porównaniu do mięsa ślimaków z regionu i fermy B. Podobne zależności wystąpiły również w mięsie mrożonym, w którym stwierdzono istotnie wyższe (5,13 $\log \text{ jtk/g}$) zanieczyszczenie mięsa CAM_A w porównaniu do HP_A i CAA_A. Dodatkowo istotnie niższy był poziom zanieczyszczenia CAA_B (4,25 $\log \text{ jtk/g}$) w porównaniu do mięsa innych ślimaków z regionu i fermy B. Miejsce pozyskania różnicowało poziom ogólnego mikrobiologicznego zanieczyszczenia mięsa mrożonego. Był on istotnie wyższy w mięsie ślimaków hodowlanych z fermy A w porównaniu do fermy B, natomiast w przypadku mięsa winniczków różnica nie była statystycznie istotna. W obrębie każdego regionu/ferry i każdego gatunku stwierdzono statystycznie istotne różnice w ogólnej liczbie bakterii tlenowych między mięsem surowym a mrożonym. Wyniki badań innych autorów wskazują na różny poziom ogólnego zanieczyszczenia surowego mięsa ślimaków. W mięsie ślimaków CAA hodowanych w Polsce i Rumunii wynosił on, odpowiednio, 2,48 i 3,31 $\log \text{ jtk/g}$, podczas gdy w mięsie wolno żyjących winniczków, odpowiednio, 3,41 i 3,43 $\log \text{ jtk/g}$ (5, 30, 31). Podobny poziom zanieczyszczenia (3,42 $\log \text{ jtk/g}$) wykazywało mięso pozyskiwanego w Nigerii słodkowodnego ślimaka *Pila ovata* (8). Wyższe zanieczyszczenie (4,73 $\log \text{ jtk/g}$) stwierdzono w mięsie innego słodkowodnego ślimaka *Pomacea canaliculata* (9). Natomiast zdecydowanie

wyższe zanieczyszczenie, przekraczające 8 log jtk/g rozpoznano w mięsie *Achatina fulica*, *Limcolaria* sp. i winniczków dostępnych na rynku nigeryjskim (1). Wysokiego stopnia ogólne zanieczyszczenie bakteryjne wahające się od 6,61 do 8,29 log jtk/g stwierdzono także w mięsie hodowlanych, jak i wolno żyjących afrykańskich ślimaków olbrzymich oferowanych do sprzedaży w Ghanie (12). Zanieczyszczenie pozyskanego w Grecji surowego mięsa wolno żyjących ślimaków z rodzaju *Cornu* oraz *Helix lucorum* mieściło się w zakresie 6-7 log jtk/g, a w przypadku mięsa ślimaków hodowlanych z rodzaju *Cornu* wynosiło 7,58 log jtk/g (14). W porównaniu do stwierdzonych w badaniach własnych, poziomy zanieczyszczenia bakteriami tlenowymi mrożonego mięsa ślimaków uzyskane przez innych autorów były zdecydowanie niższe. Wynosiły one od 2,21 log jtk/g w przypadku pozyskanego w Polsce mięsa CAA (31) do 2,24 log jtk/g w przypadku pozyskanego w Turcji mięsa winniczków (29).

Stwierdzono powszechne występowanie bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* zarówno w surowym, jak i mrożonym mięsie ślimaków. Odsetek zanieczyszczonych próbek wynosił, odpowiednio, od 73,3% (HP_B i CAM_B) do 96,7% (CAA_A i CAA_B) oraz od 20% (CAA_A) do 100% (CAM_A). W analizie zanieczyszczenia mięsa ślimaków bakteriami z rodziny *Enterobacteriaceae* (tab. 2) stwierdzono istotnie niższy (od 1,0 do prawie 2 log) poziom tych bakterii w surowym mięsie winniczków w porównaniu do mięsa ślimaków hodowlanych. Zależność ta dotyczyła mięsa z obu regionów. Miejsce pozyskania mięsa miało istotny wpływ na liczbę bakterii tej grupy jedynie w mrożonym mięsie ślimaków hodowlanych. Zanieczyszczenie mrożonego mięsa CAM i CAA z fermy B było istotnie wyższe (odpowiednio: 1,65 i 1,0 log jtk/g) w porównaniu do mięsa pozyskanego z fermy A. Jednocześnie w obrębie każdego regionu i fermy oraz każdego gatunku stwierdzono statystycznie istotne różnice w liczbie wymienionych bakterii między mięsem surowym a mrożonym. Zdecydowanie wyższy niż w badaniach własnych poziom zanieczyszczenia bakteriami z rodziny *Enterobacteriaceae* wynoszący od 4,84 do 6,0 log jtk/g stwierdzono w mięsie winniczków pozyskanych w Turcji oraz w mięsie ślimaków wolno żyjących i hodowlanych w Grecji (14, 29). Wymienieni autorzy wykazali również zanieczyszczenie badanego mięsa bakteriami z grupy coli na poziomie 2,3-5,5 log jtk/g. Obróbka termiczna powodowała zmniejszenie zanieczyszczenia mięsa obiema grupami bakterii do wartości poniżej 2 log jtk/g, które na takim poziomie utrzymywało się również w mięsie mrożonym. W badaniach innych autorów zanieczyszczenie surowego mięsa bakteriami grupy coli zmieniało się w szerokim zakresie w zależności od miejsca pozyskania i gatunków ślimaków poczw-

Tab. 2. Poziom zanieczyszczenia (log jtk/g) bakteriami z rodziny *Enterobacteriaceae* surowego i mrożonego mięsa w zależności od miejsca pochodzenia i gatunku ślimaków (n = 30, $\bar{x} \pm s$)

Gatunek ślimaka	Region/Ferma A		Region/Ferma B	
	Mięso			
	surowe	mrożone	surowe	mrożone
HP	2,79 ^{Aa} ± 1,05	0,50 ^{Ba} ± 1,02	2,54 ^{Aa} ± 1,68	0,95 ^{Ba} ± 1,14
CAM	3,87 ^{Ab} ± 1,44	0,50 ^{Ba*} ± 0,76	4,23 ^{Ab} ± 1,58	1,65 ^{Ba*} ± 1,29
CAA	4,75 ^{Ab} ± 1,22	0,50 ^{Ba*} ± 0,93	4,12 ^{Ab} ± 1,26	1,00 ^{Ba*} ± 1,14

Objaśnienia: jak w tab. 1

szy od 1,68-2,2 log jtk/g (1) aż do 5,61-8,50 log jtk/g (12).

Jednocześnie z żadnej z analizowanych w badaniach własnych próbek surowego i mrożonego mięsa ślimaków (n = 360) nie wyizolowano pałeczki okrężnicy (poziom zanieczyszczenia poniżej 1 log jtk/g). *E. coli* uważana jest za wskaźnik świeżego zanieczyszczenia kałowego (cyt. 7). Nieobecność glukuronidazododatnich *E. coli* w próbkach świeżego mięsa wskazuje na brak tego typu zanieczyszczenia w środowiskach bytowania ślimaków. Jest to szczególnie ważne w związku z doniesieniami wskazującymi na odchody ssaków jako atrakcyjne pożywienie dla ślimaków oraz na regularne spożywanie przez ślimaki gleby, jako źródła niezbędnych dla nich kwasów humusowych (2). Uzyskany w badaniach własnych wynik jest zbliżony z doniesieniami niektórych autorów, którzy badając surowe mięso pozyskane z hodowlanych ślimaków CAA nie znaleźli *E. coli* (31), jednak w innych badaniach stwierdzano *E. coli* w surowym mięsie ślimaków hodowlanych. W pozyskanych w Grecji i w Polsce próbkach mięsa CAA i CAM odsetek próbek zanieczyszczonych wynosił, odpowiednio, 15% i 5% (4). Wyższy odsetek (25%) próbek zanieczyszczonych *E. coli* stwierdzono w badaniach mięsa słodkowodnych ślimaków z rodzaju *Ampullaria* w Nigerii (11). Zanieczyszczenie rzędu 2,4 log jtk/g rozpoznano w surowym mięsie ślimaków z rodz. *Cornu* w Grecji (14). Natomiast w mięsie ślimaków wolno żyjących poziom zanieczyszczenia *E. coli* osiągał wartość od 2,3 do ponad 4 log jtk/g (14, 29, 30). Podobnie jak w przypadku pałeczek z grupy coli i *Enterobacteriaceae* zastosowanie obróbki termicznej spowodowało spadek liczby *E. coli* zarówno w mięsie ślimaków hodowlanych, jak i wolno żyjących, odpowiednio, do poziomu poniżej 2 i 1 log jtk/g (14, 29).

Z surowego mięsa ślimaków (HP_A i HP_B, CAA_A i CAM_A, CAA_B i CAM_B) paciorkowce kałowe wyizolowano z 3 (10%) i 6 (20%), 9 (30%) i 18 (60%) oraz 6 (20%) i 17 (56,6%) próbek. W mięsie mrożonym paciorkowce kałowe wykryto, odpowiednio, w 13 (43,3%) próbkach zarówno HP_A i HP_B, 6 (20%) i 16 (53,3%) oraz 1 (3,3%) i 10 (30%) próbkach. Zanieczyszczenie zarówno surowego, jak i mrożonego mięsa ślimaków enterokokami (tab. 3) było bardzo niskie i nie stwierdzono statystycznie istotnych róż-

Tab. 3. Poziom zanieczyszczenia (log jtk/g) enterokokami surowego i mrożonego mięsa w zależności od miejsca pochodzenia i gatunku ślimaków ($n = 30$, $\bar{x} \pm s$)

Gatunek ślimaka	Region/Ferma A		Region/Ferma B	
	Mięso			
	surowe	mrożone	surowe	mrożone
HP	0,30 ^{Aa} ± 0,61	0,50 ^{Aa} ± 1,02	0,63 ^{Aa} ± 1,29	0,97 ^{Aab} ± 1,14
CAM	2,00 ^{Ab} ± 1,01	2,11 ^{Ab} ± 0,87	1,57 ^{Ab} ± 1,35	1,65 ^{Aa} ± 1,16
CAA	0,42 ^{Aa} ± 0,86	0,48 ^{Aa} ± 0,98	0,66 ^{Aa} ± 1,03	0,70 ^{Ab} ± 1,01

Objaśnienia: jak w tab. 1

nic w liczbie wymienionych bakterii między mięsem surowym a mrożonym w obrębie regionów i ferm. Istotnych różnic nie odnotowano także w analizie związanej z miejscem pozyskania ślimaków. Jedynie w przypadku surowego i mrożonego mięsa CAM_A i CAM_B stwierdzono istotnie wyższy poziom zanieczyszczenia enterokokami (odpowiednio: 2,0 i 2,11 log jtk/g oraz 1,57 i 1,65 log jtk/g) w porównaniu do mięsa winniczków (z wyjątkiem mrożonego mięsa HP_B) i mięsa CAA. W analizie wyników zwraca uwagę wzrost zanieczyszczenia enterokokami mięsa mrożonego wszystkich gatunków ślimaków, bez względu na miejsce ich pozyskania. Mimo braku statystycznie istotnych różnic w poziomie zanieczyszczenia może to wskazywać na możliwość wtórnego zanieczyszczenia na etapie chłodzenia, sortowania lub/i pakowania gotowanego mięsa. W innych badaniach nie wykazano obecności enterokoków w próbkach surowego mięsa z pozyskanych w Polsce winniczków i *C. a. aspersum* (30, 31). Poziom zanieczyszczenia paciorkowcami kałowymi surowego mięsa ślimaków wolno żyjących w Grecji wynosił od niespełna 3 do 4,5 log jtk/g, natomiast mięsa ślimaków hodowlanych 2,55 log jtk/g (14). Wyższy poziom zanieczyszczenia stwierdzono w mięsie ślimaków z rodzaju *Ampullaria* w Nigerii i mieścił się w zakresie od 3,41 do 5,45 log jtk/g (11). Przewód pokarmowy ślimaków jest pierwotnym źródłem zanieczyszczenia tymi drobnoustrojami. W przeprowadzonych w Nigerii badaniach 3 gatunków ślimaków jadalnych wykazano obecność 191 antybiotykoopornych szczepów enterokoków w treści jelita, wśród których najczęściej zidentyfikowano *E. faecalis* i *E. faecium* (odpowiednio: 73,8% i 17,8% izolatów) (6).

Stwierdzono podobny odsetek zanieczyszczonych gronkowcami próbek mięsa surowego i mrożonego, który wynosił, odpowiednio, od 50% (HP_A) do 86,7% (CAA_B) oraz od 50% (HP_A) do 100% (CAA_A, CAM_A i CAM_B). W analizie zanieczyszczenia surowego i mrożonego mięsa ślimaków gronkowcami (tab. 4) nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w liczbie bakterii między wymienionymi rodzajami mięsa w obrębie obu regionów i fermy B. Istotne różnice odnotowano tylko w poziomie zanieczyszczenia

mięsa ślimaków hodowlanych z fermy A. Najwyższe zanieczyszczenie tymi drobnoustrojami stwierdzono w surowym i mrożonym mięsie ślimaka szarego dużego (CAM_A i CAM_B), które wynosiło, odpowiednio, 2,5 i 3,28 oraz 2,84 i 3,07 log jtk/g. Poziom zanieczyszczenia wymienionego mięsa różnił się istotnie w stosunku do mięsa winniczków (z wyjątkiem mrożonego mięsa HP_B) oraz mięsa *C. a. aspersum* (z wyjątkiem surowego mięsa CAA_A). Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w poziomie zanieczyszczenia obu rodzajów mięsa między regionami/fermami. Stwierdzono natomiast wzrost zanieczyszczenia gronkowcami mięsa mrożonego wszystkich gatunków ślimaków bez względu na miejsce pozyskania. Podobnie jak w przypadku enterokoków może to wskazywać na możliwość wtórnego zanieczyszczenia mięsa po obróbce termicznej. Wśród wyizolowanych z mięsa ślimaków szczepów dominowały szczepy koagulazoujemne, wśród których najczęściej rozpoznawano *Staph. epidermidis*, *Staph. warnei* i *Staph. haemolyticus*. Jedyny koagulazododatni szczep rozpoznany jako *Staph. aureus subsp. anaerobius* wyizolowano z mrożonego mięsa CAM_A. Inni autorzy stwierdzili niższy (1,1 log jtk/g) poziom zanieczyszczenia gronkowcami mięsa winniczków (30), nie wyizolowali jednak gronkowców chorobotwórczych, a zidentyfikowanym gatunkiem okazał się *Staph. epidermidis*. Natomiast nie znaleźli oni gronkowców w surowym mięsie CAA (31). Poziom zanieczyszczenia gronkowcami surowego mięsa afrykańskich ślimaków olbrzymich oferowanych do sprzedaży w Ghanie był znacznie wyższy i wynosił od 2,66 do 3,90 log jtk/g w przypadku ślimaków hodowlanych oraz od 5,69 do 7,68 log jtk/g w przypadku ślimaków wolno żyjących (12). Dane piśmiennictwa (29) wskazują na wzrost zanieczyszczenia gronkowcami koagulazododatnimi po każdym etapie produkcyjnym, w którym czynności przetwarzania mięsa wymagały ręcznego ich wykonywania. Związane to było ze współistniejącym wysokim, sięgającym 3,45 log jtk/cm² poziomem zanieczyszczenia tymi drobnoustrojami dłoni personelu oraz sprzętów i powierzchni blatów wykorzystywanych w procesie produkcji (odpowiednio: od 2,08 do 2,93 log jtk/cm²). Potwierdzają to również wyniki

Tab. 4. Poziom zanieczyszczenia (log jtk/g) gronkowcami surowego i mrożonego mięsa w zależności od miejsca pochodzenia i gatunku ślimaków ($n = 30$, $\bar{x} \pm s$)

Gatunek ślimaka	Region/Ferma A		Region/Ferma B	
	Mięso			
	surowe	mrożone	surowe	mrożone
HP	1,48 ^{Aa} ± 1,68	1,89 ^{Aa} ± 1,40	2,10 ^{Aa} ± 0,95	2,42 ^{Aab} ± 2,03
CAM	2,50 ^{Ab} ± 1,75	3,28 ^{Bb} ± 0,45	2,84 ^{Ab} ± 0,85	3,07 ^{Aa} ± 0,38
CAA	1,55 ^{Aab} ± 1,25	2,15 ^{Ba} ± 0,55	1,43 ^{Aa} ± 1,40	2,00 ^{Ab} ± 1,20

Objaśnienia: jak w tab. 1

czteroletnich badań monitoringowych higieny dłoni personelu na końcowych etapach przetwarzania mięsa ślimaków w zakładzie produkcyjnym w Bośni i Hercegowinie (10). Niezadowalające wyniki uzyskano w 60 (4,38%) z 1370 ogółem pobranych z dłoni personelu i przebadanych wymazów. W tej liczbie aż 41 próbek oceniono negatywnie z powodu obecności *Staphylococcus aureus*.

Odsetek próbek zanieczyszczonych drobnoustrojami psychrotrofowymi kształtował się na podobnym poziomie w obu rodzajach mięsa ślimaków i wynosił od 90% do 100%. Poziom zanieczyszczenia surowego i mrożonego mięsa winniczków drobnoustrojami psychrotrofowymi (tab. 5) był istotnie niższy w porównaniu do mięsa ślimaków hodowlanych. W przypadku mięsa ślimaków z rodzaju *Cornu* (CAM i CAA) nie stwierdzono natomiast statystycznie istotnych różnic w liczbie tych bakterii. Odnotowano spadek liczby psychrotrofów w mięsie mrożonym wszystkich gatunków ślimaków i dotyczyło to każdego miejsca ich pozyskania, jednak statystycznie istotne obniżenie się poziomu zanieczyszczenia dotyczyło tylko mięsa ślimaków hodowlanych z fermi A oraz CAA z fermi B. W przypadku ślimaków hodowlanych wykazano, że miejsce pozyskania surowca miało wpływ na zanieczyszczenie mięsa surowego, które było istotnie wyższe w mięsie pozyskanym ze ślimaków z fermi A. Takiej zależności nie stwierdzono w mięsie winniczków. Wyniki badań innych autorów wskazują na podobny poziom zanieczyszczenia psychrotrofami mięsa winniczków (3,3 log jtk/g) i zdecydowanie niższy mięsa CAA (2,4 log jtk/g) (30, 31). W tej grupie bakterii zidentyfikowali oni *B. subtilis*, *E. coli*, *Staph. epidermidis* i *Enterobacter gergoviae*.

Bakteriami z rodzaju *Pseudomonas* obciążonych było od 63,3% do 96,7% próbek mięsa świeżego i mrożonego. W większości przypadków (tab. 6) nie stwierdzono istotnych różnic między ilościowym zanieczyszczeniem wymienionymi bakteriami surowego i mrożonego mięsa pozyskanego od poszczególnych gatunków ślimaków. Wyjątkiem było surowe mięso ślimaka szarego małego pochodzącego z fermi A, które wykazywało istotnie wyższy (4,15 log jtk/g) poziom zanieczyszczenia w porównaniu do HP_A i CAM_A oraz mrożone mięso CAA_A, w którym zanieczyszczenie było istotnie wyższe (1,91 log jtk/g) w porównaniu do mięsa CAM_A. Jednocześnie tylko w przypadku surowego mięsa CAA_A oraz mrożonego mięsa CAM_A i HP_A pojawiły się statystycznie istotne różnice w poziomie zanieczyszczenia mięsa w zależności od miejsca pozyskania ślimaków. W mięsie pozyskanym z każdego gatunku ślimaków odnotowano zmniejszenie się liczby bakterii rodzaju *Pseudomonas* po obróbce termicznej, jednak statystycznie istotny spadek odnotowano tylko w mięsie obu gatunków ślimaków hodowlanych

Tab. 5. Poziom zanieczyszczenia (log jtk/g) drobnoustrojami psychrotrofowymi surowego i mrożonego mięsa w zależności od miejsca pochodzenia i gatunku ślimaków (n = 30, $\bar{x} \pm s$)

Gatunek ślimaka	Region/Ferma A		Region/Ferma B	
	Mięso			
	surowe	mrożone	surowe	mrożone
HP	3,34 ^{Aa} ± 1,38	2,95 ^{Aa} ± 1,62	3,17 ^{Aa} ± 1,19	3,00 ^{Aa} ± 0,62
CAM	5,53 ^{Ab*} ± 0,76	4,12 ^{Bb} ± 0,41	4,04 ^{Ab*} ± 0,94	3,90 ^{Ab} ± 0,50
CAA	5,18 ^{Ab*} ± 0,86	3,85 ^{Bb} ± 0,49	4,22 ^{Ab*} ± 1,09	3,73 ^{Bb} ± 0,31

Objaśnienia: jak w tab. 1

Tab. 6. Poziom zanieczyszczenia (log jtk/g) drobnoustrojami *Pseudomonas* sp. surowego i mrożonego mięsa w zależności od miejsca pochodzenia i gatunku ślimaków (n = 30, $\bar{x} \pm s$)

Gatunek ślimaka	Region/Ferma A		Region/Ferma B	
	Mięso			
	surowe	mrożone	surowe	mrożone
HP	2,22 ^{Aa} ± 1,45	1,57 ^{Aab*} ± 1,15	2,57 ^{Aa} ± 1,45	2,21 ^{Aa*} ± 1,29
CAM	2,40 ^{Aa} ± 1,04	1,12 ^{Ba*} ± 0,76	2,58 ^{Aa} ± 1,14	2,15 ^{Aa*} ± 0,91
CAA	4,15 ^{Ab*} ± 0,95	1,91 ^{Bb} ± 1,08	2,84 ^{Aa*} ± 1,33	1,61 ^{Ba} ± 1,19

Objaśnienia: jak w tab. 1

z fermi A oraz ślimaka małego szarego z fermi B. Zdecydowanie wyższy poziom zanieczyszczenia bakteriami z rodzaju *Pseudomonas* stwierdzono w surowym mięsie hodowlanych, jak i wolno żyjących afrykańskich ślimaków olbrzymich oferowanych do sprzedaży w Ghanie. Wynosił on od 3,99 do 6,13 log jtk/g w przypadku ślimaków hodowlanych oraz od 4,64 do 5,24 log jtk/g w przypadku ślimaków wolno żyjących (12). Ci sami autorzy wykazali również istotne różnice w poziomie zanieczyszczenia między badanymi gatunkami ślimaków. Zanieczyszczenie to wynosiło 5,24 log jtk/g w mięsie *Achatina achatina* i 4,87 jtk/g w mięsie *Archachatina marginata*. *Pseudomonas* spp. stwierdzono także w 3 (3,8%) z 80 badanych próbek mięsa CAM pozyskanego w Polsce, a rozpoznany gatunkiem był *P. luteola* (4). W tych samych badaniach nie stwierdzono *Pseudomonas* spp. w żadnej z 80 próbek mięsa CAA pochodzącego z Grecji. Zdecydowanie wyższy (12,5%) odsetek próbek zanieczyszczonych *Pseudomonas* spp. stwierdzono w badaniach pozyskanych w Nigerii ślimaków z rodzaju *Ampullaria* (11).

W mięsie surowym bakterie z rodzaju *Aeromonas* stwierdzono we wszystkich próbkach HP_A i 29 (96,7%) próbkach HP_B, 26 (86,7%) i 21 (70%) próbkach CAA_A i CAM_A oraz 29 (96,7%) i 17 (56,7%) próbkach CAA_B i CAM_B. Z podobną częstotliwością (46,7%-100%) izolowano je z próbek mięsa mrożonego. W analizie zanieczyszczenia mięsa ślimaków bakteriami z rodzaju *Aeromonas* (tab. 7) w większości przypadków nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w liczbie wymienionych bakterii między mięsem pozyskanym z różnych gatunków. Różnice takie dotyczyły tylko surowego mięsa CAA_A i CAM_A oraz mrożonego mięsa obu gatunków ślimaków hodowlanych z fermi B

Tab. 7. Poziom zanieczyszczenia (log jtk/g) drobnoustrojami *Aeromonas* sp. surowego i mrożonego mięsa w zależności od miejsca pochodzenia i gatunku ślimaków (n = 30, $\bar{x} \pm s$)

Gatunek ślimaka	Region/Ferma A		Region/Ferma B	
	Mięso			
	surowe	mrożone	surowe	mrożone
HP	3,65 ^{Aab} ± 0,82	1,61 ^{Ba} ± 1,27	3,41 ^{Aa} ± 0,93	1,52 ^{Ba} ± 1,00
CAM	3,19 ^{Aa} ± 2,85	1,14 ^{Ba*} ± 0,38	2,74 ^{Aa} ± 1,12	2,39 ^{Ab*} ± 1,29
CAA	4,73 ^{Ab*} ± 1,21	1,69 ^{Ba*} ± 1,24	2,96 ^{Aa*} ± 1,47	2,58 ^{Ab*} ± 1,58

Objaśnienia: jak w tab. 1

Tab. 8. Poziom zanieczyszczenia (log jtk/g) drobnoustrojami proteolitycznymi surowego i mrożonego mięsa w zależności od miejsca pochodzenia i gatunku ślimaków (n = 30, $\bar{x} \pm s$)

Gatunek ślimaka	Region/Ferma A		Region/Ferma B	
	Mięso			
	surowe	mrożone	surowe	mrożone
HP	2,07 ^{Aa} ± 1,03	3,60 ^{Ba} ± 0,53	2,35 ^{Aa} ± 1,72	3,52 ^{Ba} ± 1,49
CAM	4,90 ^{Ab} ± 1,48	4,44 ^{Ab*} ± 0,28	4,41 ^{Ab} ± 0,64	4,02 ^{Ba*} ± 0,65
CAA	3,35 ^{Ac} ± 1,31	3,17 ^{Aa} ± 1,65	3,83 ^{Ab} ± 1,76	3,61 ^{Aa} ± 0,49

Objaśnienia: jak w tab. 1

i mrożonego mięsa winniczków z regionu B. Ponadto surowe mięso CAA_A było najbardziej obciążone wymienionymi drobnoustrojami (4,73 log jtk/g), a zanieczyszczenie to różniło się istotnie od zanieczyszczenia surowego mięsa CAA_B. Statystycznie istotne różnice stwierdzono również w poziomie zanieczyszczenia mrożonego mięsa CAA i CAM z obu hodowli. Obróbka termiczna powodowała obniżenie liczby bakterii z rodzaju *Aeromonas* w mięsie pozyskanym od każdego gatunku ślimaka z każdego regionu. Z wyjątkiem mięsa ślimaków hodowlanych z fermy B statystycznie istotne różnice w liczbie wymienionych bakterii między mięsem surowym a mrożonym znaleziono w obrębie obu regionów i fermy A. W badaniach pozyskanych w Nigerii ślimaków z rodz. *Ampullaria* bakterie z rodzaju *Aeromonas* stwierdzono w 4 (3,3%) ze 120 próbek (11). *Aeromonas* spp. są stałym elementem mikroflory przewodu pokarmowego ślimaków, stąd też treść przewodu pokarmowego należy traktować jako pierwotne źródło zanieczyszczenia mięsa. Wyniki badań ślimaków *Achatina achatina* wykazały obecność *Aeromonas* spp. w 28 (71,8%) z 39 przebadanych próbek (13). Wszystkie z 32 wyizolowanych w tych badaniach szczepów zidentyfikowano jako *A. hydrophila*, a w przypadku 7 (21,9%) potwierdzono ich enterotoksynogenność.

Drobnoustroje proteolityczne występowały z większą częstotliwością w mrożonym mięsie ślimaków. Odsetek zanieczyszczonych próbek wahał się od 80% (HP_B i CAA_A) do 100% (pozostałe rodzaje mięsa). W mięsie surowym udział zanieczyszczonych tymi drobnoustrojami próbek wynosił od 36,7% (CAM_A) do 93,3% (CAM_B). Poziom zanieczyszczenia surowego mięsa winniczków drobnoustrojami proteolitycznymi

(tab. 8) był istotnie niższy w porównaniu do mięsa ślimaków hodowlanych. Natomiast w mięsie mrożonym różnice nie były tak jednoznaczne, gdyż taka zależność wystąpiła tylko między mięsem winniczków z regionu A a mięsem CAM z fermy A. Jednocześnie tylko w mięsie *H. pomatia* stwierdzono statystycznie istotny wzrost zanieczyszczenia bakteriami proteolitycznymi w mięsie mrożonym. W przypadku mięsa ślimaków hodowlanych zmiana liczby drobnoustrojów proteolitycznych miała odwrotny kierunek, ale tylko w przypadku mięsa CAM_B spadek liczby tych drobnoustrojów był statystycznie istotny. Najwyższym zanieczyszczeniem charakteryzowało się surowe i mrożone mięso CAM z fermy A i B (odpowiednio: 4,90 i 4,44 oraz 4,41 i 4,02 log jtk/g). Istotne różnice w porównaniu z mięsem CAA zaznaczyły się tylko w mięsie pozyskanym z fermy A. Z wyjątkiem mrożonego mięsa CAM nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w poziomie zanieczyszczenia obu rodzajów mięsa między regionami/fermami. W dostęp-

nym piśmiennictwie brak jest informacji nt. poziomu zanieczyszczenia proteolitami mięsa ślimaków, stąd też nie można odnieść uzyskanych w badaniach własnych wyników do wyników innych autorów.

Podsumowując należy stwierdzić, że surowe mięso ślimaków charakteryzuje się wysokim poziomem ogólnego zanieczyszczenia mikrobiologicznego. Gatunek ślimaka i miejsce jego pozyskania często w istotny sposób determinują poziom zanieczyszczenia, przy czym w mięsie ślimaków hodowlanych jest on wyższy w porównaniu do mięsa winniczków. Spośród oznaczanych grup mikroorganizmów największy udział w zanieczyszczeniu bakteryjnym tego mięsa miały drobnoustroje psychrotrofowe oraz z rodziny *Enterobacteriaceae* (odpowiednio, nawet do 15% i 10,6% ogólnej liczby bakterii), a najmniejszy enterokoki, z udziałem nie przekraczającym 0,02%. Obróbka termiczna obniżyła liczbę większości bakterii występujących w surowym mięsie. Największy statystycznie istotny spadek zanieczyszczenia dotyczył liczby drobnoustrojów z rodziny *Enterobacteriaceae* (poziom redukcji wahał się 1,3 log w przypadku mięsa HP_B aż do ponad 4 log w przypadku mięsa CAA_A), następnie bakterii z rodzaju *Aeromonas* (od 1,7 log w przypadku HP_B do ponad 3 log w przypadku CAA_A) i *Pseudomonas* (od 1,1 log w przypadku CAA_B do ponad 2 log w przypadku CAA_A) oraz ogólnej liczby bakterii tlenowych (od 0,1 log w przypadku HP_B do 1,2 log w przypadku CAM_A). Wzrost liczby gronkowców i enterokoków w mięsie mrożonym (statystycznie istotny jedynie w przypadku gronkowców w mięsie ślimaków hodowlanych z fermy A) wskazuje na możliwość wtórnego zanieczyszczenia mięsa poddanego obróbce termicznej, dlatego też koniecznym warunkiem otrzy-

mywania bezpiecznego i trwałego produktu jest bezwzględne przestrzeganie przez personel odpowiednich procedur dotyczących higieny dłoni i prawidłowego obchodzenia się z żywnością w trakcie produkcji.

Piśmiennictwo

1. Adegoke A. A., Bukola A.-T. C., Comfort I. U., Olainka A. A., Amos K. O.: Snails as meat source: Epidemiological and nutritional perspectives. *J. Microbiol. Antymicrob.* 2010, 2, 001-005.
2. Barker G. M. (red.): *The Biology of Terrestrial Molluscs*. Chapter 6: Food and feeding behaviour. CABI Publishing Wallingford, Oxon 2001, s. 263 (259-288).
3. Burbianka M., Pliszka A., Burzyńska H.: *Mikrobiologia żywności*. PZWL, Warszawa 1983, s. 274-275 i 465.
4. Cicero A., Giangrosso G., Cammilleri G., Macaluso A., Currò V., Galuppo L., Vargetto D., Vicari D., Ferrantelli V.: Microbiological and chemical analysis of land snails commercialised in Sicily. *Ital. J. Food Safety* 2015, 4:4196, 66-68; doi: 10.4081/ijfs.2015.4196.
5. Cirlan A. F.: Researches regarding the bacterial and mycological of the food snails and its sanitary-veterinary significance. *Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară "Ion Ionescu de la Brad", Facultatea de Medicină Veterinară. Praca dokt., Jassy, Rumunia* 2011.
6. David O. M., Ayeni S. K., Akinmoji O. P., Igbalajobi A.: Incidence of antibiotic-resistant enterococci in three edible land snails consumed in Nigeria. *Wayamba J. Anim. Sci.* 2012, 4, 270-274.
7. Dufour A. P., Strickland E. R., Cabelli V. J.: Membrane filter method for enumerating *Escherichia coli*. *Appl. Environ. Microbiol.* 1981, 41, 1152-1158.
8. Ezeama C. F., Eftuvwevwe B. J. O.: Microbiological assessment of freshwater snail (*Pila ovata*) and their different habitat locations and the physico-chemical qualities of the habitats. *As. J. Microbiol. Biotech. Environ. Sci.* 2007, 9, 469-475.
9. Gruyal V. B.: Microbial Level and Pesticide Residues of *Pomacea canaliculata* (Golden Snail): Basis for Potential Food Consumption. *Int. J. Sci. Clin. Lab.* 2013, 4, 42-60.
10. Novakovic B., Grujic R.: Importance of adequate hand hygiene of food handlers in snails meat processing. *J. Hyg. Eng. Des.* 2017, 21, 23-28.
11. Nwiyi P., Amaechi N.: Prevalence of enteric bacteria isolates from aquarium snails (*Ampullaria* spp.) in Abia State, Nigeria. *Online J. Anim. Feed Res.* 2013, 3, 77-79.
12. Nyooagbe L. A., Appiah V., Nketsia-Tabiri J., Larbi D., Adjei I.: Evaluation of African giant snails (*Achatina* and *Archachatina*) obtained from markets (wild) and breeding farms. *Afr. J. Food Sci.* 2016, 10, 94-104; doi: 10.5897/AJFS2015.1320.
13. Obi S. K. C., Nzeako B. C.: Salmonella, Arizona, Shigella and *Aeromonas* isolated from the snail *Achatina achatina* in Nigeria. *Antonie van Leeuwenhoek* 1980, 46, 475-481.
14. Parlapani F. F., Neofitou Ch., Boziaris I. S.: Microbiological quality of raw and processed wild and cultured edible snails. *J. Sci. Food Agric.* 2014, 94, 768-772.
15. Pin C., Marin M. L., Garcia M. L., Tormo J., Casas C.: Comparison of different media for the isolation and enumeration of *Aeromonas* spp in foods. *Lett. Appl. Microbiol.* 1994, 18, 190-192.
16. PN-94-A-82055-7:1997 Mięso i przetwory mięsne – Badania mikrobiologiczne – Wykrywanie obecności i oznaczanie liczby enterokoków.
17. PN-EN ISO 13720:2010 Mięso i przetwory mięsne – Oznaczanie liczby przypuszczalnych *Pseudomonas* sp.
18. PN-EN ISO 4833:2004 Mikrobiologia żywności i pasz – Horyzontalna metoda oznaczania liczby drobnoustrojów – Metoda płytkowa w temperaturze 30 stopni C.
19. PN-EN ISO 6887-1:2000 Mikrobiologia żywności i pasz – Przygotowanie próbek, zawiesiny wyjściowej i rozcieńczeń dziesięciokrotnych do badań mikrobiologicznych – Część 1: Ogólne zasady przygotowania zawiesiny wyjściowej i rozcieńczeń dziesięciokrotnych.
20. PN-EN ISO 6887-3:2005 Mikrobiologia żywności i pasz – Przygotowanie próbek, zawiesiny wyjściowej i rozcieńczeń dziesięciokrotnych do badań mikrobiologicznych – Część 3: Specyficzne zasady przygotowania ryb i przetworów rybnych.
21. PN-EN ISO 6888-1:2001 Mikrobiologia żywności i pasz – Horyzontalna metoda oznaczania liczby gronkowców koagulazo-dodatnich (*Staphylococcus aureus* i innych gatunków) – Część 1: Metoda z zastosowaniem pożywki agarowej Baird-Parkera.
22. PN-EN ISO 7218:2008 Mikrobiologia żywności i pasz – Wymagania ogólne i zasady badań mikrobiologicznych.
23. PN-ISO 16649-2:2004 Mikrobiologia żywności i pasz – Horyzontalna metoda oznaczania liczby beta-glukuronidazo-dodatnich *Escherichia coli* – Część 2: Metoda płytkowa w temperaturze 44 stopni C z zastosowaniem 5-bromo-4-chloro-3-indolilo beta-D-glukuronidu.
24. PN-ISO 17410:2004 Mikrobiologia żywności i pasz – Horyzontalna metoda oznaczania liczby drobnoustrojów psychrotrofowych.
25. PN-ISO 21528-2:2005 Mikrobiologia żywności i pasz – Horyzontalna metoda wykrywania i oznaczania liczby *Enterobacteriaceae* – Część 2: Metoda płytkowa.
26. Rozporządzenie Komisji (WE) Nr 2073/2005 w sprawie kryteriów mikrobiologicznych dotyczących środków spożywczych – Dz. Urz. L Nr 338 z 22.12.2005 r., s. 1.
27. Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 12 października 2011 r. w sprawie ochrony gatunkowej zwierząt – Dz. U. z 2011 r. Nr 237 poz. 1419.
28. Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 6 października 2014 r. w sprawie ochrony gatunkowej zwierząt – Dz. U. z 2014 r. poz. 1348.
29. Temelli S., Dokuzulu C., Cem Sen M. K.: Determination of microbiological contamination sources during frozen snail meat processing stages. *Food Control* 2006, 17, 22-29.
30. Walczak Z., Czerwińska E.: Microbiological meat safety of edible snails (*Helix pomatia*) gathered from natural habitat. *Probl. Hig. Epidemiol.* 2013, 94, 853-856.
31. Walczak Z., Czerwińska E.: Ocena jakości mikrobiologicznej mięsa ślimaków (*Helix aspersa* Müller) po wstępnym przetworzeniu oraz jej zmiany w trakcie przechowywania zamrażalniczego. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* 2011, 569, 285-292.

Adres autora: dr Waldemar Paszkiewicz, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin; e-mail: waldemar.paszkiewicz@up.lublin.pl