

żywności za pomocą antybiotyków usprawiedliwiają wymienioną ostrożność. W większości krajów uznane też zostały antybiotyki za substancje obce i występowanie ich w żywności przeznaczonej do spożycia przez człowieka nie jest dozwolone.

Piśmiennictwo

- Barnes E. M.: Food Manufacture 31, 508, 1956.
- Bloom S. G., Knott C.: J. Dairy Sci. 38, 910, 1952.
- Bruggemann J., Merckenschlager M.: Archiv f. Lebensmittelhyg. 9, 197, 1958.
- Grundland I.: Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych, Zeszyt 18, 1959.
- Halick J., Couch J.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 76, 58, 1951.
- Hansen D.: Fleischwirtschaft 13, 116, 1961.
- Hejlasz Z., Kocot M., Zawadzki Z.: Medycyna Wet. XIII, 657, 1957.
- Hejlasz Z., Kocot M., Zawadzki Z.: Medycyna Wet. XVI, 668, 1960.
- Helwig H.: Fortschr. Med. 82, 435, 1964.
- Janicki J., Pędziwiłk F.: Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych, Zeszyt 18, 1959.
- Jukes T. H.: Antibiotics in Nutrition. Medical Encyclopaedia Inc. 1955.
- Jukes T. et Co: Arch., Biochem. 26, 324, 1950.
- Kalich J., Merckenschlager M.: Tierärztl. Umschau 13, 324, 1950.
- Kocot M., Zawadzki Z., Hejlasz Z.: Medycyna Wet. XIV, 275, 1958.
- Kocot M., Zawadzki Z.: Medycyna Wet. XVIII, 721, 1962.
- Koeppel S.: Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych, Zeszyt 18, 1958.
- Kohler A. R., Miller W. H., Broquist H. P.: Food Technol. 9, 151, 1955.
- Krauze S.: Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych, Zeszyt 18, 1959.
- Kruicken J.: Archiv f. Lebensmittelhyg. 3, 16, 1957.
- Manten A., Kampelmacher E., H., Guinee P. A. M.: Tijdschr. Diergeneesk. 88, 1858, 1963.
- Owen L. N.: Veterinary Bulletin 35, 331, 1965.
- Phillips A. W., Newcomb et Co: Food Technology 15, 13, 1961.
- Prost E.: Medycyna Wet. VIII, 495, 1952.
- Prost E.: Annales UMCS, Sectio DD, VIII, 33, 1953.
- Sarkisow A. Ch.: Medycyna Wet. XXI, 175, 1965.
- Secomska B.: Przemysł Spożywczy X, 448, 1956.
- Stockstadt E. L. R., Jukes T.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 73, 523, 1950.
- Stockstadt E. L. R., Jukes T.: Poultry Sci. 29, 611, 1950.
- Stockstadt E. L. R.: Food Technol. 9, 405, 1955.
- Szulc M.: Przemysł Spożywczy 12, 422, 1958.
- Weber W.: Schw. Arch. Tierhik. 104, 340, 1962.
- Organisation Mondiale de la Sante, Serie de Rapports Techniques No 260: Questions de Santé Publique posées par l'introduction d'antibiotiques dans les Aliments de l'homme et des Animaux Domestiques, Rapport d'un Comité d'experts. Genève 1963.

Adres autora: prof. dr Edmund Prost, Lublin, ul. Akademicka 11.

EDMUND PROST, RYSZARD SŁUŻEWSKI

Badania nad wartością niektórych metod w wykrywaniu antybiotyków w mięsie

Katedra Higieny Produktów Zwierzęcych Wydziału Weterynaryjnego WSR w Lublinie
Kierownik: prof. dr EDMUND PROST

Stosownie do przepisów sanitarnych większości krajów, obecność antybiotyków w środkach spożywczych nie jest dozwolona. Zastrzeżenie to, w niektórych państwach bardzo rygorystycznie przestrzegane, (niezdatność do spożycia dla ludzi żywności, w której stwierdzono antybiotyki) wysunęło, jako istotne zagadnienie, opracowanie i ustalenie metod wykrywania obecności antybiotyków w żywności. Sprawa powyższa ma zresztą szerszy charakter i dotyczy również niedozwolonych środków konserwujących, objętych wraz z antybiotykami wspólną nazwą tzw. ciał hamujących.

W wykrywaniu antybiotyków w żywności praktyczne znaczenie mieć mogą przede wszystkim metody łatwe i szybkie w przeprowadzeniu, pozwalające na ich stosowanie w rutynowej kontroli sanitarnej. Z tych względów, mimo dużej dokładności, nie znajdują zastosowania specyficzne metody chemiczne i fizyczne. Szeroki wachlarz antybiotyków oraz ich różna budowa chemiczna, oprócz dość skomplikowanej metodyki samych oznaczeń, są główną tego przyczyną. W tej sytuacji już od dawna czyniono wysiłki nad opracowaniem niespecyficznych metod pozwalających na jakies generalne stwierdzenie obecności ciał hamujących (środków konserwujących) w żywności. Sprawa jest o tyle łatwa, że dozwolone w konserwacji żywności środki są ustawowo ograniczone do bardzo niewielkiej liczby.

Wszystkie proponowane w piśmiennictwie i stosowane w praktyce niespecyficzne metody

wykrywania antybiotyków (1, 2, 10, 14, 16) opierają się na testach biologicznych. Zasada ich polega na hamowaniu wzrostu lub aktywności fermentacyjnej (redukcji, utlenienia, tworzenia kwasów lub gazów z węglowodanów itp.) drobnoustrojów testowych przez zawarte w badanym środku spożywczym antybiotyki. Zasadnicze znaczenie w przeprowadzeniu wymienionych prób ma stworzenie warunków do jak najbardziej bezpośredniego oddziaływania zawartych w badanej żywności antybiotyków na hodowlę odpowiedniego drobnoustroju testowego. W przypadku płynnych środków spożywczych, jak np. mleka sprawa jest stosunkowo łatwa. Natomiast pewne trudności następcząją środki spożywcze stałej konsystencji, do których należy mięso i jego produkty. Najczęściej zalecanym postępowaniem w takich przypadkach jest ekstrakcja badanych środków spożywczych, po ich uprzednim rozdrobieniu, za pomocą płynów będących równocześnie podłożem dla wzrostu drobnoustrojów testowych. Pomijając kłopotliwość tego postępowania, posiada ono ponadto tę wadę, że antybiotyk ulega niekorzystnemu rozcieńczeniu, co obniża dokładność oznaczeń. Stąd też większą wartość posiadają metody pozwalające na bezpośrednie oznaczanie antybiotyków w mięsie lub jego produktach, jedynie po ich rozdrobieniu.

W biologicznym wykrywaniu antybiotyków w żywności duże znaczenie posiada również dobór odpowiedniego drobnoustroju testowego. Mając na względzie szybkość przeprowadzenia próby, użyte szczepy testowe winny odpowiadać następującym warunkom:

- a) szybki i bujny wzrost na zwykłych podłożach,
- b) wysoka czułość na ciała hamujące (antybiotyki),
- c) wzrost w możliwie jak najszerszym zakresie pH,
- d) wysoka aktywność fermentacyjna (redukcja, utlenianie, fermentacja kwasowa i gazowa węglowodanów itp.).

Wymienionym wymaganiom odpowiadają przede wszystkim gronkowce, z których jako szczególnie przydatny okazał się szczep *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 P (10). Nie wyklucza to oczywiście możliwości użycia innych drobnoustrojów wykazujących wymienione cechy, jak np. stosowane często *Bac. cereus*, *Bac. subtilis*, w niektórych metodach drożdże itp. W przeprowadzeniu wymienionych prób należy nadto uwzględnić wiek hodowli, który jako optymalny uznano 18-24-godzinny.

W przeglądzie metod wykrywania antybiotyków w żywności wymienić należy przede wszystkim testy polegające na hamowaniu wzrostu drobnoustroju testowego. Metody te zwane dyfuzyjnymi przeprowadzane są na pożywkach stałych; antybiotyki wprowadzone wraz z badaną próbką żywności do pożywki dyfundują do podłoża i powodują strefowe zahamowanie wzrostu drobnoustroju testowego.

Do metod tych należą:

1) metoda cylinderkowa i jej modyfikacja metoda dołków agarowych: na powierzchni podłoża stałego z wysianą hodowlą drobnoustroju testowego umieszcza się metalowe względnie szklane cylinderki, lub wycina się korkoborem dołki, do których wprowadzony zostaje badany płynny środek spożywczy, lub przy jego stałej konsystencji wyciąg (środek spożywczy: płyn buforowy = 1:2),

2) metoda krążków bibułowych, przy której używane są krążki bibułowe o określonej wielkości (średnica 12 mm) i zdoinności wchłaniania 0,1 ml ekstraktu; metoda posiada dwie modyfikacje:

a) wg *Kisslinga* (8) — krążki bibułowe umieszcza się w badanym płynnym środku spożywym lub ekstrakcie w przypadku jego stałej konsystencji, i przenosi następnie na powierzchnię stałego podłoża z posianym drobnoustrojem testowym,

b) wg *Kelcha* i *Corettiego* (7) — metody przystosowanej głównie do badania mięsa; krążki bibułowe umieszczone są w przekrojach tkanki mięśniowej lub narządach wewnętrznych na czas około 5 minut i przenoszone następnie na pożywkę stałą z hodowlą bakterii testowych,

3) metoda zamrażanych bloczków wg *Gartside* (3) — przeznaczona do badania żywności stałej konsystencji, którą poddaje się wstępnemu zamrożeniu (2 godz. w temp. -20°C); wycięty korkoborem z wymienionego materiału słupek (wysokości 1 cm i średnicy 12 mm) umieszcza się w odpowiednich dołkach wykonanych w pożywce stałej z posianym uprzednio drobnoustrojem testowym.

4) metoda „agaru mieszanego” wg van der Mijll Dekker i Mossel (11) — badany środek spożywczy miesza się z rozpuszczonym agarem odżywym, w przypadku ciał stałej konsystencji po ich dokładnym rozdrobnieniu (w stosunku 1:1), dodaje 1 ml 1% roztworu TTC i wylewa się na płytki Petriego. Po zastrygnięciu wysiewa się na powierzchnię agaru drobnoustrojów testowy, tworząc za pomocą szpatuły literę V. Przy braku antybiotyku dochodzi na liniach posiewu do wzrostu bakterii z równoczesnym czerwonym zabarwieniem, będącym wynikiem redukcji TTC (brak wzrostu i zabarwienia przy obecności antybiotyku).

Drugą grupę metod wykrywania obecności antybiotyków stanowią próby oparte o hamowanie własności fermentacyjnych drobnoustrojów testowych.

Należą do nich:

1) Metoda Kluyver-Mossela (2, 12) tzw. gazometryczna. Zasada tej metody, opracowanej jeszcze w r. 1924 przez *Kluyvera* (9) dla wykrywania środków konserwujących, opiera się na wytwarzaniu CO_2 w podłożach zawierających węglowodany przez drożdże (*Saccharomyces cerevisiae*), użyte jako drobnoustroje testowe. Zawarte ewentualnie w badanym środku

spożywym konserwanty hamują aktywność fermentacyjną drożdży. Metoda ta została dokładnie opracowana i przystosowana do wykrywania antybiotyków w mleku przez Mossela i współpr. (12). Do próbki badanego mleka wprowadza się roztwór glikozy oraz zawiesinę *Saccharomyces cerevisiae* i po 48-godzinnej hodowli dokonuje się oznaczeń ilościowych wytwarzanego CO_2 . *Coretti* (4) na podstawie własnych badań wskazał jednakże na stosunkowo niską dokładność próby i wykrywanie dopiero dość wysokich stężeń ciał hamujących.

2) Metody acydometryczne.

W badaniach nad wykrywaniem ciał hamujących, szczególnie w mleku, szereg autorów wskazało na przydatność testu opierającego się na oznaczeniach stopnia kwasowości (w stopniach Soxhlet-Henkel'a) jako wyniku fermentacji węglowodanów. Próbę taką, z przeznaczeniem dla badania mleka, opracował *Fleischmann* (6), który stosował jako drobnoustroj testowy hodowlę jogurtu (*St. thermophilus* + *Thermobacterium bulgaricum*). Ciała hamujące, w tym również i antybiotyki, powodują wstrzymanie fermentacji kwasowej. Modyfikacja Mossela (10) wymienionej metody opiera się na użyciu jako drobnoustroju testowego *Aerobacter aerogenes* lub *Streptococcus faecalis*. Pewną odmianą tej metody jest użycie przez *Lebera* i szereg innych autorów (10) rezazuryny, jako indykatora zakwaszenia środowiska.

3) Metody reduktometryczne.

Metody te oparte są na redukcji barwników indykatorowych przez fermenty bakteryjne, co połączone jest ze zmianą barwy; zawarte ewentualnie w badanej żywności antybiotyki hamują ten proces. Na wymienionej bazie opracowano szereg prób praktycznych wykrywania antybiotyków w żywności, spośród których należy wymienić:

a) metoda *Eisenbrandta*, *Klaucka* i *Pfeila* (5) dla badania mleka z zastosowaniem jako indykatora barwników azotowych,

b) metoda *Neal* i *Calberta* (13), dla badania mleka z zastosowaniem jako indykatora TTC (chlorek 2,-3,-5-trójfenyloctetrazolowy). Barwnik ten znalazł ostatnio szerokie zastosowanie praktyczne w biologii, a szczególnie mikrobiologii dla wykrywania żywotności drobnoustrojów; pod wpływem wytwarzanych przez bakterie reduktaz zostaje, rozpuszczalny i prawie bezbarwny w roztworze, TTC zredukowany do czerwonego i nierozpuszczalnego formazanu. *Neal* i *Calbert* zalecają w swych próbach 4% roztwór TTC, a jako drobnoustroj testowy *Str. thermophilus*.

c) Metoda *Kottera*, *Schulza* i *Terplana* (KTS) — (10).

Wymienieni autorzy zaadaptowali próbę *Neal* i *Calberta* do wykrywania antybiotyków w mięsie i jego wyrobach. Z badanych próbek mięsnych sporządza się ekstrakty oraz dodaje odpowiednią ilość 4% TTC i hodowlę drobnoustroju testowego (*Str. aureus* ATCC 6538-P). Przy obecności antybiotyków nie zachodzą przemiany barwne, na skutek zahamowania aktywności enzymatycznej bakterii testowych.

d) Metoda KTS w modyfikacji *Corettiego* (KTS-C) — (3) — jest wyraźnym uproszczeniem poprzedniej metody polegającym głównie na bezpośrednim użyciu rozdrobnionego mięsa, bez potrzeby wykonywania wyciągów. Wymieniona modyfikacja znacznie ułatwia praktyczne wykonanie próby.

e) Metoda katalazowa wg *Terplana* (17) — opiera się na pomiarach gazometrycznych wytwarzanego CO_2 w wyniku działania katalazy bakteryjnej. Próba, jako dość kłopotliwa w przeprowadzeniu i pomiarach, nie znalazła większego zastosowania praktycznego.

Z przedstawionych metod wykrywania obecności antybiotyków w żywności nie wszystkie znajdują zastosowanie praktyczne w badaniach mięsa i jego przetworów. Wg danych piśmiennictwa najbardziej przydatne wydają się z testów dyfuzyjnych metody dołków agaro-

wych i cylinderkowa, metoda krążków bibułowanych i metoda zamrażanych bloczków oraz z testów redukcyjnych metoda KTS i jej modyfikacja KTS-C.

Zagadnieniem o szczególnej wadze jest dokładność poszczególnych metod w wykrywaniu najmniejszych ilości antybiotyków. Niektóre dane na ten temat zestawiono w załączonej tabeli 1. Wyniki tabeli 1 wskazują na pewne rozbieżności w dokładności poszczególnych metod, jak i na różnice w wykrywaniu najmniejszych ilości antybiotyków tą samą metodą wg danych poszczególnych autorów. Z tych względów ustalenie porównawcze wartości poszczególnych metod tak odnośnie ich przydatności praktycznej, jak i dokładności oznaczeń stanowi zagadnienie wymagające dalszych badań.

Tabela 1. Dokładność niektórych metod wykrywania antybiotyków wg piśmiennictwa

Test	Aureomycyna mcg	Streptomycyna mcg	Penicylina J
Metoda dołków agarowych (3,10)	0,05	5	0,025
Metoda krążków bibułowanych wg Kisslinga (3,16)	0,25	10	0,25
Metoda krążków bibułowanych wg Kelch Corelli (7)	0,25	10	0,1
Metoda zamrażanych bloczków (7,16)	0,05	5	0,025
Metoda KTS (1,10)	0,002-0,2	0,04-4,0	0,004-0,04

Badania własne

Założeniem badań własnych było określenie wartości niektórych metod wykrywania antybiotyków w tkankach zwierzęcych tak odnośnie ich czułości, jak i przydatności praktycznej.

Material i metody

W badaniach porównawczych zastosowano cztery podane w piśmiennictwie metody wykrywania antybiotyków mogące zastosowanie w kontroli mięsa i jego wyrobów,

- 1) metoda dołków agarowych,
- 2) metoda krążków bibułowanych wg Kisslinga (8),
- 3) metoda zamrażanych bloczków wg Gartside (3),
- 4) metoda Kottera, Schulza i Terplana w modyfikacji Corettiego (KTS-C) — (3).

Wartość wymienionych metod sprawdzono na następujących antybiotykach: penicylina, terramycyna, tetracyklina, streptomycyna i chloromycetyna. We wstępnych badaniach przeprowadzono dobór odpowiedniego drobnoustroju testowego dla każdego antybiotyku przy użyciu następujących szczepów bakteryjnych: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P, *Bacillus subtilis* 6633, *Sarcina lutea* 9341, *Bacillus cereus* 8122 NCIB, *Bacillus cereus* 569 NRRL. Wyniki tych oznaczeń podanych w tabeli 2 pozwoliły na dobór jako drobnoustrojów testowych: *Str. aureus* 6538—P dla penicyliny, terramycyny i tetracykliny i *Bac. subtilis* 6633 dla streptomycyny i chloromycetyny. Dokonano również doboru rozpuszczalnika antybiotyków, szczególnie dla ich ekstrakcji z badanych tkanek. W oznaczeniach porównawczych buforu fosforanowego (pH 4,5) i mieszaniny cytrynianowo-acetonowej (15) wyższe wyniki uzyskano przy użyciu tej ostatniej, którą dlatego zastosowano w badaniach własnych.

Określenie czułości poszczególnych metod przeprowadzono *in vitro* oraz na tkankach zwierzęcych (tk.

mięśniowa, tk. wątrobowa i tk. nerkowa). W badaniach *in vitro* wykonano szereg zmniejszających się stężeń podanych antybiotyków i określono najmniejsze ich ilości, które zdołano wykryć każdą z metod (z wyjątkiem metody zamrażanych bloczków jako przeznaczonej jedynie dla ciał stałych). W badaniach na tkankach zwierzęcych, do rozdrobionej tk. mięśniowej, tk. wątrobowej i tk. nerkowej dodawano zmniejszające się ilości poszczególnych antybiotyków i określano, przy użyciu każdej z metod, najmniejszą stężenia, które zdołano wykryć. Dla każdej próbki wykonano szereg oznaczeń, z których średnia stanowiła wynik ostateczny. Metody KTS-C nie stosowano do badań tk. wątrobowej ze względu na zawartość barwników własnych.

Wyniki

Wyniki badań zestawiono w tabelach 2, 3 i 4

Tabela 2. Wrażliwość szczepów na antybiotyki

Antybiotyk	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538-P	<i>Bacillus subtilis</i> 6633	<i>Sarcina lutea</i> 9341	<i>Bacillus cereus</i> 8122 NCIB	<i>Bacillus cereus</i> 569 NRRL
Penicylina	+++	++	+++	-	-
Streptomycyna	+	+++	(+)	(+)	+
Chloromycetyna	++	+++	++	++	+
Terramycyna	+++	++	+++	+	(+)
Tetracyklina	+++	++	++	++	(+)

+++ duża wrażliwość, ++ średnia wrażliwość, + słaba wrażliwość (+) b.słaba wrażliwość, - brak wrażliwości

Tabela 3. Najmniejsze ilości antybiotyków stwierdzone w rozтворach za pomocą trzech metod

Antybiotyk	dołków agarowych	krążków bibułowanych	KTS-C
Penicylina	0,05	0,1	0,03
Terramycyna	0,75	4,0	0,25
Tetracyklina	1,0	10,0	0,25
Streptomycyna	15,0	30,0	10,0
Chloromycetyna	15,0	30,0	10,0

Tabela 4. Najmniejsze ilości antybiotyków stwierdzone w tk. mięśniowej, tk. wątrobowej, tk. nerkowej za pomocą czterech metod

Antybiotyk	Stwierdzono antybiotyk w stężeniu mcg/g (1/g) metodą											
	dołków agarowych			krążków bibułowanych			zamraż. bloczk.			KTS-C		
	tk. mięs.	tk. wątr.	tk. nerk.	tk. mięs.	tk. wątr.	tk. nerk.	tk. mięs.	tk. wątr.	tk. nerk.	tk. mięs.	tk. wątr.	tk. nerk.
Penicylina	0,1	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2	0,05	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Terramycyna	2,0	2,0	2,0	5,0	7,5	5,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Tetracyklina	2,0	4,0	3,0	10,0	20,0	10,0	2,0	3,0	3,0	1,0	1,0	1,0
Streptomycyna	30,0	105,0	30,0	50,0	105,0	40,0	20,0	105,0	20,0	15,0	15,0	15,0
Chloromycetyna	30,0	105,0	30,0	70,0	105,0	30,0	20,0	105,0	20,0	15,0	15,0	15,0

Omówienie

Badania porównawcze nad wartością czterech metod wykrywania obecności antybiotyków wykazały pewne rozbieżności wyników otrzymanych w oznaczeniach *in vitro* oraz na tkankach zwierzęcych. W oznaczeniach *in vitro* (antybiotyki w rozтворach) największą czułością charakteryzowały się metoda KTS-C, a w następnej kolejności metoda dołków agarowych i krążków bibułowanych (metody zamrażanych bloczków ze względów metodycznych nie zastosowano). Natomiast wyniki oznaczeń przeprowadzonych na tkankach zwierzęcych nie były już tak dokładne i pozwoliły na stwierdzenie antybiotyków w dużo wyższych

stężeniach. Należy sądzić że tkanki zwierzęce absorbowały tak poważne ilości antybiotyków, że wykrywalność ich kilkakrotnie się obniżyła. W ocenie porównawczej poszczególnych metod, podobnie jak w badaniach *in vitro*, najkorzystniejsza okazała się metoda KTS-C, a następnie metoda zamrażanych bloczków, metoda dołków agarowych i metoda krążków bibułowych. W ogólnej ocenie należy stwierdzić, na podstawie własnych badań, że czułość poszczególnych metod odnośnie wykrywania określonych stężeń antybiotyków nie jest tak wysoka, jak to podają niektórzy autorzy (porównanie z tab. 1). W porównaniu trzech użytych tkanek zwierzęcych prawie jednokowe wyniki dawały tk. mięśniowa i tk. nerkowa, natomiast w tk. wątrobowej wykrywano dopiero większe stężenia antybiotyków (trudniejsza ekstrakcja, względnie silniejsze absorbowanie antybiotyku przez tk. wątrobową).

W ocenie porównawczej poszczególnych metod uwzględniono również technikę ich przeprowadzenia. Najbardziej efektywna i szybka jest metoda KTS-C, którą jednak nie zawsze można było przeprowadzić z pełnym efektem barwnym; użyte szczepy testowe wykazywały mianowicie okresowe spadki aktywności redukcyjnej, co uniemożliwiło przeprowadzenie próby lub otrzymano niezbyt pewne wyniki. Natomiast metody dyfuzyjne, oparte o hamowanie wzrostu drobnoustroju testowego, nie nastęrczały technicznie żadnych trudności, ale były równocześnie dość czaso- i pracochłonne.

Piśmiennictwo

1. Beganovic H. A., Muftic A.: Veterinaria 10, 461, 1961 (3—4).
2. Beganovic H. A., Muftic A.: Veterinaria 9, 247, 1960.
3. Coretti K.: Fleischwirtschaft 13, 119, 1961.
4. Coretti K.: Jahresber. Bundesforschungsanst. f. Fleischforsch. 1955.
5. Eisenbrand J., Klauck A., Pfeil D.: Naturwissenschaften 43, 519, 1956.
6. Fleischmann K.: Dt. Molkerei-Zgt 75, 534, 1954.
7. Kelch F., Coretti K.: Fleischwirtschaft 11, 358, 1959.
8. Kissling R.: Wien Tierärztl. Mschr. 46, 466, 1959.
9. Kluyver A. J.: Biochemische sukkerbepaligen, Diss. dokt. Delft 1914.
10. Kotter L., Terplan G., Schulz H.: Arch. f. Lebensmittelhyg. 10, 145, 1959.
11. Mijl Dekker van der L. P., Mossel D. A. A., de Bruin A. S., Manten A.: J. Sci. Food Agric 9, 475, 1959.
12. Mossel D. A. A., Mandersloot J. G., Gentis A. S. E.: Neth. Milk Dairy J. 9, 63, 1955.
13. Neal D. E., Calbert H. E.: J. Dairy Sci. 38, 629, 1955.
14. Piening H.: Vergleich biologischer Methoden zum Nachweis von Hemmstoffen in Schweinenieren. Vet. Med. Diss. München 1962.
15. Rutczyńska-Skonieczna E.: Roczniki PZH 15, 153, 1964 (2).
16. Schulz H.: Ein Schnellnachweis f. Hemmstoffe ... Vet. Med. Diss. München 1962.
17. Terplan G.: Arch. f. Lebensmittelhyg. 11, 37, 1960.

Adres autora: prof. dr Edmund Prost, Lublin, ul. Akademicka 11.

Прост Э., Служевски Р. — Исследования ценности некоторых методов по обнаруживании антибиотиков в мясе.

Целью исследований было определение ценности некоторых методов выявления антибиотиков в тканях животных относительно их чувствительности и пригодности в практических условиях.

Испытали 4 метода. 1 — метод луночек в агаре, 2 — метод дисков из фильтровальной бумаги по Kissling, 3 — метод замораживаемых кусков по Gartside, 4 — метод по Kotter, Schulz, Terplan в модификации по Coretti (KTS-C). Ценность вы-

шензанных методов определяли относительно к пенициллину, тетрациклину и тетрациклину, стрептомицину и хлормицетину. В качестве тест-объекта использовали для пенициллина, тетрацицина и тетрацилина — *Staphylococcus aureus* 6358 P, для стрептомицина и хлормицетина — *Bacillus subtilis* 6633. Чувствительность отдельных методов определяли *in vitro* и на тканях животных (измельченная мышечная ткань, печеночная и почечная) к которым добавляли разные концентрации антибиотиков. Самую низкую концентрацию антибиотика выявленную каждым методом представили в таблицах 3 (*in vitro*) и 4 (в тканях). Установили, что в тканях можно выявить антибиотики только тогда когда их концентрация несколько раз выше концентрации обнаруживаемой *in vitro*. Самым чувствительным методом оказался метод KTS-C, потом последовательно метод замораживаемых кусков, метод луночек и метод дисков из фильтровальной бумаги.

Prost E., Służewski R. — Investigations of the value of some methods of detecting antibiotics in meat.

The aim of the investigations was to determine the value of some methods of detecting antibiotics in animal tissues, both as regards their sensitivity and their practical applications. Four methods of detecting antibiotics were used in these investigations: 1) the method of agar hollows, 2) the method of paper circles according to Kissling, 3) the method of frozen blocks according to Gartside, 4) the method of Kotter, Schulz and Terplan in Coretti's modification (KTS-C). The value of the above methods was checked on the following antibiotics: penicillin, terramycin, tetracyclin, streptomycin and chloromycetin. As test bacteria, *Staphylococcus aureus* 6538 P was chosen for penicillin, terramycin and tetracyclin. For streptomycin and chloromycetin, *Bacillus subtilis* 6633 was chosen. The determination of the sensitivity of the various methods was done *in vitro* (solutions of antibiotics of various concentrations) and on animal tissues (finely chopped muscle tissue, liver and kidney tissue), to which various concentrations of antibiotics were added. In the investigations, the lowest concentration of antibiotics which could be detected by each of the above methods, was determined. The results of the determination of the antibiotics in solution is given in Table 3, and in tissue in Table 4. Various results for the different antibiotics were obtained. In the tissues, a several times greater concentration of antibiotics was detected, then in the solutions (absorbing of antibiotics by the tissue). Of the methods, the most sensitive proved to be the KTS-C method, and next the method of frozen blocks, followed by the method of agar pits and the method of circles of filter paper.

Prost E., Służewski R. — Investigations sur la valeur de quelques méthodes de détection d'antibiotiques dans la viande.

Les auteurs essayèrent de déterminer la valeur de certaines méthodes de détection d'antibiotiques dans les tissus d'animaux du point de vue de leur sensibilité et de leur utilité pratique. On employa 4 méthodes de détection d'antibiotiques pour les recherches: 1) la méthode des creux dans l'agar, 2) la méthode des ronds de papier filtre d'après Kissling, 3) la méthode des blocks d'après Gartside, 4) la méthode de Kotter, Schulz et Terplan dans la modification de Coretti (KTS-C). La valeur de ces méthodes fut vérifiée sur les antibiotiques suivants: la pénicilline, la terramycine, la tetracycline, la streptomycine et la chloromycetine. On fixa comme microorganismes de tests pour la pénicilline, la terramycine et la tetracycline — *Staphylococcus aureus* 6538 P, pour la streptomycine et la chloromycetine *Bacillus subtilis* 6633. La définition de la

sensibilité des méthodes respectives fut effectuée in vitro (solutions d'antibiotiques de différentes concentrations) ainsi que sur les tissus d'animaux (tissus musculaires broyés, tissu de foie et tissu du rein) auxquels on ajouta différentes concentrations d'antibiotiques. Dans les investigations on détermina la concentration la moins élevée d'antibiotiques, qui fut démontrée à l'aide de chaque méthode. Les résultats des définitions d'antibiotiques dans les concentrations sont démontrés sur le tableau 3 et dans les tissus sur le tabl. 4. On obtint des résultats différents pour les antibiotiques respectifs. La concentration des antibiotiques dans les tissus était beaucoup plus grande que dans les solutions (absorption des antibiotiques par les tissus). La méthode KTS-C s'avéra la plus sensible — en second lieu il faut citer la méthode des blocs congelés, puis celle des creux dans l'agar, et enfin la méthode des ronds de papier filtre

Prost E., Szluzewski R. — **Untersuchungen über Wert mancher Methoden zum Nachweis der Antibiotika im Fleisch.**

Grundsatz der Untersuchungen bildete die Wertbestimmung mancher Methoden zum Nachweis der Antibiotika in tierischen Geweben sowohl im Bezug auf ihre Empfindlichkeit wie auch praktische Brauchbarkeit. Zu Untersuchungen wurden vier Methoden der Aufdeckung der Antibiotika verwendet:

1. Agarlochtest-Methode, 2. Rundblättchen-Methode n. Kissling, 4. Gerfrierblockmethode n. Gartside, 5. Methode n. Kotter, Schulz und Terplan modifiziert nach Coretti (KTS-C). Der Wert der genannten Methoden wurde auf folgenden Antibiotika geprüft: Penicillin, Terramycin, Tetracyclin, Streptomycin und Chloromycetin. Als Testmikroorganismen wurde für Penicillin, Terramycin und Tetracyclin — Staphylococcus aureus 6538 P, für Streptomycin und Chloromycetin — Bac. subtilis 6633 festgesetzt. Die Empfindlichkeitsbezeichnung einzelner Methoden wurde in vitro (Antibiotika-Lösungen in verschiedenen Konzentrationen) sowie auf tierischem Gewebe (zerkleinertes Fleisch-, Leber und Nieren-Gewebe) durchgeführt, welchen verschiedene Konzentrationen der Antibiotika zugesetzt wurden. In den Untersuchungen wurden niedrigste Konzentrationen der Antibiotika bezeichnet, welche mit jeder einzelnen der verwendeten Methoden aufgedeckt worden sind. Ergebnisse der Bestimmung der Antibiotikalösungen sind in der Tabelle 3, in den Geweben in der Tabelle 4 angegeben. Man erhielt verschiedene Ergebnisse für einzelne Antibiotika. In den Geweben wurden einigemal höhere Konzentrationen der Antibiotika als in den Lösungen aufgedeckt (Absorbierung der Antibiotika durch Gewebe). Unter den gewählten Methoden hat sich als die empfindlichste gezeigt die KTS-C Methode, nachher die Gefrierblockmethode, Agarlochtestmethode und schliesslich Rundblättchenmethode.

RYSZARD SŁUŻEWSKI, ROMAN KINKA

Badania nad zanikaniem antybiotyków, podawanych leczniczo, w tkance mięśniowej i narządach wewnętrznych zwierząt rzeźnych

Katedra Higieny Produktów Zwierzęcych Wydziału Weterynaryjnego WSR w Lublinie
Kierownik: prof. dr EDMUND PROST

Według przepisów sanitarnych większości krajów na świecie obecność antybiotyków w żywności jest niedozwolona, a związki te uważane są za ciała obce. Powszechnie jednak stosowanie antybiotyków w terapii zwierząt hodowlanych, przeznaczonych następnie do spożycia dla ludzi stwarza sytuację występowania ich w poszczególnych tkankach organizmu, a szczególnie w tkance mięśniowej. Wskazują na to m.in. badania Käfersteina (3), który na 160 szt. różnych gatunków losowo wybranych zwierząt stwierdził w ca 60% obecność antybiotyków w poszczególnych tkankach, w tym również i w tkance mięśniowej. Stąd też istotnym zagadnieniem jest ustalenie czasokresu w jakim należy skierować zwierzę na ubój po podaniu leczniczym antybiotyków, aby uniknąć jego występowania w organizmie zwierzęcia. Sprawy będą się oczywiście kształtowały indywidualnie w zależności od gatunku i wieku zwierzęcia oraz rodzaju i dawki antybiotyku. Niemniej możliwe jest ustalenie jakiejś ogólnej i orientacyjnej przerwy dzielącej podanie lecznicze antybiotyku od uboju zwierzęcia. Według opinii Komitetu Ekspertów WHO przerwa ta powinna wynieść około 48 godzin (6).

Należy również poruszyć zagadnienie wpływu występowania antybiotyków w organizmie zwierzęcia rzeźnego na wyniki przeprowadzonych badań bakteriologicznych. Niektórzy au-

torzy (1, 4, 5) wskazują, że antybiotyki utrudniają wykrywalność obecnych w badanych próbkach drobnoustrojów chorobotwórczych.

Badania własne

Założeniem pracy było ustalenie czasokresu zanikania antybiotyku w tkance mięśniowej i narządach wewnętrznych bydła rzeźnego, któremu podano leczniczo penicylinę — jednego z najczęściej stosowanych antybiotyków w terapii tych zwierząt.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na 160 krowach rzeźnych wagi 200—400 kg poddawanych ubojowi w Lubelskich Zakładach Mięsnych. Zastosowano następujące antybiotyki produkcji Tarchomińskich Zakładów Farmaceutycznych: penicylinę krystaliczną (sól potasową penicyliny G) oraz — debecylinę (sól NN dwubenzylloetylenodwuaminową penicylinę G). Wymienione antybiotyki podawano zwierzętom podskórnie i domięśniowo w następujących stosowanych powszechnie leczniczo dawkach: penicylina krystaliczna: 5 000 i 10 000 j/kg wagi, debecyliną 10 000 i 20 000 j/kg wagi. Krowy poddawano ubojowi w następującym czasie po podaniu antybiotyku: penicylina krystaliczna: 3, 6, 9, 12, 15, 18, 24, 36, 48 godz., debecyliną: 12, 18, 24, 48, 72, 84, 96, 120, 144, 168, 192 godz. Natychmiast po uboju pobierano do badań trzy próbki tkanki mięśniowej z mięśni *m. psoas minor*, *m. biceps brachii* i *m. obliquus abdominalis* oraz wątrobę, nerkę, żółć i krew. Obecność i stężenie antybiotyku w badanych próbkach oznaczano metodą dołków agarowych (2)