

HIGIENA ŻYWNOSTI ZWIERZĘCEGO POCHODZENIA

GERHARD SCHEIBNER

Normy mikrobiologiczne dla surowca mięsnego *)

Oddział Higieny Żywności Sekcji Produkcji Zwierzęcej i Medycyny Weterynaryjnej
Uniwersytetu Humboldta w Berlinie, NRD

Problematyka racjonalizacji i standaryzacji badania mikrobiologicznego ma duże znaczenie także i dla surowców mięsnych. W szeregu krajów czynione są już od lat starania, aby sposoby mikrobiologicznego badania mięsa w miarę możliwości znormalizować i ustalić wartości tolerowanych jeszcze liczb bakterii. Skromne jednak dotąd udało się osiągnąć wyniki i to tak w poszczególnych państwach, jak i w skali międzynarodowej. Różne są tego przyczyny. Standardy mikrobiologiczne wprowadzone w niektórych krajach różnią się wyrażnie między sobą. Dotyczy to nie tylko metodyki wykrywania drobnoustrojów, ale również ich jakościowego i ilościowego występowania. Normy opracowane przez międzynarodowe organizacje jak np. ISO (Międzynarodowa Organizacja Standaryzacji), w tym niektóre odnoszące się do mięsa i wyrobów mięsnych, mają jedynie charakter zaleceń.

Badanie mikrobiologiczne surowca mięsnego służy następującym stwierdzeniom:

- czy obecne są drobnoustroje chorobotwórcze lub ich toksyny,
- czy występują drobnoustroje warunkowo chorobotwórcze,
- jak wysoka jest ogólna liczba drobnoustrojów,
- czy występuje mikroflora specyficzna, która nie działając chorobotwórczo wywołuje zmiany jakości mięsa lub jego produktów.

Badanie w kierunku drobnoustrojów chorobotwórczych stwarza możliwość podstawowej selekcji mięsa. Stwierdzenie ogólnej liczby drobnoustrojów i występowania specyficznej mikroflory, oddziałującej na jakość, pozwala wnioskować o przydatności i dyspozycyjności mięsa. Badanie mikrobiologiczne surowca mięsnego jest prócz tego pomocniczym środkiem oceny stanu higieny ubojowej oraz postępowania, transportu i składowania mięsa.

Podstawowym założeniem w normalizacji ilości drobnoustrojów w surowcu mięsnym, podobnie jak dla wszystkich środków spożywczych, jest standaryzacja metodyki określania mikroflory. Przedmiotem normalizacji powinno być co najmniej:

- pobieranie próbek,
- przygotowanie próbek,
- rodzaj podłoża wzrostowych.

- posiew podłożu,
- temperatura, czas i rodzaj inkubacji (tlenowa, beztlenowa),
- odczytywanie i ocena wyników.

Badania mikrobiologiczne surowca mięsnego przeprowadzane są w trakcie uboju lub po określonym czasie jego przechowywania w zakładzie przetwórczym, a w pewnych okolicznościach także w miejscach rozbioru mięsa w zakładach żywienia zbiorowego lub w handlu detalicznym.

Badanie mikrobiologiczne przeprowadzane w trakcie uboju winno dopomóc w wyjaśnieniu czy drobnoustroje chorobotwórcze obecne są w mięsie i narządach zwierząt rzeźnych, i jest tym samym pomocniczym środkiem w ocenie zwierząt rzeźnych. Badanie to wykonywane jest jednak w poszczególnych krajach w różnym zakresie. W szeregu państw wydane zostały wiążące normy dla tzw. bakteriologicznego badania mięsa.

Kontrole bakteriologiczne przeprowadzane są zasadniczo tylko u tych zwierząt, u których istnieje podejrzenie choroby tła bakteryjnego. W NRD badane są bakteriologicznie wszystkie tusze pochodzące z ubojów z konieczności lub od chorych zwierząt, a z normalnych ubojów od tych osobników, u których istnieje podejrzenie zachorowań wywołanych przez bakterie.

Badanie bakteriologiczne w ramach procesu ubojowego prowadzić ma do stwierdzenia, czy drobnoustroje występują w mięsie czy też w narządach wewnętrznych zwierząt. Badanie powierzchni tusz na zanieczyszczenie mikroflorą przeprowadzane jest tylko w szczególnych przypadkach ich składowania.

Krew, mięśnie oraz narządy jamy pierśowej i brzusznej zdrowych klinicznie zwierząt, przygotowanych w odpowiedni sposób do uboju oraz ubitych zgodnie z przepisami, są wolne od mikroflory. Występowanie specyficznych gatunków drobnoustrojów w narządach lub mięśniach zwierząt rzeźnych pozwala na istotne wnioskowanie o charakterze choroby i w wielu przypadkach jest podstawą wydania oceny san.-wet.

Zagadnienia zanieczyszczeń *intra vitam* tusz i narządów wewnętrznych nie są w referacie omawiane.

W NRD obowiązuje od 1 stycznia 1977 r. norma TGL nr 27296 (TGL = Technische Gute- u.

*) referat wygłoszony na Sesji Sekcji Higieny Żywności Zwierzęcego Pochodzenia Komitetu Nauk Weterynaryjnych PAN, odbytej w Puławach (Inst. Wet.) 2.VI.1979 r.

Leistungsnorm), dotycząca bakteriologicznego badania mięsa w ramach nadzoru sanitarno-weterynaryjnego. W normie tej zdefiniowano pojęcie oraz podano kiedy należy wszcząć badanie bakteriologiczne, jak wyglądają wnioski dla przeprowadzenia tego badania i jak należy przechowywać tusze i narządy zwierząt do czasu zakończenia badania bakteriologicznego. Szczegółowe dane odnoszą się do kierunków i sposobu przeprowadzania badania bakteriologicznego mięsa oraz sporządzania dokumentacji i zawiadomień o wynikach. Podane są w tej normie również wszystkie potrzebne do przeprowadzenia badania aparaty i urządzenia, chemikalia, surowice, środki diagnostyczne oraz dezynfekcyjne. Na specjalne arkusze wprowadzane są dane pobierania próbek, ich opakowania, wysyłki i przygotowania. Uzupełniają tę normę szczegółowe określenia z zakresu diagnostyki i różnicowania *Salmonelli*, toku badania bakteriologicznego przy podejrzeniu wąglika, różicy, listeriozy i podejrzenia zakażeń beztlenowymi zarodnikowcami.

Podobne przepisy istnieją także w innych krajach.

Metodyka bakteriologicznego badania mięsa w trakcie procesu ubojowego ustawiona jest przede wszystkim pod kątem stwierdzenia określonych drobnoustrojów. Ilościowe natomiast badanie bakteriologiczne przeprowadzane jest w szczególnych jedynie przypadkach.

Całkiem inaczej kształtuje się sytuacja w przypadku mikrobiologicznego badania mięsa, składowanego przez krótszy lub dłuższy okres czasu. Określana jest wówczas najczęściej zawartość ilościowa drobnoustrojów na powierzchni całych tusz ewent. pół- lub ćwierćtuszy, albo też odkostnionego tylko mięsa. Przy jednolitych blokach mięsnych pobierane są próbki z powierzchni, a niekiedy tylko z głębszych warstw. Rozdrobnione surowe mięso, tzw. sie-

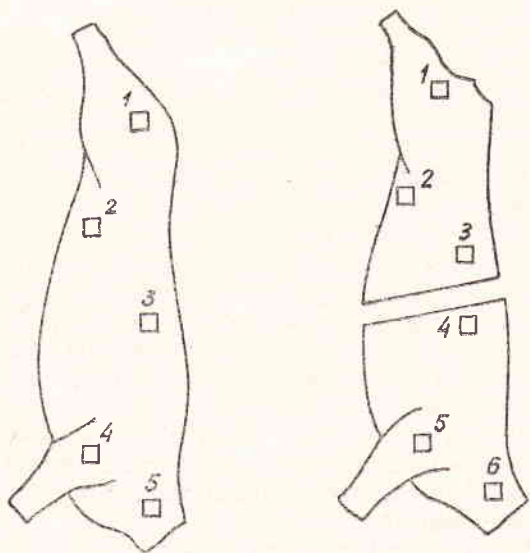
kanina lub surowiec otrzymany w następstwie mechanicznego odkostniania, używane są do badań zawsze jako próbki mieszane.

Powierzchnia surowca mięsnego jest zanieczyszczona drobnoustrojami w bardzo zróżnicowany sposób. Zależy to w dużym stopniu od sposobu postępowania z mięsem. Różnice w stopniu zakażenia stwarzają też główny problem w oznaczeniach drobnoustrojów na powierzchni surowca mięsnego.

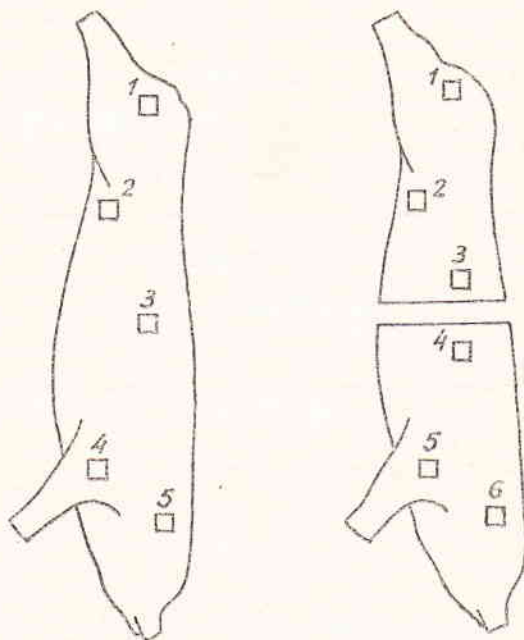
Nierównomierne rozłożenie mikroflory na powierzchni mięsa wymaga dla uzyskania reprezentatywnych wyników pobrania dostatecznej liczby próbek i przeprowadzenia dostatecznej liczby badań. Istotnym problemem jest jednak, czy lepsze jest, przy sumarycznie tej samej liczbie próbek, pobranie większej ich liczby od jednego zwierzęcia, lub też mniejszej liczby, ale od wielu zwierząt. Bardziej celowym jest pobranie mniejszej liczby próbek, ale od większej liczby zwierząt. Dotyczy to szczególnie świń, u których drobnoustroje są, po procesach oparzania i odszczeciniania, prawie homogenicznie rozłożone na całej powierzchni zwierzęcia.

Szczególną trudność standaryzacyjną stwarza ustalenie miejsc pobierania próbek. Międzynarodowe propozycje sugerują u bydła, świń i małych przeżuwaczy preferencje określonych miejsc tuszy zwierzęcia. Przedstawiono to na ryc. 1 i 2. Za mankament tych propozycji uważać można, że medialne części mięśniowe nie są w pobieraniu próbek w ogóle uwzględniane, a miejsca te są szczególnie często zanieczyszczone mikroflorą (np. powierzchnie przecięć po podziale tuszy).

Przy pobieraniu próbek należy w zasadzie odróżnić dwie grupy metod:



Ryc. 1. Miejsca pobierania próbek z tuszy bydła



Ryc. 2. Miejsca pobierania próbek z tuszy świń

- a) metody destrukcyjne; pobrane wycinki tkanek są homogenizowane w płynie, co pozwala na wysoki odzysk drobnoustrojów. Odtwarzalność jest dobra, ale koszty wysokie,
- b) metody wymazu, opluczyn i odcisku; używane są w tych przypadkach próbki tamponowe (korzystne są tampony alginatowe) lub klamry, względnie tzw. odciskowe kiełbaski agarowe; szczególnie przydatny okazał się pistolet rozpryskowy (spray) do splukiwania powierzchni mięsnych.

W metodach destrukcyjnych i większości technik wymazowych zostają homogenizowane próbki zawieszone w fizjologicznym roztworze peptonu i soli. W przypadkach rozdrabniania próbek znajdują zastosowanie elektromechaniczne aparaty lub tzw. Colworth-Stomacher, powodujący masaż próbek mięśniowych. Podobne postępowanie jest nieodzowne również dla już rozdrobnionego surowca mięsnego.

Właściwe oznaczenia ilościowe drobnoustrojów mogą być przeprowadzane różnymi metodami (tab. 1). — W praktyce stosowane są metody bezpośrednie i pośrednie. Bezpośrednie oznaczenia ilościowe rzadko znajdują zastosowanie dla surowca mięsnego; najczęściej używane są wówczas metody, opierające się na wyliczaniu kolonii wewnątrz lub na powierzchni stałych podłoży.

Tab. 1. Metody określania liczby drobnoustrojów

a) Mikroskopowe metody bezpośredniego liczenia:
1) met. wyliczania w komorach
2) met. wyliczania na filtrach membranowych
b) Fizyczne metody liczenia ciał komórkowych:
1) met. coulter-counter
2) met. bactometer
3) metody tubidymetryczne
c) Metody hodowlane:
1) met. płytkowa Kocha
2) met. hodowli na filtrach membranowych
3) met. powierzchniowa
4) hodowla wstrząsowa w słupkach agarowych
5) oznaczanie NPL (najbardziej prawdopodobnej liczby)
d) Pośrednie metody:
1) met. turbidymetryczne
2) met. kolorymetryczne: oznaczanie poziomu CO ₂ , kwasów itp.
3) met. radiometryczna
4) szybkie testy przy użyciu wskaźników red-oks

Tzw. metoda powierzchniowa, w połączeniu z techniką mikronakrapiania, jest korzystniejsza od klasycznej metody płytkowej Kocha. Nanoszenie zawiesiny na powierzchnię podłoża następuje poprzez jej nakrapianie z równomiernym rozprowadzaniem. Także i w NRD zalecane jest stosowanie w badaniu bakteriologicznym mięsa i wyrobów mięsnych metody powierzchniowej, stosowanie do normy (TGL

nr 24705, Blatt 1), obowiązującej od 1.VII. 1973 r.

Ostatnio propagowane jest także posiewanie podłoży przy pomocy metody płytek spiralnych. Przy metodzie tej rozprowadzona zostaje niewielka ilość badanej zawiesiny, za pomocą pipety teflonowej, na powierzchnię przeschniętego agaru odżywczego. Płytkę agarową ułożoną jest na tarczy obrotowej, a pipeta przesuwana się od centrum ku brzegowi płytki. Powstaje w ten sposób spiralna linia posiewu, na której rozwijają się w czasie inkubacji kolonie bakteriologiczne. Mogą być one następnie policzone przy pomocy specjalnego szablonu. Na płytce o przekroju 9 cm mogą być w ten sposób oznaczane ilościowo zawiesiny o liczbie bakterii od ca $5 \times 10^2/\text{ml}$ do ca $5 \times 10^6/\text{ml}$, bez potrzeby uprzedniego rozcieńczenia. Wyniki otrzymane metodą płytek spiralnych wykazywać mają wysoką korelację z wynikami metody płytkowej.

Według ostatnio zalecanej metody Colworth-droplette, rozcieńczenia materiału wyjściowego rozprowadzane są w płynnym agarze, który pipetuje się następnie kroplami do pustych płytek Petriego.

W oznaczaniu liczby bakterii na lub w surowcu mięsnym użyteczne są niekiedy także szybkie metody. Ich przydatność jest jednak kontrowersyjna. Do metod tych należą np. metoda filtrowania membranowego lub metoda redukcji. — Metoda filtracji membranowej umożliwia poprzez bezpośrednią inkubację filtrów membranowych na podłożach, wyliczenie liczby kolonii po 7—8 godzinnej hodowli w temp. 30°C. Metodą redukcji, stosowaną do surowca mięsnego, jest test rezazurynowy, dający ogólny pogląd o stanie zakażenia. Wykazuje on jednak znane powszechnie wady, wynikające ze zróżnicowanej zdolności redukcji poszczególnych gatunków bakterii. — Szybkie metody są przydatne dla wewnątrzzakładowej kontroli surowców, a z pewnym zastrzeżeniem dla opracowania norm zakładowych; nie można ich natomiast zalecić do badań mikrobiologicznych mięsa.

Należy powtórnie zaakcentować, że standaryzacja metod badawczych jest nieodzownym warunkiem dla opracowania i ustalenia limitów mikrobiologicznych dla żywności, a w tym także dla surowca mięsnego. Dane mikrobiologiczne mogą być między sobą porównywane jedynie w tych przypadkach, gdy uzyskane są za pomocą standaryzowanych metod. Poglądu tego należy przestrzegać przy ocenie i ustalaniu norm liczbowych drobnoustrojów dla mięsa. Pozwoli to także na porównanie danych piśmiennictwa.

Mimo wymienionych zastrzeżeń zarysowują się pewne podstawowe i zgodne punkty widzenia odnośnie oceny poziomu mikroflory w surowcach mięsnych:

— żaden rodzaj surowca mięsnego nie może zawierać chorobotwórczych drobnoustrojów,

- odnośnie tolerowanego poziomu warunkowo chorobotwórczych gatunków lub drobnoustrojów indykatorowych brak jest dotąd ustalonego stanowiska,
- na powierzchni tusz, półtuszy i ćwierćtuszy liczba tlenowych i zdolnych do wzrostu drobnoustrojów nie powinna przekraczać $10^5/\text{cm}^2$, jeśli mięso ma być zużytkowane bez jakichkolwiek ograniczeń; wycieki wodne po rozmrożeniu i płyn spluczynowy z tuszek drobiu rzeźnego nie powinien również zawierać więcej, a jeśli nawet, to niewiele więcej drobnoustrojów,
- przy zawartości 10^5 — $10^7/\text{cm}^2$ drobnoustrojów tlenowych ocena może być wydana dopiero po przeprowadzeniu badania sensorycznego,
- wyręby mięsne nie powinny zawierać na powierzchni więcej niż 10^6 drobnoustrojów tlenowych, a w wewnętrznych warstwach nie więcej niż 10^5 na 1 cm^2 ; przy wyższych wartościach liczbowych należy decydować każdorazowo,
- drobno rozdrobnione mięso i siekanina uważane są powszechnie jako podatne do spożycia przez człowieka, jeśli ogólna liczba tlenowych bakterii nie przekracza $10^7/\text{g}$.

Dla mięsa odkostnionego mechanicznie i uzyskiwanego w ostatnich latach w szeregu krajów w tzw. separatorach, jest zasadniczo liczba bakterii tlenowych ograniczona do $10^5/\text{g}$. W uzyskiwanej maszynowo masie mięsa drobiowego można tolerować wyższe liczby bakterii, gdyż masa ta może być użyta jedynie do produkcji kiełbas parzonych lub wyrobów pod-

danych zabiegom termicznym. W NRD obowiązuje od 1.X.1976 r. odnośnie do surowej masy mięsa drobiowego, uzyskiwanego w maszynach do odmięśniania kości, norma TGL 32 510/03; wg niej masa mięsa drobiowego może zawierać najwyżej $10^7/\text{g}$ zdolnych do wzrostu drobnoustrojów tlenowych i $10^4/\text{g}$ drobnoustrojów grupy coli. Te graniczne wartości odnoszą się do masy uzyskanej od kur, kurcząt, brojlerów i indyków.

Normy mikrobiologiczne dla surowca mięsnego, opierające się na standardowych metodach badawczych, pozwalają utrzymać względnie niskie wartości ogólnego zakażenia mięsa mikroflorą oraz polepszyć ogólną higienę w zakładach uzyskiwania, przetwórstwa, składowania i transportu mięsa. W ten sposób ulega podwyższeniu trwałość i zdolność magazynowania surowców mięsnych i pochodzących z nich wyrobów. Normy wpływają również na otrzymanie bardziej adekwatnych wyników badań, stwarzając możliwość większej ich porównywalności. Wyraźne korzyści stanowią normy mikrobiologiczne także dla międzynarodowego obrotu mięsem. Z tych też względów szczególną wartość mają wszelkie prace prowadzące do ulepszenia i rozszerzenia norm, aczkolwiek istnieją jak wiadomo obiektywne trudności. Dotyczą one przede wszystkim dokładnego pobierania próbek, a po części zróżnicowanych sądów o wartości poszczególnych metod w ustalaniu limitów bakterii i powszechnie zadowalających norm mikrobiologicznych.

Adres autora: VR Prof. Dr. sc. G. Scheibner, Bereich Lebensmittelhygiene, Sektion Tierproduktion und Veterinärmedizin, Humboldt-Universität zu Berlin, 104 Berlin, Hannover-sche Str. 23, NRD.

PEETERS J. E., HODEN P., MEULEMANS G.: Skuteczność robenidyny w zapobieganiu kokcydiozie u królików. (Efficacy of robenidine in the prevention of rabbit coccidiosis). Br. vet. J. 135, 349—354, 1979 (4).

Kokcydiostatyki są powszechnie stosowane profilaktycznie w hodowli królików. Obserwacje przeprowadzone z robenidyną (cycostat) na królikach zarażonych naturalnie *Eimeria intestinalis*, *E. magna*, *E. media* i *E. perforans* wykazały, że dodatek do granulowanej paszy 33 ppm robenidyny obniża wydalanie z kałem oocyst pasożytów z 1000—93 000/g kału do 200—1200 pasożytów/g kału po 2 tygodniach. Jednocześnie ulega statystycznie znaczącemu wzrostowi konwersja paszy. U królików zarażonych eksperymentalnie 50 000 oocyst *E. intestinalis*, *E. magna*, *E. perforans* i *E. stiedai* wydalanie oocyst pasożytów z kałem uległo zahamowaniu po stosowaniu paszy granulowanej zawierającej 66 lub 99 ppm robenidyny. Robenidyna nie wpływała jednakże ujemnie na żywotność oocyst. Leczenie przyczyniło się do statystycznie znaczącego wzrostu dziennych przyrostów wagi ciała po 4 tygodniach stosowania leku.

G.

STEWART D. J.: Rola elastazy w różnicowaniu zakażeń wywołanych u owiec i krów przez *Bacteroides nodosus*. (The role of elastase in the differentiation of *Bacteroides nodosus* infections in sheep and cattle). Res. vet. Sci. 27, 99—105, 1979 (1).

Przebadano zdolność wytwarzania elastazy przez 87 szczepów *Bacteroides nodosus* w treści rozjaśnienia

podłoża agarowego TAS z dodatkiem elastyny. Ponadto w treści degradacji proteiny określono stabilność aktywności proteolitycznej 38 szczepów *B. nodosus*. Stwierdzono występowanie korelacji między wytwarzaniem elastazy, względną stabilnością aktywności proteolitycznej i zjadliwością szczepów *B. nodosus*. Zjadliwe szczepy izolowane od owiec wytwarzały elastazę, podczas gdy niezjadliwe szczepy izolowane od owiec i krów nie posiadały tej zdolności.

G.

ATEF M., SALEM A. A., AL-SAMARRAE S. A., ZAFER S. A.: Stężenie niektórych sulfonamidów w żwaczach i ślinie krów oraz ich wpływ na florę żwacza. (Ruminal and salivary concentration of some sulfonamides in cows and their effect on rumen flora). Res. vet. Sci. 27, 9—14, 1979 (1).

U krów sulfadiazyna, sulfatiazol i sulfamerazyna podane w iniekcji dożylnie są wydalone do treści żwacza oraz do śliny. Stosunek stężenia sulfadiazyny w ślinie do jej stężenia w płazmie wynosi $1,0 \pm 0,07$, sulfatiazolu $1,3 \pm 0,23$, sulfamerazyny $1,2 \pm 0,07$. Stosunek stężenia sulfadiazyny w treści żwacza do jej stężenia w płazmie wynosi $0,6 \pm 0,04$, sulfatiazolu $0,5 \pm 0,04$ i sulfamerazyny $1,1 \pm 0,06$. 16,2% sulfatiazolu, 8,4% sulfamerazyny i 7,9% sulfadiazyny ulegało acetylacji. Z organizmu krów najszybciej był eliminowany sulfatiazol, wolniej sulfadiazyna i sulfamerazyna. Wszystkie badane sulfonamidy jedynie w niewielkim stopniu wpływały ujemnie na trawienie celulozy oraz aktywność orzęsków bytujących w żwaczach.

G.