

HIGIENA ŻYWNOŚCI ZWIERZĘCEGO POCHODZENIA

JAN TROPIŁO, MARCIN SZULC, KRYSZYNA LESZCZYŃSKA

Wpływ ogrzewania na inaktywację oksytetracykliny i streptomycyny^{*}

Katedra Higieny Żywności Pochodzenia Zwierzęcego Wydziału Weterynaryjnego SGGW-AR,
ul. Nowoursynowska 161, 02-975 Warszawa

Wpływem ogrzewania na inaktywację oksytetracykliny (OTC) lub streptomycyny zajmowało się szereg autorów. Bučić, Dakić (1), Dakić, Perić (2), Ežov (3), Glapš i wsp. (4), Konečný (5), Lukass (7), Malikowa i wsp. (8), Prost (9), Rutczyńska-Skonieczna (10), Sarkisov, Ežov (11), Scheibner (12, 13), Schothorst (14), Szakarjan i wsp. (15).

Niniejsza praca jest kontynuacją badań prowadzonych w Katedrze (17) nad ciepłą inaktywacją antybiotyków w środowiskach o różnych pH oraz z zawartością lub brakiem białka.

Celem badań było określenie wpływu pasteryzacji i sterylizacji na poziom OTC i streptomycyny w buforach i zbuforowanych homogenizatach tkanki mięśniowej, przy różnych temperaturach, czasach ogrzewania i pH środowiska.

Materiał i metody

Przedmiotem badań były antybiotyki produkcji „Polfa”:

- oksytetracyklina (*Oxytetracyclinum hydrochloricum*),
- streptomycyna (*N-methyl-L-glucosaminidylstreptostreptidinum*).

Zadeklarowaną na opakowaniach ilość antybiotyku weryfikowano przez porównanie ze standardami OTC i streptomycyny, otrzymanymi z Instytutu Leków w Warszawie. Antybiotyki oznaczano metodą mikrobiologiczną, dyfuzyjną, cylinderkowo-płytkową, wg Kramera i wsp. (6) w modyfikacji Tropiło (16).

^{*} Badania wykonano w ramach programu rządowego PR-4.

Jako drobnoustroje testowe stosowano przy oznaczaniu OTC przetrwalniki *Bacillus cereus var. mycoides* ATCC-11778, a przy oznaczaniu streptomycyny przetrwalniki *Bacillus subtilis* ATCC-6633.

Homogenizat tkanki mięśniowej przygotowywano z wycinków mięśnia najdłuższego (*m. longissimus*). Próbkę do badań pobierano po ok. 1 godzinie od uboju zwierzęcia i przetrzymywano w temp. 2°C. Homogenizat sporządzano z tkanki mięśniowej i buforów fosforanowych o pH 5, 6 i 7, w stosunku 1:4.

Roztwory antybiotyków w buforach przygotowywano przez dodanie 1 części macierzystego roztworu antybiotyku do 49 części buforu.

Homogenizat tkanki mięśniowej z antybiotykiem przygotowywano w proporcji: 10 części tkanki mięśniowej + 39 części buforu + 1 część macierzystego roztworu antybiotyku. Rozdrobnioną przy pomocy nożycek próbkę mięsa, po dodaniu antybiotyku i buforu, homogenizowano przez 2 minuty w homogenizatorze laboratoryjnym.

Przygotowane w ten sposób próbki rozlewano po 7,0 cm³ do probówek (o wysokości 160 mm i średnicy 15 mm). Probówki zamykano korkami plastikowymi i poddawano pasteryzacji lub sterylizacji. Po ogrzewaniu próbki studzono.

Homogenizaty poddawano wirowaniu, a płyn nad osadu używano do oznaczania antybiotyków. Próbkę z zawartością streptomycyny przed wlaniem do cylinderków neutralizowano do pH 8.

Badania wykonano zgodnie ze schematem podanym w tab. 1. Każdy wariant doświadczenia powtarzano trzykrotnie, wykonując równoległe dwa oznaczenia.

Uzyskane wyniki badań poddano obliczeniom w trójkierunkowej analizie wariancji, stosując dwa warianty. W pierwszym wariancie przyjęto jako źródła zmienności: pH środowiska, rodzaj środowiska (bezbiałkowe, białkowe), czas ogrzewania oraz określono współdziałanie trzech wymienionych czynników. W drugim wariancie przyjęto jako źródła zmienności: temperaturę, rodzaj środowiska (bezbiałkowe, białkowe), czas

Tab. 1. Schemat oznaczania wpływu ogrzewania na inaktywację oksytetracykliny i streptomycyny

parametry doświadczenia	antybiotyki								
	oksytetracyklina			streptomycyna					
stężenia antybiotyku /μg/cm ³	0,050	0,200	0,800	0,200	0,800	3,200			
rodzaj środowiska	bufor, homogenizat			bufor, homogenizat					
pH środowiska	5,0	6,0	7,0	5,0	6,0	7,0			
temperatura /°C/	80	90	100	117	80	90	100	117	124
czas ogrzewania /minuty/	2,5	5,0	10,0	15,0	15,0	30,0	60,0		
		20,0	30,0						

Tab. 2. Wpływ ogrzewania na inaktywację oksytetracykliny (wyrażony w % pozostałości antybiotyku)

temperatura ogrzewania °C	środo-wisko	stężenie antybioty-ków ($\mu\text{g}/\text{cm}^3$)	kontrola przy pH 5, 6, 7	pH środowiska								
				pH 5			pH 6			pH 7		
				czas ogrzewania/min.			czas ogrzewania/min.			czas ogrzewania/min.		
				5	10	20	5	10	20	5	10	20
80	bufor	0,200 0,050	100,0 100,0	63,5 100,0	50,7 85,0	14,3 0,0	35,3 81,0	27,7 55,5	0,0 0,0	55,8 0,0	0,0	
	homoge-nizat	0,200 0,050	100,0 100,0	0,0 0,0			0,0 0,0			0,0 0,0		
100	bufor	0,200 0,050	100,0 100,0	0,0 0,0			0,0 0,0			20,4 0,0	0,0	
	homoge-nizat	0,200 0,050	100,0 100,0	0,0 0,0			0,0 0,0			0,0 0,0		

Tab. 3. Wpływ ogrzewania na inaktywację streptomycyny (wyrażony w % pozostałości antybiotyku)

temperatura ogrzewania °C	środo-wisko	stężenie antybioty-ków ($\mu\text{g}/\text{cm}^3$)	kontrola przy pH 5, 6, 7	pH środowiska					
				pH 5		pH 6		pH 7	
				czas ogrzewania (min.)		czas ogrzewania (min.)		czas ogrzewania (min.)	
				30	60	30	60	30	60
80	bufor	3,200 0,200	100,0 100,0	78,2 95,1	50,9 65,9	77,9 81,0	64,3 64,9	68,3 81,2	56,2 74,0
	homoge-nizat	3,200 0,200	100,0 100,0	78,0 92,5	62,6 78,7	90,0 93,0	63,8 78,2	88,9 87,0	78,4 82,7
100	bufor	3,200 0,200	100,0 100,0	73,8 76,4	72,3 14,5	56,5 58,0	48,7 0,0	50,9 70,6	24,1 0,0
	homoge-nizat	3,200 0,200	100,0 100,0	69,9 84,0	43,0 0,0	46,2 80,5	24,9 22,0	71,8 80,3	31,9 34,3
117	bufor	3,200 0,200	100,0 100,0	19,7 0,0	5,0	14,0 0,0	3,0	2,4 0,0	0,0
	homoge-nizat	3,200 0,200	100,0 100,0	8,6 0,0	0,0	17,0 0,0	0,0	13,7 0,0	0,0
121	bufor	3,200 0,200	100,0 100,0	10,8 0,0	0,0	0,0 0,0		0,0 0,0	
	homoge-nizat	3,200 0,200	100,0 100,0	6,1 0,0	0,0	7,8 0,0	0,0	0,0 0,0	

ogrzewania oraz określono współdziałanie trzech wymienionych czynników.

Wyniki i omówienie

Niektóre wyniki badań wpływu temperatury i czasu ogrzewania, rodzaju i pH środowiska oraz stężenia antybiotyku na inaktywację OTC i streptomycyny, przedstawiono na ryc. 1, 2, 3 oraz tab. 2 i 3, a analizę statystyczną wyników w tab. 4 i 5.

Stwierdzono, że stopień inaktywacji badanych antybiotyków wzrasta z podniesieniem temperatury i czasu jej oddziaływania (ryc. 1, 2, 3; tab. 2, 3, 4, 5).

Bardziej wrażliwa na ogrzewanie jest OTC, mniej streptomycyna. Ogrzewanie w temp. 100°C przez 10—15 minut buforów oraz zbuforowanych homogenizatów, zawierających 0,800 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ OTC, powodowało inaktywację tego an-

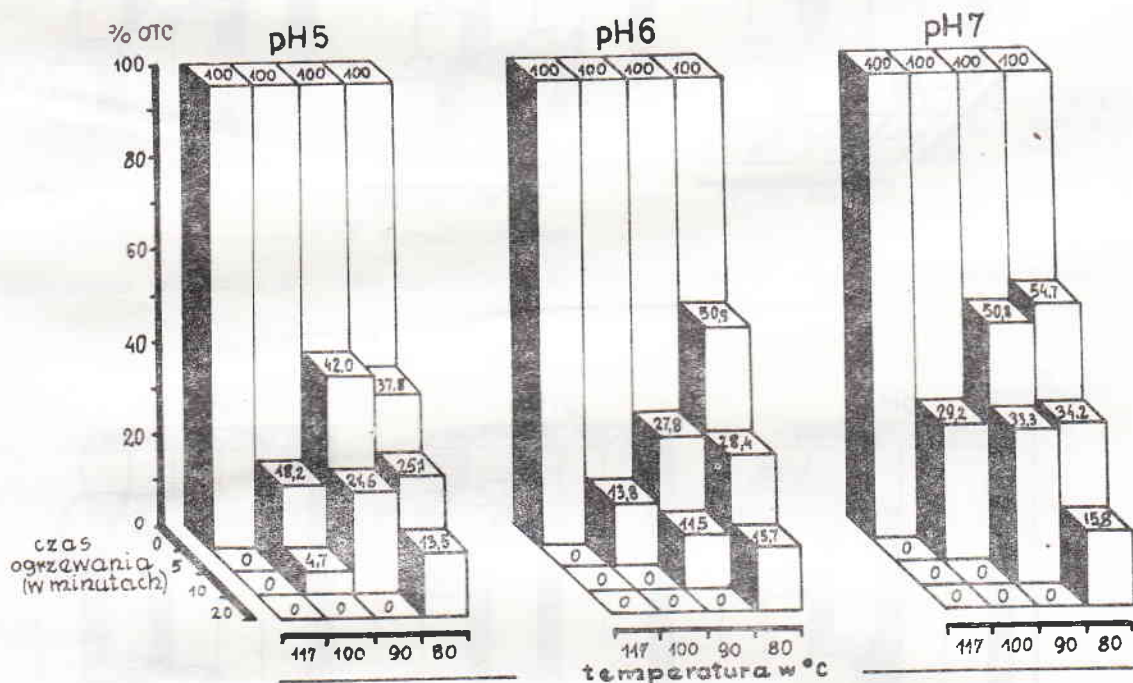
Tab. 4. Inaktywacja OTC (0,800 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$) przy ogrzewaniu w temp. 80 i 90°C

źródła zmienności	80°C	90°C
pH	+	-
środo-wisko (bufor, homogenizat)	++h	++h
czas ogrzewania	++	++
pH x środo-wisko	+	-
pH x czas ogrzewania	-	-
środo-wisko x czas ogrzewania	+	-
pH x środo-wisko x czas ogrzewania	-	-

tybiotyku (ryc. 1 i 2). Natomiast inaktywacja streptomycyny w badanych układach doświadczenia następowała dopiero w czasie sterylizacji w temp. 117°C, przy stężeniach antybiotyku: 0,200 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ — po 15—20 minutach (tab. 3) oraz 0,800 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ po 30—60 minutach (ryc. 3). Przy stężeniu streptomycyny 3,200 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$

Tab. 5. Inaktywacja streptomycyny przy ogrzewaniu w temp. 80, 90 i 100°C w środowisku o pH 5, 6 i 7

źródła zmienności	pH 5		pH 6		pH 7	
	3,200 μg/cm ³	0,800 μg/cm ³	3,200 μg/cm ³	0,800 μg/cm ³	3,200 μg/cm ³	0,800 μg/cm ³
temperatura	-	+	++	++	++	++
środowisko (bufor, homogenizat)	-	-	-	++	++	-
czas ogrzewania	++	++	++	++	++	++
temperatura x środowisko	-	-	+	-	-	+
temperatura x czas ogrzewania	-	-	-	-	+	-
środowisko x czas ogrzewania	-	-	-	-	-	-
temperatura x środowisko x czas ogrzewania	-	-	-	-	-	-



Ryc. 1. Wpływ temperatury, czasu ogrzewania i pH na inaktywację OTC (0,8 μg/cm³) w roztworach buforowych

inaktywację antybiotyku uzyskiwano dopiero podczas sterylizacji w temp. 121°C, po 30—60 minutach (tab. 3).

Stwierdzono statystycznie istotną, szybszą inaktywację OTC w środowisku białkowym niż bezbiałkowym (tab. 4), co również obserwuje się przy zestawieniu otrzymanych wyników średnich (ryc. 1 i 2). Natomiast dla streptomycyny nie uzyskano jednoznacznych wyników wskazujących na szybszą inaktywację tego antybiotyku w środowisku białkowym (tab. 5).

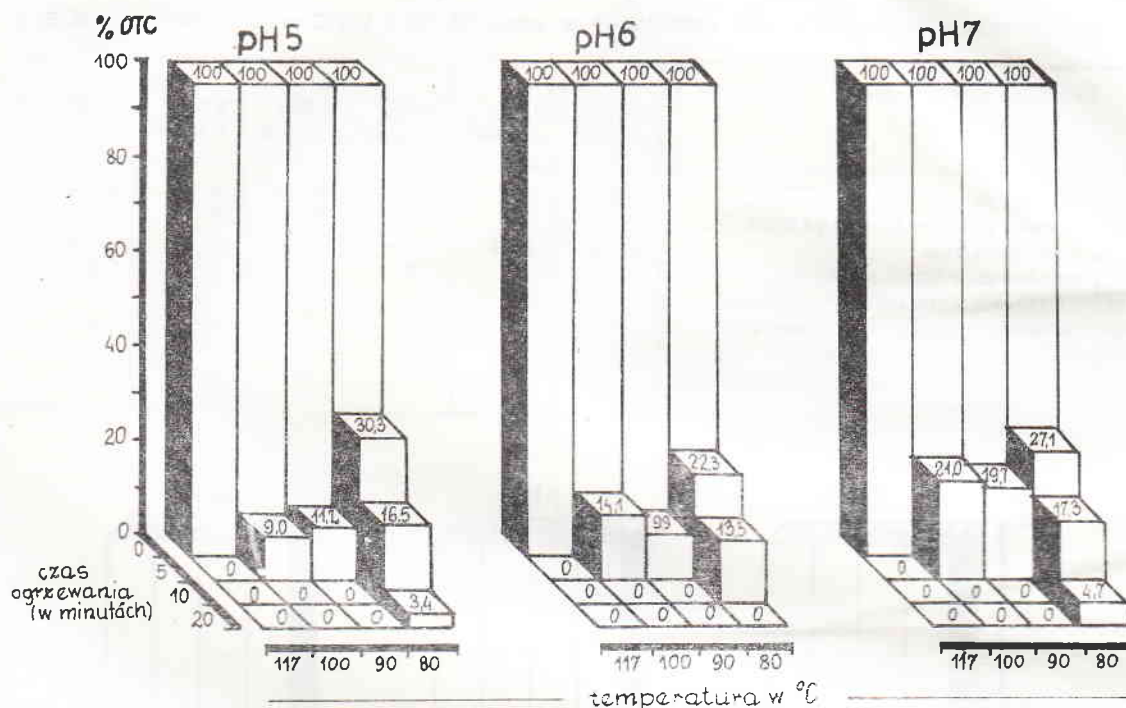
Przy pomocy analizy statystycznej, w większości analizowanych wariantów doświadczenia, nie stwierdzono istotnego wpływu pH środowiska na inaktywację OTC i streptomycyny, choć w niektórych układach doświadczenia wpływ ten był istotny (tab. 4). Obrazuje to również zestawienie wyników średnich dla streptomycyny, podane na ryc. 3. Wskazują

one, że streptomycyna szybciej inaktywuje się przy pH 7 niż pH 5.

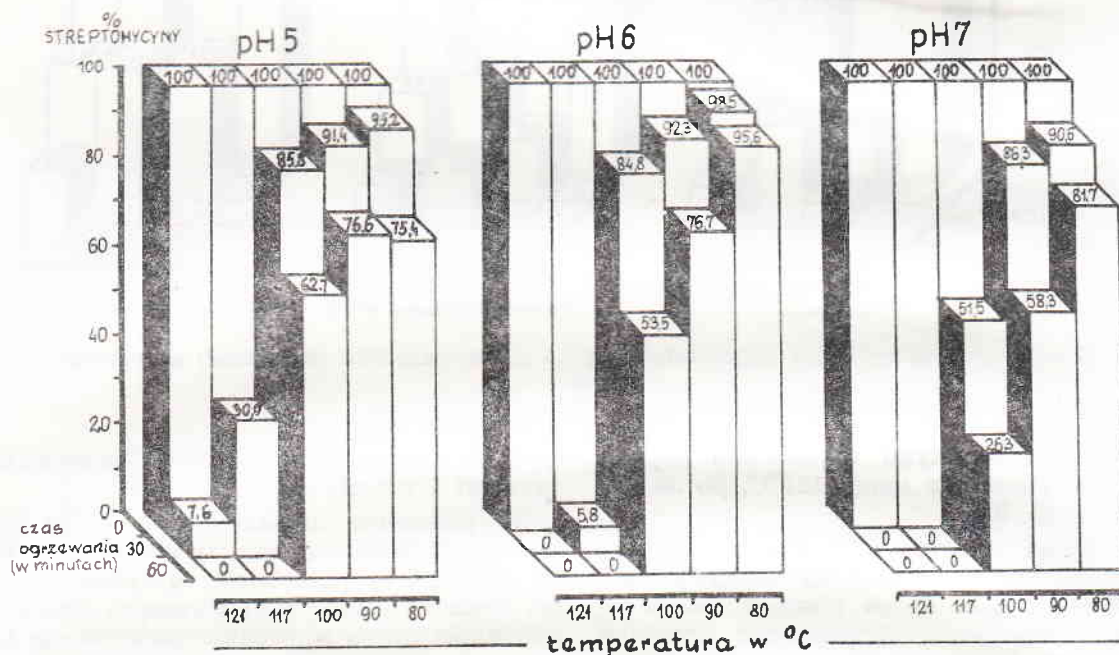
Na podstawie uzyskanych wyników badań można przypuszczać, że przy obecności w tkance mięśniowej pozostałości antybiotyków, po ich leczniczym lub profilaktycznym stosowaniu, gotowanie mięsa spowoduje inaktywację OTC. Natomiast dla inaktywacji pozostałości streptomycyny konieczna jest sterylizacja mięsa.

Dokładne porównanie wyników badań własnych z uzyskanymi przez innych autorów jest trudne z uwagi na stosowanie przez nich często odmiennych stężeń antybiotyków oraz innego środowiska, w którym te antybiotyki ogrzewano.

Można jednak stwierdzić, że wyniki badań przedstawione w niniejszej pracy są zbieżne z uzyskanymi przez większość innych autorów,



Ryc. 2. Wpływ temperatury, czasu ogrzewania i pH na inaktywację OTC (0,8 µg/cm³) w homogenizatach tkanki mięśniowej



Ryc. 3. Wpływ temperatury, czasu ogrzewania i pH na inaktywację streptomycyny (0,8 µg/cm³) w roztworach buforowych

którzy zwracają uwagę na stosunkowo dużą wrażliwość OTC na ogrzewanie (2, 3, 4, 7, 8, 10, 13, 14, 15) i znaczną oporność streptomycyny (5, 9, 11, 12, 13, 14, 15).

Autorzy uznają w pełni zasadę, że pozostałości antybiotyków nie powinny znajdować się w mięsie, co jest możliwe jedynie przy prze-

strzeganiu okresów karencji. Jeżeli jednak zasada ta nie może być spełniona, np. w przypadku uboju z konieczności zwierząt poddanych leczeniu, wyniki przedstawionych badań powinny być wskazówką do właściwego wykorzystania surowca mięsnego zawierającego pozostałości antybiotyków.

Wnioski

1. Ogrzewanie w różnych środowiskach oraz temperaturach i czasach znacznie szybciej inaktywuje OTC niż streptomycynę.

2. Stopień inaktywacji obu antybiotyków wzrasta wraz z podniesieniem temperatury ogrzewania i przedłużeniem czasu jej działania.

3. Ogrzewanie szybciej inaktywuje OTC w środowisku białkowym niż bezbiałkowym; przy ogrzewaniu streptomycyny zależność ta nie występuje jednoznacznie.

4. Gotowanie mięsa jest zabiegiem wystarczającym do inaktywacji pozostałości OTC, powstających po leczniczym lub profilaktycznym stosowaniu tego antybiotyku; natomiast dla inaktywacji pozostałości streptomycyny konieczna jest sterylizacja mięsa.

Piśmiennictwo

1. Bučić S., Dakić M.: Tehnol. mesa. 22, 65, 1981.
2. Dakić M., Perić M.: Acta vet. Belgrad 22, 53, 1972.
3. Ežov W. I.: Veterinarija, Moskwa 2, 66, 1970.
4. Gląps J., Rzeźnik K., Wąclawek B., Ruszczyk Z.: Roczn. Nauk roln. 76-B-1, 101, 1960.
5. Konečný S.: Veterinářství 9, 409, 1978.
6. Kramer J., Carter G. G., Arret B., Wilner J., Wright W. W., Kirshbaum A.: Antibiotic residues in milk, dairy products, and animal tissues: methods, reports, and protocols. National Center for Antibiotic and Insulin Analysis Food and Drug Administration, Department of Health, Education, and Welfare, Washington 1968.
7. Lukass H.: Untersuchungen über die Auswirkung der Erhitzung antibiotischer Reinsubstanzen und Antibiotika in Organ — und Fleischproben normalgeschlachteter Kälber auf die biologische Aktivität im mikrobiologischen Hemmstofftest. Praca dokt., Hannover 1971.
8. Malikova M., Habrda J., Bartoš J., Matoušková O.: Vet. Med. 21, 149, 1976.
9. Prost E.: Medycyna Wet. 9, 215, 1953.
10. Rutczyńska-Skomeczna E.: Roczniki PZH 18, 35, 1967.
11. Sarkisov A. Ch., Ežov W. I.: Veterinarija, Moskwa 8, 106, 1972.
12. Scheibner G.: Mh. Vet.-Med. 27, 161, 1972.
13. Scheibner G.: Mh. Vet.-Med. 27, 745, 1972.
14. Schothorst M.: Antibiotic residues in slaughter animals. Praca dokt., Utrecht, 1969.
15. Szakarjan G. A., Daniłowa L. T., Akopjan Z. M., Sewjan T. K.: Veterinarija, Moskwa 2, 67, 1979.
16. Tropiło J.: Wpływ pozostałości antybiotyków w tkankach zwierzęcych na ocenę sanitarno-weterynaryjną mięsa. Praca hab., SGGW-AR, Warszawa 1978.
17. Tropiło J.: Medycyna Wet. 41, 276, 1985.

Adres autora: doc. dr hab. Jan Topiło, ul. Waszyngtona 41 m. 122, 04-015 Warszawa

Тропило Я., Шульц М., Лещинская К. — Влияние обогрева на инактивацию окситетрациклина и стрептомицина

Celю исследований состояла в определении влияния пастеризации и стерилизации на уровень остатков ОТС и стрептомицина в буферах и буферированных гомогенизатах мышечной ткани в разных температурах, времени обогрева и pH среды. Антибиотики определяли микробиологическим, диффузионным и цилиндрически-плиточным методами.

На основе полученных результатов исследований можно констатировать, что для инактивации возникших после лечебного или профилактического применения остатков ОТС в мышечной ткани — мясо следует варить, для инактивации же остатков стрептомицина необходима стерилизация.

Tropiło J., Szulc M., Leszczyńska K. — The influence of heating on inactivation of oxytetracyclin and streptomycin

The objective of the presented studies was to determine the influence of pasteurization and sterilization on the level of OTC and streptomycin residues in buffers and in buffered homogenates of muscular tissue in various temperatures, various times of heating and pH. The level of antibiotics was determined by the agar gel cup plate method. The results of the studies revealed that the inactivation of OTC residues in meat after therapeutic and prophylactic application of this antibiotic can be achieved after boiling, however, only sterilization inactivates streptomycin residues.

MC DOUGALL J. S., COOK J. K. A.: Zapalenie nosa i tchawicy indyków. Badania wstępne. (Turkey rhinotracheitis: Preliminary investigations). Vet. Rec. 118, 206—207, 1986 (8)

Enzootie ostrego, wysoce zakaźnego zapalenia układu oddechowego, diagnozowane jako zapalenie nosa i tchawicy wystąpiły u indyków w Anglii po raz pierwszy w 1985 r. Przy wysokiej zachorowalności śmiertelność wynosiła od 1 do 30%. Badania bakteriologiczne chorych sztuk dawały wyniki negatywne, względnie izolowano *E. coli*, *Moraxella anatipestifer*, *Bordetella-like* lub bliżej niezidentyfikowane gram ujemne pałeczko-ziarniaki. Z zaawansowanych przypadków choroby izolowano zazwyczaj *E. coli*, *Pseudomonas* i *Proteus*. Filtryaty homogenatów układu oddechowego nie były patogenne dla 9 dniowych zarodków kurzych i indycznych, nie posiadały właściwości hemaglutynacji i nie powodowały zmian cytopatycznych na jednowarstwowej hodowli komórek nerki kurczenia i indyka, fibroblastów zarodka kurzego i komórek wątroby zarodków kurzych po 3 pasażach przeprowadzonych w odstępach 7 dniowych. Przesącze wywoływały zakażenia u 7 dniowych indycząt po podaniu do worka spojówkowego lub do układu oddechowego w następstwie których rozwijało się ostre zapalenie jamy nosowej. W hodowli tkanek tchawicy indycząt występowała ciliostasis oraz cząsteczki wirusowe o wymiarach 80—100 nm przypominające orthomyxowirus lub koronawirus.

G.

DAVEY L. A., FERBER M. T., KAYE B.: Porównanie farmakokinetyki w surowicy krwi oksytetracykliny o przedłużonym działaniu i konwencjonalnej oksytetracykliny zastosowanych w postaci iniekcji. (Comparison of the serum pharmacokinetics of a long acting and a conventional oxytetracycline injection). Vet. Rec. 117, 426—429, 1985 (17).

W badaniach przeprowadzonych na krowach porównano parametry farmakokinetyczne oksytetracykliny o przedłużonym działaniu zastosowanej w dawce 20 mg/kg dożylnie i domięśniowo i chlorowodoru oksytetracykliny zastosowanego w identycznej dawce w iniekcji domięśniowej. Badane parametry oznaczono w przedziałach czasowych od 0 do 144 godzin po podaniu antybiotyku. Stężenie oksytetracykliny w surowicy określono metodą mikrobiologiczną w stosunku do *Bacillus cereus*. Stosując iniekcję oksytetracykliny o przedłużonym działaniu przy niższym stężeniu maksymalnym w surowicy uzyskano dłuższy okres utrzymywania się antybiotyku w organizmie. Również $t_{1/2}$ był istotnie wyższy. Maksymalny poziom w surowicy krwi oksytetracykliny konwencjonalnej podanej w formie iniekcji wynosił 6,5 µg/ml, okres biologicznego półtrwania 11,1 h, czas potrzebny do spadku stężenia antybiotyku w surowicy krwi do 0,5 µg/ml 51,5 h. Wartości te w przypadku oksytetracykliny o przedłużonym działaniu wynoszą odpowiednio 3,2 µg/ml, 36,9 h i 86,8 h.

G.