

Wnioski

1. W świetle uzyskanych wyników i danych literaturowych wyłania się obecnie niezbędna potrzeba stałej kontroli analitycznej pozostałości Chl w tkankach i produktach zwierzęcych ze względu na wprowadzone zarządzenia sanitarne w naszym kraju i wymagania międzynarodowego handlu żywnością.

2. Najbardziej przydatne do analizy pozostałości Chl są próbki nerek, moczu i mięśni, a zwłaszcza mięśni z okolicy wstrzyknięcia preparatu podawanego domięśniowo.

3. U świń po 3 dniach od wstrzyknięcia domięśniowo 50 mg Chl/kg m.c. można stwierdzić i oznaczyć ilościowo pozostałości Chl u niektórych jeszcze zwierząt w moczu i u wszystkich w mięśniach z okolicy wstrzyknięcia.

Piśmiennictwo

- Balzis G., Arnold D.: Chromatographia 27, 489, 1989.
- Bories G. S., Peteran J. C., Wal J. M.: J. Ass. Off. Anal. Chem. 66, 1521, 1983.
- Epstein R. L., Ashworth R. B., Simpson R. M.: Am. J. Vet. Res. 47, 2074, 1986.
- Epstein R. L., Randecker V., Corrao P., Keeton J. T., Cross H. R.: J. Agric. Fd Chem. 36, 1009, 1988.
- Fabiansson S., Nilsson T., Backström J.: J. Sci. Fd Agric. 27, 1156, 1976.
- Gorzelewska K., Juszkiewicz T.: Medycyna Wet. 17, 650, 1961.
- Korsrud G. O., Naylor J. M., MacNeil J. D., Yates W. D.: Can. J. Vet. Res. 51, 316, 1987.
- Korsrud G. O., Naylor J. M., Salisbury C. D., MacNeil J. D.: J. Agric. Fd Chem. 35, 556, 1987.
- Niwadowska A., Semenik S.: Roczn. Państw. Zakł. Hig. 40, 230, 1989.
- Nouws J. F. M., Vree T. B., Holtkamp J., Baakman M., Driessens F., Guelen P. J. M.: Vet. Quarterly 3, 224, 1986.
- Nouws J. F. M., Ziv G.: Vet. Quarterly 1, 47, 1979.
- Nouws J. F. M., Ziv G.: Vet. Quarterly 4, 23, 1982.
- Parker R. M., Shaw I. C.: Analyst 113, 1875, 1988.
- Residues of some veterinary drugs in animals and foods. FAO Food and Nutrition Papers, No. 41, Rome 1988.
- Rosenkranz H. S.: Mutation Res. 196, 1, 1988.
- Ziv G., Bogin E., Sulman F. G.: Zbl. Vet. Med. A 20, 801, 1973.

Adres autora: prof. dr hab. Teodor Juszkiewicz, ul. XX-lecia PRL 6/3, 24-100 Puławy

KRZYSZTOF KWIATEK

Występowanie *Listeria monocytogenes* w wołowinie, wieprzowinie i mięsie drobiowym

Zakład Higieny Produktów Zwierzęcych Instytutu Weterynarii,
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Summary

Incidence of *Listeria monocytogenes* in beef, pork and poultry meat

The examinations were performed on 245 samples of pork, 114 samples of beef and 26 samples of poultry meat. There was used USDA-FSIS method for the detection of *Listeria monocytogenes* in the samples weighing 25 g each. The results showed that 10.7% of pork samples and 7.0% of beef samples contained the strains of *L. monocytogenes*. The percentage of poultry meat samples contaminated by *L. monocytogenes* was very high; it ranged from 60 to 100 depending on the kind of the tissue examined. Altogether 51 virulent strains of *L. monocytogenes* were isolated from the materials under study. In the slide agglutination test it was shown that among the isolated strains 48 of 51 (94%) belonged to the serotype 1-3, while only 3 of 51 (6%) to the serotype 4. Besides, 59 apathogenic strains were isolated and they were classified as *L. monocytogenes* serotype 4.

Listeria monocytogenes jest czynnikiem etiologicznym zakaźnej choroby ludzi i zwierząt określonej jako listerioza. Stwierdzono ją dotąd u ponad 50 gatunków ssaków udomowionych i dziko żyjących, ptactwa oraz wielu gatunków zwierząt zmiennocieplnych (1, 8, 20).

U ludzi do niedawna przypadki listeriozy były rejestrowane stosunkowo rzadko i nie stanowiły problemu epidemiologicznego. Wyraźny wzrost liczby zachorowań na tę chorobę zaobserwowano na przełomie lat 70 i 80-tych bieżącego stulecia w wielu krajach Europy, Stanów Zjednoczonych i Kanady. Potwierdzeniem tego może być fakt wystąpienia w latach 1975—1985 przynajmniej 4 dużych epidemii listeriozy u ludzi w USA i Kanadzie (4, 10, 11, 21). Według oficjalnych danych w USA w 1986 r. stwierdzono ponad 1600 przypadków zachorowań u ludzi na tle *L. monocytogenes*, z których 450 było śmiertelnych (3, 6). Z materiałów opubliko-

wanych w Wielkiej Brytanii wynika, że również w tym kraju występuje widoczna tendencja do wzrostu liczby zachorowań na listeriozę. Wyraża się to zwiększeniem liczby rejestrowanych przypadków tej choroby u ludzi z 27 w roku 1967 do 291 w roku 1988 (7). W Polsce opisane przypadki listeriozy u ludzi są stosunkowo nieliczne. Tym niemniej w latach 1974—1985 zarejestrowano w całym kraju 144 przypadki tej choroby u ludzi (9).

Tak wyrażone pogorszenie się sytuacji epidemiologicznej w zakresie listeriozy było bodźcem do podjęcia w wielu krajach szerokich badań zmierzających do poznania źródeł i przyczyn zakażeń *L. monocytogenes* w populacji ludzkiej. Uzyskane tą drogą wyniki wykazały niemal jednoznacznie, że głównym źródłem zakażeń u ludzi na tle *L. monocytogenes* jest żywność zanieczyszczona tym drobnoustrojem (4, 9, 11, 21). Jednocześnie wskazano na mleko i jego przetwory, warzywa oraz mięso i przetwory mięsne jako produkty stosunkowo często zanieczyszczone zjadliwymi szczepami *L. monocytogenes* przynależnymi do serotypów 1 i 4 (2, 12, 18). Serotypy te są również najczęściej izolowane od ludzi chorych na listeriozę (1, 11, 21). W tej sytuacji zdecydowano się na wprowadzenie w niektórych państwach systemu kontroli żywności w kierunku *L. monocytogenes*. Równocześnie przyjęto kryterium, że żywność przeznaczona do bezpośredniego spożycia nie powinna zawierać tego zarazka w 25 g produktu (5).

W naszym kraju zagadnienie to nie było dotychczas podejmowane i nie dysponujemy danymi odnośnie do występowania *L. monocytogenes* w żywności zwierzęcego pochodzenia. W związku z powyższym podjęto badania, których celem było określenie częstości występowania *L. monocytogenes* w mięsie zwierząt rzeźnych i drobiu.

Materiał i metody

Przedmiotem badań było 245 próbek mięsa wieprzowego, 114 próbek wołowiny oraz 26 mięsa drobiowego. próbki mięsa zwierząt rzeźnych pobierano z surowca kl. I przeznaczonego do produkcji szynek pasteryzowanych oraz wyższej jakości kielbas z różnych zakładów mięsnych. próbki mięsa drobiowego (mięśnie piersiowe, żołądki i wątróbki) pobierano od kurcząt rzeźnych poddawanych ubojowi w jednym zakładzie drobiarskim. Materiał do badań pobierano zgodnie z zasadami aseptyki do woreczków foliowych, które następnie umieszczano w termosie w temp. 0–10°C. Po dostarczeniu do laboratorium próbki poddawano niezwłocznie badaniom. W przypadku niemożności wykonania natychmiastowego badania otrzymane próbki zamrażano w temp. –20°C. Przygotowanie próbek do badań przeprowadzano wg Polskiej Normy (19) z tym jednak, że pomijano zabieg opalania powierzchni badanego materiału. Wykrywanie obecności *L. monocytogenes* w 25 g próbach mięsa wołowego, wieprzowego oraz drobiu przeprowadzano zgodnie z metodą USDA-FSIS (16, 23). Celem określenia gatunku wyosobnione szczepy podejrzane o przynależność do rodzaju *Listeria* sprawdzano na: zdolność ruchu w kropli wiszącej, typ wzrostu (kształt parasola) na agarze półpłynnym oraz zdolność wytwarzania hemolizy na agarze z krwią. W dalszym etapie badań tych szczepów przeprowadzano próbę na aktywność katalazy i oksydazy, próbę na redukcję azotanów oraz próby MR, VP oraz CAMP. Określano także zdolność rozkładu przez wyizolowane szczepy arabinozy, eskuliny, galaktozy, glukozy, maltozy, mannitolu, ramnozy i salicyny. Badania ww. cech hodowlanych i biochemicznych wyosobnionych szczepów przeprowadzano wg ogólnie przyjętych zasad (15, 23).

Właściwości chorobotwórcze szczepów sprawdzano próbą biologiczną na myszkach białych (15). Badanie serologiczne wyizolowanych szczepów przeprowadzano odczynem aglutynacji szkiełkowej. W próbie tej użyto specyficznych surowic aglutynacyjnych firmy „Dessau” z NRD. Były to: a) poliwalentna surowica anty- *L. monocytogenes* zawierająca przeciwciała anty- O czynnik I, II i V. b) surowica zawierająca przeciwciała anty- O I, II *L. monocytogenes* od odróżnienia serotypów 1–3 od 4. c) surowica zawierająca przeciwciała anty- O V *L. monocytogenes* do określenia serotypu 4.

Wyniki i omówienie

Jak wynika z danych przedstawionych w tab. 1 najwyższy odsetek próbek zanieczyszczonych *L. monocytogenes* wykazywało mięso drobiowe, a znacznie niższy wieprzowina i wołowina. Jest godnym uwagi, że poza 51 szczepami należącymi do gatunku *L. monocytogenes* wyizolowano z badanego materiału dalszych 59 szczepów drobnoustrojów rodzaju *Listeria* o nietypowych właściwościach hodowlanych i biologicznych. Właściwości te uniemożliwiały zaliczenie ich do jednego ze znanych gatunków w obrębie rodzaju *Listeria*. Dlatego też, przed rozpoczęciem badań serologicznych, określono je wstępnie jako *Listeria spp.* Szczepy te, w porównaniu do *L. monocytogenes*, nie wykazywały zdolności wytwarzania beta hemolizy na agarze z krwią, dawały reakcję ujemną w próbie CAMP i były niechorobotwórcze dla myszek białych. W zakresie pozostałych właściwości hodowlanych i biochemicznych wykazano pełną zgodność z cechami przyjętymi za typowe dla *L. monocytogenes*.

Stosując w odczynie aglutynacji szkiełkowej surowicę poliwalentną anty- *L. monocytogenes* wynik dodatni uzyskano ze wszystkimi szczepami, które uprzednio określono jako *L. monocytogenes* bądź *Listeria spp.* W dalszych szczegółowych badaniach stwierdzono, że 48 (94%) spośród 51 badanych szczepów *L. monocytogenes* należało do serotypu 1–3, natomiast pozostałe 3 (6%) reprezentowały serotyp 4. Należy podkreślić, że wszystkie szczepy serotypu 4 zostały wyizolowane z próbek mięsa wieprzowego i wołowego pobranego

Tab. 1. Występowanie *L. monocytogenes* i *Listeria spp.* w mięsie wieprzowym, wołowym i drobiu

Rodzaj materiału	Liczba badanych próbek	Próbki dodatnie, liczba/%	
		<i>L. monocytogenes</i>	<i>Listeria spp.*</i>
Wieprzowina	245	26/10,6	47/19,2
Wołowina	114	8/7,0	10/8,8
Mięso drobiowe (m. piersiowe)	20	12/60,0	2/10,0
Wątróbki drobiowe	4	3/75,0	0
Żołądki drobiowe	2	2/100	0

Objaśnienie: * – szczepy rodzaju *Listeria* gamma-hemolityczne.

w jednym zakładzie mięsnym. Odmienne kształtowały się proporcje w przynależności serotypowej w przypadku 59 szczepów określonych jako *Listeria spp.* W grupie tej wszystkie wyosobnione szczepy, poza wynikiem dodatnim z surowicą poliwalentną anty- *L. monocytogenes*, dawały reakcję pozytywną z surowicą anty- *L. monocytogenes* OV. Wskazuje to na przynależność tych szczepów do serotypu 4 *L. monocytogenes*. Należy jednakże dodać, że obserwowana aglutynacja miała z reguły charakter drobnoziarnisty (aglutynacja słabo wyrażona).

Z przeprowadzonych badań wynika, że w mięsie zwierząt rzeźnych i drobiu stwierdza się stosunkowo często występowanie chorobotwórczych szczepów *L. monocytogenes*. Stopień zanieczyszczenia tym zarazkiem jest znacznie wyższy dla mięsa drobiowego niż dla wieprzowiny czy wołowiny. Podobną prawidłowość w odniesieniu do częstości występowania *L. monocytogenes* w mięsie zwierząt rzeźnych i drobiu zaobserwowało wielu innych autorów (12, 13, 18, 22). Zwraca uwagę fakt, że 60% badanych próbek tkanki mięśniowej pobranej z tuszek kurcząt rzeźnych zawierało *L. monocytogenes*. Wcześniejsze prace z tego zakresu wykonane przez Kwantesa i wsp. (13), Pini i wsp. (18) oraz Skovgaard i wsp. (22) ujawniły odpowiednio: 53, 43 i 47% badanych tuszek drobiowych jako zanieczyszczonych tym drobnoustrojem. Dane te świadczą o stosunkowo wysokim poziomie zanieczyszczenia mięsa drobiowego *L. monocytogenes* w różnych krajach. Wydaje się, że tak powszechne występowanie tego zarazka u drobiu wynika z uprzemysłowienia metod hodowli i uboju, które sprzyjają powstawaniu przyżyciowych i pobojoych zakażeń krzyżowych. Stwierdzony w badaniach własnych odsetek próbek wołowiny i wieprzowiny zawierających *L. monocytogenes* mieścił się w zakresie 7 do 10,6 i był znacznie niższy w porównaniu z analogicznymi wartościami odnotowanymi przez innych autorów. Potwierdzeniem tego faktu mogą być wyniki badań wykonanych przez Skovgaard i wsp. (22), Nicolasa i wsp. (17) oraz Karchesa i wsp. (12), w których określono odpowiednio: 28, 26 i 46% analizowanych próbek mielonego mięsa wołowego jako zanieczyszczonych tym zarazkiem. Równie wysoki odsetek (40) próbek mielonej wieprzowiny wykazujących obecność *L. monocytogenes* stwierdzili w swoich badaniach Karches i wsp. (12). Natomiast Breuer i wsp. (2) określili, że 36% badanych próbek mielonego mięsa wieprzowo-wołowego (50:50) było zanieczyszczonych tym zarazkiem. Należy sądzić, że wysoka wartość odsetka prób zawierających *L. monocytogenes*, stwierdzana przez cytowanych autorów, była skorelowana dodatnio ze stopniem zanieczyszczenia bakteryjnego mięsa mielonego poddanego badaniom. W pracy własnej analizie poddano mięso w kawałkach, a więc

z pewnością o niższym poziomie zanieczyszczenia bakteryjnego.

Z otrzymanych rezultatów badań serologicznych wynika, że zdecydowana większość, tj. 94% wyosobnionych szczepów *L. monocytogenes* należała do serotypu 1—3. Pozostały odsetek stanowiły szczepy zaliczane do serotypu 4. Podobne proporcje w kształtowaniu się przynależności serotypowej szczepów *L. monocytogenes* wyizolowanych z żywności stwierdzili inni autorzy (7, 18).

Zagadnieniem wymagającym podkreślenia, przy omawianiu wyników przeprowadzonych badań, jest obecność niejadliwych gamma-hemolitycznych szczepów *L. monocytogenes* w badanym materiale. Występowanie tego rodzaju szczepów w środowisku naturalnym, jak również możliwość ich powstawania w warunkach laboratoryjnych zostało sprawdzone i potwierdzone przez kilku autorów (cyt. 1). Utratę właściwości hemolitycznych *L. monocytogenes* autorzy ci tłumaczą w dwojaki sposób, a mianowicie:

— jako wynik pasażowania typowych szczepów *L. monocytogenes* na sztucznych pożywkach, na których tracą one cechę zjadliwości i zdolność wytwarzania beta-hemolizy.

— nie wyklucza się również możliwości utraty antygeny somatycznego O przez *L. monocytogenes* w czasie hodowli, co w rezultacie daje przejście formy kolonii typu S w R. Objawiać się to może także słabo wyrażoną lub brakiem aglutynacji przez swoiste surowice szczepów *L. monocytogenes* należących do serotypu 4.

Na taką możliwość transformacji beta-hemolitycznych szczepów *L. monocytogenes* wskazują wyniki przeprowadzonych szczegółowych badań gamma-hemolitycznych szczepów *L. monocytogenes* wyosobnionych z badanego materiału.

Reasumując należy stwierdzić, że *L. monocytogenes* jest zarazkiem, który stosunkowo często występuje w mięsie zwierząt rzeźnych i drobiu. Jak wykazano doświadczalnie, listerie występujące w tkance mięsniowej zdolne są do przeżywania poubojowych procesów zakwaszenia mięsa, jego peklowania oraz mrożenia. Stąd też jedyną pewną metodą ich unieszkodliwienia jest działanie wysoką temperaturą (20). Dodatkowym czynnikiem zwiększającym ryzyko zakażeń na tle *L. monocytogenes* po spożyciu surowego lub niedostatecznie ugotowanego mięsa czy zanieczyszczonego wtórnie produktu mięsnego jest zdolność szybkiego namnażania się tego zarazka w czasie przechowywania chłodniczego, bez wywoływania uchwytanych sensorycznie zmian organoleptycznych.

Wnioski

1. Mięso zwierząt rzeźnych (wieprzowina i wołowina) oraz drobiu jest w różnym stopniu zanieczyszczone zjadliwymi szczepami *L. monocytogenes*.

2. Zdecydowana większość patogennych szczepów *L. monocytogenes* występujących w mięsie zwierząt rzeźnych i drobiu należy do serotypu 1—3 tego zarazka, a tylko nieliczne do serotypu 4.

3. Pewien odsetek szczepów serotypu 4 *L. monocytogenes* wyosobnionych z mięsa i drobiu posiada nietypowe dla tego gatunku cechy biologiczne i biochemiczne, a mianowicie: brak chorobotwórczości dla myszek, niewytwarzanie beta-hemolizy na agarze z krwią oraz brak reakcji dodatniej w próbie CAMP.

Piśmiennictwo

- Borowski J., Furowicz J., Kędzia A., Tomaszewski R., Zaremba M.: Listerioza. PZWL, 1974.
- Breuer J., Prändl O.: Arch. Lebensmittelhyg. 39, 25, 1988.
- Bromme C. V., Ciesielski C. A., Linnan M. J., Hightower A. W.: J. Fd Protect. 49, 849, 1986.
- Fleming D. W., Cochi S. L., MacDonald K. L., Brondum J., Hayes P. S., Plikaytis B. D., Holmes M. B., Audurier A., Broome C. V., Reigold A. L.: New Engl. J. Med. 312, 404, 1985.
- Gellin B., Hayes P. S., Pine L., Swaminathan B., Weaver R. E.: Laboratory manual. Wyd. G. L. Jones, Center for Disease Control, Atlanta, 1989.
- Gellin B. A., Hightower A. W., Broome C. V.: Proc. 27 th Intersci. Conf. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, New York, 1987, s. 115.
- Gilbert R. J., Hall S. M., Taylor A. G.: PHLS Microbiol. Digest 6, 33, 1989.
- Gitter M.: PHLS Microbiol. Digest 6, 38, 1989.
- Graniccka O., Gabrys A., Winogradzka-Szaflik H., Chełmicka A., Kosińska B.: Przeg. Epid. 43, 223, 1989.
- Ho J. L., Strands K. N., Friedland G., Eckind P., Fraser D. W.: Arch. Intern. Med. 146, 520, 1986.
- Janes S. M., Fannin S. L., Agee B. A., Hall B., Parkr E., Vogt J., Run G., Williams J., Lieb L., Salminen C., Pander-gast T., Werner S. B., Chin J.: Calif. Morbid. Mortal. Week. Rep. 34, 357, 1985.
- Karches H., Teufel P.: Fleischwirtschaft 68, 1388, 1988.
- Kwantes W., Isaac M.: Listeria in West Glamorgan. red. M. Woodbine. Problems of listeriosis. Proc. 6th Int. Symp., Leicester, 1975, s. 112—114.
- Kwiątek K., Rola J., Różańska H.: Medycyna Wet. 45, 200, 1989.
- Lennette E. H., Balows A., Hausler W. J., Shadomy H. J.: Manual of Clinical Microbiology. Washington, 1985.
- McClain, Lee W. H.: J. Ass. Off. Anal. Chem. 71, 660, 1988.
- Nicolas J. A.: Sci. Aliments 5, 175, 1985.
- Pini P. N., Gilbert R. J.: Int. J. Fd Microbiol. 6, 317, 1988.
- Polska Norma PN-83/A-82054 Mięso i przetwory mięsne. Badania bakteriologiczne.
- Prost E.: Higiena mięsa. PWRiL, Warszawa, 1985.
- Schlech W. F., Lavigne P. N., Bortolussi R. A., Allen A. C., Haldane E. V., Worth A. J., Hightower A. W., Johnson S. E., King S. H., Nicholls E. S., Broome C. V.: New. Engl. J. Med. 308, 203, 1983.
- Skovgaard N., Morgen C. A.: Int. J. Fd Microbiol. 6, 229, 1988.
- Wojtoń B., Kwiatek K.: Wykrywanie Listeria monocytogenes w mięsie zwierząt rzeźnych i drobiu. Instrukcja badania. IWet. Puławy 1987.

Adres autora: dr Krzysztof Kwiatek, ul. Koliątaja 3/15, 24-100 Puławy

THREFFALL E. J., BROWN D. J., ROWE B., WARD L. R.: Występowanie *S. typhimurium* DT 204 C u drobiu w Anglii i Walii. (Occurrence of *S. typhimurium* DT 204C in poultry in England and Wales). Vet. Rec. 127, 234, 1990 (9)

Salmonella typhimurium dominuje jako przyczyna salmoneloz bydła w Anglii i Walii od 1977 r. Od 1983 r. przeważa tu fagowy DT 204C. Wszvstkie izolaty tego typu fagowego sa odporne co najmniej na cztery preparaty przeciwbakteryjne. W 1989 r. wyosobniono 12 izolatów typu DT 204C od kurcząt i indyków w fermach usytuowanych na terenie Anglii. Spośród 9 izolatów pochodzących od kurcząt 2 były odporne na ampicylinę, chloramfenikol, gentamycynę, apramycynę, neomycynę, kanamycynę, streptomycynę, sulfonamid, tetracyklinę i TMP.

G.

CARROL P. J., WOODWARD M. J., WRAY C.: Występowanie LT i STIA toksyn w odczynie z użyciem lateksu i w testach EIA. (Detection of LT and STIA toxins by latex and EIA tests). Vet. Rec. 127, 335—336, 1990 (13)

Enterotoksynogenne szczepy (ETEC) Escherichia coli odgrywają ważną rolę w etiologii biegunek zakaźnych człowieka i zwierząt. W patogenezie choroby istotne znaczenie posiada adhezja bakterii do nabłonka jelit oraz produkcja enterotoksyn, która u wrażliwych gospodarzy powoduje utratę płynów i biegunkę. Rodzaj pili odpowiedzialnych za adhezję jest swoisty dla gospodarza. Szczepy ETEC pochodzące od zwierząt produkują ciepłostalą toksynę (STIA i STII) oraz ciepłolabilną toksynę (LT) wykrywalne metodami biologicznymi. Do wykrywania STIA i STII w przesączach hodowli oraz w supernatantach hodowli jest stosowany odczyn EIA a do wykrywania LT odwrócona aglutynacja bierna z użyciem lateksu. Wykazano występowanie wyraźnej korelacji między wynikami uzyskanymi w testach biologicznych a wynikami hybrydyzacji DNA. Tylko w dwóch przypadkach przy uzyskaniu wyniku ujemnego w odczynie EIA uzyskano wynik pozytywny w metodzie hybrydyzacji DNA.

G.