

Výskyt baktérií *Escherichia coli* v mäse voľne žijúcich bažantov

Appearance of bacteria *Escherichia coli* in meat of wild pheasants

Pipová, M., Laciaková, A., Jevinová, P., Nagy, J.

Univerzita veterinárskeho lekárstva, Košice

Abstract

In this study quantitative microbiological examination of the breast and thigh muscles of 99 farm pheasants was performed. The total bacterial count, the count of *Enterobacteriaceae* and *Escherichia coli* and the presence of enterohaemorrhagic serotype O157 of *E. coli* were determined. A continual increase in bacterial counts during a cold storage of pheasants for fifteen days has been observed. The most significant increase in the total plate count was noticed in the third group (birds shot to the abdomen) being stored at a temperature of +4 °C, where the total bacterial count in the end of experiment exceeded a value of 10^6 CFU.g⁻¹ and the count of *Enterobacteriaceae* reached a value of $6 \cdot 10^6$ CFU.g⁻¹. As follows from the results, the quality of pheasant meat depends upon both the place of shooting and the storage temperature. If the shot hits the body cavity, storage for 15 days at +4 °C can lead to a significant multiplication of micro-organisms penetrating to the meat from the digestive tract. Therefore, the meat can become less valuable even when kept under regular conditions.

Úvod

Bažant poľovný (*Phasianus colchicus*) patrí podľa platnej potravinovej legislatívy SR do skupiny malej voľne žijúcej zveri, ktorá sa bežne chová aj na farmách. Malá pernatá zver sa usmrcuje brokovnicou a uvádza do obehu neoškľbaná a nevypitvaná, preto je z hľadiska jej údržnosti extrémne dôležité dodržiavanie stanovených teplôt skladovania. Každá strelná rana totiž narušuje prirodzenú celistvosť kože a jej ochrannú funkciu a predstavuje zvýšené hygienické riziko, ktoré sa ešte znásobuje pri početných zásahoch do brušnej dutiny sprevádzaných perforáciou zažívacieho traktu. Po usmrtení a zdravotnej prehliadke sa musí telo bažantov čo najrýchlejšie schladiť a možno ho uchovávať najviac po dobu 15 dní odo dňa zabitia, a to pri teplote neprevyšujúcej + 4°C. Cieľom práce bolo sledovať zmeny vybraných mikrobiologických parametrov mäsa bažantov počas ich 15-dňového skladovania v chladiarni.

Materiál a metodika

Vo februári 2005 bolo na Oddelení potravinárskej mikrobiológie Ústavu hygieny a technológie potravín UVL vyšetrených 99 vzoriek mäsa bažantov usmrtených povoleným spôsobom v Účelovom zariadení pre chov zveri a rýb v Rozhanovciach. Na základe výsledkov röntgenologického vyšetrenia boli bažanty zatriedené do troch skupín. Vstupné mikrobiologické vyšetrenie sa vykonalo na skupine deviatich bažantov, ktoré boli usmrtené vykvrvením. Týmto spôsobom boli usmrtené všetky bažanty zaradené do prvej skupiny. Do druhej skupiny sa zaradili bažanty bez nálezu brokov

v brušnej dutine a do tretej skupiny bažanty s priestrelom brušnej dutiny. V každej skupine sa bažanty rozdelili na dve podskupiny – jedna sa skladovala pri teplote 0 °C, druhá pri teplote + 4 °C, a to po dobu dvoch týždňov.

Mikrobiologické vyšetrenie sa u každej podskupiny vykonávalo na štvrtý, ôsmy a pätnásty deň. Vo vzorkách stehennej svaloviny sa kvantitatívnym mikrobiologickým vyšetrením stanovoval celkový počet mikroorganizmov, počet baktérií z čeľade *Enterobacteriaceae*, počet baktérií *Escherichia coli* a prítomnosť enterohemoragického sérotypu *E.coli* O157. Úroveň mikrobiálnej kontaminácie prsnej svaloviny sa určovala na základe celkového počtu mikroorganizmov.

Odber vzoriek a príprava na mikrobiologické skúšanie sa vykonali v súlade s požiadavkami platnej potravinovej legislatívy (STN ISO 3100-1 a STN ISO 3100-2). Zo skúšobných vzoriek sa pripravila základná suspenzia a ďalšie desaťnásobné riedenia tak, aby bolo možné stanoviť predpokladaný počet mikroorganizmov v 1 grame vyšetrovanej vzorky (STN ISO 6887).

Stanovenie celkového počtu mikroorganizmov

Celkový počet mikroorganizmov (baktérií, kvasiniek a plesní rastúcich za aeróbnych podmienok) sa stanovoval zalievaním 1 ml troch po sebe idúcich riedení vzorky arbitrážnym živným médiom (agar s glukózou, tryptónom a kvasnicovým extraktom) ochladeným na teplotu 45 °C v množstve približne 15 ml. Po dôkladnom premiešaní inokula so živným médiom a jeho úplnom stuhnutí sa pripravené Petriho misky inkubovali pri teplote 30 °C po dobu 72 hodín. Po určenej dobe inkubácie sa spočítali kolónie v každej Petriho miske a na výpočet sa použili misky, na ktorých porástlo viac ako 15 a menej ako 300 kolónií.

Stanovenie počtu baktérií z čeľade Enterobacteriaceae

V zmysle požiadaviek STN ISO 7402 sa počet baktérií z čeľade *Enterobacteriaceae* stanovoval zalievaním 1 ml troch po sebe idúcich riedení vzorky arbitrážneho média s kryštálovou fialovou, neutrálnou červenou, žlčou a glukózou. Po úplnom stuhnutí agaru sa misky inkubovali 24 hodín pri teplote 37 °C. Na výpočet sa vybrali tie platne, na ktorých porástlo menej ako 150 typických (ružových až červených) kolónií. U piatich náhodne vybratých suspektných kolónií z každej misky sa vykonalo biochemické potvrdenie.

Stanovenie počtu β-d-glukuronidázopozitívnych E. coli

Počet baktérií *E. coli* sa stanovoval v súlade s požiadavkami Metodického pokynu ŠVS SR č. 4344/1999 na chromogénnych selektívno-diagnostických médiách. Vhodné desaťnásobné riedenia vyšetrovaných vzoriek sa napipetovali v množstve 1 ml do Petriho misiek a zaliali sa TBX médiom. Po stuhnutí média sa naočkované platne inkubovali pri teplote 44 °C po dobu 18 – 24 hodín. Na výpočet sa použili tie Petriho misky, na ktorých porástlo viac ako 15 a menej ako 150 charakteristických β-d-glukuronidázopozitívnych (modrých) kolónií.

Izolácia enterohemoragických E.coli O 157

Prítomnosť enterohemoragických *E. coli* O157 sa zisťovala v zmysle požiadaviek Metodického pokynu ŠVS SR č. 4345/1999 pre dôkaz *Escherichia coli* O 157 a ISO 16 654 (2001). Po selektívnom pomnožení 25 g vyšetrovanej vzorky stehennej svaloviny v 225 ml modifikovaného Tryptón-sójového média s novobiocínom pri teplote 37 °C po dobu 18 hodín sa vykonala imunomagnetická koncentrácia a separácia

Rizikové faktory potravinového reťazca V. – 2005, Nitra

s pomocou imunoparamagnetických častíc zahriatych na izbovú teplotu. Častice s adherovanými baktériami sa skoncentrovali okolo magnetu, po 3-naj násobnom premytí sa resuspendovali v tlmivom roztoku a ézou vyočkovali na pevné selektívno-diagnostické médiá (Mac Conkey agar so sorbitolom, cefiximom a teluričitanom sodným a TBX médium). Suspektné sorbitol- a glukuronidázo-negatívne kolónie sa po 24-hodinovej inkubácii pri teplote 37°C podrobili biochemickej a sérologickej konfirmácii.

Výsledky

Vstupným mikrobiologickým vyšetrením stehennej svaloviny bažantov usmrtených vykrcením bol stanovený priemerný celkový počet mikroorganizmov (CPM) na úrovni $9,6 \cdot 10^2 \cdot \text{g}^{-1}$, pričom vo vzorkách boli ojedinele prítomné baktérie z čeľade *Enterobacteriaceae* (avšak nie *E. coli*).

Tabuľka 1.

Priemerné hodnoty počtov sledovaných skupín a rodov mikroorganizmov vo vzorkách mäsa bažantov z farmového chovu

Dátum	Druh vzorky	Teplota skladovania	CPM _P	CPM _S	EB	<i>E. coli</i>
vstup	vstup	0 °C	$5,8 \cdot 10^2$	$9,6 \cdot 10^2$	$3,3 \cdot 10^0$	0
4.deň	I. skup.	0 °C	$5,1 \cdot 10^2$	$1,3 \cdot 10^3$	$1,2 \cdot 10^1$	0
8.deň			$2,4 \cdot 10^3$	$6,1 \cdot 10^3$	$1,9 \cdot 10^3$	0
15.deň			$8,7 \cdot 10^3$	$1,8 \cdot 10^4$	$2,2 \cdot 10^3$	$1,2 \cdot 10^2$
4.deň	I. skup.	4 °C	$3,2 \cdot 10^2$	$1,3 \cdot 10^3$	$3,0 \cdot 10^1$	0
8.deň			$2,5 \cdot 10^3$	$8,7 \cdot 10^3$	$2,4 \cdot 10^3$	0
15.deň			$8,7 \cdot 10^3$	$5,1 \cdot 10^4$	$2,7 \cdot 10^4$	$2,2 \cdot 10^2$
4.deň	II. skup.	0 °C	$2,3 \cdot 10^2$	$5,1 \cdot 10^2$	$6,3 \cdot 10^1$	0
8.deň			$8,1 \cdot 10^2$	$7,9 \cdot 10^3$	$1,7 \cdot 10^3$	$2,5 \cdot 10^1$
15.deň			$3,3 \cdot 10^4$	$4,0 \cdot 10^4$	$2,4 \cdot 10^3$	$1,8 \cdot 10^2$
4.deň	II. skup.	4 °C	$3,2 \cdot 10^2$	$9,2 \cdot 10^2$	$7,0 \cdot 10^1$	0
8.deň			$8,9 \cdot 10^3$	$4,1 \cdot 10^4$	$4,3 \cdot 10^3$	$7,4 \cdot 10^2$
15.deň			$1,0 \cdot 10^4$	$6,9 \cdot 10^4$	$1,2 \cdot 10^4$	$4,3 \cdot 10^3$
4.deň	III. skup.	0 °C	$4,8 \cdot 10^2$	$1,1 \cdot 10^3$	$5,0 \cdot 10^1$	0
8.deň			$4,6 \cdot 10^3$	$9,1 \cdot 10^4$	$5,7 \cdot 10^3$	$1,8 \cdot 10^2$
15.deň			$6,9 \cdot 10^3$	$1,1 \cdot 10^5$	$3,0 \cdot 10^4$	$3,2 \cdot 10^3$
4.deň	III. skup.	4 °C	$5,5 \cdot 10^2$	$1,8 \cdot 10^3$	$2,3 \cdot 10^2$	0
8.deň			$1,8 \cdot 10^3$	$1,5 \cdot 10^5$	$3,7 \cdot 10^4$	$1,1 \cdot 10^3$
15.deň			$2,2 \cdot 10^4$	$1,3 \cdot 10^6$	$5,8 \cdot 10^5$	$1,5 \cdot 10^4$

KTJ - kolónie tvoriace jednotky

CPM_P - celkový počet mikroorganizmov v prsnej svalovine

CPM_S - celkový počet mikroorganizmov v stehennej svalovine

EB - *Enterobacteriaceae*

U bažantov I. skupiny skladovaných pri teplote 0 °C došlo po ôsmich dňoch k zvýšeniu CPM na hodnotu $6,1 \cdot 10^3 \cdot \text{g}^{-1}$ a po 15 dňoch na $1,8 \cdot 10^4 \cdot \text{g}^{-1}$. V rovnakej skupine skladovanej pri teplote +4 °C bol zaznamenaný po ôsmich dňoch vzostup na hodnotu

8,7.10³.g⁻¹ a po 15 dňoch na 5,1.10⁴.g⁻¹. Bažanty zaradené do II. skupiny a skladované pri teplote 0 °C vykazovali po 8 dňoch CPM na úrovni 7,9.10³.g⁻¹ a po 15 dňoch na úrovni 4,0.10⁴.g⁻¹. Pri skladovacej teplote +4 °C bol po ôsmich dňoch zaznamenaný nárast na hodnotu 4,0.10⁴.g⁻¹ a po 15 dňoch na hodnotu 6,9.10⁴.g⁻¹. U III. skupiny (bažanty so zásahom do brušnej dutiny) skladovanej pri teplote 0 °C dosiahol CPM na 15. deň priemernú hodnotu 1,1.10⁵.g⁻¹ a pri teplote +4 °C dokonca 1,3.10⁶.g⁻¹. U vzoriek prsnej svaloviny bol zaznamenaný podstatne nižší stupeň celkovej mikrobiálnej kontaminácie.

Počet baktérií z čeľade *Enterobacteriaceae* sa po 15. dňoch skladovania bažantov pri teplote 0 °C zvýšil u I. skupiny na hodnotu 2,2.10³.g⁻¹, u II. skupiny na hodnotu 2,4.10³.g⁻¹ a u III. skupiny až na hodnotu 3,0. 10⁴.g⁻¹. V rovnakých skupinách avšak skladovaných pri teplote 4 °C boli počty črevných baktérií vyššie v priemere o jeden rád. Prítomnosť baktérií *E. coli* bola vo vzorkách I. skupiny pri oboch skladovacích teplotách dokázaná až po pätnástich dňoch, vo vzorkách II. a III. skupiny po ôsmich dňoch skladovania. Prítomnosť enterohemoragického sérotypu *E. coli* O157 nebola zistená ani u jednej z vyšetovaných vzoriek.

Diskusia

Údaje týkajúce sa mikrobiálnej kontaminácie mäsa bažantov sú v domácej aj zahraničnej odbornej literatúre veľmi zriedkavé. Autori jedného z ojedinelých publikovaných údajov (PETKOV a i., 1984) uvádzajú, že úroveň mikrobiálnej kontaminácie bažantieho mäsa závisí od času, ktorý uplynie medzi ich usmrtením a vypitvaním. Ak guľka vnikne na nezvyčajné miesto v tele, alebo ak sa usmrtenie vykoná viacerými ranami, dochádza k znehodnoteniu mäsa v okolí rany a vzniknuté krvné zrazeniny vytvárajú priaznivé prostredie pre rast a rozmnožovanie mikroorganizmov, čím dochádza k podstatnému zníženiu hygienickej hodnoty a údržnosti mäsa (IZÁK a i., 1987). Mäso lovej zveri podobne ako mäso jatočných zvierat podlieha zložitému postmortálnemu biochemickému procesu, ktorý zahŕňa posmrtné stuhnutie, zrenie mäsa a hlbokú autolýzu. Fáza hlbokéj autolýzy je doprevádzaná mikrobiálnou proteolýzou, mäso sa zreteľne kazí a ako potravina je neprijateľné (STEINHAUSER a i., 1995).

Keďže bažanty v podstate patria medzi hrabavú hydinu, možno konštatovať, že spektrum mikroorganizmov u týchto voľne žijúcich vtákov korešponduje s mikrobiálnou asociáciou jatočnej hydiny, ktorá zahŕňa širokú paletu mikroorganizmov vrátane psychrotrofných a patogénnych druhov. Z hľadiska potravinovej bezpečnosti je najdôležitejšia prítomnosť pôvodcov alimentárnych ochorení, najmä salmonel, *Listeria monocytogenes* a zástupcov rodu *Campylobacter* (GRIEGER a VAŘEJKA, 1991; CABADAJ a i., 1995). V poslednom období k nim pribudli aj enterohemoragické kmene *E. coli* O157 (DOYLE a SCHOENI, 1987; MEAD, 2004). Keďže sa jedná o hrabavú hydinu, do úvahy prichádza tiež prítomnosť aeróbných a anaeróbných sporulátov z pôdy. Z pohľadu údržnosti je zasa rozhodujúca prítomnosť psychrotrofných zástupcov z rodu *Pseudomonas*, ktoré sa vyznačujú silnou proteolytickou a lipolytickou aktivitou a môžu byť príčinou mikrobiálneho znehodnotenia mäsa aj počas chladiarenského skladovania (PIPOVÁ a i., 2003).

Z výsledkov práce vyplýva, že údržnosť mäsa bažantov v rozhodujúcej miere závisí od miesta zásahu a od výšky skladovanej teploty. Aj pri dodržaní legislatívne určených podmienok môže dôjsť v prípade zásahu do brušnej dutiny počas skladovania pri

teplote +4°C po dvoch týždňoch k pomnoženiu kontaminujúcej mikroflóry zo zažívacieho traktu, a teda k znehodnoteniu mäsa.

Literatúra

CABADAJ, R., PIPOVÁ, M., TUREK, P.: Poultry, eggs, and their products as sources of human salmonellosis in Slovakia. In: Proc. of World Veterinary Congress, Japan, 1995: 168.

DOYLE, M.P., SCHOENI, J.L. 1984. Survival and growth characteristics of *E. coli* associated with haemorrhagic colitis. Appl. Environ. Microbiol., 48: 855-856.

GRIEGER, C., VAŘEJKA, F.: Mikrobiológia požívatin živočíšneho pôvodu. Príroda, Bratislava, 1991: 288.

ISO 16654 (2001): Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of *Escherichia coli* O 157.

IZÁK, Š. a i.: Hygiena potravín III. Hydina, vajcia, divina, ryby. Príroda, Bratislava, 1978: 238-241.

MEAD, G.C.: Microbial quality of poultry meat: a review. Rev. Bras. Cienc. Avic., 6, 2004: 135-142.

Metodický pokyn ŠVS SR č. 4344/1999 na stanovenie počtu β -d-glukuronidázopozitívnych *Escherichia coli* na chromogénnych médiách – technika počítania kolónií vykultivovaných pri 44 °C.

Metodický pokyn ŠVS SR č. 4345/1999 pre dôkaz *Escherichia coli* O 157.

PETKOV, R., GOGOV, I., LOZENSKI, V.: Microbial studies of pheasant meat. Vet. Med. Nauki, 21, 1984: 100-105.

PIPOVÁ, M., LACIAKOVÁ, A., KOŽÁROVÁ, I., JEVINOVÁ, P.: Nežiadúce mikroorganizmy v mäse a mäsových výrobkoch. Slov. vet. čas., 28, 2003, 4: 32-34.

STEINHAUSER, L., a i.: Hygiena a technologie masa. Last, Brno: 1995: 396.

STN ISO 3100-1 Mäso a mäsové výrobky. Odber vzoriek a príprava analytických vzoriek. Časť 1: Odber vzoriek na mikrobiologické skúšanie.

STN ISO 3100-2. Mäso a mäsové výrobky. Odber vzoriek a príprava analytických vzoriek. Časť 2: Príprava analytických vzoriek na mikrobiologické skúšanie.

STN ISO 6887 Mikrobiológia. Všeobecné pokyny na prípravu riedení pri mikrobiologickom skúšaní. SÚTN Bratislava, 1997.

STN ISO 4833 Mikrobiológia. Všeobecné pokyny na stanovenie celkového počtu mikroorganizmov. Metóda počítania kolónií kultivovaných pri 30 °C. SÚTN Bratislava, 1997.

STN ISO 7402 Mikrobiológia. Všeobecné pokyny na stanovenie počtu baktérií čeľade *Enterobacteriaceae* bez resuscitácie. Metóda najpravdepodobnejšieho počtu a metóda počítania kolónií. SÚTN Bratislava, 1998.

Práca bola podporená finančnými prostriedkami štátnej úlohy výskumu a vývoja 2003 SP 27/028 0E 02/028 0E 02.