

NITRITES AND NITROSAMINES IN PROCESSED MEATS

THE XXth EUROPEAN MEETING OF MEAT RESEARCH INSTITUTES
THE ALL-UNION RESEARCH INSTITUTE OF MEAT INDUSTRY USSR
THE SCS MEDIUM FOR CL.PERFRINGENS DETECTION
IN MEAT AND MEAT PRODUCTS
E.F.TSYSS, N.P.STRATILATOVA

SUMMARY

Experiments on choosing a culture medium to detect and to quantitatively determine Cl.perfringens in meat and meat products showed that the sulfite-polymyxin-neomycin medium is most effective and suitable for meat packing plants. However, it favors the growth of Cl.botulinum, Cl.bifermentans and Cl.sporogenes, this complicating Cl.perfringens detection in meats, especially in case when these microorganisms are present in great amounts.

To improve the selectivity of the sulfitepolymyxin-neomycin medium, the antibiotic D-cycloserine was used instead of polymyxin and neomycin.

The selectivity of the medium containing this new antibiotic was tested on 22 strains of different facultative anaerobes most frequently occurring in meats in combination with Cl.perfringens.

D-cycloserine optimum concentration in the medium was found to be 400 mcg/l ml.

A sulfite-cycloserine (SCS) medium is more selective as compared to a sulfite-polymyxin-neomycin one as it accelerates and facilitates Cl.perfringens identification.

RESUME

Les expériences concernant le choix du milieu de culture pour le dénombrement et le contrôle quantitatif des Cl.perfringens de la viande et des produits carnés ont montré que le milieu de culture le plus efficace, admis dans des entreprises de l'industrie de la viande, est celui de sulfite - polymyxine - néomycine. Il permet pourtant la prolifération des Cl. botulinum, Cl. bifermentans, Cl. sporogenes ce qui complique le dénombrement de Cl. perfringens des produits carnés surtout dans le cas où les microorganismes en question sont en grand nombre.

Pour augmenter la faculté sélectrice du milieu sulfite- polymyxine -néomycine on a utilisé l'antibiotique D- cyclosérine au lieu de la polymyxine et de la néomycine.

La faculté sélectrice du milieu avec le nouveau antibiotique est éprouvée sur 22 souches de différentes anaérobies facultatives qu'on trouve le plus souvent ensemble avec les Cl. perfringens dans les produits carnés.

Il est établi que la concentration optimale de D- cyclosérine dans le milieu est de 400 mcg pour 1 ml.

Le milieu sulfite- cyclosérine qui accélère et facilite l'identification des Cl. perfringens est plus sélective que celui de sulfite- polymyxine- néomycine.

DER XX. EUROPÄISCHE KONGRESS DER FLEISCHFORSCHUNGSINSTITUTE
ALLUNIONS-FORSCHUNGSINSTITUT DER FLEISCHWIRTSCHAFT DER UdSSR
SZS-NAHRBODEN ZUM NACHWEIS VON CL.PERFRINGENS IN
FLEISCH UND FLEISCHWAREN
J.F.ZYSS, N.P.STRATILATOVA

ZUSAMMENFASSUNG

Die Versuche zur Auswahl eines Nährbodens für Nachweis und quantitative Bewertung von Cl.perfringens in Fleisch und Fleischwaren ergaben eine hohe Effektivität und Annehmbarkeit des Sulfit-Polymyxin-Neomyzin-Nährbodens für Betriebe der Fleischindustrie. Auf diesem Nährboden können aber auch Cl.botulinum, Cl.bifermentans, Cl.sporogenes wachsen, was den Nachweis von Cl.perfringens besonders in dem Falle erschwert, wenn die obengenannten Mikroorganismen in großen Mengen vorkommen.

Zur Erhöhung der Selektivität des Sulfit-Polymyxin-Neomyzin-Nährbodens wurde das Antibiotikum D-Zykloserin anstatt Polymyxin und Neomyzin angewandt.

Die Selektivität des Nährbodens mit diesem neuen Antibiotikum wurde auf 22 Stämmen von unterschiedlichen fakultativen Anaerobien geprüft, die zusammen mit Cl.perfringens in Fleischwaren besonders oft vorkommen.

Es wurde festgestellt, daß die Konzentration des D-Zykloserins im Nährboden 400 µg/ml optimal ist.

Der Sulfit-Zykloserin-Nährboden (SZS) ist selektiver, als der Sulfit-Polymyxin-Neomyzin-Nährboden, weil es damit die Identifizierung von Cl.perfringens beschleunigt und erleichtert wird.

XX ЕВРОПЕЙСКИЙ КОНГРЕСС РАБОТНИКОВ НИИ МЯСНОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ
ВСЕСОЮЗНЫЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
МЯСНОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ СССР
СРЕДА СЦС ДЛЯ ОБНАРУЖЕНИЯ CL.PERFRINGENS В МЯСЕ
И МЯСНЫХ ПРОДУКТАХ
Е.Ф.ЦЫСС, Н.П.СТРАТИЛАТОВА

АННОТАЦИЯ

Опыты по подбору питательной среды для обнаружения и количественного учета Cl.perfringens в мясе и мясопродуктах показали, что более эффективной, приемлемой для предприятий мясной промышленности, является сульфит-полимиксин-неомициновая среда. Однако на ней могут расти Cl.botulinum, Cl.bifermentans, Cl.sporogenes, что затрудняет обнаружение Cl.perfringens в мясопродуктах, особенно в том случае, когда указанные микроорганизмы присутствуют в большом количестве.

С целью повышения селективности сульфит-полимиксин-неомициновой среды, вместо полимиксина и неомицина использовали антибиотик Д-цикloserин.

Селективность среды с новым антибиотиком определена на 22 штаммах различных факультативных анаэробов, наиболее часто присутствующих в мясопродуктах в ассоциации с Cl.perfringens.

Установлено, что оптимальной концентрацией Д-цикloserина в среде является 400 мкг на 1 мл.

Сульфит-цикloserиновая среда (СЦС) более селективна по сравнению с сульфит-полимиксин-неомициновой средой, так как ускоряет и облегчает идентификацию Cl.perfringens.

NITRITES AND NITROSAMINES IN PROCESSED MEATS

Унифицирование методов бактериологического контроля мясopодyктов на обнаружение в них возбудителей пищевых токсикoинфекций, особенно с учетом расширяющегося международного торгового обмена, имеет важное значение. Методики выделения *Cl.perfringens*, предложенные в последнее десятилетие, весьма далеки от совершенства. Так, применяемые в США и Европейских странах питательные среды, предложенные Angelotti et al. /1/, Marshall et al. /2/, Shahidi S.A. and A.R.Ferguson /3/, недостаточно селективны для *Cl.perfringens*. Как отмечает S.M.Harmon /4/, на них хорошо растут энтерококки, *Bac.cereus* и *Proteus*. Эти среды не нашли широкого применения и в нашей стране. Советскими исследователями Сидоренко Г.И. и Пивоваровым Ю.П. /5/ предложена сульфит-полимиксин-неомициновая среда, которая, по нашим данным, обеспечивает интенсивный рост *Cl.perfringens* и более селективна. Однако и на этой среде не исключается трудность дифференциации *Cl.perfringens* среди других клостридий.

В связи с указанным, дальнейшие изыскания в области повышения селективности питательных сред для выделения *Cl.perfringens* являются актуальными, в частности в направлении изыскания антибиотиков с более специфическим спектром действия. В последние годы опубликованы сообщения Fuzi and Csukas /6/, Harmon et al. /4/ об отсутствии антибиотического воздействия на *Cl.perfringens* циклосерина, в то же время оказывающего губительное воздействие на другие анаэробные и аэробные микроорганизмы.

Целью нашего исследования являлось изучение возможности повышения селективности сульфит-полимиксин-неомициновой среды (СПН) путем замены в ней антибиотиков Д-циклосерином.

На 22 штаммах тест-культур (*Cl.perfringens* типа А; *Cl.perfringens* типа С; *Cl.botulinum* типов А, В, Е, F; *Cl.bifermentans*; *Cl.sporogenes*; *Bacillus cereus*, *Salmonella typhimurium*; *S.dublin*; *Escherichia coli*; *Proteus vulgaris*; *Streptococcus aureus*) испытывали эффективность различных концентраций Д-циклосерина в питательной среде.

Суспензии каждого штамма указанных микроорганизмов инокулировали параллельно в одинаковых количествах в среды СПН и СЦС, инкубировали посевы по всех случаях при 46°C, а учет результатов вели через 8-12 час. инкубации. Среду с оптимальным количеством Д-цик-

лосерина (сульфит-циклосериновая среда - СЦС) использовали для исследований на *Cl.perfringens* различных образцов колбасных изделий.

Количественное определение *Cl.perfringens* в мясopодyктах проводили по следующей методике: 10 г стерильно взятой навески гомогенизировали в стерильных условиях, после чего готовили первичные десятичные разведения продукта на физиологическом растворе. В пробирку с 4,5 мл исследуемой среды засеивали 0,5 мл приготовленной суспензии продукта, затем производили последовательные разведения в аналогичных объемах среды. В результате получали последовательно возрастающие десятичные разведения суспензии. Инкубацию посевов проводили при 46°C.

Основой сульфит-полимиксин-неомициновой среды служила казеино-грибная среда (по прописи института им.Н.Ф.Гамалеи). На 1 л казеино-грибной среды непосредственно перед разливом добавляли 5 мл 10%-ного раствора сернистого (закисного) железа, 10 мл 10%-ного раствора сульфита натрия (кристаллического), 200 ЕД/мл полимиксина и 50 ЕД/мл неомицина.

Входящие в состав среды компоненты готовили отдельно на дистиллированной воде.

Для приготовления сульфит-циклосериновой среды использовали все указанные компоненты кроме антибиотиков. На литр казеино-грибной основы добавляли 5 мл 10%-ного раствора сернистого железа, 10 мл 10%-ного раствора сульфита натрия и различные количества 1%-ного раствора Д-циклосерина с тем, чтобы концентрация Д-циклосерина в среде была от 200 до 600 мкг на миллилитр.

В таблице приведено количество посевов, давших рост (в пробах к общему количеству посевов) при инокуляции таких минимальных доз тест-культур, которые дали рост на СПН в 100% случаев.

Т а б л и ц а

№ п/п	Виды микроорганизмов	Концентрация Д-циклосерина в СЦС (микрограмм/мл)					СПН
		200	300	400	500	600	
1	2	3	4	5	6	7	8
I. <i>Cl.perfringens</i> типа А, выделенные из мясopодyктов		100	100	100	84	54	100

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Angelotti R., Hall H., Foter E. "J. Appl. Microbiol.", 1962, 10, 193.
2. Marshall R., Steenberg J., Mc. Clung. "J. Appl. Microbiol.", 1965, 13, 4, 559.
3. Shahidi S., Ferguson A. "J. Appl. Microbiol.", 1971, 21, 500.
4. Harmon S., Kautter D., Peeler J. "J. Appl. Microbiol.", 1971, 22, 4.
5. Сидоренко Г.И., Пивоваров Ю.П. "Тигиенский санитария", 7, 1968, 58.
6. Fuzi M., Csukas Z. Acta Microbiol. Acad. Sci. Hung. 1968, 273-278.

1	2	3	4	5	6	7	8
2. <i>Cl.perfringens</i> типа А, С, выделенные из объектов внешней среды		100	100	74	63	-	100
3. <i>Cl.botulinum</i> типов А, В, Е, F		100	77	44	-	-	100
4. <i>Cl.sporogenes</i>		100	100	48	-	-	100
5. <i>Cl.bifermentans</i>		100	100	62	-	-	100
В среднем по п.п.3,4,5		100	92	51	-	-	100

Результаты исследований штаммов *Cl.perfringens*, выделенных из мясopодyктов на СПН и СЦС с 400 микрограмм/мл Д-циклосерина, совпадают практически во всех случаях, а при посеве штаммов *Cl.botulinum*, *Cl.sporogenes*, *Cl.bifermentans* - в среднем в 51%.

Определено, что рост указанных штаммов клостридий на среде СЦС также может быть получен, но лишь при значительном увеличении дозы заражения. Так, инокулируемые дозы штаммов *Cl.botulinum* должны быть выше на 3 логарифмических порядка, штаммов *Cl.bifermentans* - на 2,5, *Cl.sporogenes* - на 2 логарифмических порядка по сравнению с инокулированными в СПН.

Многokратное инокулирование в СПН и СЦС одинаковых доз тест-культур штаммов *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *S.typhimurium*, *S.dublin*, *Proteus vulgaris*, *Streptococcus aureus* и инкубация посевов при 46°C ни в одном случае не обнаружили роста тест-микробов и характерных изменений в средах.

Совпадение результатов посевов на средах СПН и СЦС при исследовании образцов различных видов колбасного фарша отмечено в среднем в 91 (при разведении проб 1:10) и в 89% случаев (при разведении проб 1:100 и 1:1000).

Таким образом, результаты исследований показывают, что сульфит-циклосериновая среда (СЦС), состоящая из казеино-грибной основы (1 л), 10%-ного раствора сернистого железа (5 мл), 10%-ного раствора сульфита натрия (10 мл) и 1%-ного раствора Д-циклосерина (40 мл), более приемлема для исследования мясopодyктов на *Cl.perfringens*, чем другие среды, указанные в настоящей работе.