

CZU 637.5:6 + 691: 615.33

MICROFLORA CARCASELOR DE BOVINE, OVINE, PORCINE ȘI SENSIBILITATEA EI FAȚĂ DE UNELE ANTIBIOTICE

Ruslan ANTOCI, Nicolae STARCIUC
Universitatea Agrară de Stat din Moldova

Abstract. The scientific investigations presented in this study aimed to monitor the microbial load of cattle, sheep and pig carcasses during the commercialization period in the specialized department of the central agricultural market of Chisinau mun. The samples were collected and monitored before being placed in the department and also 24 and 48 hours after the placement. Also, the samples were collected both from the surface and the depths of the carcasses. Subsequently, from these samples, inseminations were performed on ordinary, differential and selective nutrient media in order to determine the presence and diversity of bacterial forms. Concomitantly, the morphological study of the colonies of isolated microorganisms was performed, as well as the microscopic examination of the smears prepared from the colonies of microorganisms and the sensitivity of isolated microorganisms to some antibiotics, frequently used for animal treatment, was determined. As a result of the accomplished investigations, it was determined that the colonies of microorganisms developed on all the carcasses, but a higher incidence was recorded in the samples of cattle and sheep carcasses collected 24 and 48 hours after being placed in the specialized selling department. The microscopic examination demonstrated the prevalence of bacterial forms such as *E. coli* and *Staphylococcus*. The antibiogram showed that the microflora isolated from sheep carcasses manifested the highest sensitivity to the antibiotics florfenicol and cefazolin (the inhibition zone was of 12 and 17 mm, respectively), and the lowest sensitivity was established to ampicillin and erythromycin.

Key words: Carcasses; Microorganisms; Nutrient media; Colonies; Antibiogram; Sensitivity; Insemination

Rezumat. Investigațiile științifice reflectate în acest studiu au avut ca scop monitorizarea încărcăturii microbiene la carcasele de bovine, ovine și porcine în perioada de comercializare în halele specializate din cadrul pieței agricole centrale din municipiul Chișinău. Probele au fost prelevate dimineața, până la plasarea în hală și la 24 și la 48 de ore de la momentul plasării în hală pentru comercializare. Eșantioanele au fost prelevate atât de pe suprafața, cât și din profunzimea carcaselor. Ulterior, din eșantioanele prelevate au fost efectuate însămânțări pe medii nutritive obișnuite, selective și diferențiale în scopul stabilirii prezenței și diversității formelor bacteriene. Concomitent, s-a efectuat studiul morfologic al coloniilor de microorganisme izolate, examenul microscopic al froțiurilor pregătite din coloniile microorganismelor și s-a determinat sensibilitatea microorganismelor izolate față de unele antibiotice mai frecvent utilizate în tratamentul animalelor. În rezultatul investigațiilor s-a stabilit că pe toate carcasele s-au dezvoltat colonii de microorganisme, însă o incidență mai înaltă a acestora a fost confirmată la probele prelevate după 24 și 48 de ore de la plasarea în hală pentru comercializare, mai semnificativ acest indice fiind la carcasele de bovine și ovine. Examenul microscopic a demonstrat prevalența formelor bacteriene specifice pentru *E. coli* și stafilococi. Antibiograma a demonstrat, că microflora izolată de la carcasele de ovine manifestă cea mai înaltă sensibilitate față de antibioticele florfenicol și cefazolin, (zona de inhibiție fiind de 12 și, respectiv, de 17 mm), iar cea mai mică sensibilitate a fost stabilită față de eritromicină și ampicilină.

Cuvinte cheie: Carcase; Microorganisme; Medii nutritive; Colonii; Antibiogramă; Sensibilitate; Însămânțări

INTRODUCERE

Carnea este un produs alimentar valoros care, totodată, reprezintă un mediu foarte bun pentru dezvoltarea microorganismelor, având un pH cu valori cuprinse între 6,4 și 6,5 substanțe ce o fac ușor alterabilă. Contaminarea microbială a carcaselor animalelor poate fi de ordin extern și intern. Contaminarea de tip intern este produsă de microorganisme condiționat patogene, care sub acțiunea unor factori imunodepresanți își măresc virulența, provoacă îmbolnăvirea animalului, se localizează în țesutul muscular și organic, iar în cazul consumului de produse pot provoca contaminarea altor animale sau a omului (Arthur, T. M. 2010; Lalande, F. et al. 2011; Serraino, A. 2012).

Acest tip de contaminare se mai poate produce și în momentul sacrificării animalului și, anume, la contactul cuțitului cu plaga jugulară, când pot fi antrenate microorganisme de pe suprafața pielii și părului care sunt transmise prin circulația sanguină în organism. Un alt risc de contaminare microbială al carcaselor poate avea loc dacă după sacrificare nu se realizează rapid răcirea și eviscerarea, ceea ce poate favoriza pătrunderea unor

microorganisme facultativ patogene sau patogene de origine intestinală (*Salmonella*, *Klebsiela*, *Listeria*, *Proteus*, *E. coli*). În funcție de condițiile mediului ambiant și de condițiile igienice în perioada de procesare a carcaselor (jupuire, eviscerare, despicare, toaletare) persistă riscul de contaminare externă care se caracterizează prin multiplicarea celulelor bacteriene din genurile *Pseudomonas*, *Flavobacterium alcaligenes*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Micrococcus* etc., care pot atinge un număr de 10^2 - 10^3 /cm² celule la suprafața carcasi (Ivana, Simona 2011; Papadopoulou, O. 2012). Prin contaminarea externă pe carcase pot ajunge și bacterii de putrefacție care se pot dezvolta pe carne chiar și în condiții de refrigerare. În același timp, de la indivizii bolnavi, pe cale aeriană sau prin contact cu mâinile celor care manipulează carnea, se pot transmite și microorganisme patogene (Vică, M. Laura 2010; Hariss, D. et al. 2012). Din acest considerent, scopul cercetărilor noastre a fost de a stabili prezența și tipul încărcăturii bacteriene la carcasele de bovine, ovine și porcine în perioada de comercializare, în cadrul pieței agricole centrale din municipiul Chișinău și aprecierea sensibilității microflorei izolate față de unele antibiotice mai frecvent utilizate în tratamentul animalelor bolnave.

MATERIAL ȘI METODĂ

Investigațiile au fost efectuate la catedra Epizootologie a facultății de Medicină Veterinară (laboratorul de microbiologie) și în laboratorul de expertiză sanitară veterinară din cadrul pieței agricole centrale din municipiul Chișinău.

Drept obiect al investigațiilor au servit carcasele de bovine, ovine și porcine de la care au fost prelevate probe pentru a stabili prezența și diversitatea de microorganisme pe suprafața carcaselor și în profunzimea acestora până la plasarea în hală pentru comercializare și la intervalele de 24 și 48 de ore. Eșantioanele au fost prelevate în mod aleatoriu de la carcasele livrate în hala nr. 3 a câte 10 probe de la fiecare specie de animale, la perioadele de colectare menționate.

Pentru izolarea microorganismelor au fost efectuate însămânțări pe plăcile Petri și în eprubete, folosind mediile nutritive artificiale: agarul peptonat, bulionul peptonat, mediul Endo, Levin, Saburo și bismut sulit agar, care ulterior au fost plasate în termostat la temperatura de +37°C pentru 48 de ore. Pe parcursul investigațiilor s-a atras atenția la indicii: formarea coloniilor, culoarea, numărul de colonii, forma, intensitatea formării coloniilor pe suprafața plăcii apreciată cu semnul ”+“ de la 1 la 4. Concomitent s-a efectuat antibiograma pentru a stabili sensibilitatea microflorei izolate față de unele antibiotice mai frecvent utilizate în tratamentul animalelor. Pentru antibiogramă au fost folosite rondule îmbibate cu antibiotice: trimetoprim, neomicină, canamicină, gentamicină, cefazolină, florfinocol, ampicilină, eritromicină.

Din coloniile obținute au fost pregătite frotiuri pentru studiul microscopic, colorate conform metodei clasice “Gram”.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

În figurile 1 și 2 sunt prezentate imagini ale procesului de pregătire a probelor și a mediilor pentru efectuarea însămânțărilor de pe suprafața și din profunzimea probelor prelevate de la carcasele de bovine, ovine și porcine.

Însămânțările au fost efectuate cu pipeta pasteur lângă spirtieră, cu plasarea ulterioară a acestora în termostat pentru incubare. Cele mai evidente colonii ale microorganismelor au fost observate pe suprafața plăcilor Petri cu agar peptonat, la 48 de ore după plasarea în termostat. O intensitate mai evidentă (+++) a formării coloniilor a fost stabilită la probele prelevate de pe suprafața carcaselor de ovine și porcine (Fig. 4 și 5) și altele mai puțin evidente (++) - la probele recoltate de pe suprafața carcaselor de bovine (Fig. 3).

Coloniile microorganismelor sunt plasate în grămezi, au forma rotundă sau ovală și culoare surie, caracteristice pentru streptococi.

În cazul însămânțărilor pe mediul Endo, au fost observate colonii de microorganisme în probele recoltate de pe carcasele de bovine, ovine și porcine, toate având intensitatea de creștere diferită. Cea mai intensă creștere a coloniilor de microorganisme s-a stabilit la probele recoltate de pe suprafața carcaselor de ovine (++) , fiind urmată de cele ale coloniilor recoltate de pe suprafața carcaselor de porcine și bovine (+).

Coloniile de microorganisme au dimensiuni variabile de culoare bordo-metalică, specifice pentru tipul de microorganisme *E. coli*.



Figura 1. Pregătirea probelor pentru însămânțări



Figura 2. Aplicarea materialului de cercetat pe plăcile Petri și în eprubete



Figura 3. Coloniile de streptococi formate pe agarul peptonat din probe recoltate de pe carcasele de bovine la 48 de ore de incubare

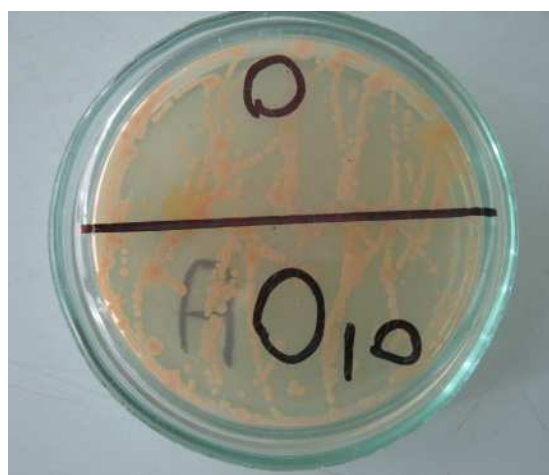


Figura 4. Coloniile de Streptococi formate pe agarul peptonat din probe recoltate de pe carcasele de ovine la 48 de ore de incubare



Figura 5. Coloniile de streptococi formate pe agarul peptonat din probe recoltate de pe carcasele de suine la 48 de ore de incubare

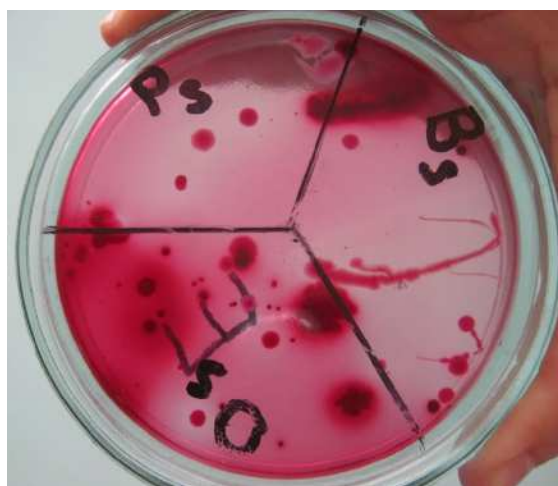


Figura 6. Coloniile E. coli formate pe mediul Endo recoltate de pe carcasele de ovine la 48 de ore de incubare



Figura 7. *Coloniile de streptococi recoltate de pe carcasele de ovine la 48 de ore de incubare*



Figura 8. *Coloniile de streptococi recoltate de pe carcasele de suine la 48 de ore de incubare*

În figurile 7 și 8 sunt prezentate rezultatele însămânțărilor efectuate pe agarul peptonat din probele recoltate de pe suprafața carcaselor de ovine (+++) și suine (++) care sunt plasate practic pe toată suprafața tubului, cu forme rotunde și ovale, specifice pentru streptococi. N-a fost stabilită prezența coloniilor de microorganisme pe mediul bismut sulfat agar și mediul Saburo.

Din coloniile microorganismelor izolate ale eșantioanelor carcaselor de bovine, porcine și ovine au fost preparate frotiuri, colorate după metoda clasică Gram și examinate la microscopul biologic cu dimensiunile 10x20 și 10x40.

În figurile 9 și 10 este prezentată imaginea microflorei izolate din coloniile obținute din probele carcaselor examinate aleatoriu. Din aceste probe, în special din cele de pe carcasele de ovine, au fost izolate microorganismele *E. coli*, care sunt redată în imagine în formă de bastonașe cu capetele ovale sau rotunde, de culoare roz (Fig. 9). În figura 10 este prezentată structura morfologică a streptococilor care sunt de culoare albastră, au forma rotundă și sunt plasați în formă de lanț sau mai des în grămezi ce variază de la 3-4 la 10-20 exemplare de streptococi.

Etapă ulterioară a investigațiilor a fost axată pe aprecierea sensibilității unor antibiotice care se folosesc mai des în tratamentul animalelor de boli infecțioase în condiții de teren.

Scopul acestor investigații a fost de a stabili sensibilitatea microorganismelor din coloniile izolate de la carcasele de bovine, ovine și porcine și, totodată, pentru a stabili rezistența formelor bacteriene la

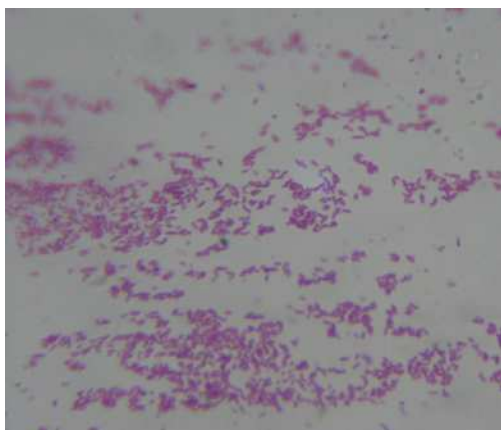


Figura 9. *Frotiuri preparate din probe de la ovine*

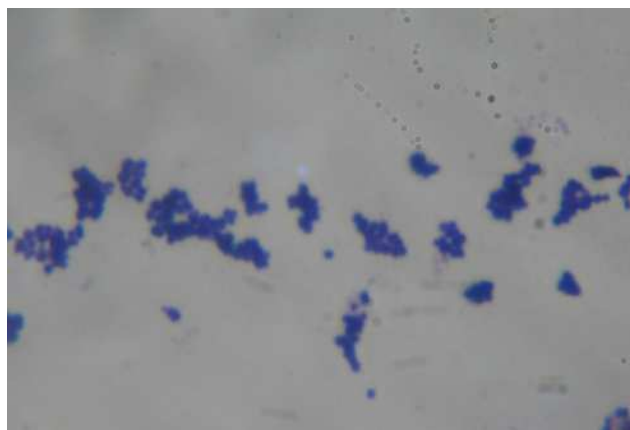


Figura 10. *Frotiuri preparate din probe (forme de E. coli, ob. 10x 20) de la ovine (forme de streptococi, ob. 10x 40)*

antibioticele menționate. În special au fost folosite rondulele îmbibate cu soluții de antibiotice, precum trimetoprim, neomicină, canamicină, gentamicină, cefazolină, florfinicol, ampicilină, eritromicină.

În figura 11 este prezentată procedura de efectuare a antibiogramei ce constă în plasarea rondulelor îmbibate cu antibioticele menționate pe plăcile petri, însămânțate cu material din coloniile izolate de la carcassele pe care s-a observat creșterea coloniilor de microorganisme.

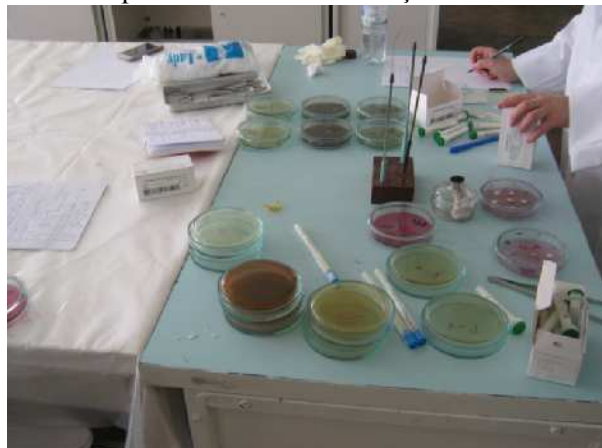


Figura 11. Procedura de plasare a rondulelor cu antibiotice pe mediile nutritive



Figura 12. Rezultatul antibiogramei pe mediul Endo (microflora carcaselor de bovine)

Rondulele au fost plasate conform metodei clasice, a câte 6 pe o placă, respectând distanța uniformă dintre rondule. În rezultatul investigațiilor s-a stabilit că pe plăcile petri unde însămânțările au fost efectuate cu material de la coloniile de microorganisme izolate de la carcassele de bovine, pe mediul Endo (Fig. 12), zona de inhibiție a microflorei a variat în limitele 2-4 mm.

Pe plăcile cu mediul Endo, pe care au fost efectuate însămânțările cu material din coloniile obținute de la probele de ovine și suine (Fig. 13, 14), se observă că cea mai mare zonă de inhibiție a dezvoltării coloniilor de microorganisme a fost înregistrată la probele recoltate de la carcassele de ovine (Fig. 14) față de antibioticul trimetoprim ce a constituit 12 mm.



Figura 13. Rezultatul antibiogramei pe mediul Endo (microflora carcaselor de suine)



Figura 14. Rezultatul antibiogramei pe mediul Endo (microflora carcaselor de ovine)

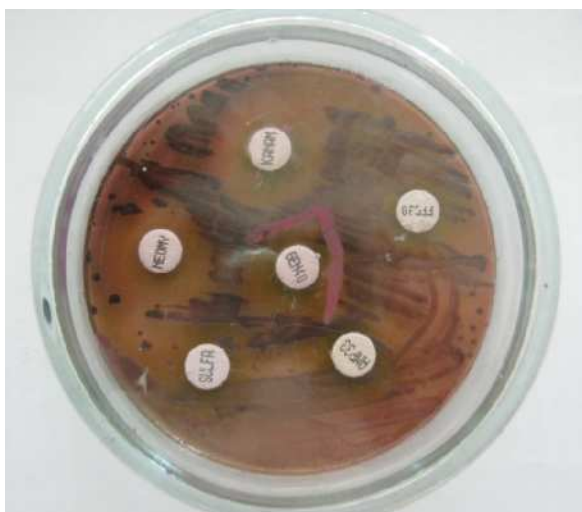


Figura 15. Antibiograma pe mediul Levin (microflora carcaselor de ovine)

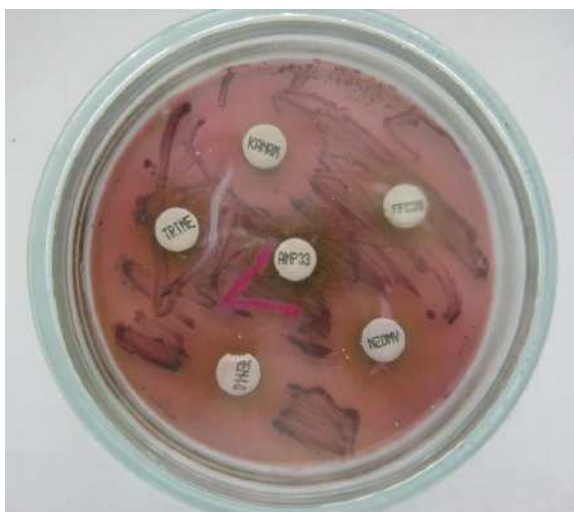


Figura 16. Antibiograma pe mediul Levin (microflora carcaselor de suine)

În cazul antibiogramii pe mediul Levin (Fig. 15 și 16), unde însămânțările au fost efectuate de la probele prelevate de la carcasele de ovine și suine, zona de inhibiție a constituit 17 mm față de antibioticul florfinicol comparativ cu trimetoprimul, demonstrând totodată și cea mai înaltă sensibilitate.

CONCLUZII

Contaminarea carcaselor cu floră bacteriană este, de cele mai dese ori, de ordin extern și are loc îndată după sacrificarea animalului (în procesul de maturare a cărnii sau în timpul transportării).

Examenul microbiologic al eșantioanelor de la carcasele de bovine, porcine și ovine a demonstrat prezența riscului de contaminare cu microfloră bacteriană, aceasta fiind mai mare la carcasele de ovine.

Investigațiile bacteriologice au demonstrat prezența contaminării superficiale a carcaselor cu predominarea tipurilor de microorganisme *E. coli* și streptococi.

În antibiogramă microflorei izolate de la carcasele de ovine cea mai înaltă sensibilitate a fost stabilită față de antibioticile florfinicol și cefazolin, având zona de inhibiție de 12 și, respectiv, de 17 mm, iar cea mai mică sensibilitate a fost stabilită față de eritromicină și ampicilină, cu valori de 2 și, respectiv, de 4 mm.

REFERINȚE BIBLIOGRAFICE

1. ARTHUR, T.M., 2010. Super shedding of *Escherichia coli* O157:H7 by cattle and the impact on beef carcass contamination. In: *Meat Science*, vol. 86, pp. 32–37.
2. HARISS, D. et al., 2012. Microbiological and organoleptic characteristics of beef trim and ground beef treated with acetic acid, lactic acid, acidified sodium chlorite, or sterile water in a simulated commercial processing environment to reduce *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella*. In: *Meat Science*, vol. 90, pp. 783-788. ISSN 0309-1740.
3. IVANA, Simona, coord., 2011. *Microbiologia alimentelor*. Vol. 1. București: Editura Asclepius. 189 p.
4. LALANDE, F. et al., 2011. Prevalence of *Salmonella* spp. on broiler chicken carcasses and risk factors at the slaughterhouse in France in 2008. In: *Food Control*, vol. 22, pp. 1158-1164. ISSN 0956-7135.
5. OKRASZSKA-LASICA, W. et al., 2012. Comparison of aerial counts at different sites in beef and sheep abattoirs and the relationship between aerial and beef carcass contamination. In: *Food Microbiology*, vol. 32, pp. 325-331. ISSN 0740-0020.
6. PAPADOPOULOU, O.S., 2012. Transfer of foodborne pathogenic bacteria to non-inoculated beef fillets through meat mincing machine. In: *Meat Science*, vol. 90, pp. 865-869. ISSN 0309-1740.
7. SERRAINO, A., 2012. Visual evaluation of cattle cleanliness and correlation to carcass microbial contamination during slaughtering. In: *Meat Science*, vol. 90, pp. 502-506. ISSN 0309-1740.
8. VICĂ, Mihaela Laura, 2010. Importanța examenului microbiologic pentru siguranța alimentelor: rez. tz. doct. Cluj-Napoca: Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu". 24 p.

Data prezentării articolului: 19.09.2014

Data acceptării articolului: 23.10.2014