

MOŽNOSTI DEVITALISACE PATOGENNÍCH MIKROORGANISMŮ A VÝVOJOVÝCH STADIÍ PARAZITŮ V MASE CHLADÍRENSKÝMI NEBO MRAZÍRENSKÝMI TEPLOTAMI

ZDENĚK MATYÁŠ

Problém kryoresistence patogenních mikrobů i vývojových svalových stadií parazitů byl často studován. Není zajímavý jen s hlediska teoretického objasnění účinku chladírenských nebo mrazírenských teplot na kinetiku metabolických dějů v podmínkách postmortální biochemie svaloviny, event i jiných tkání, ale má současně neobyčejný praktický význam epidemiologický a epizootologický. Význam devitalisačního účinku nízkých teplot na patogenní mikrofloru je mnohdy laicky přeceňován.

Schizomycetes

Původci tuberkulózy jsou relativně značně odolní. Chladírenské a mrazírenské teploty mykobakteria nedevalidisují, spíše je konservují. Suspense mykobakterií ve fyziologickém roztoku vystavená účinku teploty 0 °C udržela si virulenci 300 dní (11). Cadéac a Malet (cit. 6) nezjistili devitalisaci mykobakterií v teplotách -1 až -8 °C ani za 120 dní. Mykobakteria ve zmrazeném mase zůstala virulentní v teplotě -15 °C po dobu 2 let (15). Synergický účinek vlivu chladírenských teplot a NaCl se projevil tak, že v soleném mase zůstala mykobakteria naživu 18 dní a v orgánech několik měsíců. Směs čisté kultury tuberkulózních mikrobů a NaCl poskytovala virulentní mykobakteria po dobu 2 měsíců. Ani metabolity hniloby nemají včasný devitalisační účinek; např. v hni-
jících plicích zůstala naživu 167 dní a v rozkládajícím se mase několik let (15).

Brucely zůstávají při nízkých teplotách po mnoho dní virulentní (9). Hašek (5) zjistil, že *Brucella abortus* Bang přežívá kyselou reakci vzniklou při zrání masa. Při uskladnění pokusně infikovaných morčat v teplotě 3 až 4 °C byly by kultivovány brucely ze sleziny, jater a svaloviny ještě po 11 dnech (v pokuse nepokračováno). V přirozeně infikovaném mase přežívá *Brucella abortus* Bang v teplotě -21 °C více než 31 dní, *Brucella suis* asi 40 dní a *Brucella melitensis* až 47 dní (14). Ivanova (7) prokázala, že v hovězím mase pokusně infikovaném kulturou *Brucella abortus* Bang a zmrazeném v teplotě -18 až -20 °C po 24 hodin uchovaly si brucely svoji virulenci 320 dnů, když bylo maso skladováno v teplotě -10 až -15 °C. Za stejných teplotních podmínek se autorce podařilo vykultivovat z masa ovčí intravenózně infikovaných *Brucella melitensis* zárodky ještě 107. den (pokus nebyl dokončen).

V solných lácích o 12 až 22 °C Bě zůstávala kultura *Brucella abortus* Bang životaschopná ne déle než 60 dnů, *Brucella suis* do 83 dnů a *Brucella melitensis* do 60 dnů (15).

Otázkou resistance *salmonel* se zabývalo mnoho pracovníků. Zatím co odolnost k vysokým teplotám je malá, nízké teploty je do jisté míry konservují. S t a n o e v (12) zjistil, že *S. typhi murium*, *S. cholerae suis* a *S. dublin* v bujonu, mase i uzeninách v teplotě 1 až 6 °C odumřely z 99 %. Rovněž teploty —8 až 35 °C nezaručují úplné odumření salmonel za 180 až 360 dní, i když 5. den 92 až 99 % buněk bylo již mrtvých.

Ve Š t o l c o v ý c h (13) pokusech zachovala si *S. cholerae suis* životnost v mase, orgánech a kostní dřeni přirozeně infikovaných prasat velmi dlouhou dobu: v průměrné teplotě —10 °C 720 až 1020 dnů. *S. enteritidis* v mase, orgánech a kostní dřeni telat byla virulentní 670 dní (pokus nedokončen) a *S. typhi murium* v kostní dřeni telat 198 dní.

Řada autorů poukazuje na klesání počtu salmonel ve zmrazeném mase. Zdá se, že se uplatňuje vliv dehydratace, biochemických změn, pH a j. Š t o l c upozorňuje ještě na důležitý fakt, že salmonely na primokulturách rostou asi do 300 dní od porážky zvířat, později se dají vypěstovat jen po pomnožení a po delší době je nutno použít k zachycení salmonel většího počtu pomnožovacích půd podle Kaufmanna.

Odolnost původce červanky prasat — *Erysipelothrix insidiosa* — v mase je rovněž značná vůči nízkým teplotám. Ani solení nemá mimořádný vliv na životnost těchto mikroorganismů. M a r i (cit. 14) uvádí, že se uchovaly virulenci podobu 170 dní v mase ať soleném nasucho nebo nakládaném v láku.

Otázkou přežívání leptospir ve zvířecích orgánech se zabývali bulharští autoři W e s e l i n o v, D ě l č e v a B a j l o z o v (16). Zjistili průměrnou životnost *Leptospira pomona* a *Leptospira icterohaemorrhagiae* v ledvinách a v srdci s krví 13 dní, v játrech 12 dní, ve svalovině 9 dní a ve slezině 8 dní, když byly orgány uloženy v teplotě 3 až 5 °C. Upozorňují, podobně jako C y s s (cit. 16) na závislost rychlosti devitalisace leptospir na změnách pH ve svalovině.

Listeriosu vyvolává *Listerella monocytogenes*. K nízkým teplotám jsou listery málo citlivé. J e n t z s c h připomíná G r a y o v o pozorování, že se listerie intenzivně pomnožují i při 4 °C. V pokusech S e l i v a n o v a a G r i n i c y n o v é nebyly listerie zničeny v teplotě —14 až —23 °C ani po 480 hodinách. Stejní autoři prokázali, že si listerie uchovaly patogenitu i po nasolení masa po 20 dní. K u c h a r k o v a a j. zjistili, že změny pH zrajícího masa neovlivňují patogenní ani kultivační vlastnosti listerií (cit. 8).

Původce tularemie — *Brucella tularensis* — je odolná i vůči vysokým teplotám, udává se 1 až 1,5 hodiny v teplotě 75 °C, podle jiných údajů v teplotě 60 °C 45 minut. Rovněž vůči nízkým teplotám je odolná; např. v mase až 93 dnů (15).

Spóry *Clostridium botulinum* i toxiny jsou extrémně odolné vůči mrazírenským teplotám. W a l l a c e a P a r k prokázali, že toxiny A a B nebyly destruovány ani za rok i když byly vystaveny teplotě —16 °C. J a m e s zjistil, že ani opětovné zmrazování a rozmrazování, ať rychle nebo pomalé, nemá devitalizační účinek na spóry a toxiny *Clostridium botulinum* (cit. 3).

Virales a Rickettsiales

Virus slintavky a kulhavky se nízkými teplotami neničí, spíše konservuje. Odolnost virů však v různých podmínkách kolísá. Zvláště je citlivý ke změnám pH prostředí. Tak při pH 7 až 8 a při teplotě 1 °C si podržel virulenci 93 dní, při téže

teplotě, ale v pH 6,4 až 6,8 je infekční více než 100 dní. V prostředí o pH 6 až 6,4 se virus rychle ničí za obvyklých podmínek uskladnění masa.

Virus je citlivější ve fázi maximálního okyselení masa, t. j. když ve svalovině v teplotě 4 až 6 °C dosáhne pH hodnoty 5,8 až 6,2; virus se devitalisuje do 48 hodin (15).

Avšak v mizních uzlinách, kde je pH zřídka nižší než 6,5 a na této hodnotě se udržuje v teplotě 4 až 6 °C více dní, dále pak v kostní dřeni zůstává virus i nadále infekční; tak podle Šur a (14) byl prokázán virus v kostní dřeni chlazeného masa i po 76 dnech. Poměrně dlouhou dobu přežívá virus v játrech, jejichž pH zřídka klesne pod hodnotu 6,4. Totéž se pozoruje v ledvinách.

V rychle zmrazeném mase, v němž jsou procesy zrání zpomaleny, zjišťoval Sko r o m o c h o v a kol. virus i po 145 až 149 dnech (14) a v kostech pánevních a v krčních obratlech dokonce po 8 měsících. (P o p l a u c h i n, cit. 8).

V soleném mase přežívá virus za obvyklých podmínek 42 dní. Jsou však též údaje, které udávají virulenci v soleném mase jen 14 dní (15). V kůžích konservovaných kychyňskou solí může virus přežívat 46 dní.

Pro přežívání virů je významný poznatek, že v mase horečkujících zvířat dochází k výrazným metabolickým poruchám, které nepříznivě ovlivňují okyselení masa. Proto maso z horečkujících zvířat i po vychlazení může být reservoárem virů. U horečkujících zvířat dochází též k poruchám srdeční, dýchací a vasomotorické činnosti. Ty jsou pak příčinou nedostatečného vykrvení masa při porážení masa; krevní sraženiny, v nichž pH neklesne na optimální hodnotu nutnou k devitalisaci viru, jsou pak vhodným prostředím k přežívání viru slinotavky a kulhavky.

Virus Aujezského choroby je velmi odolný vůči mrazírenským teplotám. Černjak a Rastegajeva (cit. 14) udávají odolnost v teplotách -15 až -20 °C 160 dní. Podle Solonkina (cit. 15) snese virus bez poškození vliv nasyceného roztoku NaCl teplého 8 °C ne méně než 3 měsíce.

Virus Kloboukovy nemoci — nakažlivé obrny prasat — je rovněž velmi odolný. Ve zmrazeném stavu zůstává virulentní několik měsíců. V láku při nakládání masa se uchovává virus 21 dní (4).

Rovněž *virus moru prasat* je relativně odolný, zvláště zmrazovací teploty virus spíše konzervují. Ve zmrazeném mase je virulentní 116—225 dní. Ve zmrazeném krevním séru více než 3 měsíce. (14). Virus je dosti resistentní vůči kolísání pH. Tak podle Slavina (cit. 15) v prostředí o pH 4 zůstává naživu 78 dní, ale při pH 1,4 rychle hyne. V pH 10 je virulentní 78 dní, v pH 11 jenom jednu hodinu. V solených masných výrobcích zůstává virulentní průměrně 315 dní v láku o hustotě 22 ° Bé. Takové maso nakazilo 80 % všech pokusných prasat.

Q horečku vyvolává *Rickettsia burneti* s. *Coxiella burneti*. Podle Siliče (cit. 14) zůstává tento mikrob v mase pokusně infikovaných zvířat v teplotě 4 °C virulentním po dobu 30 dní, v 10 % roztoku NaCl 120 dní, v soleném mase (10 % lák) 150 dní. U nás pokusně ověřoval infekci syrového i technologicky upraveného masa a orgánů Q horečkou nakažených prasat a ovcí Trunkát (cit. 8), který došel k zajímavému závěru. Infekci výrazně závisí na množství krve ve svalovině i v orgánech poražených zvířat, to znamená na stupni vykrvení. Procento záhytu koxiel bylo tím vyšší, čím více krve zůstalo v orgánech nebo ve svalovině.

Vývojová stadia patogenních parazitů

Cysticercus bovis s. inermis — vývojové stadium tasemnice bezbranné (*Taeniarhynchus saginatus*) parazitující v zažívacím traktu člověka, nalézá se nyní při veterinární prohlídce hovězího masa častěji než dříve. Tento *cysticercus* se bezpečně devitalisuje mrazírenskými teplotami a to v závislosti na hloubce teploty za různou dobu (2).

Teplota ve °C	Doba potřebná k devitalisaci
— 5	10 hodin
— 8	6 hodin
—10	3 hodiny
—15	1 hodina
—18	40 minut
—20	30 minut
—25	25 minut
—30	20 minut
—35	15 minut

Pokusy byly provedeny na izolovaných uhrech. Podle výsledků prakticky zaměřených pokusů dospěli autoři k závěru, že *Cysticercus bovis* se bezpečně devitalisuje v mase zmrazeném v teplotě -10°C až po 144 hodinách.

Cysticercus cellulosae — vývojové stadium tasemnice dlouhočlenné, rovněž parazitující v zažívacím traktu člověka (*Taenia solium*) je nalézán v ČSSR zcela ojediněle ve vepřovém mase a to ještě nejspíše v mase z importovaných jatečných prasat. Podle Volferce a Vinnikova (cit. 14) devitalisují se izolované cysticerky v teplotě -8 až $-8,5^{\circ}\text{C}$ za 4 hodiny a v teplotě -10 až $-10,5^{\circ}\text{C}$ za 2,5 hodiny. Při zmrazení vepřového masa na -10°C se může počítat s devitalisací v hloubce až po skladování v teplotě -12°C za dobu 10 dní.

Svalové stadium svalovce stočeného (*Trichinella spiralis*) je vůči chladírenským teplotám resistantní. Pokusně zůstaly chladírenské teploty (kolem 2°C) bez vlivu na larvy svalovce v mase 300 dní. Od r. 1882 je však známo, že mrazírenské teploty působí výrazně devitalisačně. Podhájecký (10) zjistil, že dělené vepřové trichinelózní maso rychle zmrazené v provozních podmínkách v teplotě -30°C po dobu 36 hodin a pak uskladněné v teplotě -18°C 4 až 8 týdnů, nevyvolalo u pokusných zvířat parazitosu.

Podhájecký dále zjistil, že v devitalisaci svalových stadií trichinel dochází pokusně v morčecím mase v teplotě:

	-40°C za 20 minut,
—35 až	-30°C za 30 minut
—	-25°C za 24 hodin
	-20°C za 3 dny
	-15°C za 6 dní.

Diskuse

Z přehledu výsledků o vlivu chladírenských a mrazírenských teplot na životnost některých patogenních mikroorganismů a svalových stadií parazitů je patrná dlouhodobá kryoresistence v podmínkách postmortálních změn svaloviny, event. jiných tkání, většinou přesahující skladovací normy masa. Výjimkou jsou pouze vývojová stadia tasemnice bezbranné a svalová stadia svalovce stočeného.

Z naznačeného vyplývá, že svalovina i jiné tkáně jatečných zvířat mohou být

i ve zmrazeném stavu potencionálním reservoárem infektu. Nebezpečí ze zmrazeného masa domácího původu není však velké, neboť všechny případy nakažlivých chorob zvířat jsou zjišťovány při veterinární prohlídce jatečných zvířat a masa. Zcela správně vyžadují čs. státní normy, aby ke zmrazování bylo připuštěno pouze maso prohlášené za „poživatelné“ a schopné dlouhodobého skladování.

Maso z nemocných zvířat bývá někdy posouzeno jako „podmíněně poživatelné“; podmínkou poživatelnosti bývá nejčastěji provaření za určitých podmínek nebo naložení do solného láku a jenom výjimečně zmrazení. Podmínkou použitelnosti slabě uhřívého hovězího masa (*Cysticercus bovis*) v ČSSR je zmrazení masa za takových podmínek, aby teplota v hloubce dosahovala -5°C po dobu nejméně 48 hodin.

Při působení nízkých teplot na životnost mikroorganismů je třeba posoudit mimo hodnotu teploty zejména také způsob zmrazování, rychlý nebo pomalý, po odvěšení nebo předchlazení, či bezprostředně po porážení zvířat, způsoby rozmrazování a především též biochemický stav svaloviny. V devitalisaci některých mikroorganismů během chlazení se uplatňují zejména hodnoty pH. V nízkém pH svaloviny (5,8 až 6), k němuž dochází v průběhu zrání masa, vidíme důležitého činitele nejen pro bakteriostasi mnohých saprofytů mezi nimi i hnilobných, ale i pro bakteriocidní účinek na některé patogenní mikroorganismy, zejména virus slintavky a kulhavky. Reservoárem virů mohou však být jiné součásti masa nežli svalovina, které se během chlazení neokyselují, jako mizní uzliny, kostní dřev, krevní sraženiny a j., ale i vlastní svalovina v případech, kdy biochemické vlastnosti masa po porážce neumožní hluboké okyselování (horečkující zvířata), neodpočatá zvířata — poražená v únavě a pod.), nebo když se maso zmrazí bezprostředně po porážce.

Nebezpečí přenosu nákaz zmrazeným masem je především v případech importu ze zemí (např. rozvojových), kde dosud není prohlídka masa věnována potřebná pozornost pro nedostatek odborně školených pracovníků. Tak Koudela (8) uvádí, že z 540 epizootií slintavky a kulhavky, jež se vyskytly ve Velké Británii v letech 1938 až 1953 byla nákaza zavlečena v 254 případech dovozem infikovaného masa. Dalších 36 epizootií bylo pravděpodobně podobného původu, protože zdrojem nákazy byly nedostatečně upravené kuchyňské odpadky.

Při posuzování devitalizační schopnosti mrazírenských teplot např. na svalové stadia parazitů, je třeba vždy v konečném posudku vzít v úvahu penetrační křivku zmrazovací teploty a dobu expozice nejhlubší teploty v jádře masa. Doklad o významu přesných metodik na zjištění životaschopnosti parazitů přináší Bartels a Tändler (2): na území dnešní NSR platily pro úpravu slabě uhřívého masa hovězího tyto základní parametry zakotvené v předpisech, postupně výzkumem upřesňované:

- r. 1902: teplota $0-4^{\circ}\text{C}$ po dobu 21 dnů,
- r. 1937: teplota -10°C musí tak dlouho působit na maso, aby i nejhlubší vrstvy masa byly pod vlivem -3°C minimálně 24 hod.;
- r. 1960: teplota -10°C musí působit na maso 144 hodin (bez udání teploty v hloubce masa). Platí až dosud. V mrazírenské teplotě -10°C trvá 95 až 126 hodin zmrazení i nejhlubších partií svaloviny na -5°C . Tato teplota má působit minimálně 10 hodin, aby došlo podle pokusů Bartelse a Tändlera k devitalisaci cysticerka.

K řešení se nabízí otázka metabolismu mikroorganismů za hypotermických podmínek. *Clostridium botulinum* neprodukuje za teplot nižších 4 až 7 ° toxin. Arpai (1) pozoroval, že stafylokokové kmeny za obvyklých podmínek plasmakoaguláza — pozitivní, tuto vlastnost ztratily po dlouhotrvajícím působení mrazu. Je otázkou, zda u některých z patogenních nebo podmíněně patogenních mikroorganismů může dojít vlivem zmrazování ke snížení virulence event. i patogenity.

L i t e r a t u r a

1. Arpai J., O psychrofilních mikroorganismech v potravinách. Průmysl potravin, 13, 10, 549—552, 1962.
2. Bartels H., Tändler K., Bei welchen Temperaturen sterben Rinderfinnen ab? Die Fleischwirtschaft, 15, 8, 709—711, 1963.
3. Culloch E. C., Disinfection and Sterilisation. Lea and Febiger, Philadelphia, 1946.
4. Harnach R., Nakažlivé nemoci hospodářských zvířat. SZN, Praha 1953.
5. Hašek V., Příspěvek k brucelóze masa.
6. Hutýra F., Marek J., Spezielle Pathologie und Therapie der Haustiere. I. Bd. G. Fischer, Jena, 1952.
7. Ivanova V. I., Konserviruemost brucell v mjase pri posole i zamoraživanii. Tebesy doklada na I. Vsesojuznoj naučnopraктиčeskoj konferencii po voprosam veterinarnoj expertizy mjasa, moloka i drugih piščevych produktov. 23.—28, ijunia 1958.
8. Koudelka K., Kapitola o vyšetřování a posuzování masa při nákazách do vysokoškolské učebnice Hygiena masa, (v tisku).
9. Juskovec M. K., Brucelesa hospodářských zvířat. SZN, Praha 1955.
10. Podhájecký K., Štúdium vývinových fáz Trichinella spiralis a rezistencia jej invázných štádií voči fyzikálnym a chemickým činiteľom pri konzervovaní mäsa. Kand. práce SAV — Helminologický ústav, Košice 1962.
11. Revo M. V., Žukova M. D., Veterinarnaja mikrobiologija. Gos. izd. sel'skoc. lit., Moskva, 1958.
12. Stanoev St., Ustojčivost i promeni na salmonelite pri niski temperaturi. Izvestija na centralnija naučnoizsledovatel'ski veterinarnohigieninen institut za životniski produkti. Izd. na blgarskata akademija na naukite II. 171—179, Sofija. 1962.
13. Stolic B., Životnost salmonel ve zmrazeném mase. Výhled III., 1, 12—15, 1959.
14. Šur I. V., Rukovodstvo po veterinarno-sanitarnoj ekspertize produktov uboja životnych i gigiene mjasnogo proizvodstva. Gos. izd. sel'sk. lit., Moskva 1959.
15. Teternik D. M., Laptev F. P., Kogan M. B. Proizvodstvenno-veterinarnyj kontrol v mjasnoj promyšlennosti. Promizdat, Moskva 1956.
16. Weselinov W., Delčev Chr., Bajlozov D.: Über die Lebensdauer der Leptospiren in tierischen Geweben. Berl. u. Münch. tierärztl. Wochenschrift 75, 10, 184—186, 1962.