

Mikrobiološki status trupova junadi na liniji klanja*

Lilić Slobodan¹, Borović Branka¹, Velebit Branko¹, Lakićević Brankica¹, Baltić Tatjana¹, Rašeta Mladen¹, Spirić Danka¹

S a d r Ź a j: Uredba Evropske unije 2073/2005 propisuje određivanje mikrobiološke kontaminacije trupova, i to ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija kao indikatora higijene (UBB) i bakterije familije *Enterobacteriaceae*, posebno *Salmonella* spp. kao indikatora fekalne kontaminacije. Ovi kriterijumi pružaju informaciju o stepenu zdravstvene ispravnosti i kvalitetu proizvoda. Evropska komisija zahteva od subjekata u poslovanju sa hranom da koriste ove kriterijume prilikom validacija i verifikacija u sklopu provera HACCP sistema. Skidanje kože i evisceracija su operacije identifikovane kao operacije visokog rizika kada je kontaminacija mikroorganizmima u pitanju. Cilj ovog rada bio je da se proceni mikrobiološki status 100 trupova goveda poreklom iz određenih klanica u Srbiji. Brisevi su uzeti nedestruktivnom metodom u skladu sa međunarodnim standardom ISO 18593:2004, dok je ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija, bakterija familije *Enterobacteriaceae* i *Salmonella* spp. ispitan prema međunarodnim standardima ISO 4833:2003, ISO 21528-2:2004, odnosno ISO 6579:2002. Rezultati ispitivanja pokazuju da su prosečne vrednosti ukupnog broja aerobnih mezofilnih bakterija i *Enterobacteriaceae* bile unutar zadovoljavajućeg opsega ($< 2,80 \log_{10}$ cfu/cm² UBB, odnosno $< 0,80 \log_{10}$ cfu/cm² *Enterobacteriaceae*). U pogledu detekcije prisustva *Salmonella* spp., izolovano je ukupno 5 primoizolata, za koje je naknadnim serološkim ispitivanjima utvrđeno da pripadaju vrsti *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *Typhimurium* (3 izolata), *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *Dublin* (1 izolat) i *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *Infantis* (1 izolat).

Ključne reči: higijena klanja, ukupan broj bakterija, *Enterobacteriaceae*, goveda.

Uvod

Uredba Evropske unije 2073/2005 propisuje određivanje mikrobiološke kontaminacije trupova, i to ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija, kao indikatora higijene, i bakterije familije *Enterobacteriaceae*, posebno *Salmonella* spp. kao indikatora fekalne kontaminacije (Zweifel i dr., 2005). U industriji mesa se, uobičajeno, koristi nedestruktivna tehnika uzimanja uzoraka (brisevi) kao praktičnija u odnosu na destruktivnu metodu.

Novije studije predlažu uzimanje briseva abrazivnim materijalima i uzimanje briseva vlažno-suvim postupkom, koji može predstavljati alternativnu tehniku uzimanja uzoraka (Ellerbroek, 2003). Međutim, ova tehnika uzimanja uzoraka mogla bi biti problematična, jer još nije utvrđen faktor konverzije, odnosno nije ustanovljena korelacija između uzimanja uzorka incizijom i uzimanja uzorka brisom.

Zakonske odredbe u Evropskoj uniji koje se odnose na bezbednost hrane, regulišu svaki nivo

lanca ishrane i propisuju posebna pravila za hranu animalnog porekla (Zweifel i dr., 2008).

Mikrobiološkom proverom higijene procesa moguće je da se proceni analiza rizika i da se preduzmu odgovarajuće mere, ukoliko su potrebne (Brown i dr., 2000).

Skidanje kože i evisceracija su operacije identifikovane kao operacije visokog rizika kada je kontaminacija mikroorganizmima u pitanju (Bell, 1997). Tokom skidanja kože, rezovi se obavljaju na skočnom zglobu, butovima, u predelu *linea alba*, grudni, plečke i prednjih nogu. Svaki od ovih rezova može dovesti do prenošenja mikroorganizama sa kože na trup, odnosno na meso (Gill i dr., 1995).

Tokom evisceracije, zaseca se predeo oko anusa, odnosno rektuma i daljom obradom može doći do izlivanja rektalnog sadržaja ili pucanja tankih i debelih creva, što predstavlja dalju mogućnost kontaminacije rebara, plečke i grudni (Gill i dr., 1995).

Prema uredbi Evropske unije 2073/2005, a u okviru sprovođenja HACCP programa, predviđena

*Napomena: Rezultati ispitivanja prikazani u ovom radu deo su istraživanja u okviru projekta „Unapređenje mikrobiološke bezbednosti sirovog goveđeg mesa – ocena izloženosti potrošača za *E. coli* O157:H7 i *Salmonella* spp. i razvoj strategija kontrole“, evidencioni broj 20209.

¹Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Kačanskog 13, 11 000 Beograd, Republika Srbija.

su mikrobiološka ispitivanja higijenskog statusa polutki i higijenskog statusa radnih površina, alata, pribora, opreme i mašina. Uzimanje briseva sa polutki, radnih površina, opreme i alata vrši se u skladu sa *Commission Decision* 2001/471/EC (opozvana), ISO 17604:2003 i ISO 18593:2004.

Cilj ovog rada bio je da se ustanovi mikrobiološka kontaminacija trupova junadi, određivanjem ukupnog broja aerobnih mezofilnih bakterija, bakterija familije *Enterobacteriaceae* i bakterija *Salmonella* spp.

Materijal i metode

U cilju utvrđivanja mikrobiološke kontaminacije uzeti su brisevi sa 100 trupova junadi, posle završnog pranja. Uzorkovanje je obavljeno nedestruktivnom metodom sa četiri mesta na trupu (but, potrbušina, grudi, vrat). U uzetim brisevima određen je ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija (\log_{10} cfu/cm²), broj bakterija familije *Enterobacteriaceae* (\log_{10} cfu/cm²) i prisustvo *Salmonella* spp.

Ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija određen je metodom ISO 4833:2003. Suvi i vlažni brisevi nalivaju se sa 100 ml MRD-a (*Maximum Recovery Diluent, fiziološki rastvor sa 0,1% peptona*) i inkubiraju pri sobnoj temperaturi 15 min. Iz ove inicijalne suspenzije i niza decimalnih razblaženja uzima se po 1 ml i prenosi u Petri ploče, a zatim se naliva sa 12–15 ml PCA (*Plate Count Agar, hranljivi agar*) i inkubira 48–72 h pri 30°C.

Broj bakterija familije *Enterobacteriaceae* određen je metodom ISO 21528-2:2004. Iz inicijalne suspenzije i niza decimalnih razblaženja uzima se po 1 ml i prenosi u Petri ploče, a zatim dvostruko naliva sa VRBD (*Violet Red Bile Dextrose Agar, ljubičasto-crveni žučni dekstroza agar*) agarom i inkubira 24 h pri 37°C.

Prisustvo *Salmonella* vrsta utvrđeno je u skladu sa metodom ISO 6579:2002. Sunderi se nalivaju sa 225 ml BPW (*Buffered Pepton Water, pufersana peptonska voda*) i inkubiraju 24 h pri 37°C. Nakon inkubacije 0,1 ml se presejava u RVS (*Rappaport Vassiliadis*) bujon i inkubira 24 h pri 41,5°C i 1 ml u MKTTn (*Muller-Kauffmann Tetrathionate-Novobiocin Broth, Muller-Kauffmann tetrathionate-novobiocin bujon*) bujon i inkubira 24 h pri 37°C. Po isteku inkubacije bujonske kulture se presejavaju na BG agar (*Brilliant Green agar, briljantzeleni agar*) i XLD agar (*Xylose Lysine Deoxycholate Agar, ksiloza-lizin-deoksiholat agar*) i inkubiraju 24 h pri 37°C.

Vrednosti dobijenih rezultata, tumačeni su prema tabeli 1, u kojoj su navedeni mikrobiološki kriterijumi koje je propisala *UK Food Standard Agency – Guidance on the implementation of microbiological testing procedures and interpretation of results*.

Rezultati i diskusija

U tabelama 2 i 3 prikazani su rezultati mikrobioloških ispitivanja trupova junadi posle završnog pranja trupova.

Tabela 1. Mikrobiološki kriterijumi

Table 1. Microbiological criteria

Mikrobiološki profil uzoraka/ Microbiological profile of samples	Ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija/ Total count of aerobic mesophylic bacteria (\log_{10} cfu/cm ²)	<i>Enterobacteriaceae</i> (\log_{10} cfu/cm ²)
Prihvatljivo/Acceptable	≤ 2,80	≤ 0,80
Granična vrednost/Limit value	< 4,30	< 1,80
Neprihvatljivo/Unacceptable	> 4,30	> 1,80

Tabela 2. Ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija

Table 2. Total count of aerobic mesophylic bacteria

	But/Leg	Potrbušina/Belly	Grudi/Chest	Vrat/Neck
M ± Sd, \log_{10} cfu/cm ²	1,91 ± 1,08	1,96 ± 1,04	1,97 ± 0,82	2,10 ± 0,95
Cv, %	56,68	52,94	41,75	45,28
Iv, \log_{10} cfu/cm ²	0,60 – 4,48	0,70 – 4,57	1,00 – 4,40	1,00 – 4,51
Prihvatljivo/Acceptable	82 (0,60 – 1,90)	85 (0,70 – 2,70)	89 (1,00 – 2,00)	84 (1,00 – 2,60)
Zadovoljava/ Satisfactory	12 (3,48 – 4,26)	7 (3,70 – 3,85)	8 (3,60 – 4,26)	13 (3,70 – 4,26)
Neprihvatljivo/ Unacceptable	6 (4,30 – 4,48)	8 (4,30 – 4,57)	3 (4,30 – 4,40)	3 (4,30 – 4,51)

Tabela 3. Broj bakterija familije *Enterobacteriaceae*
Table 3. *Enterobacteriaceae* count

	But/Leg	Potrbušina/Belly	Grudi/Chest	Vrat/Neck
M ± Sd, log ₁₀ cfu/cm ²	0,66 ± 0,60	0,59 ± 0,36	0,62 ± 0,31	0,58 ± 0,32
Cv, %	91,45	61,33	49,20	55,18
Iv, log ₁₀ cfu/cm ²	ND – 2,70	ND – 2,60	ND – 2,70	ND – 2,00
Prihvatljivo/Acceptable	80 (< 0,78)	89 (< 0,78)	95 (< 0,78)	92 (< 0,78)
Zadovoljava/Satisfactory	16 (1,00 – 1,70)	9 (0,90 – 1,00)	4 (0,95 – 1,00)	7 (1,00 – 1,50)
Neprihvatljivo/Unacceptable	4 (2,00 – 2,70)	2 (2,00 – 2,60)	1 (2,70)	1 (2,00)

Ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija u brisevima sa buta kretao se u opsegu od 0,60–4,48 log₁₀ cfu/cm², odnosno prosečno 1,91 log₁₀ cfu/cm². Od ukupno uzetih briseva sa buta, 82% bilo je u prihvatljivim granicama (0,6–1,90 log₁₀ cfu/cm²), 12% uzoraka u zadovoljavajućim granicama (3,48–4,26 log₁₀ cfu/cm²), a 6% uzoraka bilo je neprihvatljivo (4,30–4,48 log₁₀ cfu/cm²). U uzorcima briseva potrbušine, ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija iznosio je prosečno 1,96 log₁₀ cfu/cm² (0,7–4,57 log₁₀ cfu/cm²), od čega je 85% uzoraka bilo na prihvatljivom nivou (0,70–2,70 log₁₀ cfu/cm²), 7% na zadovoljavajućem (3,70–3,85 log₁₀ cfu/cm²) i 8% uzoraka na neprihvatljivom nivou (4,30–4,57). Ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija u uzetim brisevima grudi iznosio je prosečno 1,97 log₁₀ cfu/cm², odnosno u opsegu 1,00–4,40 log₁₀ cfu/cm². Od ukupnog broja uzoraka, 89% bilo je prihvatljivo (1,00–2,00 log₁₀ cfu/cm²), 8% zadovoljavajuće (3,60–4,26 log₁₀ cfu/cm²), dok 3% uzoraka (4,30–4,40 log₁₀ cfu/cm²) nije zadovoljavalo propisane mikrobiološke kriterijume. Nešto veći ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija, utvrđen je u brisevima uzetim sa vrata, prosečno 2,10 log₁₀ cfu/cm² (1,00–4,51 log₁₀ cfu/cm²), u odnosu na briseve uzete sa buta, potrbušine i grudi. Od ukupnog broja uzetih uzoraka, 84% bilo je na prihvatljivom nivou (1,00–2,60 log₁₀ cfu/cm²), 13% na zadovoljavajućem nivou (3,70–4,26 log₁₀ cfu/cm²) i 3% na neprihvatljivom nivou (4,30–4,51 log₁₀ cfu/cm²). Utvrđeni ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija, nešto je niži u odnosu na rezultate *Zweifela i dr.* (2005) koji su ispitivali mikrobiološku ispravnost trupova goveda i utvrdili u pet različitih klanica vrednosti koje su se kretale u opsegu od 2,11 do 3,10 log₁₀ cfu/cm². Takođe, *Nastasijević i dr.* (2009) utvrdili su veći prosečan broj ovih bakterija, 2,5 log₁₀ cfu/cm², dok su *Blagojević i dr.* (2010) ustanovili prosečno 1,24 log₁₀ cfu/cm². *Prendergast i dr.* (2004) ispitivali su mikrobiološku kontaminaciju trupova goveda u prepodnevnom i popodnevnom časovima. U prepodnevnom časovima, ukupan broj aerobnih mezofilnih bakterija

iznosio je 2,56, a u popodnevnim časovima 2,63 log₁₀ cfu/cm².

Broj bakterija familije *Enterobacteriaceae* u uzorcima briseva buta bio je prosečno 0,66 log₁₀ cfu/cm², a dobijene vrednosti iznosile su do 2,70 log₁₀ cfu/cm². Prema mikrobiološkim kriterijumima, u 80% uzoraka, utvrđeno je do 0,78 log₁₀ cfu/cm², što označava prihvatljiv nivo, u 16% uzoraka, broj ovih bakterija iznosio je 1,00–1,70 log₁₀ cfu/cm² (zadovoljavajući nivo) i u 4% uzoraka briseva buta utvrđeno je 2,00–2,70 log₁₀ cfu/cm², što predstavlja neprihvatljiv nivo higijene. U uzorcima briseva potrbušine, ukupan broj bakterija familije *Enterobacteriaceae* bio je do 2,60 log₁₀ cfu/cm², odnosno prosečno 0,59 log₁₀ cfu/cm², od čega je 89% uzoraka bilo na prihvatljivom nivou higijene (< 0,78 log₁₀ cfu/cm²), 9% na zadovoljavajućem (0,90–1,00 log₁₀ cfu/cm²) i 2% na neprihvatljivom nivou higijene (2,00–2,60 log₁₀ cfu/cm²). Prosečan broj enterobakterija od 0,62 log₁₀ cfu/cm² utvrđen je u uzorcima briseva grudi (do 2,70 log₁₀ cfu/cm²). Od ukupnog broja ispitanih briseva, 95% je zadovoljavalo mikrobiološke kriterijume u smislu prihvatljivog higijenskog nivoa (< 0,78 log₁₀ cfu/cm²), 4% uzoraka nalazilo se na zadovoljavajućem nivou (0,95–1,00 log₁₀ cfu/cm²), dok je 1% briseva bio na neprihvatljivom nivou (2,70 log₁₀ cfu/cm²). U uzorcima briseva vrata, broj enterobakterija kretao se do 2,00 log₁₀ cfu/cm², odnosno prosečno 0,58 log₁₀ cfu/cm². Prihvatljiv nivo (< 0,78 log₁₀ cfu/cm²) imalo je 92% ispitanih uzoraka briseva, zadovoljavajući od 1,00 do 1,50 log₁₀ cfu/cm², 7% uzoraka i neprihvatljiv nivo 1% uzoraka (2,00 log₁₀ cfu/cm²). Odstupanja od srednje vrednosti, izražena kao koeficijent varijacije, bila su veoma visoka, naročito za uzorke briseva buta i potrbušine u kojima su iznosila 91,45 i 61,33%. Nešto niži koeficijent varijacije od 49,20 i 55,18% izračunat je za uzorke briseva grudi i vrata. *Blagojević i dr.* (2010) utvrdili su da se broj bakterija familije *Enterobacteriaceae* kreće u opsegu od 0,11×10¹ do 1,48×10³, odnosno prosečno 1,06×10¹ u jednom pogonu industrije mesa (grani-

čna vrednost), dok se u drugom ispitivanom pogonu kretao od $0,02 \times 10^1$ do $3,09 \times 10^2$, prosečno $0,59 \times 10^1$ (prihvatljiva vrednost). *Nastasijević i dr.* (2009) utvrdili su nešto niže vrednosti od $0,5 \log_{10} \text{cfu/cm}^2$, što takođe predstavlja prihvatljivu vrednost. *Zweifel i dr.* (2005) ustanovili su da se broj enterobakterija ispitivanih u pet pogona industrije mesa kretao u opsegu od 0,09 do $0,61 \log_{10} \text{cfu/cm}^2$, odnosno da je higijena u ovim pogonima na prihvatljivom nivou

U pogledu ispitivanja prisutva *Salmonella* vrsta od ukupno 100 ispitanih briseva polutki, *Salmonella* spp. utvrđena je kod 5 uzoraka. Serološkom tipizacijom po Kauffman-White-ovoj šemi utvrđeno je da tri izolata pripadaju *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium, jedan izolat *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Dublin i jedan izolat *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Infantis.

Literatura

- Bell, R. G.** 1997. Distribution and sources of microbial contamination on beef carcasses. *Journal of Applied Microbiology*, 82, 292–300.
- Blagojević B., Antić D., Dučić M., Bunčić S.**, 2010. Ratio between carcass and skin microflora as an abattoir process hygiene indicator. *Food Control*, article in press, www.sciencedirect.com.
- Brown M. H., Gill C. O., Hollingsworth J., Nickelson R. I., Seward S., Sheridan J. J., Stevenson T., Sumner J. L., Theno D. M., Osborne W. R., Zink D.**, 2000. The role of microbiological testing in systems for assuring the safety of beef. *International Journal of Food Microbiology*, 62, 7–16.
- Commission Decision 2001/471/EC** laying down rules for the regular checks on the general hygiene carried out by the operators in establishments according to Directive 64/433/EEC on health conditions for the production and marketing of fresh meat and Directive 71/118/EEC on health problems affecting the production and placing on the market of fresh poultry meat (Off. Journal of European Communities L 165/48).
- Ellerbroek L.**, 2003. Mikrobiologische Kontrolle der allgemeinen Hygiene in Fleisch-Lieferbetrieben gemäss Artikel 10 (2) der Richtlinie 64/433/EWG; umsetzung der Entscheidung 2001/471/EG. *Fleischwirtschaft*, 83, 139–142.
- Gill C.O., McGinnis J.C., Bryant J., Chabot B.**, 1995. Decontamination of commercial polished pig carcasses with hot water. *Food Microbiology*, 12, 143–149.
- ISO 17604:2003 Microbiology of food and animal feeding stuffs – Carcass sampling for microbiological analysis.**
- ISO 18593:2004 Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal methods for sampling techniques from surfaces using contact plates and swabs.**
- Nastasijević I., Mitrović R., Bunčić S.**, 2009. The occurrence of *Escherichia coli* O157 in/on faeces, carcasses and fresh meats from cattle. *Meat Science*, 82, 101–105.
- Prendergast D. M., Daly D. J., Sheridan J. J., McDowell D. A., Blair I. S.**, 2004. The effect of abattoir design on aerial contamination levels and the relationship between aerial and carcass contamination levels in two Irish beef abattoirs. *Food Microbiology*, 21, 589–596.
- Zweifel C., Baltzer D., Stephan R.**, 2005. Microbiological contamination of cattle and pig carcasses at five abattoirs determined by swab sampling in accordance with EU Decision 2001/471/EC. *Meat Science*, 69, 559–566.
- Zweifel C., Fischer R., Stephan R.**, 2008. Microbiological contamination of pig and cattle carcasses in different small-scale Swiss abattoirs. *Meat Science*, 78, 225–231.

Zaključak

Na osnovu broja aerobnih mezofilnih bakterija, može se zaključiti da je higijena na liniji klanja junadi na zadovoljavajućem nivou u većini slučajeva, odnosno u 82–89% slučajeva i na zadovoljavajućem u 7–13% slučajeva. U 3–8% uzoraka briseva, utvrđen je broj aerobnih mezofilnih bakterija, koji nije na prihvatljivom nivou u smislu mikrobioloških kriterijuma.

U 80–92% uzetih briseva, broj bakterija familije *Enterobacteriaceae* nalazio se u prihvatljivim granicama, dok je na zadovoljavajućem nivou bio u 4–16% slučajeva. Mikrobiološke kriterijume nije ispunjavalo 1–4% uzetih briseva.

Na osnovu iznetog, može se zaključiti da je higijena na liniji klanja junadi na zadovoljavajućem nivou

Microbial status of beef carcasses on the slaughter line

Lilić Slobodan, Borović Branka, Velebit Branko, Lakićević Brankica, Baltić Tatjana, Rašeta Mladen, Spirić Danka

Abstract: Microbiological criteria laid down by EU Regulation 2073/2005 are intended to give some degree of assurance that food is safe and of suitable quality. It implies that it will remain so to the end of its shelf life provided it is handled appropriately. The EC Regulation on Microbiological Criteria for Foodstuffs requires food business operators to use the criteria given in the Regulation when carrying out validation and verification checks as part of food safety management systems based on HACCP principles. Microbiological criteria used are Total Viable Count, as an indicator of general hygiene status and quantification of *Enterobacteriaceae*, as an indicator of faecal contamination of carcasses. Evisceration and dehiding (removal

of skin) are operations of critical importance during slaughtering since the risk of microbial contamination is the highest. Aim of this paper was to assess microbiological status of 100 cattle carcasses originating from selected Serbian slaughterhouses. Swabbing was performed in accordance to standard method ISO 18593:2004, while the TVC, Enterobacteriaceae and Salmonella spp. were investigated according to standard methods ISO 4833:2003, ISO 21528-2:2004 and ISO 6579:2002, respectively. Results indicate that mean TVC and Enterobacteriaceae values of four carcasses' locations were within acceptable range ($<2,80 \log_{10} \text{ cfu/cm}^2$ TVC and $<0,80 \log_{10} \text{ cfu/cm}^2$ Enterobacteriaceae). A total of 5 Salmonella spp. strains were isolated, later being identified as Salmonella enterica subsp. enterica serovar Typhimurium (3 strains) Salmonella enterica subsp. enterica serovar Dublin (1 strain) and Salmonella enterica subsp. enterica serovar Infantis (1 strain).

Key words: slaughtering hygiene, Total Viable Count, Enterobacteriaceae, beef.

Rad primljen: 1.12.2010.

Rad prihvaćen: 2.12.2010.