

REZUMAT

Alimentele de origine animală sunt trofine de neînlocuit din hrana omului. Pentru a corespunde scopului, ele trebuie să nu dăuneze sănătății consumatorului, adică să fie libere de orice noxă fizică, chimică și biologică. În plus, ele trebuie să aibă însușiri calitative și nutriționale corespunzătoare și să fie în stare de prospețime.

Pentru a corespunde dezideratelor enunțate se impune, de la bun început, asigurarea salubrității primare a alimentelor de origine animală.

Dintre bacteriile utilizate ca indicatori biologici, *Clostridium perfringens* este cel care poate releva cea mai veche contaminare.

Infecțiile produse de *Clostridium perfringens*, denumite și Welchioze sunt larg răspândite la animale, germenul găsindu-se aproape constant în tubul digestiv al acestora, precum și în sol. *Clostridium perfringens* este o bacterie virulentă și toxigenă.

Datorită acestor însușiri ea poate produce diferite stări de boală, dintre care principalele sunt gangrena gazoasă și toxiinfecția alimentară. Pentru producerea toxiinfecției alimentare, elementul principal de patogenitate îl constituie enterotoxina care este elaborată în intestinul subțire al omului, la scurt timp de la ingerarea alimentelor cu număr foarte mare de celule vegetative.

Toxiinfecții alimentare produse de *Clostridium perfringens* sunt afecțiuni de tip toxic, la originea cărora stă ingerarea alimentelor contaminate cu această bacterie și care, din punct de vedere anatomoclinic, în funcție de biotipul agentului cauzal, se manifestă prin enterite ușoare, medii sau ca enterite necrozante grave.

Prezența bacteriei *Clostridium perfringens* este posibilă în toate alimentele crude și în multe din cele gătite. Se poate spune că această bacterie este prezentă pe toate plantele contaminate prin sol, în laptele proaspăt, carnea proaspătă și în chiar unele produse care au fost prelucrate cum sunt: laptele condensat, diverse brânzeturi, semiconserve și unele conserve. Dintre toate, carnea este cel mai des implicată în producerea toxiinfecțiilor alimentare. Incidența este mare (aproximativ 50 %) a speciei *Clostridium perfringens* în carnea animalelor de măcelărie și în aceea a păsărilor. Aceste animale sunt aproape în totalitate purtătoare intestinale. În perioada stresului de abator sau când timpul între tăiere și eviscerare se prelungește, o parte

din bacteriile intestinale, printre care și *Clostridium perfringens*, evadează din intestin și, prin circulația limfatică și sangvină, ajung în tot organismul, inclusiv în straturile musculare profunde, unde după un timp de 7-9 ore de la tăiere, chiar bacteriile strict anaerobe vor găsi condiții convenabile de multiplicare.

Teza intitulată „Cercetări bacteriologice, serologice și de patogenitate privind prezența specie *Clostridium perfringens* în alimentele de origine animală” conține 153 pagini, fiind redactată în IX capitole și este structurată conform criteriilor în vigoare, în două părți.

Prima parte (cap. I, II, și III) reprezintă 36,4% și sintetizează principalele date bibliografice din literatura de specialitate privitor la elementele de taxonomie și particularitățile morfofiziologice ale bacteriilor din genul *Clostridium*, date privind epidemiologia infecțiilor produse de *Clostridium perfringens*, implicațiile speciei *Clostridium perfringens* în toxiinfecțiile alimentare constituind „Stadiul actual al cunoașterii”, iar partea a 2-a (cap. V, VI, VII, VIII) se referă la cercetările proprii și reprezintă 63,6%. Fiecare capitol din partea a 2-a are în cuprins material și metode de lucru, rezultatele obținute, cu discutarea lor și concluziile parțiale.

În capitolul IX sunt sintetizate în cele 10 concluzii finale, principalele aspecte desprinse în urma cercetărilor efectuate.

Lucrarea este ilustrată cu un număr de 47 figuri, 35 tabele și se bazează pe 141 titluri bibliografice.

Scopul acestor cercetări a constat în punerea în evidență a speciei *Clostridium perfringens* din alimentele consumate de om, în condițiile epidemiologice menționate anterior.

Cercetările au avut la bază, următoarele obiective:

- Izolarea și identificarea speciei *Clostridium perfringens* din diverse alimente de origine animală: carne și produse din carne, lapte și produse din lapte, ouă și produse din ouă;
- Determinarea biotipurilor de *Clostridium perfringens* izolate din unele alimentele de origine animală;
- Determinarea patogenității tulpinilor izolate din unele alimente;
- Prevalența tulpinilor de *Clostridium perfringens* izolate și identificate din unele alimente de origine animală.

În primele 3 capitole sunt sintetizate câteva date bibliografice privind elementele de taxonomie și particularitățile morfofiziologice ale bacteriilor din genul *Clostridium*, date privind epidemiologia infecțiilor produse de *Clostridium perfringens*, implicațiile speciei *Clostridium perfringens* în toxiinfecțiile alimentare.

Clostridiile fac parte din grupul bacililor Gram pozitivi sporogeni, respectiv familia *Bacillaceae*, în care se încadrează speciile bacteriene sporogene. Ele se găsesc ca saprofite în sol și sunt rezistente față de factorii de mediu.

Bacteriile din genul *Clostridium* sunt în totalitate anaerobe, în marea lor majoritate mobile, iar sporul lor depășește în diametru transversal pe cel al celulei vegetative. În funcția de poziția lui, o deformează imprimând bacililor sporulați diferite forme, cum sunt cele de lămâie sau suveică (sporul așezat central), sticlă de lampă de petrol (sporul subterminal).

Clostridium perfringens posedă antigene somatice multiple, unele dintre ele comune, iar altele specifice pentru tulpinile care formează un anumit serotip. În cadrul biotipurilor pot exista mai multe tipuri antigenice. Astfel biotipul A cuprinde 8 tipuri antigenice.

Formele vegetative nu prezintă o rezistență particulară față de diverși factori fizici și chimici, acestea fiind distruse în 15 minute la 63-65⁰C, sporii în schimb, rezistă la temperaturi mult mai ridicate.

Clostridium perfringens este cel mai răspândit dintre toate microorganismele care pot provoca infecții la om, are o răspândire universală, se găsește în orice mediu, sol, apă, aer, pe orice suprafață, în orice aliment care nu a fost sterilizat. La om și animale se găsește pe piele, mucoase și 100 % în conținutul intestinal. De aici rezultă importanța decelării sale și a determinării numărului probabil în laptele crud sau pasteurizat, ca și în produsele sale de orice fel.

Clostridium perfringens a fost descris de diverși autori, în multe alimente cu diferite grade de prospețime și în alimentele alterate sub forma sa vegetativă sau ca spor.

În ceea ce privește valoarea ca indicator sanitar a germenului *Clostridium perfringens*, în comparație cu bacteriile din grupul coliform, cu enterococii și cu bacteriile din genul *Proteus*, *Clostridium perfringens* își dovedește valoarea sa ca indicator sanitar microbiologic de contaminare a alimentelor datorită existenței sale în materiile fecale ale omului și animalelor.

În partea a 2-a, „Cercetări proprii”, redactată în V capitole, investigațiile au urmărit cercetările bacteriologice privind izolarea și identificarea speciei *Clostridium perfringens* din produse alimentare de origine animală (capitolul V), caracterizarea serologică a tulpinilor de *Clostridium perfringens*, izolate din alimente (capitolul VI), determinarea patogenității la tulpinile izolate de *Clostridium perfringens* (capitolul VII), prevalența speciei *Clostridium perfringens* în alimentele investigate (capitolul VIII).

Cercetările au fost efectuate în Laboratorului de Microbiologie - Imunologie din cadrul Facultății de Medicină Veterinară Iași, Laboratorul de Microbiologie alimentară și Laboratorul de Bacteriologie din cadrul LSVSA Iași.

În perioada 2005-2009 au fost recoltate probe, din diverse alimente de origine animală respectiv carcase de bovine, ovine, porcine și carcase de pui broiler, produse de carne (mezeluri), lapte și produse din lapte, ouă și produse din ouă, la care au fost efectuate examene microbiologice calitative și cantitative de pe suprafața carcaselor. S-a urmărit prezența speciei *Clostridium perfringens*.

Pentru identificarea speciei *Clostridium perfringens* a fost utilizat Standardul European EN 13401:1999.

Studiul efectuat asupra carcaselor de bovine, porcine, ovine și păsări a furnizat prezența speciei *Clostridium perfringens* în număr de 7 tulpini pozitive din 60 examinate la bovine, 3 tulpini de pe carcasele de ovine, 6 tulpini de pe carcasele de porcine și 2 tulpini de pe carcasele de păsări.

Produsele din carne investigate au prezentat următoarele valori: din probele de mezeluri proaspături și semiafumate au fost izolate un număr de 10 tulpini care au reprezentat un procent de 10%, din salamurile de durată au fost izolate un număr de 2 tulpini, respectiv un procent de 2%. Din categoria specialităților fierte și afumate au fost izolate un număr de 3 tulpini, cu un procent de 3% din totalul probelor examinate, iar din categoria specialităților afumate și fierte s-au izolat un număr de 2 tulpini, cu un procent de 2%.

Din totalul de probe exanimate de lapte și produse lactate a rezultat un număr de 38 de tulpini de *Clostridium perfringens*.

Probele de lapte bătut, iaurt, kefir și sana nu au prezentat nicio probă pozitivă.

De asemenea s-au izolat un număr de 36 de tulpini de pe ouăle recoltate din sistemul gospodăresc. Numărul mare de probe pozitive ne reflectă o contaminare a ouălor din momentul ouatului.

Din probele de praf de ouă și din ouăle provenite din centrele de ambalare, nu a fost izolată nici o tulpină de *Clostridium perfringens*.

Clostridium perfringens produce 12 fracțiuni toxice care reprezintă factorul principal de patogenitate. Capacitatea de a elabora una sau mai multe dintre fracțiunile majore constituie criteriul de clasificare a tulpinilor de *Clostridium perfringens* în biotipuri.

Există 5 biotipuri de *Clostridium perfringens*: A, B (B1, B2), C (C1, C2, C3, C4, C5), D și E. În literatura de specialitate mai este menționat și biotipul F care, a fost reîncadrat în biotipurile C4 și C5.

Scopul investigațiilor a constatat în ierarhizarea celor mai frecvente serotipuri izolate, întrucât unele dintre ele (A, C, D) sunt implicate în producerea de toxoinfecții alimentare. Aceste biotipuri se deosebesc prin tipul toxinei ce o elaborează și care se evidențiază prin reacția de

seroneutralizare cu seruri antitoxice de biotip, prin specia de animal pe care o infectează și entitatea morbidă pe care o determină.

Ca urmare a efectuării imunofluorescenței pe frotiurile cu diverse culturi de microorganisme aneroabe, au fost evidențiate un număr de 88 tulpini de *Clostridium perfringens*.

Pe baza reacției de seroneutralizare, tulpinile de *Clostridium perfringens* izolate și identificate bacteriologic, au fost încadrate în cele 5 serotipuri: A, B, C, D, E.

Din analiza de ansamblu a datelor obținute reiese că din totalul tulpinilor izolate, predomină biotipul A - 8 (44,5%) tulpini și biotipul C - 5 (27,8%) tulpini, biotipul D - 3 (16,6%) tulpini și biotipul E - 2 (11,2%) tulpini, fiind izolate mai rar.

În urma investigațiilor bacteriologice s-au izolat 34 tulpini de *Clostridium perfringens* care au fost încadrate în diverse biotipuri.

Serotipizarea tulpinilor de *Clostridium perfringens* izolate de pe coaja ouălor din sistemul gospodăresc, a evidențiat prezența a 21 tulpini aparținând biotipului A și 15 tulpini aparținând biotipului C.

La toate produsele examinate, din cele 88 tulpini de *Clostridium perfringens*, 46 tulpini s-au confirmat prin seroneutralizare, iar prin metoda imunoenzimatică s-au determinat 55 tulpini alfatoxigene pozitive.

Testarea toxicității prin inocularea intravenoasă a culturilor de *Clostridium perfringens*, este mult mai sensibilă, evidențiindu-se prezența a 68 (81%) tulpini toxigene comparativ cu testarea tulpinilor pe calea intraperitoneală la care doar 65 (77,4%) tulpini au fost considerate pozitive, fiind mai puțin eficientă.

Rezultatele obținute folosind testul ELISA au evidențiat faptul că anticorpul specific anti – enterotoxină, sunt prezenți la 71 (84,5%) tulpini de *Clostridium perfringens* din totalul de 84 tulpini examinate.

Identificarea speciei *Clostridium perfringens*, a variat de la o grupă de alimente la alta și în funcție de tipul alimentului din această categorie.

Prevalența probelor pozitive este de 6,76% din totalul de 1300 probe de alimente, examinate.

Prevalența biotipurilor de *Clostridium perfringens* a fost de 47 (43,40%) tulpini încadrate în biotipul A, 25 (28,40%) tulpini biotip C și 10 (11,36%) tulpini încadrate în biotipul D. În biotipul B au fost încadrat doar 2 (2,27%) tulpini și în biotipul E 4 (54%) tulpini.