

**UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE AGRICOLE ȘI MEDICINĂ VETERINARĂ A BANATULUI
FACULTATEA DE MEDICINĂ VETERINARĂ**

SINTEZA

**RAPORTULUI DE CERCETARE LA PROIECTUL TIP IDEI:
IMPLICAȚIILE BIOFILMULUI MICROBIAN ÎN IGIENA ȘI
SIGURANȚA ALIMENTELOR**

- cod CNCSIS 902 -

ANUL 2009

Colectivul de cercetare:

Conf. Dr. Sala Claudia – director de proiect

Prof. Dr. Decun Mihai

Conf. Dr. Nichita Ileana

Șef de lucr.univ. Dr. Morar Adriana

Drd. dr.med.vet. Morvay Attila Alexandru

1. OBIECTIVELE PROIECTULUI DE CERCETARE

Biofilmul reprezintă o strategie de adaptare, de supraviețuire a microorganismelor vii în mediile umede, incluzând alimentele, adaptare de care trebuie să se țină cont atunci când se implementează programele de siguranță a alimentelor. Dezvoltarea biofilmului poate denatura suprafața utilajelor și a produselor alimentare pe care se formează. Microorganismele care se găsesc în interiorul biofilmului, fiind protejate de acțiunea substanțelor antimicrobiene, prezintă însușiri diferite și riscuri încă insuficient evaluate. În țara noastră nu au fost efectuate cercetări pentru aprofundarea cunoașterii structurii și a caracteristicilor biofilmului microbial în relație cu siguranța alimentelor.

Proiectul propus se desfășoară pe parcursul a trei ani (2009 - 2011) și are ca prim obiectiv **evidențierea prezenței și structurii biofilmului microbial pe diverse suprafețe din unitățile de prelucrare a produselor alimentare din țara noastră.**

Următorul obiectiv al cercetării este reprezentat de studiul **sensibilității la substanțe biocide a unor tulpini din speciile bacteriene *Gram negative* și *Gram pozitive*, aerobe și anaerobe, flotante, precum și a celor integrate în biofilme.**

Al treilea obiectiv constă în **testarea anumitor substanțe, concentrații și proceduri pentru întârzierea formării biofilmelor și chiar pentru distrugerea biofilmelor formate.**

Se întvede aprofundarea cunoașterii în domeniul igienei și al microbiologiei aplicate, cu scopul perfecționării programelor de igienizare și tehnologiilor de procesare, în vederea obținerii unor produse alimentare salubre, diminuării pierderilor economice, în condițiile garantării sănătății consumatorilor și a protecției mediului ambiant. Cercetarea va conduce de asemenea, la progrese importante în domeniul metodelor de examinare și monitorizare microbiologică a întregului flux de obținere și de prelucrare a produselor alimentare. Totodată se încearcă stabilirea unei corelații între nivelul de contaminare a suprafețelor și posibilitățile de formare a biofilmului microbial prin prisma conceptului *quorum sensing*, sistem de comunicare între bacterii prin care acestea reușesc să-și coordoneze activitățile (migrarea spre un mediu mai bogat în nutrienți, apărarea împotriva agresiunilor externe, adoptarea unor noi modele de creștere etc.)

2. ACTIVITĂȚILE DE CERCETARE DESFĂȘURATE ÎN ANUL 2009

Conform prevederilor din proiectul de cercetare au fost efectuate cercetări pentru **evidențierea prezenței biofilmului microbial pe suprafețe inerte cu grad diferit de finisare și pe suprafața cărnii**, orientate în următoarele direcții:

- Ø Evidențierea **gradului de contaminare microbială a suprafețelor inerte** cu grad diferit de finisare, din unități de industrie alimentară, **prin aplicarea metodei cu ATP bioluminescență comparativ cu însămânțarea pe medii de cultură;**
- Ø Evidențierea **biofilmului microbial de pe suprafețe inerte** cu grad diferit de finisare prin microscopia cu fluorescență;
- Ø Evidențierea **gradului de contaminare microbială a carcaselor prin aplicarea metodei cu ATP bioluminescență comparativ cu însămânțarea pe medii de cultură;**
- Ø Evidențierea **biofilmului microbial de pe suprafața cărnii** prin microscopia cu fluorescență.

3. METODOLOGIA CERCETĂRII

Stabilirea nivelului de contaminare și evidențierea prezenței biofilmului s-a realizat pe suprafețe inerte cu grad diferit de finisare și pe suprafața cărnii (semicarcase de porc, piese tranșate de porc, sferturi de vită și carcase de pui).

Cercetările au fost realizate pe suprafețe constituite din diferite materiale (inox, PVC, sticlă, plastic etc.), cu grad de finisare diferit (suprafețe finisate și zonele de îmbinare a conductelor).

Aprecierea nivelului de contaminare a suprafețelor s-a făcut prin **numărarea directă în placă** și prin **metode rapide care evidențiază indirect concentrația de ATP de pe suprafețe**. Structura biofilmului a fost evidențiată prin microscopia cu fluorescență și cu microscopul confocal.

Pentru efectuarea cercetărilor au fost alese patru unități: o unitate de procesare a laptelui (unitatea PL), o unitate de procesare a cărnii de porc (PC 1), o unitate de abatorizare-procesare a cărnii de porc (PC 2) și o unitate de vânzare amănuntul a cărnii și produselor din carne (VA 1).

În plus față de obiectivele stabilite au fost efectuate cercetări pentru evaluarea nivelului de contaminare într-o unitate de sacrificare a păsărilor (PP) și o unitate de vânzare amănuntul a cărnii și produselor din carne (VA 2).

Probele au fost recoltate de pe suprafața echipamentelor, a instrumentelor de lucru, a elementelor de construcție care pot veni în contact cu materia primă, cu semifabricatele sau cu produsele finite (pardosea, panouri de placare a pereților, faianță etc.) și de pe suprafața cărnii. Recoltarea probelor s-a efectuat cu tampoane sterile, de pe o suprafață de 100 cm² pentru probele prelucrate după metodele standardizate sau de pe 25 cm², pentru determinarea cantității de ATP.

Stabilirea nivelului de contaminare a suprafețelor s-a făcut prin aprecierea următorilor indicatori microbiologici: numărul total de germeni aerobi mezofili, conform *SR ISO 4833/ 2003*, numărul de enterobacterii, conform *SR ISO 21528-2/ 2007* și numărul de germeni din genul *Pseudomonas*.

Pentru **determinarea ATP-ului total de pe suprafețe** s-au utilizat chituri speciale, iar intensitatea luminii rezultate (exprimată în unități relative de lumină – URL) a fost citită la două aparate *HyLite 2* și *Lumitester PD 10N*.

Pentru **identificarea biofilmului microbial** probele au fost recoltate prin raclare cu bisturiul, din vecinătatea zonelor prelevare a probelor pentru determinarea indicatorilor microbieni. Din fiecare punct au fost recoltate două probe, pe câte o lamă de sticlă, curățată și degresată în prealabil.

În laborator, probele au fost fixate și colorate. Prima serie de lame cu probe a fost colorate cu *acridine orange* (AO), după metoda descrisă de *Hoff și col.*, iar cea de-a doua serie, prin metoda Gram.

În vederea colorării cu *acridine orange* probele au fost fixate cu alcool etilic 96%, timp de 2 minute. Colorarea lamelor s-a efectuat timp de un minut, iar excesul de colorant a fost îndepărtat prin spălare cu apă distilată. Examinarea lamelor s-a realizat în epifluorescență, cu microscopul *Leica model DM 2500*, cu obiectivele cu imersie 63x și 100x.

4. REZULTATELE OBȚINUTE

Obiectiv: EVIDENȚIEREA PREZENȚEI BIOFILMULUI MICROBIAN PE SUPRAFEȚE INERTE CU GRAD DIFERIT DE FINISARE

Activități:

1. *Evidențierea nivelului de contaminare microbială a suprafețelor inerte cu grad diferit de finisare, din unități de industrie alimentară, prin aplicarea metodei cu ATP bioluminescență comparativ cu însămânțarea pe medii de cultură*

Stabilirea nivelului de contaminare a suprafețelor s-a efectuat inițial într-o unitate de procesare a laptelui (PL) și în două unități de procesare a cărnii (PC1 și PC2). În plus față de activitățile prevăzute în proiectul de cercetare au fost efectuate experimente și într-o unitate de sacrificare a păsărilor (PP) și o unitate de vânzare amănuntul a cărnii și produselor din carne (VA 1).

În probele recoltate de pe suprafețele din unitatea de procesare a laptelui (PL) N.T.G.M.A. a variat între 521 ufc/cm² și 378015 ufc/cm², gradul de contaminare cu enterobacterii a fost cuprins între 0,24 și 2709 ufc/cm², iar numărul de bacteriile din genul *Pseudomonas* a avut o valoare medie de 153 ufc/cm² (tabelul 1, anexa 1). Gradul de contaminare a suprafețelor a fost în general crescut, depășind de mii și zeci de mii de ori limitele maxime stabilite prin *Ordinul ANSVSA 91/2005*, care admite 10 ufc/cm² și o enterobacterie/cm².

Analizând nivelul general de contaminare în raport de gradul de finisare al suprafețelor, cel mai crescut nivel de contaminare bacteriană s-a constatat pe **suprafețele din inox**, cu care laptele vine în contact direct. În acest sens se remarcă suprafața interioară a conductei de golire a vasului tampon, la care valoarea medie a N.T.G.M.A. a fost de 378015 ufc/cm², iar valoarea medie a celorlalți doi indicatori urmăriți a fost 1354,5 ufc/cm² pentru enterobacterii și 1890 ufc/cm² pentru *Pseudomonas* spp. Alte puncte cu contaminare bacteriană crescută au fost: suprafața interioară a conductei la ieșirea din pasteurizator (225885 ufc/cm²), suprafața interioară a separatorului de grăsime (224910 ufc/cm²) și suprafața internă a conductei la intrarea în pompa de lapte (36315 ufc/cm²). În probele recoltate din aceste puncte s-au constatat valori crescute și pentru ceilalți doi indicatori urmăriți: numărul mediu de enterobacterii/cm² a fost de 2709 pe suprafața interioară a conductei la ieșirea din pasteurizator, de 170,1 pe suprafața interioară a separatorului de grăsime și de 61,2 pe suprafața internă a conductei (la intrarea în pompa de lapte), iar valoarea medie pe cm² a germenilor din genul *Pseudomonas* a fost de 58,8 pe suprafața interioară a conductei la ieșirea pasteurizare, de 41 pe suprafața interioară a separatorului de grăsime și de 6,39 pe suprafața internă a conductei la intrarea în pompa de lapte.

Analizând comparativ rezultatele obținute prin metoda clasică și prin cele două metode rapide (cu *HyLite* și *Lumitester*) pe suprafețele netede (inox și faianță) se constată că, prin utilizarea metodei *Lumitester*, doar două probe (recoltate de pe vasul în care se face însămânțarea laptelui cu cultură și de pe faianță) din cele 13 analizate au avut valori sub 200 URL/25 cm² (tabelul 5 anexa 1). Prin utilizarea metodei *HyLite* comparativ cu metoda *Lumitester*, doar în trei puncte de recoltare valoarea obținută a depășit 500 URL/25 cm². Coeficientul de corelație cu metoda clasică a fost în ambele cazuri extrem de scăzut: de 0,07 față de metoda *Lumitester* și 0,05 față de metoda *HyLite*.

La probele recoltate de pe **suprafețe de material plastic**, care vin în contact cu laptele, încărcătura bacteriană a fost mare, dar relativ mai scăzută comparativ cu cele prelevate de pe suprafețele din inox. Numărul total de germeni a fost de 158790 ufc/cm² pe suprafața internă a capului distribuitor de lapte, numărul mediu de enterobacterii au fost de 7,2 ufc/cm², iar valoarea medie pentru germenii din genul *Pseudomonas* a fost de 0,99 ufc/cm². Suprafețele din plastic prezintă pori la nivelul cărora este posibilă formarea depozitelor de natură organică, pe care se grefează germenii și care pot constitui puncte de placare pentru formarea biofilmului microbial. În cazul suprafețelor de melamină, valoare medie a NTG a fost de 5697,3 ufc/cm², iar a enterobacteriilor, de 0,6 ufc/cm². Deși prin metoda clasică s-a evidențiat prezența unui număr mare de microorganisme pe suprafața din plastic a capului distribuitor lapte, totuși prin cele două metode rapide de evaluare a gradului de curățenie al suprafețelor rezultatele au fost diferite. Astfel, prin ambele metode, atât la *HyLite* (379 URL/cm²), cât și la *Lumitester* (300 URL/cm²) valorile obținute indică o suprafața curată.

Pe suprafețele de **tip gresie, faianță, mozaic**, care prezintă un grad mai mare de porozitate, comparativ cu cele de inox, dar care nu vin în contact direct cu laptele, încărcătura bacteriană a fost mai redusă și a oscilat de la 9360 ufc/cm² pe plintă, la 5460 ufc/cm² pe mozaic și respectiv la 9 ufc/cm² pe faianța din lăptărie. Cu excepția faianței, la care enterobacteriile și germeii din genul *Pseudomonas* nu au fost puși în evidență, la celelalte două puncte de recoltare menționate, acești indicatori au avut valori oscilante, constatându-se o valoare medie de 132,1 enterobacterii/cm² și 3,6 ufc/cm² germeni din genul *Pseudomonas* pe plintă și, respectiv, 45,6 enterobacterii/cm² și 30,4 ufc/cm² germeni din genul *Pseudomonas* pe mozaic. Pe aceste suprafețe s-a înregistrat depășirea valorii prag pentru suprafețe curate. Astfel, dacă în cazul faianței rezultatele obținute, atât la testarea cu aparatul *Hylite*, cât și cu aparatul *Lumitester* au înregistrat valori foarte apropiate (43 URL/cm², respectiv 49 URL/cm²) și care au depășit de peste două ori limita superioară de admisibilitate pentru suprafețe curate, în cazul pardoseii din mozaic valorile au fost mult mai mari, însă comparabile și de astă dată ca ordin de mărime (1470,8 URL/cm² la aparatul *Hylite*, respectiv 2528,3 URL/cm² la *Lumitester*).

Rezultatele testelor pentru probele recoltate din **unitatea de procesare PC 1** sunt redată în tabelul 2 anexa 1 (sala de tranșare) și tabelul 3 anexa 1 (sala de preparare, ambalare).

În sala de tranșare, numărul total de germeni mezofili aerobi a avut valori diferite, dependent de tipul suprafeței și de raportul dintre acestea cu materia primă (carnea).

Pe suprafețele care au venit în contact direct cu materia primă, valoarea medie a N.T.G. a variat în limite largi, de la 4053 ufc/cm², în cazul probelor recoltate de pe blatul de tranșare, la 20398 ufc/cm² la probele recoltate de pe suprafața interioară a căruciorului de transport carne. Numărul de enterobacterii și germeni din genul *Pseudomonas*, pe aceste suprafețe, au avut valori mai ridicate pe blatul de tranșare, în medie 1124,2 ufc/cm², respectiv 43,5 ufc/cm², comparativ cu interiorul căruciorului de transport carne, unde valoarea medie pentru enterobacterii a fost de 926,9 ufc/cm², iar pentru germeii din genul *Pseudomonas* de 0,25 ufc/cm².

Pe suprafețele cu care materia primă nu intră în contact și care au grad de porozitate diferit de suprafețele metalice, numărul total de germeni mezofili aerobi a oscilat extrem de mult, de la 181,4 ufc/cm², valoarea medie la probele recoltate de pe faianță, la 10519,5 ufc/cm², valoarea medie a probelor recoltate de pe plintă. În plus, s-a constatat că, la probele preluate de pe plintă, numărului de enterobacterii a fost mult mai mare, comparativ cu probele recoltate de pe faianță, fiind de 306,5 ufc/cm² față de 110,3 ufc/cm². În schimb, la probele recoltate de pe faianță s-a constatat o valoare medie de 0,15 ufc/cm² de *Pseudomonas*, comparativ cu probele recoltate de pe plintă, la care acest indicator a avut valoare zero.

Valorile cele mai crescute ale ATP-ului (tabelul 6 anexa 1) au fost constatate pe suprafața interioară a sterilizatorului pentru cuțite (3422 URL/cm² la aparatul *HyLite*) și pe suprafața plintei (2386 URL/cm² la aparatul *HyLite*). Rezultatele se corelează cu încărcătura microbiană detectată pe suprafața ultimului punct de recoltare, nu însă și pentru sterilizator, la care numărul de germeni a fost de 501,5 ufc/cm². Diferențele obținute pot fi atribuite faptului că apa din sterilizator, având temperatura de peste 80° C, inactivează majoritatea germenilor de pe cuțite, însă materia organică persistă, ceea ce conduce la obținerea valorilor crescute de ATP. Trebuie menționat că prelevarea probelor s-a efectuat după golirea apei din sterilizator.

În cazul probelor recoltate de pe diferite tipuri de suprafețe din sala de preparare și ambalare (tabelul 3 anexa 1), valoarea cea mai ridicată a N.T.G. s-a constatat la navele de plastic, de 56085,8 ufc/cm², iar cea mai scăzută, la suportul de lemn pentru batoane, unde, în medie, au fost 128,3 germeni/cm². Nivelul scăzut de contaminare pe suprafața suportului din lemn se datorează reducerii numărului de microorganisme în timpul procesului de fierbere și afumare a preparatelor din carne. Pe suprafețele de metal, care vin în contact cu materia primă, N.T.G. a avut valori crescute, în medie de 34432 ufc/cm², în cazul probelor recoltate de pe masa de inox, de 3013,7 ufc/cm², la probele recoltate din interiorul șprîțului și de 9471,5 ufc/cm², din interiorul tamblerului. Pe suprafețele care nu vin în contact cu materia primă, valoarea N.T.G. a oscilat foarte mult, de la o medie de 2041,3 ufc/cm² în cazul probelor de pe suprafețe de sticlă, la 20534,5 ufc/cm², la probele provenite de pe pardosea (ciment sclivisit) și 17790,7 ufc/cm², la probele recoltate de pe șorțul de cauciuc. Valoarea medie cea mai crescută de enterobacterii s-a constatat la probele preluate de pe pardosea, fiind de 568,8 ufc/cm² și cea mai scăzută, de 0,29 ufc/cm², la probele recoltate din interiorul tamblerului. Numărul de bacterii din genul *Pseudomonas* a fost crescut în cazul probelor recoltate de pe navele de plastic, fiind în medie de 14,4 ufc/cm² și a avut valoarea zero în cazul probelor recoltate de pe sticlă. De remarcat este faptul că în cazul suprafețelor de inox toți cei trei indicatorii urmăriți au avut valori medii crescute, de 34432 ufc/cm² pentru NTG, de 94 ufc/cm² pentru enterobacterii și de 6,75 ufc/cm² pentru *Pseudomonas*.

Și în acest caz, la suprafața cu cel mai înalt grad de contaminare, naveta din material plastic, prin cele două metode rapide s-au înregistrat valorile cele mai crescute, respectiv 2155,5 URL/cm² la *HyLite* și 963,2 URL/cm² la *Lumitester* (tabelul 7 anexa 1). Următoarea suprafață cu un grad înalt de contaminare microbiană, la care s-a înregistrat un nivel ridicat de URL, a fost pardoseaua din ciment sclivisit (1320 URL/cm² la aparatul *HyLite*, respectiv 505,9 la aparatul *Lumitester*). Coeficientul de corelație cu metoda clasică a fost de în ambele cazuri extrem de scăzut: de 0,07 față de metoda *Lumitester* și 0,05 față de metoda *HyLite*.

În **unitatea de abatorizare-procesare a cărnii de porc (PC 2)**, după cum rezultă din tabelul 4 anexa 1, nivelul general de contaminare a înregistrat fluctuații destul de importante, de la câteva zeci de ufc/cm² pe unele suprafețe (suprafața discului de tranșare, suprafața mesei din inox), la valori de ordinul 10⁴ ufc/cm² pe alte suprafețe de din care au fost recoltate probe (țapinele de agățare a pieselor de carne, interiorul navetelor din material plastic, cuțitul de tranșare și șorțul din PVC).

Dacă se analizează gradul de contaminare al acestor suprafețe în funcție de materialul din care sunt confecționate se constată că, **pe suprafețele din plastic**, încărcătura microbiană nu a fost mai redusă de 10^2 ufc/cm² (blaturile de tranșare a cărnii, suportul din plastic al ascuțitorului de cuțite și suprafața ușii). Valorile cele mai ridicate însă au fost consemnate la suprafața interioară a navetelor din plastic (34136,6 ufc/cm²) și a șorțului din PVC (12401,8 ufc/cm²). În primul caz, naveta de transport carne, încărcătura microbiană crescută poate fi explicată prin apariția, în timp, a crăpăturilor și a zgârieturilor în structură, adevărate breșe pentru acumularea resturilor de carne și grăsime - substrat nutritiv excelent pentru multiplicarea microorganismelor prezente la acest nivel. În cel de-al doilea caz, suprafața șorțului din PVC, este important de menționat faptul că probele au fost recoltate de la nivelul de contact a acestuia cu masa de tranșare și, implicit, cu piesele de carne, astfel încât se poate considera că încărcătura microbiană crescută reprezintă urmarea contaminărilor repetate cu bucățile de carne manipulate. Această afirmație este susținută și de constatarea, la acest nivel, a celui mai ridicat număr de enterobacterii (134,6 ufc/cm²). În același timp, este de remarcă că, pentru ambele puncte de recoltare cantitatea de ATP, exprimată în unități relative de lumină, în cazul ambelor aparate utilizate (naveta din plastic: 748 la aparatul *HyLite* și 1895 la aparatul *Lumitester*, iar în cazul șorțului: 302,8 la aparatul *HyLite* și 419,7 la aparatul *Lumitester*), a depășit limita maximă specificată de producătorul aparatului pentru ca suprafețele să fie considerate curate (tabelul 8 anexa 1).

Aparent surprinde faptul că, dintre toate suprafețele examinate, cea mai mare valoare a N.T.G.M.A. a fost constatată pe o **suprafață de inox** - suprafața șașinelor de agățare a pieselor tranșate: pulpă, spată, cotlet etc. (74967 ufc/cm²), valoare care depășește, spre exemplu, de peste 10 ori încărcătura pardoselii din rășină epoxidică (618 ufc/cm²), suprafață cu un grad mare de rugozitate. Forma suportului de agățare a pieselor de carne (brăduț) explică această observație, prin dificultățile care se întâmpină la spălarea și decontaminarea acestor dispozitive, cu posibilități sporite de formare a biofilmului bacterian, care, în timp favorizează degradarea inoxidului prin coroziune și pierderea însușirilor inițiale (de suprafață netedă), la acest nivel.

Pe suprafața șașinelor din inox (tabelul 8 anexa 1), atât la utilizarea aparatului *HyLite*, cât și în cazul aparatului *Lumitester* rezultatele obținute au fost apropiate ca valoare (30581,2 URL/cm², respectiv, 3661,1 URL/cm²), ceea ce susține constatarea anterioară. Pe de altă parte, nivelul redus de germeni mezofili aerobi pe suprafața de pardoseală poate fi explicat și ca urmare a faptului că în secția de tranșare a cărnii era menținut un grad ridicat de curățenie, iar temperatura din spațiul de lucru a fost, în mod constant, sub 10° C. Cu toate acestea însă, probabil că flora dominantă face parte din categoria psihrotrofă (deși nu au fost izolați germeni din genul *Pseudomonas*), care nu se dezvoltă și în condiții de mezofilie și care nu a fost evidențiată în cadrul acestui experiment. Această ipoteză este susținută, în parte, de valorile ridicate de ATP obținute de pe rășina epoxidică (1706,4 URL/cm² la aparatul *HyLite* și 349,6 URL/cm² la aparatul *Lumitester* URL/cm²), care provine și din resturile de materie organică, chiar dacă aparent suprafața era lipsită de murdărie (tabelul 8 anexa 1).

În ceea ce privește contaminarea celorlalte suprafețe de prelevare a probelor, de natură **rugoasă**, mănușile și șorțul din zale, suprafețe care vin în contact nemijlocit cu carnea, valorile medii obținute pentru NTGMA au fost destul de diferite (370,4 ufc/cm², respectiv 2042,6 ufc/cm²), mai ales având în vedere asemănarea de structură a materialelor din care sunt confecționate, precum și faptul că sunt în permanență în contact cu piesele de carne. Încărcătura mai redusă a mănușilor poate fi pusă pe seama faptului că acestea sunt clătite periodic cu apă caldă sub presiune, însă șorțul nu poate fi igienizat în acest mod. În cazul ambelor locuri de recoltare a fost depășită valoarea limită de ATP pentru a considera suprafețele curate (în cazul mănușilor 707,6 URL/cm² la aparatul *HyLite* și 614,2 URL/cm² la aparatul *Lumitester*, iar în cazul șorțului din zale 58,6 URL/cm² și 385,6 URL/cm² la aparatul *Lumitester*).

Suplimentar față de activitățile prevăzute în planul de realizare al proiectului pentru anul 2009 au fost efectuate cercetări pentru evaluarea nivelului de contaminare într-o unitate de vânzare cu amănuntul (VA 2) și o unitate de sacrificare a păsărilor (PP). În aceste două experimente exprimarea valorilor obținute s-a făcut logaritmic pentru a uniformiza rezultatele și a le putea compara (fig. 1 și fig. 2 anexa 2).

Nivelul general de contaminare a suprafețelor inerte în unitatea de vânzare cu amănuntul (VA 2) a fluctuat între 0,85 log₁₀ (pe suprafața firizului și a blatului de tranșare a sferturilor de vită) și valori de peste 3 logaritmi (3,26 log₁₀ șorțul măcelarului și 3,99 log₁₀ suprafața carcabei de vită). În ansamblu, nivelul de contaminare bacteriană a fost mai crescut pe suprafețele greu accesibile pentru operațiunile de spălare și decontaminare, spre exemplu suprafața interioară a instalației pentru umplut membrane (3,01 log₁₀) și blatul de tranșare a cărnii de porc (2,64 log₁₀), care pot fi colonizate de microorganisme și în care se pot dezvolta asociații bacteriene, de tipul biofilmului microbian (fig. 1 anexa 2).

Dacă se analizează datele obținute prin metoda de determinare a ATP-ului cu aparatul *HyLite* și cele obținute prin metoda clasică se constată că rezultatele sunt comparabile în cazul unor puncte de recoltare, cum ar fi suprafața carcabei (pulpă) de vită (3,16 log₁₀, respectiv 3,99 log₁₀), suprafața interioară a mașinii de tocat carne (1,62 log₁₀ și 1,78 log₁₀) și suprafața peretelui din PVC (1,91 log₁₀, respectiv 1,97 log₁₀).

În schimb, în cazul aparatului *Lumitester*, rezultate apropiate ca valoare pentru metoda rapidă și metoda standard au fost obținute numai în cazul unei suprafețe – suprafața bărzii (0,82 log₁₀ și, respectiv, 0,95 log₁₀).

Coeficientul de corelație între valorile obținute la măsurarea ATP-ului și prin determinarea numărului total de germeni a fost foarte scăzut (0,05 pentru *HyLite* și un coeficient negativ, de -0,48 pentru *Lumitester*), rezultate care ne îndreptățesc să afirmăm că cele trei teste nu se corelează.

Rezultatele obținute în unitatea de sacrificare a păsărilor sunt redată în fig. 2 anexa 2. Nivelul general de contaminare a fost mai crescut decât în unitatea analizată anterior (VA 2). Este necesară însă specificarea că în unitatea de sacrificare a păsărilor probele au fost prelevate în timpul desfășurării procesului tehnologic, iar în unitatea de vânzare cu amănuntul VA 2, înainte de începerea lucrului.

Gradul de contaminare generală a înregistrat variații între $1,55 \log_{10}$ pe suprafața faianței, $4,74 \log_{10}$ pe suprafața blatului de finisare a deplumării și $4,84 \log_{10}$ pe suprafața penelor. Se poate observa că nivelul de contaminare a fost mai ridicat în zonele *murdare*, în comparație cu cele *curate*. Aceeași diferență a fost semnalată și la măsurarea ATP, în zona *curată*, într-un număr însemnat de puncte de recoltare valoarea medie a cantității de ATP fiind situată sub $1 \log_{10}$ URL. După cum se poate constata din fig. 2 anexa 2, nici în această unitate nu au fost constatate similitudini în ceea ce privește rezultatele obținute prin metodele rapide și metoda clasică, probele analizate prin metoda standardizată înregistrând valori mai ridicate cu 2 sau chiar 3 logaritmi.

Pentru cele două aparate, *HyLite* și *Lumitester*, rezultate comparabile au fost obținute doar în cazul suprafeței carcasi de pui după dușare ($0,7 \log_{10}$ pentru *HyLite*, respectiv $0,60 \log_{10}$ pentru *Lumitester*). Și în acest caz coeficientul de corelație cu metoda clasică este scăzut ($0,02$ pentru *HyLite* și $0,36$ pentru *Lumitester*).

Și alți cercetători au constatat o variabilitate destul de mare în rezultatele obținute prin metodele standardizate și metodele luminometrice, ajungând practic la aceeași concluzie ca și noi, că aceste metode nu pot stabili cu precizie nivelul de contaminare microbiană a diferitelor suprafețe din industria alimentară.

2. Evidențierea biofilmului microbial de pe suprafețe inerte cu grad diferit de finisare prin microscopia cu fluorescență

În probele prelevate de pe suprafețele din unitatea de procesare a laptelui și din unitatea de prelucrare a cărnii s-a constatat prezența microorganismelor sub formă de colonii izolate sau incluse în matricea biofilmului.

În unitatea de procesare a laptelui aglomerări de microorganisme incluse în biofilm au fost constatate în următoarele puncte de recoltare: suprafața interioară a tancului de răcire, suprafața interioară a separatorului de smântână, suprafața pardoselii, suprafața interioară a conductei înainte de intrarea în pompa de lapte la nivelul garniturii de cauciuc și suprafața paletii din tancul de răcire (fig. 3, fig. 4, fig. 5, fig. 6, fig. 7 – anexa 2).

În probele pentru evidențierea germenilor-test recoltate din aceleași puncte în care a fost evidențiată prezența biofilmului microbial, pe fluxul de prelucrare al laptelui, nivelul de contaminare (apreciat prin însămânțare pe medii de cultură), a fost diferit. Astfel, pe suprafețele mai greu accesibile pentru a fi igienizate, respectiv: suprafața interioară a conductei înainte de intrarea în pompa de lapte, la nivelul garniturii de cauciuc, suprafața interioară a separatorului de smântână și suprafața pardoselii, nivelul general de contaminare a fost cuprins între 1×10^4 și 5×10^5 , cu un număr de enterobacterii de 5×10^2 – 5×10^3 și 80 de germeni din genul *Pseudomonas* pe cm^2 . În celelalte probe (suprafața paletii agitatorului din tancul de răcire și suprafața interioară din inox a tancului de răcire și depozitare), nivelul general de contaminare a variat de la 9×10^2 la 1×10^4 , fără izolarea enterobacteriilor și a germenilor din genul *Pseudomonas*. *Czechowski și col.* cit. de *Amy Lee Wong* au semnalat prezența biofilmului la nivelul garniturilor de cauciuc ale echipamentelor din unitățile de procesare a laptelui.

În ansamblu, în unitatea de procesare a laptelui (PL), prezența biofilmului microbial a fost identificată pe suprafețele care prezentau un anumit grad de rugozitate: suprafața garniturii de cauciuc înainte de intrarea în pompa de lapte, paleta agitatorului din tancul de lapte, suprafața separatorului de smântână și pardoseala. Întrucât majoritatea suprafețelor din industria laptelui sunt din inox, cu un grad ridicat de finisare, pe care microorganismele aderă mult mai greu, explică identificarea prezenței biofilmului microbial doar de pe suprafața câtorva puncte din care au fost recoltate probe.

La examinarea frotiurilor efectuate din probele în care s-a evidențiat prezența biofilmului microbial (la suprafețele care vin în contact cu laptele înainte de pasteurizare), în majoritatea cazurilor (cu excepția suprafeței tancului de răcire a laptelui după pasteurizare), au predominat cocci Gram pozitivi și bacilii și cocobacili Gram negativi. În mod asemănător, *Amy Lee Wong* a izolat frecvent coci și bacili Gram pozitivi de pe suprafața echipamentelor de procesare a laptelui.

Suprafețele pe care a fost evidențiată prezența biofilmului și care vin contact cu laptele se pot constitui în surse de contaminare cu microorganisme care se pot detașa periodic din aceste structuri și pot contamina produsele alimentare.

În unitatea de procesare a cărnii (PC1) (încărcătura microbiană globală a înregistrat niveluri variabile, de la 4×10^2 ufc/ cm^2 pe suprafața interioară a sterilizatorului la $1,7 \times 10^4$ ufc/ cm^2 pe suprafața capacului sterilizatorului și a șorțului de cauciuc. Contaminarea cu enterobacterii a acestor suprafețe a variat de la 1 la $2,1 \times 10^3$, iar germenii din genul *Pseudomonas* au fost prezenți în număr mic 1 – 12 ufc/ cm^2 .

Din zonele din care au fost recoltate probe pentru evidențierea încărcăturii bacteriene prezența biofilmului microbial s-a putut evidenția doar pe următoarele suprafețe: suprafața interioară și pe capacul (din plastic) sterilizatorului de cuțite și pe suprafața de cauciuc a șorțului măcelarilor (fig. 8, fig. 9 anexa 2). Pe aceste suprafețe microorganismele au fost prezente sub formă de aglomerări incluse în structuri de tip biofilm. De altfel, evidențierea biofilmului pe suprafețele din industria de procesare a cărnii a fost semnalată și în alte lucrări de specialitate. De pildă *Lawrence și col.* au fost identificate nișe de formare a biofilmului microbial pe suprafața conveierelor de transport, a meselor de tranșare, a cuțitelor, firizului.

Deși au fost prelevate probe și de pe alte suprafețe, pe care, în mod teoretic, ar fi trebuit să identificăm prezența biofilmului microbial, totuși acesta nu a fost evidențiat. Probabil, nereușita are drept cauză metoda de prelevare, prin raclare, a biofilmului. Spre exemplu, *Holah și col.* cit. de *Hood și Zottola* consideră că recoltarea probelor prin îndepărtarea de pe suprafețe are acuratețe mai mare dacă nivelul de contaminare depășește $10^5/\text{cm}^2$ și că sub aceste valori examinarea microscopică directă ar fi mai utilă.

La examinarea frotiurilor (colorate prin metoda Gram), efectuate din probele în care s-a evidențiat prezența biofilmului microbial, au predominat bacilii și cocobacili Gram negativi și cocci Gram pozitivi.

În **unitatea de abatorizare procesare a cărnii de porc PC 2** s-a evidențiat prezența biofilmului microbial pe suprafețe construite din materiale diferite (inox, plastic și rășini epoxidice) prin microscopia cu fluorescență. S-a identificat prezența biofilmului microbial într-un număr de 13 puncte de pe fluxul de prelucrare a cărnii.

Astfel, în probele recoltate **din sala de tranșare** s-a evidențiat prezența biofilmului pe suprafețe din inox (masa de lucru din inox, interiorul cărucioarelor de transport, cuțitul de tranșare, țapinele de agățare), din plastic (blatul de tranșare, naveta, perete din PVC, ușă) și rășini epoxidice (pardosea) (fig. 10 - 18 anexa 2). Nivelul general de contaminare a fost de $10^2 - 10^4$ ufc/cm², fără ca enterobacteriile sau germenii din genul *Pseudomonas* să fie prezenți într-un număr semnificativ pe aceste suprafețe. Identificarea biofilmului pe suprafețele de inox s-a făcut de regulă, în zonele de îmbinare la care gradul de finisare a fost mai scăzut posibilități sporite de formare a biofilmului bacterian, care, în timp favorizează degradarea inoxidului prin coroziune și pierderea însușirilor inițiale (de suprafață netedă), la acest nivel. Pe suprafețele din material plastic și pe suprafața pardoselii din rășini epoxidice, posibilitatea de formare a biofilmului este mult mai mare din cauza gradului ridicat de rugozitate al acestor suprafețe, a posibilităților de aderare și menținere filmului bacterian la acest nivel și ca urmare a formării pe suprafețele din plastic a crăpăturilor apărute prin învechirea acestora. La examinarea frotiurilor (colorate prin metoda Gram), efectuate din probele în care s-a evidențiat prezența biofilmului microbial, au predominat bacilii Gram negativi și cocci Gram pozitivi.

Și alți cercetători au evidențiat prezența biofilmului microbial pe suprafețele din industria alimentară. Biofilmul poate crea serioase probleme în unitățile de procesare a alimentelor, ca urmare a posibilității de contaminare a produselor alimentare, care are ca rezultat reducerea calității și siguranței acestora. Suprafața echipamentelor utilizate la procesarea alimentelor, îndeosebi cele igienizate necorespunzător, se pot constitui în surse de contaminare microbială. Chiar în condițiile aplicării *Bunelor practici de igienă și de tehnologie*, microorganismele pot rămâne pe suprafața echipamentelor și să formeze biofilm. Zonele mai dificil de igienizat (îmbinările, garniturile din cauciuc), suprafețele umede (pardoseaua, banda transportoare), suprafețele care se pot coroda prin învechire sunt susceptibile la formarea structurilor de tip biofilm.

Obiectiv: EVIDENȚIEREA PREZENȚEI BIOFILMULUI MICROBIAN PE SUPRAFAȚA CARCASELOR

Activitatea

1. *Evidențierea gradului de contaminare microbială a carcaselor prin aplicarea metodei cu ATP bioluminescență comparativ cu însămânțarea pe medii de cultură*

Calitatea și salubritatea materiei prime utilizată în industria preparatelor din carne influențează într-o mare măsură calitatea produsului finit obținut și condiționează conservabilitatea ulterioară a produselor. Nivelul de contaminare al carcaselor, la finalul procesului tehnologic, este influențat de condițiile igienice existente de-a lungul fluxului de sacrificare. Sursa cea mai importantă de microorganisme este reprezentată de conținutul intestinal al animalelor sacrificate, prin intermediul cărora carcasele se pot contamina cu microorganisme patogene pentru consumator (*E. coli*, *salmonelle* etc). Prin utilizarea metodelor clasice rezultatele se obțin uneori după ce carcasele au fost procesate sau livrate, ca urmare, este necesară utilizarea unor metode rapide de identificare a posibilelor zone contaminate de pe suprafața carcaselor.

Cercetările referitoare la variația nivelului de contaminare a carcaselor s-au efectuat în două unități o unitate de abatorizare procesare a cărnii de porc (PC 2), o unitate de prelucrare a cărnii (PC 1) și o unitate de vânzare cu amănuntul (VA 1). Rezultatele obținute sunt prezentate în tabelele 13, 14, 15, 16 anexa 1.

În unitatea de *abatorizare procesare a cărnii de porc (PC 2)*, nivelul general de contaminare a carcaselor a variat de la $1,3 \times 10$ ufc/cm² la $2,6 \times 10^3$ ufc/cm², cu un număr de enterobacterii cuprins între $2,5$ ufc/cm² și $3,5 \times 10^2$ ufc/cm², iar germenii din genul *Pseudomonas* au fost absenți în toate probele analizate. Cel mai ridicat nivel de contaminare s-a constatat în probele recoltate de pe fața internă a pulpei ($2,6 \times 10^3$ ufc/cm²), iar cel mai scăzut nivel de contaminare în probele recoltate din zona cefei ($1,3 \times 10$ ufc/cm²). În toate probele recoltate N.T.G.M.A. s-a situat sub limita maximă de $4 \log$ ufc/cm² stabilită prin *Regulamentul UE 1441/2007 privind criteriile microbiologice pentru produsele alimentare*. De asemenea și numărul de enterobacterii s-a situat sub $2 \log$ ufc/cm² valoare stabilită de același regulament. Contaminarea suprafeței carcaselor se realizează în diferite faze ale prelucrării acestora, dar și în timpul refrigerării prin intermediul aeromicroflorei.

În cazul utilizării metodei *HyLite* valorile obținute, exprimate în unități luminometrice, au depășit constant $500 \text{ URL}/25\text{cm}^2$ (valoare prag de admisibilitate pentru suprafețele curate) în șase din cele zece zone recoltate de pe suprafața carcasei. Astfel, valorile obținute au variat de la $196 \text{ URL}/\text{cm}^2$ în regiunea abdominală

ventrală, la 2065 URL/cm² în regiunea mușchilor maseteri. Doar în probele recoltate de pe fața internă a coastelor, regiunea abdominală ventrală, regiunea coccigiană și regiunea cefei valorile obținute s-au situat în limitele considerate acceptabile pentru suprafețe curate.

Prin utilizarea metodei *Lumitester* în toate probele recoltate valorile au depășit valoarea limită pentru suprafețele considerate curate. Rezultatele obținute au variat de la 975 URL/cm² la 4993 URL/cm², fără ca să se constate variații prea mari de la o regiune de recoltare la alta.

Coefficientul de corelație între metoda clasică și metoda *HyLite* a fost de 0,18 iar în cazul metodei *Lumitester* a fost de 0,10. În ambele cazuri valoarea scăzută a acestui coeficient evidențiază faptul că între cele două metode nu există practic nici un fel de corelație.

Una din limitele aparatelor utilizate în cadrul experimentelor, este aceea că nu diferențiază ATP - ul microbial de cel provenit din alte surse. Pe suprafața carcaselor există de altfel o cantitate mare de ATP provenit din alte surse. În plus, microflora de pe suprafața cărnii (diferită pentru carcasele de vită și de porc sau de pasăre) este reprezentată de o populație heterogenă, aflată în diferite faze de creștere și cu un conținut diferit de ATP.

Rezultatele obținute în probele recoltate de pe suprafața carcaselor din depozitul de refrigerare al *unității de procesare a cărnii* (PC1) sunt prezentate în tabelul 13 anexa 1.

Nivelul general de contaminare al carcaselor la recepția în această unitate a fost mult crescut față de încărcătura microbială globală a carcaselor din unitatea de abatorizare-procesare a cărnii de porc (carcasele proveneau din această unitate). Astfel, în patru din cele 8 regiuni de pe suprafața diferitelor carcace, contaminarea generală a depășit limita maximă de 4 log ufc/cm² stabilită prin *Regulamentul UE 1441/2007* (40). Regiunile în care s-au înregistrat aceste depășiri au fost: regiunea gâtului și a pieptului (4,37 log ufc/cm²), fața internă a pulpei (4,49 log ufc/cm²), regiunea abdominală laterală (5,45 log ufc/cm²) și regiunea coccigiană (4,55 log ufc/cm²). În cazul enterobacteriilor doar în două probe (fața internă a pulpei și regiunea coccigiană) numărul acestora a fost mai mare decât limita maximă admisă, 2 log ufc/cm², restul valorilor înregistrate s-au situat sub această valoare.

Prezența germenilor din genul *Pseudomonas* pe suprafața carcasei s-a constatat în șase din cele opt regiuni din care s-a făcut recoltarea. Nivelul crescut de contaminare a suprafeței carcaselor constatat în această unitate este fie rezultatul contaminării în timpul transportului, fie al multiplicării microorganismelor la temperaturi scăzute, ca urmare a depozitării carcaselor în condiții de refrigerare, o perioadă mai îndelungată. Cert este faptul că utilizarea în procesul de fabricație a unei materii prime cu un nivel de contaminare așa de crescut conduce la obținerea unor produse intens contaminate, care necesită aplicarea unui tratament termic la parametri superiori de temperatură și timp de expunere, pentru a corespunde cerințelor de calitate și siguranță reglementate de legislație.

În ceea ce privește determinarea cantității de ATP de pe suprafața carcaselor prin metoda *HyLite* și *Lumitester* rezultatele sunt prezentată în tabelul 9 anexa 1.

Prin metoda *HyLite* au fost obținute valori crescute ale cantității de ATP pe suprafața carcasei în șase din cele opt zone din care s-a făcut recoltarea. Valorile înregistrate au variat de la 213 URL/cm² în regiuni toracală, la 2340 URL/cm² în regiuni abdominală laterală. Doar în două regiuni valorile obținute s-au situat sub limita de 500 URL/25cm² (regiunea toracală și regiunea vertebrelor cervicale).

Prin metoda *Lumitester* s-a constatat o variație mai mare a cantității de ATP din probele recoltate din diferitele regiuni ale carcasei. Astfel, cantitatea de ATP a variat de la 16 URL/cm² (regiunea toracală) la 13500 URL/cm² (regiunea gâtului și a pieptului). În șase din cele opt regiuni examinate valorile obținute s-au încadrat sub 200 URL/cm². Constatarea făcută anterior referitoare la existența unei cantități mari de ATP pe suprafața carcaselor, care nu evidențiază ATP doar din surse microbiene, este valabilă și în acest caz. Coeficientul de corelație obținut între metoda clasică și metoda *HyLite* a fost de 0,08, iar cu metoda *Lumitester* a fost de 0,55, ceea ce denotă existența unei corelații pozitive slabe cu metoda de referință.

Pe suprafața **carcaselor de vită din unitatea de vânzare cu amănuntul (VA1)** încărcătura microbială a fluctuat de la 2,2 log ufc/cm² în probele recoltate din zona costală, la 4,36 log ufc/cm² la probele recoltate din regiunea toracoabdominală (tabelul 15 anexa 1). În trei din cele șapte probe recoltate numărul de germeni a depășit valoarea de 3,5 log ufc/cm² (regiunea pulpei 3,42 log ufc/cm², regiunea toracoabdominală 4,36 log ufc/cm² și regiunea pieptului 3,55 log ufc/cm²). Enterobacteriile au fost prezente în trei puncte de recoltare: regiunea pulpei, regiunea toracoabdominală externă și internă. Deși nu există limite legislative referitoare la încărcătura microbială a carcaselor în unitățile de vânzare cu amănuntul, totuși valorile obținute depășesc limitele stabilite pentru numărul de germeni de pe suprafața carcaselor de vită în abator, de 3,5 log ufc/cm² pentru N.T.G.M.A. și 1,2 log ufc/cm² pentru enterobacterii. Prelucrarea unor astfel de carcace în produse din carne, dar și în piese tranșate, va determina obținerea unor produse cu o capacitate de conservare mult diminuată.

În ceea ce privește cantitatea de ATP de pe suprafața carcaselor de vită, în probele examinate prin metoda *HyLite*, în toate cazurile s-au obținut valori sub 500 URL/25 cm². În cazul metodei *Lumitester* doar în două regiuni, fața internă a musculaturii toracoabdominale și regiunea gâtului, valorile au depășit 200 URL/25 cm². Coeficientul de corelație cu metoda clasică a fost de 0,14 cu metoda *Lumitester* și 0,11 cu metoda *HyLite*.

Spre deosebire de datele obținute în cercetările efectuate de noi, *Bautista și col.* au obținut o corelație pozitivă cu metoda clasică în toate cele 159 de probe recoltate de pe suprafața carcaselor de vită.

Carcasele de pui în unitate de vânzare cu amănuntul (VA 1) au prezentat un nivel de contaminare mai scăzut decât cel constatat în cazul carcaselor de vită (tabelul 16 anexa 1). Astfel, N.T.G.M.A. a variat de la 177 ufc/cm² în regiunea axilară, la 795 ufc/cm² în regiunea pieptului. Enterobacteriile au fost prezente, în număr mic, pe toate suprafețele examinate. În regiunea pieptului, în care încărcătura globală și numărul de enterobacterii au fost mai crescute s-a evidențiat și prezența pseudomonadelor. Cu aparatul *HyLite* valorile ATP-ului au fost relativ scăzute (sub 20 URL/cm²), iar prin metoda *Lumitester* au fost, în medie, de 3000 URL/cm². Coeficientul de corelație între metoda clasică și metoda *HyLite* a fost de 0,11, iar cu metoda *Lumitester* a fost de 0,68, considerată corelație pozitivă medie.

2. Evidențierea biofilmului microbial de pe suprafața cărnii prin microscopia cu fluorescență

Analiza imaginilor obținute la probele prelevate de pe suprafața carcaselor de porc, bovine și pasăre s-a constatat prezența microorganismelor sub formă de colonii izolate sau incluse în matricea biofilmului.

Pe suprafața carcaselor din **unitatea de abatorizare-procesare a cărnii de porc (PC 2)** aglomerări de microorganisme incluse în biofilm au fost constatate în regiunea sternală și în regiunea coastelor, precum și pe suprafața pieselor din carne tranșate, cu o vechime de 5 zile, pe fața internă a pulpei, regiunea coccigiană și suprafața musculară a cotletului (fig. 19 - 23, anexa 2).

Nivelul de contaminare în regiunile în care a fost evidențiată prezența biofilmului microbial a fluctuat de la 10² la 10⁴ ufc/cm², enterobacteriile au fost prezente în număr redus, iar gemenii din genul *Pseudomonas* au fost absenți.

În probele recoltate de pe suprafața carcasei de bovine din unitatea de vânzare cu amănuntul (VA 1) a fost identificată prezența biofilmului în regiunea toracoabdominală, regiunea pieptului și regiunea costală (fig. 24 - 26 anexa 2). Și în acest caz, nivelul general de contaminare a carcaselor a fost de 10³ - 10⁴ ufc/cm², numărul de enterobacterii a fost de 23370 ufc/cm², iar numărul de germeni din genul *Pseudomonas* nu a depășit valoarea de 20 ufc/cm². Cantitatea de ATP măsurată cu aparatul *Lumitester* a înregistrat valori care au depășit, la toate probele din care s-a izolat biofilm, valoarea de 200 URL/ 25 cm². Rezultatele obținute susțin existența unei corelații pozitive între prezența biofilmului, cantitatea de ATP și încărcătura microbială.

Suprafața produselor alimentare poate fi colonizată cu microorganisme sub forma biofilmului microbial, care poate reprezenta, în anumite condiții, un potențial pericol pentru consumatorul uman. Sunt relativ puține cercetări care au evidențiat prezența microorganismelor pe suprafața produselor alimentare și cu atât mai puțin pe suprafața carcaselor.

5. CONCLUZII

- Prezența biofilmului microbial** a fost evidențiată pe **cinci suprafețe din unitatea de procesare a laptelui (60% din totalul suprafețelor examinate)** (suprafața interioară a tancului de răcire, suprafața interioară a separatorului de grăsimi, suprafața garniturii de cauciuc la intrarea în pompa de lapte, suprafața paletei din tancul de răcire) și pe **două suprafețe din unitatea de procesare cărnii PC 1** (interiorul sterilizatorului de cuțite și șorțul de cauciuc).
- În **unitatea de abatorizare-procesare (PC 2)** prezența biofilmului microbial s-a evidențiat pe **nouă suprafețe (52,2% din totalul suprafețelor examinate)** (masa de lucru din inox, interiorul cărucioarelor de transport, cuțitul de tranșare, șașurile de agățare, blatul de tranșare, naveta, perete din PVC, ușă, pardosea).
- Suprafețele pe care s-a identificat prezența biofilmului microbial** au fost suprafețe cu grad diferit de rugozitate: inox cu grad scăzut de finisare și zone de corodare, plastic cu grad mare de porozitate, cauciuc și pardosea rugoasă din rășini epoxidice.
- Pe **suprafața carcaselor și a pieselor tranșate din carne de porc** biofilmul microbial a fost evidențiat **într-un număr relativ crescut de probe (29,4%)**, pe carcasele care prezentau o vechime de cel puțin trei zile, în următoarele regiuni: **regiunea sternală, regiunea costală, suprafața musculară a cotletului, regiunea coccigiană și fața internă a pulpei.**
- Pe **suprafața carcaselor de bovine** a fost identificată prezența biofilmului **în regiunea toracoabdominală, regiunea pieptului și regiunea costală (42% din probe).**
- Nivelul general de contaminare pe diferitele suprafețe** din unitățile de procesare și pe suprafața cărnii, în regiunile în care a fost evidențiată prezența biofilmului microbial, **a fluctuat, în medie, de la 10² la 10⁴ ufc/cm².**
- Rezultatele obținute prin aplicarea **metodelor care evidențiază prezența ATP-ului s-au corelat doar în mică măsură cu rezultatele obținute prin metoda standardizată** de numărare directă a microorganismelor mezofile aerobe.
- Metoda cu ATP bioluminescența** care utilizează **aparatul Lumitester** ar putea reprezenta o **metodă de monitorizare rapidă și orientativă a microflorei carcaselor.**