

## I. POSTOPKI VZORČENJA TRUPOV GOVED, PRAŠIČEV, OVAC, KOZ IN KONJEV V KLAVNICAH

Postopki vzorčenja obsegajo vzorčenje, obdelavo vzorcev in predstavitev rezultatov za vrednotenje mikrobiološke kontaminacije površine trupov.

### 1. METODE VZORČENJA

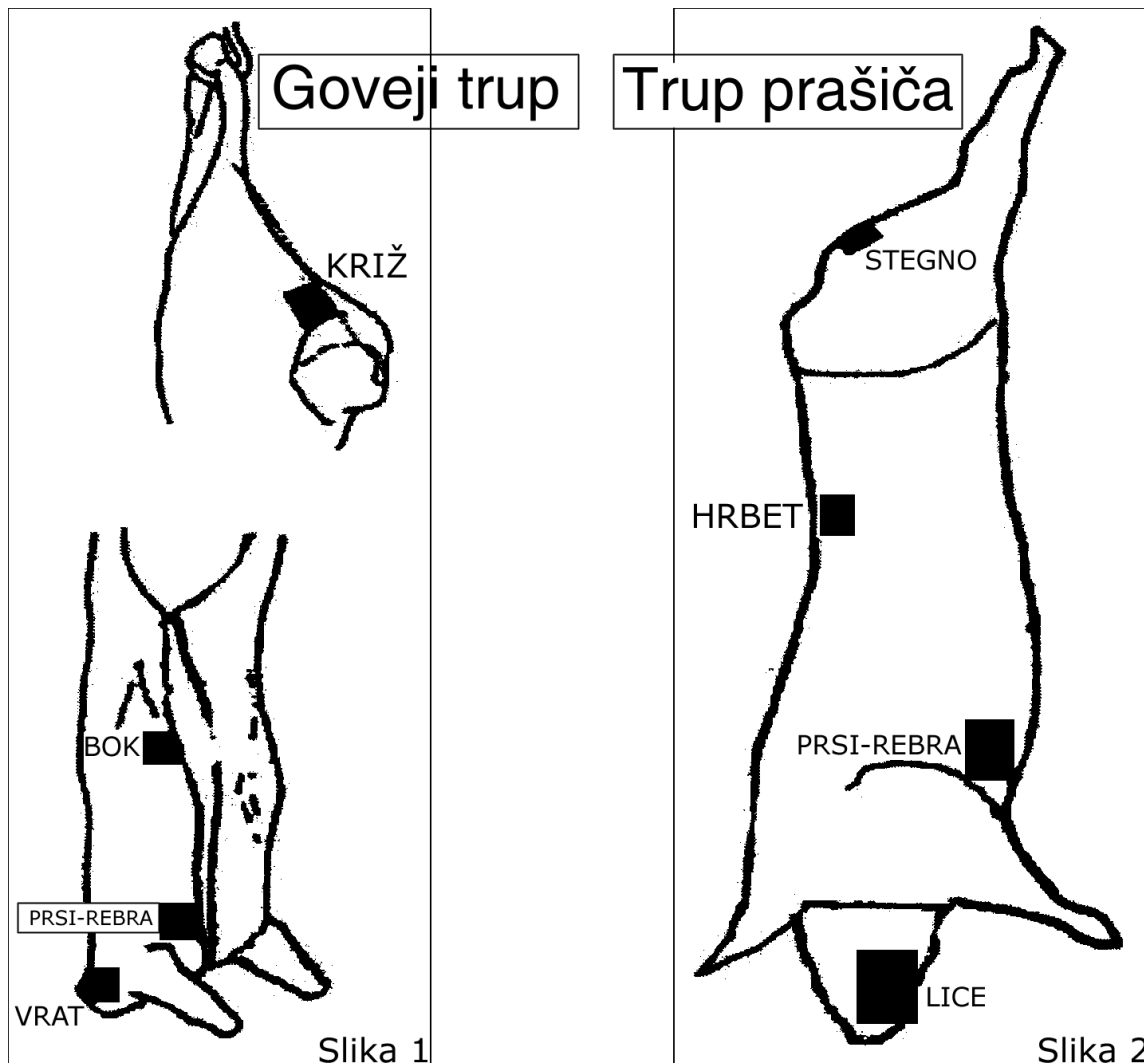
Po **destruktivni (agresivni) metodi** je treba s trupa, po končani obdelavi trupa, vendar pred hlajenjem, odvzeti štiri vzorce tkiva v skupni površini 20 cm<sup>2</sup>. Koščke tkiva se lahko odvzame s sterilnim luknjačem za plutovinaste zamaške premera 2,5 cm ali tako, da se s sterilnim instrumentom (skalpel, škarje) s trupa odreže rezino 5 cm<sup>2</sup>. V obeh primerih rezine mesa ne smejo biti debelejšje od 5 mm. V klavnici se vzorci aseptično namestijo v sterilno posodo za vzorce ali plastično vrečko za pripravo razredčitev in odpremijo v laboratorij.

Po **nedestruktivni metodi** - z **brisi** je treba pred odvzemom vzorcev najprej navlažiti vato za odvzem brisov. Kot sterilni bujon za navlažitev vate za odvzem brisov se uporabi 0,1 % raztopina peptona in 0,85 % NaCl. Površina za odvzem brisov mora biti velika 100 cm<sup>2</sup> za vsako mesto vzorčenja. Vatenka se mora namakati v raztopini vsaj pet sekund. Pred odvzemom brisa je treba vatenko temeljito otreti ob rob posode, da se odcedi odvečna tekočina. Površino mesa je treba obrisati najprej navpično, nato vodoravno in končno diagonalno, ne manj kot 20 sekund preko celotne površine mesa, označene (omejene) s šablono (sterilne šablone za odvzem brisov, velikosti 100 cm<sup>2</sup>, 10 x 10 cm iz kartona, plastike ali, kar je najbolje, iz nerjaveče pločevine). Pri brisanju je treba močno pritiskati. Po uporabi mokrega brisa je treba isti postopek vzorčenja na isti površini ponoviti s suhim brisom (suha vatenka). Za pridobitev primerljivih rezultatov je treba dosledno izvajati tehniko odvzema vzorcev in upoštevati mesta ter dneve vzorčenja.

### 2. MESTA VZORČENJA ZA TESTE NA TRUPIH

Brise ali izsečke mesa se jemlje na naslednjih mestih trupov:

- govedo: vrat, prsi - rebra, bok in križ (slika 1 );
- ovce, koze: bok, stranski del prsnega koša, rebra in prsi;
- prašiči: hrbet, lice, notranja stran stegna in trebuh (slika 2);
- konji: bok, prsi - rebra, hrbet in križ.



Mesta odvzema vzorcev so lahko, po posvetovanju z uradnim veterinarjem, tudi druga, če je dokazano, da je zaradi tehnologije klanja v določenem obratu več verjetnosti za višjo stopnjo kontaminacije na drugih mestih. V takih primerih je dovoljeno izbrati mesta, na katerih je dokazana večja stopnja kontaminacije.

### 3. POSTOPEK VZORČENJA IN ŠTEVILO VZORCEV, KI JIH JE TREBA ODVZETI

V določenem dnevu, vsak teden, je treba vzorčiti od 5 do 10 trupov. Pogostost vzorčenja je dovoljeno zmanjšati na vsakih štirinajstih dni, če so v šestih zaporednih tednih doseženi ugodni rezultati. Dan vzorčenja je treba vsak teden spremeniti, da se postopoma zajame vse dni v tednu. Pogostost izvajanja testov na trupih v obratih manjše kapacitete in obratih, ki ne obratujejo s polnim delovnim časom, določi uradni veterinar, ko oceni higienske standarde klanja v vsakem posameznem obratu.

Vzorke je treba odvzeti s štirih mest vsakega trupa, sredi delovnega dne klanja in pred hlajenjem mesa. Za vsak vzorec je treba evidentirati oznako trupa, datum in čas vzorčenja. Vzorce je treba odvzeti z različnih mest testiranega trupa in jih združiti tako, da se od vsakega trupa preskuša le en, skupni vzorec. Kadar so rezultati preiskave neustrezni in korektivni ukrepi ne privedejo do izboljšanja higiene, se vzorčenje prekine, dokler se ne odpravi problemov oziroma napak pri obdelavi trupov.

#### 4. MIKROBIOLOŠKA METODA PREISKAVE VZORCEV

Vzorci, odvzeti po destruktivni metodi, ali brise po nedestruktivni metodi, je treba shraniti do preiskave ohlajene pri 4 °C. Vzorce, če gre za odsečke mesa, je treba homogenizirati vsaj dve minuti v plastični vrečki v 100 ml raztopine (0,1 % puferirana peptonska voda ali 0,9 raztopina NaCl) pri približno 250-ih obratih v peristaltičnem homogenizatorju "Stomacher", ali homogenizirati z rotacijskim mešalnikom (homogenizatorjem). Vzorce brisov se lahko tudi močno stresa v enaki količini omenjene raztopine. Vzorce je treba preiskati najkasneje v 24 urah po vzorčenju. Decimalna redčenja pred razlitjem v petrijevko je treba izvesti v raztopini 0,1 % peptona in 0,85 % NaCl. Suspenzija brisa in homogenizirana mesna suspenzija v vrečki homogenizatorja "Stomacher" nista razredčini in ju je treba pri izračunu rezultata upoštevati kot 10° raztopino. Z bakteriološko preiskavo je treba ugotavljati skupno število bakterij (CFU) in Enterobakterij na cm<sup>2</sup>. Po odobritvi pristojnega organa se lahko namesto števila Enterobakterij ugotavlja število E. coli.

Poleg opisane metode se lahko vzorce preskuša tudi po ISO metodah, za ugotavljanje navedenih vrst bakterij pa se lahko uporabljajo tudi kvantitativne metode, če jih je predhodno odobril Evropski odbor za standardizacijo (CEN) ali priznan znanstveni organ, in po odobritvi VURS.

#### 5. VODENJE ZAPISOV (EVIDENC)

Vse rezultate preiskav je treba interpretirati kot skupno število poraslih kolonij na cm<sup>2</sup> površine (SŠK/cm<sup>2</sup>). Za vrednotenje rezultatov morajo biti le-ti zbrani v preglednicah oziroma tabelah, ki zajemajo vsaj 13 zadnjih zaporednih tedenskih testov. Zapisi morajo zajemati vrsto, izvor in identifikacijo oziroma oznako vzorca, datum in uro vzorčenja, ime osebe, ki je izvedla vzorčenje, ime in naslov laboratorija, ki je opravil preiskave, datum opravljenih preiskav v laboratoriju in podrobnosti o uporabljeni metodi, vključno z imenovanjem uporabljenih gojišč (ime gojišča ali diagnostičnega materiala), temperaturo in čas inkubacije ter rezultat kot npr. število kolonij na plošči, uporabljenih za izračun skupnega števila bakterij (SŠK/cm<sup>2</sup>) preiskovane površine trupa.

Poročilo (izvid) podpiše odgovorna oseba laboratorija.

Dokumenti morajo biti shranjeni v obratu vsaj 18 mesecev in biti na voljo uradnemu veterinarju.

#### 6. VREDNOTENJE MIKROBIOLOŠKIH KRITERIJEV PRI REZULTATIH TESTOV IZREZANIH VZORCEV

Vsakodnevne povprečne logaritemske rezultate vzorcev je treba razvrstiti v eno od treh kategorij za preverjanje obvladovanja procesov (higienske ustreznosti površine trupov): Sprejemljivo območje, mejno in nesprejemljivo. **M** in **m** pomenita zgornjo mejo mejnega in sprejemljivega območja za vzorce, odvzete po destruktivni metodi.

Kriteriji razporeditve so naslednji:

|                                                       | Sprejemljivo območje       |             | Mejno območje<br>( $>m$ , vendar $\leq M$ )                              | Nesprejemljivo območje<br>( $>M$ )    |
|-------------------------------------------------------|----------------------------|-------------|--------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|
|                                                       | Govedo/ovce<br>/koze/konji | Prašiči     | Govedo/prašiči/ovce<br>/koze/konji                                       | Govedo/prašiči/ovce<br>/koze/konji    |
| Celotno število bakterij,<br>zmožnih preživetja (TVC) | $<3,5 \log$                | $<4,0 \log$ | $<3,5 \log$ (prašiči: $4,0 \log$ )<br>- $5,0 \log$                       | $>5,0 \log$                           |
| Enterobacteriaceae                                    | $<1,5 \log$                | $<2,0 \log$ | $1,5 \log$ (prašiči: $2,0 \log$ )<br>- $2,5 \log$ (prašiči: $3,0 \log$ ) | $>2,5 \log$<br>(prašiči: $3,0 \log$ ) |

Za vzpostavitev standardizacije, uporabne v industriji, ter za pripravo veljavne osnovne baze podatkov je nujno uporabljati najzanesljivejšo razpoložljivo metodo. Zelo pomemben je podatek, da se z brisi posname s površine mesa le določen del (pogosto 20 % ali manj) celotne prisotne mikroflore in je zato lahko rezultat le indikator higiene površine mesa.

Če se uporabljajo druge, nedestruktivne metode, je treba za vsako uporabljeno metodo posebej predpisati mikrobiološke kriterije, da se nato rezultate lahko primerja z rezultati destruktivne metode. Druge metode odobri VURS.

## 7. KRITERIJI ZA PREVERJANJE

Rezultate testov je treba kategorizirati glede na posamezne mikrobiološke kriterije in v istem zaporedju, kot so bili vzorci odvzeti. Po vsaki preiskavi je treba preverjati stanje obvladovanja procesov proizvodnje glede fekalne kontaminacije in splošne higienske kvalitete trupov. Ob vsakokratnem povečanem številu nesprejemljivih rezultatov ali nezadostnem številu rezultatov v mejnem območju je treba ukrepati in skušati odkriti vzroke ter preprečiti njihovo ponavljanje.

## 8. POVRATNE INFORMACIJE

Poročila o rezultatih preiskav je treba kar najhitreje dostavljati odgovornim osebam. Rezultate je treba uporabljati za vzdrževanje in izpopolnjevanje higienskih standardov ob zakolu. Vzroke za slabe rezultate je treba ugotoviti s posvetovanjem z osebjem klavnice in pri tem upoštevati naslednje dejavnike:

- pomanjkljivi delovni prostori;
- pomanjkanje ali neustreznost usposabljanja oziroma navodil;
- neustrezna sredstva in kemikalije za čiščenje oziroma dezinfekcijo;
- neustrezno vzdrževanje čistilnih naprav;
- neustrezen nadzor.

## II. VZORČENJE ZA MIKROBIOLOŠKE KONTROLNE PREISKAVE ČIŠČENJA IN DEZINFEKCIJE V KLAVNICAH IN OBRATIH ZA RAZKOSAVANJE MESA

Bakteriološko vzorčenje je treba uporabljati v skladu z operativnimi postopki higienskih standardov (SSOPs), ki opredeljujejo predoperativne higienske kontrolne preglede, ki jih je treba izvajati na področjih z neposrednim vplivom na higieno proizvodov.

## 1. METODE VZORČENJA

Vzorčenje se lahko opravi z metodo s kontaktno ploščo ali z odvzemom brisov. Uporaba teh dveh metod je omejena na izvajanje testov na površinah, ki so očiščene in dezinficirane, suhe, ravne, dovolj velike in gladke.

Metodi iz prejšnjega odstavka je treba vedno uporabiti pred začetkom proizvodnje - nikoli med proizvodnjo. Če je prisotna vidna nečistoča, je treba čiščenje oceniti kot nesprejemljivo, brez nadaljnje mikrobiološke ocene.

Ti metodi nista primerni za vzorčenje mesa ali mesnih izdelkov.

Uporabljajo se lahko tudi druge, po kakovosti ekvivalentne metode, po predhodni odobritvi VURS.

## 2. METODA Z AGARJEM NA KONTAKTNI PLOŠČI

Pri metodi agarja na kontaktni plošči pritisnemo majhne plastične petrijevke (notranji premeri 5,0 cm), napolnjene z agarjem za določanje skupnega števila bakterij (po ISO, najnovejša verzija) in z Violet Red Bile Glucose (VRBG) agarjem (po ISO, najnovejša verzija), na vsako mesto vzorčenja in jih nato ustrezno inkubiramo. Kontaktna površina vsake plošče je 20 cm<sup>2</sup>. Po pripravi je rok uporabnosti agarja približno 3 mesece, če se hrani pri temperaturi od 2° do 4 °C v zaprtih steklenicah. Neposredno pred pripravo plošč je treba gojišče razkuhati pri 100 °C in ohladiti na 46° do 48°C. Plošče se napolni z agarjem tako, da je površina izbočena. Pripravljene plošče osušimo tako, da jih inkubiramo, obrnjene navzdol, prek noči, pri 37 °C. To je tudi koristna kontrola glede kontaminacije med pripravo; plošče z vidnimi kolonijami moramo zavreči.

Rok uporabnosti plošč je en teden, če so hranjene pri temperaturi od 2° do 4 °C in zapakirane v plastičnih vrečkah.

## 3. TEHNIKA ODVZEMA BRISOV (z vato na palčki)

Vzorci se odvzame z vatenkami, ki se jih namoči v raztopini 0,1 % peptonske fiziološke raztopine (8,5 g NaCl, 1 g tripton kazein - peptona, 0,1 % agarja in 1000 ml destilirane vode), s površine 20 cm<sup>2</sup>, označene s sterilno šablono. Če vzorčenje poteka po čiščenju in dezinfekciji se raztopini za navlaženje vatenk doda 30 g/l Tween-a 80 (polioksietilen sorbitan monooleat) in 3 g/l lecitina (ali drugih kemikalij s podobnim učinkom). Na mokrih površinah se lahko uporabi suhe vatenke (suhi brisi).

Vatenke držimo s sterilnimi prijemalkami (peani), površino vzorčenja obrišemo desetkrat od zgoraj navzdol, z močnim pritiskom ob površino. Vatenke zbiramo v steklenici, ki vsebuje 40 ml raztopine iz prejšnjega odstavka za namakanje vatenk. Vzorci brisov je treba hraniti pri 4 °C do nadaljnje obdelave. Pred mikrobiološko preiskavo je treba steklenico oziroma posodo z vzorci močno stresati.

#### 4. POGOSTOST

V obdobju dveh tednov je treba odvzeti do 30 vzorcev, v obratih manjše kapacitete pa vsaj 10 vzorcev. Na velikih predmetih je treba odvzeti po tri vzorce. Če so rezultati zadovoljivi v daljšem časovnem obdobju, se lahko pogostost vzorčenja zmanjša, po dogovoru z uradnim veterinarjem. Mesta, katerim je treba posvetiti največ pozornosti, so tista, ki so neizogibno ali lahko v stiku s proizvodom. Približno dve tretjini celotnega števila vzorcev je treba odvzeti s površin, ki so v stiku z živili.

Za zagotovitev, da se vzorčenje v roku enega meseca izvede na vseh površinah, je treba pripraviti raspored, katere površine je treba vzorčiti na določen dan v mesecu. Rezultate je treba evidentirati in redno izdelovati palične stolpčne grafe za prikaz dogajanj v daljšem časovnem obdobju.

#### 5. PREVOZ

Uporabljenih kontaktnih plošč med prevozom in pred inkubiranjem ni treba hladiti.

Vzorci brisov je treba hraniti do nadaljnje obdelave pri 4 °C.

#### 6. BAKTERIOLOŠKI POSTOPKI

Poleg metod iz 2. točke tega poglavja se lahko uporabijo tudi ISO metode.

Število bakterij je treba interpretirati kot število mikroorganizmov na cm<sup>2</sup> površine. Inokulirane plošče (brisi) in kontaktne plošče za ugotavljanje skupnega števila bakterij (SŠK/cm<sup>2</sup>) je treba inkubirati 24 ur pri 37 °C ± 1 °C pri aerobnih pogojih.

Za kvantitativno ugotavljanje Enterobakterij se uporablja VRBG agar. Inkubacija inokuliranih plošč (brisi) in kontaktnih plošč se mora pričeti 2 uri po vzorčenju, pri aerobnih pogojih. Po 24 h inkubacije pri 37 °C ± 1 °C je treba plošče pregledati glede rasti Enterobakterij.

Preiskava na skupno število bakterij (SŠK/cm<sup>2</sup>) je obvezna. Vzorčenje za preiskavo prisotnosti Enterobakterij pa je prostovoljno, razen, če ga uradni veterinar ne zahteva.

#### 7. MESTA VZORČENJA

Za vzorčenje je treba izbrati mesta oziroma opremo, kot so: sterilizacijske naprave za nože, noži (spoj med rezilom in ročajem), gumijasti obroči (tesnila), bazeni za parjenje živali pred skubljenjem perja, stroji za embaliranje, mize za garanje prašičev, rezila žag in rezalnikov, naprave za odstranjevanje kože s trupov govedi, druga oprema za konfekcioniranje trupov, kovinski členi in kontejnerji za transport, tekoči trakovi, predpasniki, mize za razkosavanje, nihajna vrata, če se jih dotikajo trupi med transportom, evakuacijski kanali za užitne organe živali, deli klavnih linij, ki se jih trupi pogosto dotikajo, stropne napeljave, s katerih lahko kaplja, itd.

## 8. IZRAČUN REZULTATOV

Rezultate za agar kontaktne plošče ter za skupno število bakterij (SŠK/cm<sup>2</sup>) in Enterobakterij, ugotovljenih z metodo brisov, je treba vpisati v posebne obrazce. Za preverjanje kontrole procesov čiščenja in dezinfekcije sta na voljo le dve kategoriji za skupno število bakterij in Enterobakterij: sprejemljivo območje in nesprejemljivo območje. Kriteriji za sprejemljivo območje glede števila kolonij, ugotovljenih na agar kontaktni plošči, ali t.i. skupno število bakterij in Enterobakterij (po metodi brisov) so naslednji:

|                                                    | Sprejemljivo območje   | Nesprejemljivo območje |
|----------------------------------------------------|------------------------|------------------------|
| Celotno število bakterij, zmožnih preživetja (TVC) | 0 – 10/cm <sup>2</sup> | >10/cm <sup>2</sup>    |
| Enterobacteriaceae                                 | 0 – 1/cm <sup>2</sup>  | >1/cm <sup>2</sup>     |

## 9. POVRATNE INFORMACIJE

Rezultate preiskav je treba kar najhitreje sporočiti odgovornim osebam. Rezultati naj služijo za vzdrževanje in izpopolnjevanje standardov čiščenja in dezinfekcije. Vzroke za nezadovoljive rezultate je treba ugotoviti na podlagi posvetovanja z osebjem, ki izvaja čiščenje.

Vzroki so lahko naslednji:

- pomanjkanje ali neustreznost usposabljanja oziroma navodil;
- uporaba neustreznih sredstev za čiščenje oziroma dezinfekcijo ter kemikalij;
- neustrezno vzdrževanje čistilnih priprav;
- neustrezen nadzor.