CLOSTRIDI E RIGONFIAMENTO DI CARNI REFRIGERATE **CONFEZIONATE SOTTOVUOTO**

Clostridia and blowing of vacuum packaged meats

Parole chiave: clostridi psicrofili, clostridi psicrotrofi, rigonfiamento carni imballate, C. estherteticum, GC/MS

Key words: clostridio psycrophilic, clostridio psycrothrophic, blowing, packed meat, C. estherteticum, GC/MS

INTRODUZIONE

Il confezionamento di tagli carnei sottovuoto in imballaggi di film plastici iniziò nel 1960 e nel 1980 questa tecnologia venne impiegata anche per i tagli carnei destinati alla vendita al dettaglio. Osservando scrupolosamente le buone pratiche di lavorazione e garantendo elevate procedure igieniche e di refrigerazione, è possibile garantire una vita commerciale a tagli carnei confezionati in film plastici impermeabili all'ossigeno e alla CO₂ per almeno 10 settimane. Tuttavia nel 1989 negli Stati Uniti (Kalchayanand et al., 1989) si manifestò una nuova alterazione, più tardi denominata "VP spoilage", o (BPS), o alterazione delle carni confezionate sottovuoto.

Questo episodio fu seguito da altri incidenti simili verificatisi in Inghilterra (Dainty et al., 1989), Nuova Zelanda (Broda et al., 1996), Irlanda (Moschonas et al., 2008), Olanda, Svizzera (Hadorn et al., 2009), Italia (Cantoni et al., 2007).

Tutti gli eventi si sono verificati in tagli carnei correttamente refrigerati (0°-2°C) dopo 2-4 settimane, con due tipologie di alterazione odorosa caratterizzate: la prima, dalla presenza di composti organici volatili con prevalenza di acido butirrico e butanolo e da CO,, mentre, la seconda, dalla presenza di gas (CO2) e di composti solforati insieme con acido butirrico. Gli agenti responsabili del rigonfiamento maleodorante delle carni confezionate sottovuoto sono clostridi psicrotolleranti in grado di crescere alle temperature di refrigerazione.

Lo scopo di questo lavoro è quello di descrivere i clostridi psicrotolleranti, specialmente quelli responsabili delle alterazioni, e di segnalare quelli resisi responsabili di episodi analoghi verificatisi nel nostro Paese.

I clostridi psicrotolleranti

I clostridi in grado di crescere a temperature di refrigerazione si dividono in due gruppi:

SUMMARY

A brief review on psychrotolerant Clostridium, which are responsible for blowing in vacuum packed meats, has been reported. The methods of isolation and identification have also been reported. C. estberteticum has been revealed as the cause in an investigated episode.

SOMMARIO

È riportata una breve rassegna dei clostridi psicrotolleranti (psicrofili e psicrotrofi) che causano il rigonfiamento di carni refrigerate confezionate. È descritto un episodio di rigonfiamento di carni e sono riportate le metodiche utili per l'identificazione del clostridio responsabile (C. estherteticum).

- clostridi psicrofili, che crescono tra 0° e 22°C (temperatura ottimale 15°-20°C);
- clostridi psicrotrofi, in grado di svilupparsi tra 0° e 30°C (temperatura ottimale 25°-30°C).

Tutti i clostridi appartengono al cluster I (Collins et al., 1994) del genere Clostridium (famiglia Clostridiaceae, ordine: Clostridiales, classe: Clostridia, phylum: Firmicutes) tranne C. algidixylanolyticum che fa parte del cluster XIV di Collins.

I clostridi psicrofili finora identificati sono:

- C. algoriphilum;
- C. estherteticum: 1) sub specie estherteticum, 2) sub specie laramiense;
- C. gasigenes;
- C. vincentii;
- C. frigoris;
- C. frigoriphilum lacusfryexellense;
- C. bowmanii;
- C. psychrophilum;
- C. schirmacherense.

I clostridi psicrotrofi identificati sono:

- C. algidicarnis;
- C. frigidicarnis;
- C. algidixylanolyticum;
- C. akagii;
- C. acidi soli.

Fonti originarie primarie

Clostridi psicrofili:

- C. algoriphilum: isolato dal permafrost (Shcherbakova et al., 2005);
- C. estherteticum: isolato da carni confezionate (Broda et al., 1996);
- C. laramiense: isolato da carni confezionate (Kalchayanand et al., 1993);
- C. gasigenes: isolato da carni confezionate e dal macello (Broda et al., 2000);
- C. vincentii: isolato da sedimenti del Mc Murdo Ice Shelf, Antartico;
- C. lacusfryexellense: isolato dai se-

dimenti del lago Fryxell (Spring et al., 2003);

- C. frigoris, C. bowmanii, dal lago Fryxell, Mc Murdo Dry Valleys, Antartico (Brambilla et al., 2001);
- C. frigoriphilum dal permafrost siberiano (Shcherbakova e da Lake Frvxell):
- C. psychrophilum: isolato dal lago Fruxell, Antartico:
- C. schirmacherense: isolato dai sedimenti del lago della Schirmacher Oasis, Antartico (Alam et al., 2006).

Clostridi psicrotrofi:

- C. algidicarnis: isolato da carne suina cotta (Lawson et al., 1994);
- C. frigidicarnis: isolato da feci, pelli, tonsille di bovini e da carne bovina cruda (Broda et al., 1999);
- C. algidixylanolyticum: isolato da carni ovine refrigerate e conservate sottovuoto.

Si pensa che i batteri responsabili del rigonfiamento delle confezioni delle carni derivino dall'ambiente nel quale vivono gli animali (Gill, 1976; Nottingham, 1982) e siano presenti solo sulla superficie della carne. La loro contaminazione diretta si verificherebbe durante le operazioni di scuoiatura e di sezionamento; il suolo e le feci sono considerate la fonte primaria della contaminazione.

I clostridi risiedono e crescono nel suolo, nelle feci e sulle superfici aeree delle piante (Lund, 1986; Ercolani, 1997).

Nei Paesi temperati, la temperatura del suolo in genere favorisce la crescita e la sopravvivenza dei clostridi psicrotolleranti (psicrofili e psicrotolleranti) piuttosto di quelli delle specie di mesofili (Lund, 1986). Di conseguenza queste specie tolleranti il freddo, attraverso la loro ingestione finiscono col contaminare le carcasse delle feci, e quindi finiscono a far

parte della popolazione batterica delle superfici.

Ricerche accurate eseguite da ricercatori irlandesi (Moschonas et al., 2008) hanno individuato la presenza di questi microrganismi nei mattatoi, soprattutto nella zona di scuoiamento degli animali, individuando nelle pelli le fonti di contaminazione primarie a cui segue la diffusione negli ambienti di lavorazione.

Secondo i dati pubblicati da questi ricercatori le positività più elevate d'isolamento si sono verificate nei mesi di maggio (38,6%), marzo (21,1%) e giugno (20,7%).

Alcuni ricercatori hanno creduto di vedere un nesso tra alimentazione a base di cereali degli animali e la presenza di clostridi.

Clostridi responsabili dei rigonfiamenti

In sintesi, tra tutti i ceppi di clostridi elencati, quelli che sono stati responsabili di rigonfiamento risultano:

C. estherteticum (psicrofilo);

C. laramiense (psicrofilo);

C. frigoriphilum (psicrofilo);

C. gasigenes (psicrofilo) (cresce tra 0° e 26°C, temperatura ottimale

C. algidicarnis (psicrotrofo);

C. algidixylanolyticum (psicrotro-

C. frigidicarnis (psicrotrofo).

Composti volatili responsabili dell'odore sgradevole nelle confezioni conseguenti all'attività metabolica dei clostridi

I composti volatili liberati dai clostridi nei terreni colturali sono riportati nella tab. I.

Tabella 1 Composti organici volatili prodotti da clostridi.

and the state of t	
C. algoriphilum	ac. butirrico, acetico, formico, etanolo
C. estherteticum	ac. butirrico, acetico, formico, butanolo, esteri alchilici di acidi grassi a
	corta castena e composti solforati
C. laramiense	ac. butirrico, isobutirrico, propionico e composti solforati
C. gasigenes	ac. acetico, butirrico, etanolo, butanolo
(beigavinhilian	butirrico, etanolo, butanolo
C. algidicarnis	ac. acetico, butirrico, esteri metilici dell'ac. propionico e butirrico,
	composti solforatí (H,S)
C. frigidicarnis	ac. butirrico, acetico, etanolo, isovalerato, butanolo
	ac. acetico, butirríco, formico, butanolo, etanolo

Oltre questi composti è costante la produzione di CO₉.

Nella tab. 2 sono riportate le temperature minime, massime ed ottimali di clostridi psicrotolleranti responsabili del gonfiore di carni confezionate.

L'isolamento e l'identificazione dei clostridi psicrotolleranti

Le tecniche usuali utilizzate per isolare e numerare i comuni clostridi mesofili non sono sempre utilizzabili per determinare i clostridi psicrotrofi alteranti le carni. Inoltre, anche quando l'isolamento sembra riuscito, impiegando un terreno liquido di arricchimento, il successivo passaggio in terreno agarizzato non ha successo (Kalchayanand et al., 1993; De Lacy et al., 1998) facendo supporre che i clostridi entrino nello stato di VBNC, cioè di germi vitali ma non coltivabili. Questo è uno stato che possono assumere molte specie di batteri quando sono sottoposti a cambiamenti delle condizioni in cui vivono, e possono riguardare temperatura, quantità e tipo di nutrienti.

Questa condizione comprende una serie di cambiamenti della cellula, funzionali e morfologici, finalizzati alla conservazione della vita anche in condizioni avverse. Quando le condizioni tornano normali la cellula batterica può ritornare al suo stato attivo (coltivabile), con un processo chiamato vivificazione (revival). La rivitalizzazione è un processo stimolato da un fattore opposto a quello che ha indotto il VBNC e può richiedere ore o giorni per essere completato. Durante lo stato VBNC il batterio è metabolicamente attivo, ma è incapace di scindersi per riprodursi. Inoltre la cellula batterica in VBNC riduce di molto le sue dimensioni ed assume una forma ridotta o coccica forse per ridurre al minimo le richieste energetiche e nutritive del metabolismo.

Un'ulteriore difficoltà per l'isolamento dei ceppi psicrofili è rappresentato dall'apparente sensibilità al calore delle spore di questi clostridi che appaiono essere distrutte a 80°C per 5'.

Per superare le difficoltà d'isolamento e di numerazione Broda et al. (1997, 1998) hanno proposto terreni e metodiche più sensibili ma non completamente valide, per cui hanno fatto ricorso alla tecnica PCR basata sulla determinazione della regione 16S DNA ribosomiale (Boerema et al., 2002; Broda et al., 2009).

Altri ricercatori come Helps et al. (1999) e Moschonas et al. (2008) hanno utilizzato tecniche simili riuscendo ad identificare in tempi ragionevolmente brevi C. estherteticum e C. gasigenes in terreno d'arricchimento (PYGS) (peptone, estratto di lievito, glucosio, amido).

Caso osservato e descritto in questo lavoro

In seguito alla richiesta di intervenire in tempi rapidi per conoscere le cause dei rigonfiamenti di confezioni di tagli primari per carne bovina imballata sottovuoto e di avere suggerimenti per evitare il ripetersi degli episodi, si è deciso di monitorare la pre-

Temperature minime, massime e ottimali di crescita di clostridi psicrotolleranti.

clostridio		Temperatura di crescita (°C)	
	minima	massima	ottimale
C. estherteticum	-1,5°	20°	15°
C. laraniense	-1,5°-3°	21°	15°
C. gasigenes	-1.5°	26°	20°-22°
C. frigoriphilum	-1,5°	15°	6°
C. algidicarnis	. 4°	37°	22°-25°
C. frigicarnis	3,8°	30°-38°	40,5°
C. algidixylanolyticum	2,5°	26°	32,2°

senza degli agenti responsabili con una tecnica batteriologica rapida e con la valutazione dei composti volatili organici (VOC) con la gas-massa. Quest'ultima tecnica è stata usata con successo da Mayr et al. (2003) per la determinazione dell'alterazione di carni confezionate o meno e da noi in casi analoghi (Cantoni et al., 2007; 2008).

MATERIALI E METODI

Campioni esaminati

Sono stati sottoposti ad analisi batteriologiche n. 3 campioni di taglio reale di vitello e n. 3 tagli roast beef di vitello ricavati da carcasse di vitelli polacchi importati in Italia. I tagli sono stati sezionati in laboratorio CE e imballati in involucri di materiale plastico impermeabili all'O, e alla CO, quindi sono stati refrigerati e conservati a +2,3°C.

Il gonfiore degli involucri si è manifestato dopo 14 giorni dal confezionamento.

Tecniche batteriologiche

Si sono usate due metodiche:

- 1) con la prima si sono seguite le indicazioni di Broda et al. (1998) alle quali si rimanda per la descrizione dettagliata.
- 2) La seconda tecnica è stata eseguita con le procedure seguenti: 1) insemenzamento di aliquote di tessuto superficiale carneo in brodo peptone yeast extract glucose, Starch (PYGS Lund et al., 1990). Il PYGS contenevá (per litro) 5 g di protease-peptone, 5 g di triptone, 10 g di estratto di lievito, 10 g di estratto di carne, 5 g di gluco-

sio, I g di amido solubile, 0,001 g di resazurina, 0,5 g di cisteina HCl, 40 mL di soluzione di sali A e 40 mL di soluzione di sali B. La soluzione di sali A conteneva (per litro): 0,265 g di CcCl₂·2H₂O; 0,48 g di MgSO,7H₂O; 2,0 g di

La soluzione B conteneva (per litro): 1 g di KH, PO₄; 1,3 g di K,HPO,·3H,O; 10,0 g di NaHCO₃.

Ciascun inoculo è stato trattato a 45°C per 20' e poi incubato a 6° e a 20°C per periodi di 6-20 gg. Al termine del periodo di incubazione si procedeva all'esame microscopico del precipitato in provetta mediante colorazione di Gram e all'insemenzamento in PYGS agar incubando le piastre in anaerobiosi per gli stessi intervalli di tempo.

Oltre a questa analisi si è proceduto ad eseguire l'analisi GC/MS sul liquido presente nella confezione con la tecnica qui riportata.

La determinazione dei composti volatili è stata effettuata mediante analisi GC/MS nel seguente

10 g di liquido essudato sono stati tagliati finemente e posti in una fiala da 20 mL per spazio di testa, lasciati ad equilibrare per 60' a temperatura di refrigerazione (4°C). Lo spazio di testa è stato estratto con tecnica SPME utilizzando la seguente fibra: Carboxen/Polidimetilsilossano (CAR/ PDMS, 75 μ m). Il tempo di esposizione della fibra con il campione è stato di 90' a temperatura ambiente.

La fibra è stata introdotta nell'iniettore del gascromatografo a 220°C e l'iniezione è stata effettuata con la modalità splitless per 5'.

Le fasi di estrazione delle sostan-

ze volatili (tempo di esposizione della fibra), l'iniezione e la pulizia della fibra sono state automatizzate mediante l'utilizzo di autocampionature CombiPAL CTC (Swingen, Svizzera), dotato di sistema di refrigerazione (4°C per il campione di prosciutto). Sono stati usati un gascromatografo Finnigan TraceGC ultra, una colonna Rtx-WAX (30 m x 0,25 mm, $0.25 \,\mu\text{m}$) ed un flusso del gas di trasporto (elio) di 1 mL/min. Il programma di temperatura seguito è stato il seguente: isoterma a 30°C per 8 min, da 35° a 60°C con un gradiente di 4°C min-1; da 60° a 160°C con un gradiente di 6°C min⁻¹; da 160° a 200°C con gradiente di 20°C min-1.

È stato usato uno spettrometro di massa Finnigan TRACE DSQ con una temperatura della sorgente ad impatto elettronico di 250°C e della "transfer line" di 200°C. L'eluato è stato analizzato in corrente ionica totale (TIC) nell'intervallo 35-350 amu ed in registrazione dei singoli ioni (SIM) per i composti solforati. Prima dell'utilizzo di ciascuna fibra SPME è stata fatta una prova per verificare l'assenza di contaminazioni da parte della fibra adsorbente. Dopo ogni analisi la fibra veniva mantenuta per 15' alla temperatura limite di utilizzo. L'identificazione dei composti è stata effettuata mediante confronto degli spettri di massa ottenuti con quelli presenti nelle librerie NIST e Wiley e con gli standard puri.

I dati riportati sono la media di due-tre analisi per campione ed espressi come area arbitraria riportando le aree dei singoli composti all'area dello standard interno (4-metil-2-pentanone) in funzione della quantità aggiunta.

RISULTATI

Indagini batteriologiche

La presenza di clostridi psicrotolleranti è stata evidenziata solo con la seconda tecnica mediante la sola colorazione di Gram con aspetto riconducibile a quelle illustrate da Spring *et al.* (2003). L'analisi GC/MS ha evidenziato la presenza nei terreni di arricchimento di:

- acido butirrico (75,2 μ g/g);
- acido acetico (10,7 μ g/g);
- etanolo (5,15 μ g/g);
- 1-butano (0,93 μ g/g);
- 3-metil-butanolo $(0,60 \mu g/g)$;
- 1-eptanolo (12,3 μ g/g);
- etilestere di acido butirrico (7,45 μ g/g).

Tale quadro analitico è riconducibile a quello verificato crescendo *C. estherteticum* in brodo nutritivo, permettendo così di ipotizzare il microrganismo quale responsabile del rigonfiamento.

L'odore maleodorante è comunque la risultanza dei composti volatili elencati con presenza anche di:

- $H_{g}S$ (0,22 $\mu g/g$);
- metantiolo (7,21 μ g/g);
- carbondisolfuro $(3,24 \mu g/g)$;
- dimetilsolfuro (25,7 μ g/g);
- dimetiltrisolfuro ($26,53 \mu g/g$).

La responsabilità di *C. estherteticum* è stata accertata in casi analoghi da Hadorn *et al.* (2009), Moschonas *et al.* (2008) e da Ziegler *et al.* (citato da Hadorn *et al.*, 2009).

CONSIDERAZIONI E CONCLUSIONI

I risultati ottenuti configurano due situazioni, una di carattere tecnico, la seconda di prevenzione della contaminazione. I clostridi psicrotolleranti si sono isolati da almeno due anni nelle strutture di lavorazioni delle carni operanti nel nostro Paese. Dal punto di vista strettamente tecnico i metodi più validi in modo assoluto per identificare i clostridi responsabili sono le tecniche PCR messe a punto dai ricercatori citati. Il metodo batteriologico standardizzato da Broda et al. (1998) è lungo e non sempre risponde allo scopo come precisato da De Lacy et al. (1998), ma è comunque l'unico che permette di isolare altri clostridi eventualmente responsabili del rigonfiamento.

Il metodo utilizzato in questo lavoro è rapido ma non preciso come le metodiche PCR.

Dal punto di vista della prevenzione o dell'eliminazione della contaminazione da clostridi psicrotolleranti, la situazione è complessa in quanto i clostridi possono essere, ormai, già presenti nelle stalle nazionali in seguito all'importazione di animali vivi contaminanti, o per la presenza di mangimi contaminati; oppure i clostridi possono già contaminare tagli primari carnei importati per essere sezionati in tagli destinati al dettaglio in laboratori specializzati.

Per la prevenzione, l'igienizzazione correttamente eseguita è indispensabile. Va eseguita tenendo conto dei seguenti principi.

Premesso che per "tattica della igienizzazione" si deve intendere la scelta ottimale dei parametri d'azione, tipo concentrazione, tempo di trattamento in relazione alla conta batterica, la pratica dell'igienizzazione deve tener conto della presenza di sostanze organiche, della natura della superficie da trattare (pori, micro fessure).

Per la igienizzazione/disinfezione non è necessario generare una turbolenza, ma è importante coprire tutti i punti dell'attrezzatura da trattare.

Le corrette operazioni da applicare per ottenere lo scopo prefissato devono prevedere le seguenti fasi:

- 1) presciacquo;
- 2) pulizia alcalina (p.e. NaOH 2%);
- 3) risciacquo intermedio;
- 4) disinfezione con disinfettante composto da H_2O_2 (-5%) e acido periacetico.

Le caratteristiche dell'acqua ossigenata (H_2O_2) sono: a) azione rapida; b) è sensibile ai residui organici; c) è impiegabile a qualsiasi temperatura; d) non lascia residui. L'acido periacetico ha caratteristiche simili a quelle dell'acqua ossigenata insieme alla quale è utilizzata.

L'acido periacetico stabilizzato con un acido organico è meglio conservabile tra un trattamento e il successivo.

Infine, purtroppo il lavaggio delle carcasse e dei tagli carnei con acido perossiacetico non è risultato efficace quando applicato per distruggere i clostridi presenti sulle superfici carnei (Boerema *et al.*, 2007). Quindi la possibilità di nuovi incidenti diventa un evento ripetibile.

BIBLIOGRAFIA

Alam S.I., Dixit A., Reddy G.S.N., Dube S., Palit M., Shivaji S., Singh L. (2006), Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 56, 1-6.

Boerema J.A., Broda D.M., Bell R.G. (2002), Letters Appl. Microbiol. 35, 446-450.

Boerema J.A., Broda D.M., Perney N., Brightwell G. (2007), J. Food Prot. 70, 1434-1439.

Brambilla E., Hippe E., Hegeistein A., Tindall B.J., Stockebrandt E. (2001), Extremophiles 5, 23-33.

- Broda D.M., De Lacy K.M., Bell R.G., Braggins T.J., Cook R.L. (1996), Food Microbiol. 29, 371-379.
- Broda D.M., Boerema J.A., Bell R.G. (1997), Int. J. Food Microbiol. 29, 335-352.
- Broda D.M., De Lacy K.M., Bell R.G. (1998), Int. I. Food Microbiol, 39, 69-78.
- Broda D.M., Lawson P.A., Bell R.G., Mysgrave D.R. (1999), Int. J. Syst. Bacteriol. 49, 1539-1550.
- Broda D.M., Saul D.J., Bell R.G., Musgrave D.R. (2000), Int. J. Syst. Evol. Bacteriol. 50, 623-631.
- Broda D.M., Musgrave D.R., Bell R.G. (2009), J. Appl. Microbiol. 88, 107-116.
- Broda D.M., Borema J.A., Brightwell G. (2009), J. Appl. Microbiol. 97, 1-10.
- Cautoni C., Pirani S. (2007), Ing. Alimentare 4 (14), 21-29.
- Cantoni C., Iacumin L., Milesi S., Comi G. (2007), Ing. alimentare 4 (18), 18-14.
- Collins M.D., Lawson P.A., Willems A., Cordoba J.J., Fernandez Garayzabal J., Garda P., Cai J., Hippe H., Farrow J.A.J. (1994), Int. J. Syst. Bacteriol. 44, 812-826.

- Dainty R.H. Edwards R.A., Hubbard C.M. (1989), Science of Food and Agricol. 49, 473-486.
- De Lacy K.M., Broda D.M., Bell R.G. (1998), Food Micobiol. 15, 583-589.
- Ercolani G.L. (1997), J. Appl. Microbiol. 82, 137-140.
- Gill C.O. (1976), J. Appl. Microbiol. 47, 473-486.
- Hadorn R., Schluchter S., Collomb M., Badertscher R., Hummerjohann J. ICoMST 2009, Copenhagen, Danimarca, 16-21 Agosto, PEO.15.
- Helps C.R., Harbour D.A., Corry J.E.L. (1999), Int. J. Food Microbiol. 52, 57-65.
- Kalchayanand K., Ray B., Field R.A., Jhonson M.C. (1989), J. Food Protection 52, 424-426.
- Kalchayanand K., Rav B., Field R.A. (1993), J. Food Protection 56, 13-17.
- Lawson P., Dainty R.H., Kristiansen N., Berg J., Collins M.D. (1994), Lett. Appl. Microbiol. 19, 153-157.
- Lund E.M. (1986), Anaerobes in relation to foods of plant origin, In Anaerobic bacteria in habitats other than Man, pg.

- 351-372. Ed. Barnes E.M. & Mead G.C., Oxford: Blackwell.
- Lund B.M., Graham A.F., Georges M., Brown D. (1990), J. Appl. Bacteriol, 69, 481-492.
- Mayr D., Margesin R., Klingobichel E., Hartungen E., Jenewein D., Schinner F., Mark T.D. (2003), Appl. Environ. Microbiol. 69, 4697-4705.
- Moschonas G., Bolton D., Sheridan J., Dowell Mc David (2008), Food Microbiol. 2008, P. EE 33, I-4 sett. Aberdeen
- Nottingham P.M. (1982), Meat Microbiology, pp. 22-24. Ed. Brown M.H. Appl. Science Publ.
- Shcherbakova V.A., Chuvilskava N.A., Rivkina F.M., Pecheritsyna S.A., Laurinaulchills K.S., Suzina N.E., Osipov G.A., Lisenko A.M., Gilichinsky D.A., Akimenko V.K. (2005), Eschemophiles 9, 239-246.
- Spring S., Merkhoffer B., Weiss N., Kroppenstedt R.A., Hippe H., Stockebrandt E. (2003), Int. J. Syst. Evolution Microbiol. 53, 1019-1029.

