

Występowanie *Listeria monocytogenes* w mleku surowym i produktach mlecznych

Zakład Higieny Żywności Pochodzenia Zwierzęcego Instytutu Weterynarii w Puławach, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Summary

Incidence of *Listeria monocytogenes* in raw milk and dairy products

Studies were carried out on 134 samples of raw milk originating from small farms and 87 samples of raw milk collected from a large dairy farm. Moreover, 73 samples of pasteurized milk and 44 samples of cheese, cream, ice-cream and yoghurt were assessed for the presence of *L. monocytogenes*. The detection of *Listeria sp.* in 25 ml (or g) per milk or dairy product samples was performed according to the IDF method. *L. monocytogenes* was isolated from 2 (1.75 per cent) of the 134 samples of raw milk samples coming from individual farms. Out of 16 dairy farm-bulk raw milk samples 9 (56.2 per cent) were positive in relation to *L. monocytogenes*. In the case of quarter milk, only 6 (7.4 per cent) out of 81 was infected with the pathogen. *L. monocytogenes* was not found in any milk product. Altogether 17 virulent strains of *L. monocytogenes* were isolated from the materials under study. It was shown by the slide agglutination test that all the isolated strains belonged to serotype 1. In addition, 21 apathogenic strains were isolated and among them eight were classified as *L. innocua*.

Listeria monocytogenes stanowi czynnik etiologiczny zakaźnej choroby ludzi i zwierząt określanej jako listerioza. Do niedawna przypadki listeriozy u ludzi stwierdzano stosunkowo rzadko i nie stanowiły one poważniejszego problemu epidemiologicznego. Zauważalny wzrost zachorowań na tę chorobę, co zresztą odnotowano w statystykach medycznych, zaczęło obserwowac w wielu krajach dopiero po 1980 r. (4, 11, 15). Dochodzenie epidemiologiczne prowadzone w ogniskach zakażeń, szczególnie tych o charakterze masowym wykazało, że u ludzi mamy najczęściej do czynienia zakażeniem pokarmowym (4, 11, 15, 20, 21). Spośród różnych rodzajów żywności jako źródło zakażenia najczęściej wymienia się mleko i jego przetwory zanieczyszczone zjadliwymi szczepami *L. monocytogenes* serotyp 1 (1/2a, 1/2b) i 4 (4b) (2, 3). Potwierdzeniem tego są dane dotyczące jednej z największych epidemii listeriozy, która miała miejsce w Kalifornii, USA w 1985 r. (11). Zachorowały wówczas 103 osoby, z których 40 (39%) zmarło. Udało się również ustalić, że źródłem zakażenia hospitalizowanych pacjentów był ser meksykański, z którego wyosobniono serotyp 4b *L. monocytogenes*. Identyfikacyjny serotyp zarazka wyizolowano również od chorych ludzi.

Z opublikowanych w wielu krajach danych wynika, że zanieczyszczenie badanych próbek mleka lub jego przetworów zjadliwymi szczepami *L. monocytogenes* osiągało nawet 81%. W opinii wielu autorów (6, 12, 22) fakt częstego występowania *L. monocytogenes* w mleku i produktach mlecznych wiązany jest z szerokim rozprzestrzenieniem się tego

zarazka w środowisku zewnętrznym, nieprzebrzeganiem higieny pozyskiwania mleka oraz błędami w procesie jego przetwarzania (11, 20). Dodatkowym czynnikiem zwiększającym ryzyko zakażeń u ludzi jest zdolność *L. monocytogenes* do namnażania się w żywności przechowywanej w niskich temperaturach (7, 9).

W Polsce brak jest danych odnośnie do występowania *L. monocytogenes* w mleku i produktach mlecznych. W związku z tym podjęto badania, których celem było określenie częstości występowania tego zarazka w mleku surowym, pasteryzowanym i innych produktach mlecznych.

Materiał i metody

Przedmiotem badań było 114 próbek mleka surowego pobranego od indywidualnych dostawców oraz 20 próbek surowego mleka zbiorczego. Próbkę mleka od indywidualnych dostawców pobierano z konwi dostarczanych do zlewni, natomiast próbki mleka zbiorczego pobierano z tanków w jednym zakładzie mleczarskim. Ponadto badaniami objęto oborę krów mlecznych o obsadzie 90 zwierząt. Obora ta należała do jednego z PGR w województwie radomskim. W okresie poprzedzającym pobranie próbek zaistniała sytuacja wskazująca, że mleko surowe pochodzące z tej obory mogło być przyczyną zachorowań u dzieci. Ogółem od 81 krów dojnych z tego obiektu pobrano 81 próbek mleka ćwiartkowego. Poza mlekiem ćwiartkowym analizie poddano 16 próbek mleka zbiorczego z konwi. Wszystkie wym. rodzaje próbek mleka pobierano do jałowych butelek z zachowaniem zasad aseptyki, a następnie dostarczano do laboratorium w warunkach izotermicznych w temp. +4°C. W przypadku braku możliwości natychmiastowego przeprowadzenia analizy, próbki przechowywano w chłodni do następnego dnia w temp. +4°C.

Spośród produktów mlecznych badaniami w kierunku obecności *L. monocytogenes* poddano 73 próbki mleka pasteryzowanego oraz łącznie 44 próbki innych produktów mlecznych (sery, śmietana, lody, jogurt). Przetwory te zostały zakupione w punktach sprzedaży detalicznej.

Wykrywanie obecności *L. monocytogenes* w 25 g (ml) próbkach badanego materiału przeprowadzono zgodnie z metodą IDF (14). Zasada badania według tej metody polegała na izolowaniu zarazka z testowanej próbki po uprzednim przeprowadzeniu selektywnego namnażania, a następnie szczegółowej identyfikacji na podstawie określonych cech morfologicznych, hodowlanych oraz biochemicznych i serologicznych. Szczepy podejrzane o przynależność do rodzaju *Listeria* sprawdzano na: sposób barwienia metodą Grama, zdolność ruchu w kropli wiszącej, typ wzrostu (kształt parasola) na agarze półpłynnym, aktywność katalazy oraz zdolność wytwarzania hemolizy na agarze z krwią. W dalszym etapie badań, w celu określenia gatunku wyizolowanych szczepów, określono zdolność rozkładu cukrów (ramnoza, ksyloza) oraz przeprowadzono próbę CAMP ze *Staphylococcus aureus* i *Rodococcus equi*. Właściwości chorobotwórcze szczepów sprawdzano próbą biologiczną na myszkach białych. Badanie serologiczne wyizolowanych szczepów przeprowadzono odczynem aglutynacji i szkiełkowej przy

użyciu specyficznych surowic aglutynacyjnych firmy Difco – poliwalentnej i monowalentnych typ 1 i typ 4.

Wyniki i omówienie

Wyniki badań mleka surowego i produktów mlecznych w kierunku obecności *L. monocytogenes* przedstawiono w tab. 1-3.

Jak wynika z danych tab. 1-2 najwyższy odsetek próbek dodatnich wykazywało mleko konwiowe, a następnie mleko ćwiartkowe pochodzące z dużej obory krów mlecznych. Stwierdzony odsetek próbek dodatnich wynosił odpowiednio 56,25 i 7,40 (tab. 2). W przypadku badania próbek mleka surowego, pochodzącego z gospodarstw indywidualnych, wyniki dodatnie notowano jedynie sporadycznie i dotyczyły one najwyższej 1,75% badanych próbek mleka konwiowego (tab. 1). Poza *L. monocytogenes* z próbek mleka surowego wyosobniono szczepy listerii należące do innych gatunków niż *L. monocytogenes*.

Rezultaty badań przedstawione w tab. 3 wskazują, że wszystkie analizowane próbki produktów mlecznych wolne były od drobnoustrojów należących do gatunku *L. monocytogenes*. Tym niemniej z pewnego odsetka próbek mleka pasteryzowanego i śmietany wyizolowano szczepy należące do innych gatunków, które określono jako *Listeria spp.*

Ogółem z przebadanych próbek wyizolowano 17 szczepów *L. monocytogenes*. Wszystkie one wykazywały typowe dla tego gatunku cechy morfologiczne, hodowlane i biochemiczne oraz były chorobotwórcze dla myszek białych. W próbie

Tab. 1. Występowanie *L. monocytogenes* i *Listeria spp.* w mleku surowym z gospodarstw indywidualnych

Rodzaj próbek	Liczba próbek	Próbki dodatnie liczba/odsetek	
		<i>L. monocytogenes</i>	<i>Listeria spp.</i>
Mleko konwiowe	114	2/1,75	4/3,50
Mleko tankowe	20	0	5/25,0

Tab. 2. Występowanie *L. monocytogenes* i *Listeria spp.* w mleku surowym z obory krów mlecznych (PGR)

Rodzaj próbek	Liczba próbek	Próbki dodatnie liczba/odsetek	
		<i>L. monocytogenes</i>	<i>Listeria spp.</i>
Mleko ćwiartkowe	81	6/7,40	1/1,20
Mleko konwiowe	16	9/56,25	2/12,50

Tab. 3. Występowanie *L. monocytogenes* i *Listeria spp.* w produktach mlecznych

Rodzaj próbek	Liczba próbek	Próbki dodatnie liczba/odsetek	
		<i>L. monocytogenes</i>	<i>Listeria spp.</i>
Mleko pasteryzowane 2%	73	0	7/9,59
Ser topiony	17	0	0
Serek homogenizowany	5	0	0
Śmietana 24%	5	0	2/40,00
Lody	10	0	0
Jogurt	7	0	0

aglutynacji szkiełkowej z surowicą poliwalentną anty *L. monocytogenes* serotyp 1, 4 wynik dodatni uzyskano ze wszystkimi badanymi szczepami. W dalszych szczegółowych badaniach serologicznych stwierdzono, że wszystkie wyizolowane szczepy *L. monocytogenes* należały do serotypu 1. Spośród 21 wyizolowanych szczepów określonych jako *Listeria spp.* 8 udało się zidentyfikować i zaliczyć do gatunku *L. innocua*.

Ze stosunkowo licznych prac autorów zagranicznych wynika, że *L. monocytogenes* występuje w różnym odsetku próbek badanego mleka surowego, który uzależniony jest od wielu czynników. Spośród nich najistotniejszą rolę odgrywa pora roku, sposób żywienia, jakość mleka, a także metoda użycia do izolacji zarazka (18).

Z przeprowadzonych badań własnych wynika, że stopień zanieczyszczenia mleka surowego może być bardzo zróżnicowany w zależności od rodzaju pobranej próbki i typu gospodarstwa. W mleku surowym pochodzącym z gospodarstw indywidualnych *L. monocytogenes* stwierdzano stosunkowo rzadko, pomimo braku odpowiedniej higieny pozyskiwania mleka w tego typu gospodarstwach. Odnotowany procent próbek dodatnich w zakresie 0–1,75 jest porównywalny z danymi otrzymanymi przez badaczy w innych krajach, gdzie analogiczne wartości wahały się w zakresie 0–5,4 (8, 10, 17, 18). Jako najbardziej reprezentatywne należałoby przytoczyć badania przeprowadzone przez Lovett i wsp. (17) oraz Liewen i wsp. (18) w USA, w których odsetek próbek dodatnich wynosił odpowiednio 4,0 i 4,2. Natomiast zbliżony poziom zanieczyszczenia mleka surowego do uzyskanego w niniejszych badaniach, bo wynoszący 1,3%, wykazał Farber i wsp. (8), badając 443 próbki mleka surowego w Kanadzie. W innych krajach, jak np. w Hiszpanii, odsetek ten był znacznie wyższy i osiągał wartość 45 (12).

Nieco odmiennie kształtował się stopień zanieczyszczenia *L. monocytogenes* mleka surowego pochodzącego z dużej obory krów mlecznych. Jak wynika z otrzymanych danych, aż 7,4% klinicznie zdrowych krów wydzielalo wraz z mlekiem ćwiartkowym ten zarazek. Zmieszanie tego mleka z surowcem pochodzącym od krów zdrowych spowodowało aż 8-krotne podwyższenie odsetka próbek dodatnich mleka konwiowego. Świadczy to pośrednio o wysokiej koncentracji *L. monocytogenes* w mleku ćwiartkowym pochodzącym od krów wydzielających ten zarazek z mlekiem.

Przeprowadzone badania wykazały, że dostępne w handlu detalicznym krajowe produkty mleczne nie zawierają drobnoustrojów z gatunku *L. monocytogenes*, mimo ich występowania w mleku surowym. Świadczy to, że proces obróbki cieplnej stosowany w zakładach przetwórstwa mlecznego gwarantuje inaktywację *L. monocytogenes*. W niniejszej pracy nie badano serów miękkich, z których najczęściej izolowane są zjadliwe szczepy *L. monocytogenes* (1, 2, 19, 20, 21). Z licznych danych epidemiologicznych wynika, że są one najczęściej przyczyną pojedynczych i epidemicznych zachorowań na listeriozę u ludzi (3, 4, 11, 15). W związku z tym celowym wydaje się podjęcie badań dotyczących określenia stopnia zanieczyszczenia *L. monocytogenes* serów miękkich importowanych, jak i wytwarzanych w kraju.

Wnioski

1. *Listeria monocytogenes* może występować w mleku surowym przeznaczonym do skupu w różnym odsetku próbek: wyższym w mleku pochodzącym z dużych ferm mlecznych, a niższym z drobnych gospodarstw indywidualnych.

2. Zdecydowana większość szczepów *L. monocytogenes* występujących w mleku surowym należy do serotypu 1.

3. Krajowe produkty mleczarskie dostępne w handlu detalicznym nie wykazują obecności patogennych mikroorganizmów z gatunku *L. monocytogenes*.

Piśmiennictwo

1. Archer D.L.: WHO Working Group of Foodborne Listeriosis, Genewa 1988, s. 15.
2. Azadian B.S., Finnerty G.T., Pearson A.D.: Lancet 1, 322, 1989.
3. Bannister B.A.: J. Infect. 15, 165, 1987.
4. Bille J., Glauser M.P.: Bull. Off. Sant. Pub. 3, 28, 1988.
5. Borowski J., Furowicz J., Kędzia A., Tomaszewski R., Zaremba M.: Listerioza PZWL, 1974.
6. Doyle M.P. i wsp.: Appl. Environ. Microbiol. 53, 1433, 1987.
7. Farber J.M.: J. Ass. off. Anal. Chem. 74, 701, 1991.
8. Farber J.M., Sanders G.W., Malkolm S.A.: Can. J. Microbiol. 34, 95, 1988.
9. Farber J.M., Sanders G.W., Speirs J.I.: Lebensm.-Wiss. Technol. 23, 252, 1990.
10. Fenton D.R., Wilson J.: Acta microbiol. hungar. 36, 255, 1989.
11. Fleming D.W., Cochi S.L., Mac Donald K.L., Brondum J., Hajes P.S., Plikaytis B.D., Holmes M.B., Budurier A., C. Brome C.V., Reingold A.L.: New Engl. J. Med. 312, 404, 1985.
12. Garayzabal J.F.F., Rodrigez L.D., Boland J.A.V., Blanco Cancellito J.L., Suarez Fernandez G.: Can. J. Microbiol. 32, 149, 1986.
13. Greenwood M.H., Roberts D., Burder P.: Int. J. Fd Microbiol. 12, 197, 1991.
14. IDF: Questionnaire 2389/E, 31.10.1989.
15. James S.M., Fannin S.L., Agee B.A., Hall B., Parker E., Vogt J., Run G., Willams J., Lieb L., Prendergast T., Werner S.B., Chin J.: Morbid. Mortal. Weekly Report 34, 357, 1985.
16. Lenette E.M., balows A., Hausler W.J., Shadomy H.J.: Manual of Clinical Microbiology, Washington 1985.
17. Lovett J., Francis D.W., Hunt J.M.: J. Fd Prot. 50, 188, 1987.
18. Lund A.M., Zottola E.A., Pusch D.J.: J. Fd Prot. 50, 602, 1991.
19. Marth E.J., Ryser E.F.: Occurrence of Listeria in Foods. Milk and Dairy Foods, w: Foodborne Listeriosis, red. A.L. Miller, J.L. Smith, G.A. Somkuti, Society for Industrial Microbiology, Amsterdam, 1990
20. McLaughlin J., Greenwood M.H., Pini P.N.: Int. J. Fd Microbiol. 10, 255, 1990.
21. Pini P.N., Gilbert R.J.: Int. J. Fd Microbiol. 6, 317, 1988.
22. Prost E.: Higiena mięsa. PWRiL, Warszawa 1985.
23. Rola J., Kwiatek K., Wojtoń B.: Wykrywanie *L. monocytogenes* w mleku i przetworach mleczarskich. Instrukcja IWet., Puławy 1993.

Adres autora: lek. wet. Jolanta Rola, ul. Kościuszki 19/16, 24-100 Puławy

JOANNA SZTEYN, JAN URADZIŃSKI

Wpływ chłodzenia imersyjnego na zanieczyszczenie tuszek i narządów wewnętrznych drobiu bakteriami rodzaju *Campylobacter**

Katedra Higieny Produktów Zwierzęcych Wydziału Weterynaryjnego AR-T, ul. Oczipowskiego 14, 10-957 Olsztyn – Kortowo

Summary

The effect of immersion cooling on *Campylobacter* spp. contamination of carcasses and internal organs of poultry

The influence of immersion cooling on frequency of *Campylobacter* spp. contamination of carcasses and internal organs of slaughter poultry was examined. Chicken, duck and turkey carcasses, livers and stomachs were examined directly before disemboweling and then after immersion cooling (cooling into water with ice). A significant level of carcass contamination was noted: 28.6% in poultry, 32.7% in ducks and 15.2% in turkeys in skin surface examination and 21.9%, 23.6% and 18.1% respectively in swabs taken from the body cavities after disemboweling. The percentage of contamination of liver and stomach surface was high: 13.6% for chicken liver, 34.5% for duck liver and 41.9% for turkey liver, and for stomach 11.2%, 30.9% and 20.0%, respectively. The frequency of *Campylobacter* spp. isolation from pectoral and femoral muscles, liver perenchyma and muscular layer of stomach was significantly lower. Immersion cooling decreased the number of contaminated carcasses, livers and stomachs in ducks and livers and stomachs in turkeys. However, it increased the number of contaminated carcasses of chickens and turkeys after examination of their body cavities – livers

and stomachs of chickens and muscular layers of stomachs in turkeys.

Campylobacter jejuni już drugie dziesięciolecie uznawany jest za odżywnościowy czynnik chorobotwórczy, mogący być przyczyną *gastroenteritis acuta* u ludzi. Jak wynika z licznych danych z terenu Europy Zachodniej, USA i Kanady drobnoustroje rodzaju *Campylobacter* są obecnie przyczyną 5 do 9% (12, 15), a według niektórych autorów nawet do 13% (18, 20) przypadków ostrych biegunek zakaźnych. W badaniach przeprowadzonych w kraju Rożynek i wsp. (16) wyizolowali te bakterie z 11,2% próbek kału pochodzącego od dzieci z *enterocolitis*. Wiadomości napływające z innych krajów – Anglii (8, 9), Francji (5) czy krajów skandynawskich (13) wskazują na znaczne zakażenie tuszek drobiowych bakteriami rodzaju *Campylobacter*. Opiswane są także liczne przypadki zatruc pokarmowych spowodowanych zwykle konsumpcją niedopieczonego drobiu (3, 4, 6, 7, 14, 17, 19).

W Polsce nie prowadzi się badań rutynowych w kierunku izolacji tego drobnoustroju z żywności. Dlatego też podjęto badania własne nad występowaniem *Campylobacter jejuni*

*Praca wykonana w ramach tematu badawczego nr 4120.801