

ZDZISŁAW E. SIKORSKI

artykuł przeglądowy

Listeria monocytogenes w wędzonych rybach

Katedra Technologii Utrwalania Żywności Wydziału Chemicznego Politechniki Gdańskiej ul. Gabriela Narutowicza 11/12, 80-952 Gdańsk-Wrzeszcz

Wędzone ryby mogą stanowić źródło bakteryjnych zatruc i zakażeń pokarmowych. To zagrożenie wynika z wyjściowego zakażenia surowca, z niewłaściwego postępowania z rybami po złowieniu, z małej skuteczności bakteriobójczego działania wędzenia, z wtórnych zanieczyszczeń produktu oraz ze złych warunków przechowywania towaru u producenta, w sklepie lub w domu.

Dotychczas szczególną uwagę poświęcano zatruciom po spożyciu ryb wędzonych na gorąco, zawierających toksynę *Cl. botulinum* (2). Aby wyeliminować ryzyko zatrucia tą toksyną opracowano zasady dobrej praktyki produkcyjnej przewidujące ogrzewanie środka najgrubszej części ciała ryby w temp. 82°C przez 30 min., przy zawartości 3,5% NaCl w fazie wodnej oraz szybkie oziębienie i przechowywanie produktu w temperaturze nie wyższej niż 4°C. Od ok. 10 lat uznaje się, że zagrożenie dla konsumenta może wynikać także z obecności w rybach wędzonych, szczególnie na zimno, bakterii *L. monocytogenes*.

Warunki rozwoju

L. monocytogenes rozwija się na pożywkach w temp. 1-45°C przy pH 4,3-9,6. W mięsie ryb populacja osiąga w temp. 7°C liczebność 10^8 jtk/g po 2 tygodniach (7). Oporność *L. monocytogenes* na NaCl zwiększa się wraz z temperaturą w zakresie 2-25°C (3). W solonych plastrach łososia szybkość rozwoju *L. monocytogenes* zależy od zawartości NaCl, od temperatury i od dostępu powietrza. W temp. 10°C w próbkach zawierających 10 jtk/g i 6% NaCl w fazie wodnej populacja wzrasta w czasie 2 tygodni o 4 do 6 rzędów wielkości, zaś w temp. 5°C nie ulega zmianie. Opakowanie próżniowe zmniejsza szybkość rozwoju kolonii w produkcie zawierającym 3% i 5% NaCl o 2-3 rzędy wielkości (26).

Większy efekt hamujący rozwój *L. monocytogenes* można uzyskać stosując NaCl razem z innymi środkami utrwalającymi. W rozdrobnionym mięsie łososia zanieczyszczonym *L. monocytogenes* 10 jtk/g, mleczań sodu w stężeniu 2% całkowicie powstrzymuje przez 50 dni rozwój kolonii w temp. 5°C przy zawartości 3% NaCl w fazie wodnej. W temp. 10°C nie dochodzi do wzrostu przez 35 dni przy zawartości

3% mleczań sodu w obecności 3% NaCl lub w środowisku zawierającym 2% mleczań + 3% NaCl i 125 mg/kg NaNO₂ (24). W produkcie zawierającym 190-200 mg/kg NaNO₂ i 3% NaCl w fazie wodnej populacja *L. monocytogenes* nie zwiększa się w temp. 5°C przez 34 dni (25). Benzoesan sodu i sorbinian potasu w stężeniu 1000 mg/kg hamują wzrost *L. monocytogenes* przy pH 5 lecz są całkowicie nieaktywne przy pH 7 (3). Opryskanie gotowanych krewetek roztworem sorbinianu potasu w ilości 30 mg/kg przedłuża w temp. 4°C o 2 dni fazę przygotowawczą lecz nie zmniejsza szybkości wzrostu *L. monocytogenes* w fazie wykładniczej. Podobna dawka kwasu cytrynowego jest całkowicie nieaktywna (10).

Minimalne pH umożliwiające rozwój *L. monocytogenes* zależy od jakości pożywki, temperatury i rodzaju kwasu powodującego zakwaszenie środowiska. Kwasy o większej stałej dysocjacji wywierają większy efekt bakteriostatyczny niż kwasy o mniejszej pK_a. Działanie wielu kwasów ulega wzmocnieniu w obecności środków powierzchniowo czynnych (23).

Występowanie w środowisku i zanieczyszczenie surowca

Listeria spp., w tym także *L. monocytogenes*, wykryto w 5-80% badanych próbek wód słodkich i morskich oraz osadów dennych. Znajduje się je w wielu farmach ryb i w wędzarniach (17). W Tasmanii zanieczyszczenie farm rybnych jest podstawową przyczyną występowania *L. monocytogenes* w wędzonych na zimno łososiach. Obecność listerii stwierdzono także w świeżych i mrożonych rybach (7, 29, 30). Wykryto je w 10% z 683 próbek ryb i skorupiaków pobranych z hurtowni i sklepów detalicznych w Japonii. W większości tych produktów zidentyfikowano *L. innocua* a w 1,8% ryb *L. monocytogenes*. Liczebność populacji nie przekraczała na ogół 10 jtk/g (20). W mrożonych i chłodzonych rybach, kalmarach i krabach oferowanych na rynku tajwańskim wykryto *L. monocytogenes* w 10% z 57 próbek (31). Natomiast w 35 próbkach tropikalnych ryb chłodzonych i mrożonych oraz ryb suszonych zawierających 20-25% wody i 15-20% soli nie

stwierdzono obecności tych bakterii. *L. innocua* występowała w 30-38% ryb świeżych i mrożonych (13). Nie wykryto obecności *L. monocytogenes* w 60 próbkach mrożonego łososia dostępnego na rynku japońskim (18).

Wpływ wędzenia

Składniki dymu, w szczególności fenole, działają na *L. monocytogenes* bakteriostatycznie. Efekt zależy od stężenia tych składników i zapewne również od innych czynników. W parówkach zanieczyszczonych *L. monocytogenes*, potraktowanych zewnętrznie roztworem dymu firmy Red Arrow, populacja tych bakterii była po 72h w temp. 4°C o 3 rzędy wielkości mniejsza niż w próbkach kontrolnych (22). Nie wykryto *L. monocytogenes* w wędzonym na zimno pstrągu pomimo, że surowiec pochodził z zakażonej partii (17). Natomiast zimne wędzenie filetów łososia nie wpłynęło na liczebność *L. monocytogenes* (14, 15).

Listerie mają stosunkowo dużą oporność cieplną. Temperatura 65°C w czasie 20 min. w środku ryby wystarcza do zmniejszenia populacji *L. monocytogenes* w pstrągach wędzonych na gorąco o 6 rzędów wielkości (16). Oporność cieplna (D) szczepów *L. monocytogenes* Scott A, F5069 i F5027 w gotowanym, rozdrobionym mięsie krewetek w temp. 55, 60 i 65°C, wynosi 10,23, 1,98 i 0,19 min. a wartość $z=5,5^{\circ}\text{C}$ (11). Te dane są zbliżone do wartości uzyskanych w mięsie krabów i homarów. D60 dwóch szczepów *L. monocytogenes* w pasteryzowanych rybach mięsici się w zakresie 1,95-4,48 min., w zależności od szczepu bakterii oraz od gatunku ryb, a $z=5,65$ i $6,4^{\circ}\text{C}$ (4).

Rozwój w wędzonych rybach

W wędzonym produkcie listerie mogą występować w stanie zdolnym do rozwoju jako pozostałość pierwotnej mikroflory, nie zniszczona działaniem dymu lub ogrzewaniem albo pojawiają się wskutek wtórnego zanieczyszczenia szczególnie przy plasterkowaniu produktu. Szybkość rozwoju *L. monocytogenes* w wędzonych rybach zależy od stanu i wyjściowej liczebności populacji oraz, przede wszystkim, od temperatury i aktywności wody.

W mięsie pstrąga wędzonego na gorąco, zanieczyszczonym po uwędzeniu *L. monocytogenes* w liczbie 30 jtk/g, liczebność populacji nie ulega istotnej zmianie w czasie 20 dni w temp. 4°, lecz w zakresie temp. 4-10°C wzrasta istotnie, a przy 8-10°C nawet o 6 rzędów wielkości (14, 16). W wędzonym na zimno łososiu opakowanym próżniowo, zawierającym 5,4% NaCl w fazie wodnej, przy pH 6,04, zakażonym po uwędzeniu mieszaniną 6 szczepów *L. monocytogenes* w liczbie 10^4 jtk/ml, liczebność kolonii może wzrosnąć o 4 rzędy wielkości po 18

dniach w temp. 10°C. Natomiast w temp. 5°C nie było wzrostu populacji w okresie do 25 dni. W rybach solankowanych solą z dodatkiem 0,5% NaNO₂ szybkość rozwoju *L. monocytogenes* była mniejsza (4). W próżniowo opakowanym, wędzonym łososiu zakażonym mieszaniną 3 szczepów *L. monocytogenes* wykryto wszystkie szczepy po 4 tygodniach w temp. 4°C (27). Intensywniejszy rozwój *L. monocytogenes* w wędzonym łososiu w temp. 10°C stwierdzono w badaniach wykonanych w Japonii. W próbach o początkowym zakażeniu 10²/g zakażenie sięgało 10⁷-10⁸/g już po 5 dniach, natomiast w temp. 2°C liczebność populacji wzrosła po 10 dniach do 10⁴-10⁵/g zaś po 20 dniach do 10⁸/g. W rybach opakowanych próżniowo rozwój *L. monocytogenes* był nieco mniej intensywny. W temp. -20°C zakażenie zmniejszyło się o ok. 1 rząd wielkości po 6 miesiącach (18).

Istotny wpływ na *L. monocytogenes* w wędzonych rybach wywierają także inne drobnoustroje. W wędzonym, plasterkowanym łososiu populacje bakterii wytwarzających kwas mlekowy osiągają liczebność 10⁷-10⁸ jtk/g (6). Sądzi się, że ich intensywny rozwój hamuje wzrost *L. monocytogenes* w wędzonych rybach, chociaż Guyer i Jemmi (14) nie stwierdzili wpływu pH w zakresie 5,8-6,3 na populację *L. monocytogenes*.

L. monocytogenes w rybach wędzonych oferowanych na rynku

Próbki ryb wędzonych pobierane na rynku są w 10-15% zanieczyszczone *L. monocytogenes* (15). W wędzonych na zimno i gorąco rybach ze sklepów w Kanadzie listerie zidentyfikowano w 17% z 258 próbek, w tym 42% stanowiła *L. innocua*, 30% *L. welshmeri* i 28% *L. monocytogenes* (9). W 20 różnych próbkach ryb i kalmarów wędzonych na gorąco w Nowej Zelandii wykazano obecność *L. monocytogenes* w 35% badanej populacji. Ryby wędzone na zimno były zanieczyszczone w 55%, a ryby po okresie zalecanym przez producenta do spożycia w 100% (12). Natomiast w mrożonym surowcu i w 80 próbach wędzonych na zimno, plasterkowanych i opakowanych próżniowo łososi atlantyckich i pacyficznych nie wykryto *L. monocytogenes* (6). W 76 rynkowych próbkach wędzonego łososia w Japonii stwierdzono obecność *L. monocytogenes* w 12 przypadkach (18).

Znaczenie *L. monocytogenes* w ocenie jakości ryb wędzonych

Na podstawie dostępnych, opublikowanych informacji nie można jeszcze wykorzystać metod mikrobiologii predyktywnej do przewidywania rozwoju populacji *L. monocytogenes* w wędzonych rybach (21). Taki stan jest w dużej mierze skutkiem cza-

sochłonnej i kosztownej procedury oznaczania tych bakterii (5). Postęp uzyskany ostatnio w zakresie stosowania polimerazowej reakcji łańcuchowej do identyfikacji patogennych drobnoustrojów umożliwi zapewne oznaczanie *L. monocytogenes* w wędzonych rybach w czasie 4-6 godzin, bez konieczności uprzedniego namnażania populacji (19).

Dotychczas nie ma jednolitego stanowiska władz sanitarnych wielu krajów dot. obecności *L. monocytogenes* w żywności nie poddawanej obróbce cieplnej przed spożyciem. W USA wprowadzono wymaganie nieobecności *L. monocytogenes* w 25 g takich produktów (8). W Niemczech rekomenduje się zróżnicowane wymagania w odniesieniu do różnych kategorii artykułów żywnościowych. Nie dopuszcza się obecności *L. monocytogenes* w 25 g produktów dietetycznych i przeznaczonych dla niemowląt, natomiast w żywności, którą poddaje się obróbce cieplnej zanieczyszczenie nie powinno przekraczać 10^3 jtk/g (28). Jednocześnie zaleca się producentom przestrzeganie zasad HACCP celem zapewnienia należytej higieny produkcyjnej. Zmniejszenie zanieczyszczenia surowca i wyeliminowanie zanieczyszczeń produktu jest bowiem warunkiem zapobiegania zatruciom pokarmowym za przyczyną wędzonych ryb. Wtórne zanieczyszczenia uznaje się jako główne źródło *L. monocytogenes* również w innych produktach żywnościowych przeznaczonych do spożycia bez dodatkowej cieplnej obróbki kulinarnej.

Piśmiennictwo

1. Ahmed F. E.: Seafood Safety. National Academy Press, Washington, D. C. 1991.
2. Alderman G. G., King G. J., Sugiyana H.: J. Milk Fd Technol. 35, 163, 1972.
3. Ben Embarek P. K., Huss H. H.: Growth of *Listeria monocytogenes* in lightly preserved fish products. W: Quality Assurance in the Fish Industry, H. H. Huss et al., wyd. Elsevier Sci. Publ., Amsterdam 1992.
4. Ben Embarek P. K., Huss H. H.: Internat. J. Fd Microbiol. 20, 85, 1993.
5. Casidy P. K., Brackett R. E.: J. Fd Prot. 52, 207, 1989.

6. Civera T., Parisi E., Amerio G. P., Giaccone V.: Arch. Lebensmittelhyg. 46, 1, 1995.
7. Dillon R. M., Patel T. R.: J. Fd Prot. 55, 1009, 1992.
8. Dillon R., Patel T., Ratnam S.: J. Fd Prot. 55, 866, 1992.
9. Dillon R., Patel T., Ratnam S.: Internat. J. Fd Microbiol. 22, 73, 1994.
10. Dorsa W. J., Marshall D. L., Semien M.: Lebensm.-Wiss. Technol. 26, 480, 1993.
11. Dorsa W. J., Marshall D. L., Moody M. W., Hackney C. R.: J. Fd Prot. 56, 106, 1993.
12. Fletcher G. C., Rogers M. L., Wong R. J.: J. Aquat. Food Prod. Technol. 3, 13, 1994.
13. Fuchs R. S., Surendran P. K.: Lett. Appl. Microbiol. 9, 49, 1989.
14. Guyer S., Jemmi T.: Appl. Environm. Microbiol. 57, 1523, 1991.
15. Jemmi T.: Arch. Lebensmittelhyg. 44, 10, 1993.
16. Jemmi T., Keusch A.: Internat. J. Fd Microbiol. 15, 339, 1992.
17. Jemmi T., Keusch A.: Fd Microbiol. 11, 309, 1994.
18. Jin M., Kusunoki K., Arai T., Irikura Y., Suzuki K., Hitara I., Kokubo Y., Maruyama T.: Jap. J. Fd Microbiol. 11, 107, 1994.
19. Kotłowski R., Sachadyn P., Kur J.: Mat. XXVI Sesji Nauk. Kom. Technol. Chemii Żywn. PAN, Łódź 1995, s. 292.
20. Masuda T., Iwaya M., Miura H., Kokubo Y., Maruyama T.: J. Fd Hyg. Soc. Japan 33, 599, 1992.
21. McMeekin R. A., Olley J. N., Ross T., Ratkowsky D. A.: Predictive Microbiology - Theory and Application. Research Studies Press Ltd, Taunton, Somerset, England, John Wiley & Sons, New York, 1993.
22. Messina M. C., Ahmad H. A., Marchello J. A., Gerba Ch. P., Paquette M. W.: J. Fd Prot. 51, 629, 1988.
23. Oh D.-H., Marshall D. L.: J. Fd Sci. 59, 1258, 1994.
24. Pelroy G. A., Peterson M. E., Holland P. J., Ecklund M. W.: J. Fd Prot. 57, 108, 1994.
25. Pelroy G. A., Peterson M. E., Paranjpye R., Almond J., Ecklund M. W.: J. Fd Prot. 57, 114, 1994.
26. Peterson M. E., Pelroy G. A., Paranjpye R. N., Poysky F. T., Almond J. S., Ecklund M. W.: J. Fd Fort. 56, 938, 1993.
27. Rorvik L. M., Yndestad M., Skjerve E.: Internat. J. Fd Microbiol. 14, 111, 1991.
28. Teufel P.: Dairy Fd Environm. Sanit. 14, 212, 1994.
29. Weagant S. D., Sado P. N., Colburn K. G., Torkelson J. D., Stanley F. A., Krane M. H., Shields S. C., Thayer C. F.: J. Fd Prot. 51, 655, 1989.
30. Wekell M. M., Manger R., Colburn K., Adams A., Hill W.: Microbiological quality of seafoods: viruses, bacteria and parasites. Rozdz. 11 w: Seafoods: Chemistry, Processing Technology and Quality. Wyd. F. Shahidi i R. Botta, Blackie Academic and Professional, London 1994.
31. Wong H. Ch., Chao W. L., Lee S. J.: Appl. Environm. Microbiol. 56, 1101, 1990.

Adres autora: prof. dr hab. Zdzisław E. Sikorski, ul. Chrzanowskiego 64D/2, 80-278 Gdańsk-Wrzeszcz

LANDONI M.F., CINTRINGHAM F.M., LEES P.: Porównanie farmakodynamiki fluniksyny, ketoprofenu i kwasu tolfenamowego u cieląt. (Comparative pharmacodynamics of flunixin, ketoprofen and tolfenamic acid in calves). Vet. Rec. 137, 428-431, 1995 (17)

U cieląt porównano farmakodynamikę niesterydowych leków przeciwzapalnych: fluniksyny, ketoprofenu i kwasu tolfenamowego stosowanych w iniekcjach dożylnych. Ostry odczyn zapalny wywołano podskórną implantacją polipropylenowych kłateczek, do których wstrzyknięto 0,5 ml 1% środka drażniącego (carregeenane). W powstającym wysięku określono aktywność metaloproteazy, proteazy seryny i cysteiny, fosfatazy zasadowej, dehydrogenazy mleczanowej w wysięku i beta-glukuronidazy, poziom PGF2 i LtB4. Ponadto oznaczono hamowanie syntezy tromboksanu, obrzęk bradykininowy i pojawienie się anionów nadtlennokowych. Żaden z trzech badanych leków nie wpływał na stężenie LBT4, a aktywność metaloproteazy, proteazy seryny i cysteiny, aktywność fosfatazy zasadowej i dehydrogenazy mleczanowej w wysięku zapalnym. Wszystkie trzy preparaty hamowały syntezę tromboksanu surowiczego i PGF2 w wysięku i uwalnianie beta-glukuronidazy, zmniejszały nasilenie obrzęku po śródskórnym podaniu bradykininy i hamowały wytwarzanie anionów nadtlennokowych przez neutrofile.

G.

VAN DER POEL W. H. M., KTAMPS J. A., QUAK J., BRAND A., VAN OIRSCHAT J. T.: Czas utrzymywania się specyficznych przeciwciał dla herpeswirusa bydła 1 u bydła po szczepieniu donosowym żywą szczepionką. (Persistence of bovine herpesvirus-1 specific antibodies in cattle after intranasal with a live virus vaccine). Vet. Rec. 137, 347-348, 1995 (14)

Herpeswirus bydła 1 (BHV-1) wywołuje u bydła choroby o przebiegu ostrym, takie jak zapalenie nosa i tchawicy bydła (IBR), zakaźne zapalenie pochwy i sromu (IPV/IPB). Z tych względów ważne jest określenie okresu ochronnego po szczepieniu. W 4 stadach krów seronegatywnych w okresie 2 miesięcy po szczepieniu szczepionką zawierającą BHV-1 pojawiły się u 83% osobników swoiste przeciwciała. Szczepionkę w ilości 1 ml wdychiwano do jamy nosowej 80% zwierząt w każdym stadzie. W tym samym czasie serokonwersja miała miejsce u reszty krów nieszczepionych, co wskazywało na siewstwo wirusa szczepionkowego. U 91% krów, u których wystąpiła serokonwersja po 30 miesiącach po szczepieniu występowały jeszcze przeciwciała dla wirusa BHV-1.

G.