PRISUTNOST I ZNAČAJ BAKTERIJE LISTERIA MONOCYTOGENES U NAMIRNICAMA BILJNOGA I ŽIVOTINJSKOGA PODRIJETLA

Pešerović, Ariela

Undergraduate thesis / Završni rad

2015

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of agriculture / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:151:964609

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-20**

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek - Repository of the Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek

zir.nsk.hr

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE J. J. STROSSMAYERA U OSIJEKU

POLJOPRIVREDNI FAKULTET

Ariela Pešerović

Preddiplomski studij smjera bilinogojstvo

PRISUTNOST I ZNAČAJ BAKTERIJE *LISTERIA MONOCYTOGENES* U NAMIRNICAMA BILJNOGA I ŽIVOTINJSKOGA PODRIJETLA

Završni rad

Osijek, 2015

SVEUČILIŠTE J. J. STROSSMAYERA U OSIJEKU

POLJOPRIVREDNI FAKULTET

Ariela Pešerović

Predidplomski studij bilinogojstvo

PRISUTNOST I ZNAČAJ BAKTERIJE *LISTERIA MONOCYTOGENES* U NAMIRNICAMA BILJNOGA I ŽIVOTINJSKOGA PODRIJETLA

Završni rad

Povjerenstvo za obranu završnoga rada:

1. prof. dr. sc. Zlata Milaković, predsjednik
2. doc. dr. sc. Gabriella Kanižai Šarić, mentor
3. doc.dr.sc. Ivona Đurkin Kušec, član

Osijek,2015

SADRŽAJ:

1. UVOD **1**

2. OPĆE OSOBINE RODA *LISTERIA* **2**

3. PRISUTNOST BAKTERIJE *LISTERIA MONOCYTOGENES* U NAMIRNICAMA BILJNOGA PODRIJETLA **4**

4.PRISUTNOST *LISTERIA MONOCYTOGENES*U NAMIRNICAMA ŽIVOTINJSKOGA PODRIJETLA **6**

5. KLINIČKA SLIKA LISTERIOZE **10**

5.1. POKUSNI MODEL LISTERIOZE 12

6. SIGURNOST U PROIZVODNJI I PRERADI NAMIRNICA BILJNOGA I ŽIVOTINJSKOGA PODRIJETLA **14**

7. PREVENCIJA I ZAŠTITA OD ZARAZE BAKTERIJOM *LISTERIA MONOCYTOGENES* **17**

8. ZAKLJUČAK **19**

9. POPIS LITERATURE **20**

10. SAŽETAK **22**

11. SUMMARY **23**

12. POPIS TABLICA **24**

13.POPIS GRAFIKONA **25**

13. POPIS SLIKA **26**

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA **27**

1. UVOD

Pojava gastrointestinalnih bolesti nakon unošenja određenih namirnica u čovjekov organizam može biti izazvana aktivnošću patogenih bakterija, virusa, alergena, otrovnih biljaka ili životinjskih patogena.

Najčešća hrana koja je uzrok različitih gastrointestinalnih bolesti je crveno meso, jaja i razni mliječni proizvodi. Najčešći izazivači trovanja hranom su: *Salmonella* i *Campylobacter species, Staphylococcus aureus, Clostridium perfringens, Clostridium botulinum, Escherichia coli 0157, Shigella, Vibrio* i *Listeria monocytogenes* (Bubonja i sur., 2007.).

Ovi uzročnici izazivaju različita oboljenja te su opasni za ljudski i životinjski organizam. Među najštetnijim bakterijama roda *Listeria* smatra *se Listeria monocytogenes* koja je uzročnik infekcije listerije.Širi se hranom i uzrokuje smrtnost u 20-30% slučajeva (Karakašević, 1989.).

Najugroženiju skupinu ljudi prestavljaju trudnice te fetusi u razvoju i osobe starije od 50 godina. Ova bakterija je pronađena i izolirana iz mnogih izvora kao što su: tlo, voda, kanalizacija, razne otpadne vode, rijeke i slani rukavci. Može se pronaći kao dio normalne flore intestinalnog trakta kod ljudi i životinja (Popović i Đurđević-Milošević, 2008).

2. OPĆE OSOBINE RODA *LISTERIA*

Rod *Listeria* se sastoji od 8 vrsti (Farber i Peterkin, 1991.): *L.monocytogenes, L.decui, L.grayi, L. murray, L. iivanovi, L. welshimeri, L. seeligeri, L. innocua.*

Svaka od nabrojanih bakterija se razlikuje po nekim svojstvima te po simptomima koje izazivaju. Uz *L. monocytogenes* i *L. ivanovii* je česti uzročnik oboljenja kod ljudi i životinja (Karakašević, 1989.).

Listeriu su prvi puta otkrili profesor E.G.D. *Murray*, R. A. Webbi, M. B. R. Swann izoliranjem iz zaraženih kunića. Zaključili su da je monocitoza jedan od bitnih simptoma tih oboljenja te su je nazvali *Bacterium monocytogenes*. Potom je Pirie izolirao istu bakteriju koja je kod eksperimentalnih životinja izazvala oboljenja jetre i zbog toga su je nazvali *Listerella hepatolytica*. Nedugo zatim je utvrđeno da se radi o istoj bakteriji.Bakterija je dobila naziv *Listeria monocytogenes*pa je taj naziv i zadržan (Karakašević, 1989.). Kod čovjeka je bakterija izolirana 1930.godine, a izolirao ju je *Nyfeld* (Karakašević, 1989.). Od tada dolazi do sve većeg broja prijavljenih slučajeva i to najčešće kod radnika koji su u kontaktu s zaraženim životinjama (Farber i Peterkin, 1991.).

L. monocytogenes je fakultativno anaerobna je bakterija koja ne stvara spore. Štapićastoga je oblika sa zaobljenim krajevima,a može biti raspoređena pojedinačno, po dvije u vidu slova V ili više njih paralelno (Slika 1.) (Karakašević, 1989.). Pokreće se flagelama. Po Gramu se boje pozitivno, iako postoje neke sojevi koji su Gram-negativne (Karakašević, 1989.). *L. monocytogenes* ima veliku sposobnost prilagodbe i izdržljivosti u širokom rasponu pH i temperature. Ovaj patogen preživljava temperature smrzavanja i obično se uništava na temperaturi obrade iznad 61, 5˚C. Temperatura pasterizacije sporo uništava, a neke sojeve su otporni (Karakašević, 1989.). Optimalan opseg temperature za razmnožavanje ovog mikroorganizama je između 30- 37˚C. Ovakva prilagodba omogućava *L. monocytogenes* preživljavanje u namirnicama koje su uskladištene i na niskim temperaturama te stoga ovaj uzročnik predstavlja veliki problem u prehrambenoj industriji te potencijalnu opasnost za ljudsko zdravlje (Bubonja i sur., 2007.).

Slika 1. Mikroskopska slika *L. monocytogenes*

(https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Listeria_Monocytogenes:_A_Pathological_Perspective)

3. PRISUTNOST BAKTERIJE *LISTERIA MONOCYTOGENES* U NAMIRNICAMA BILJNOGA PODRIJETLA

*L. monocytogenes*je izolirana iz različitih namirnica biljnoga podrijetla. Naročito veliki rizik za zdravlje potrošača predstavlja svježe povrće i voće. Najčešće se listerioze javlja kao posljedica konzumiranja svježeg kupusa, zelene salate, celera, rajčice, mrkve, krastavaca, krumpira, rotkvica i drugog povrća (Popović i Đurđević-Milošević, 2008.).

Prema istraživanjima autorice Kovačević (2010.) o prisutnosti *L. monocytogenes*u minimalno procesiranom i hlađenom povrćukoje je provedeno u razdoblju od ožujka 2008. do travnja 2009. analizirano je 100 uzoraka iz osječkih trgovina na prisutnost *Listeria spp*. Ispitane su zelene, delikates i kupus salate, miješano, lisnato povrće i korjenasto povrće. *Listeria spp.* dokazane su u 20% uzoraka, a *L. monocytogenes* u 1 % uzoraka u broju <100 cfu/g. Također je ispitivano i preživljavanje i rast *L. monocytogenes*na 50 laboratorijski inokuliranih uzoraka. Preživljavanje inokuliranog soja je utvrđeno u svim grupama ispitanog minimalnog procesiranog i hlađenog povrća čuvanog na temperaturi hlađenja do isteka trajnosti. Utvrđena je djelomična ili potpuna inhibicija rasta *L. monocytogenes* na inokuliranom miješanom i korjenastom povrću. Rast populacije je u svim inokuliranim uzorcima bio slab pri prikladnoj temperaturi hlađenja. Mikrobiološka ispravnost ispitanog minimalno procesiranog i hlađenog povrća iz osječkih trgovina je zadovoljavajuća s obzirom na prisutnost/odsutnost *L. monocytogenes*. Autorica je zaključila kako je prisutnost *L. monocytogenes* i drugih *Listeria spp*. te utvrđena mogućnost preživljavanja i rasta *L. monocytogenes* na ispitanim proizvodima ukazuje da rizici pri konzumaciji i vjerojatnost pojavljivanja štetnog utjecaja na zdravlje ljudi nisu potpuno otklonjeni.

U istraživanju Aureli i sur. (2010.) *L. monocytogenes* je izolirana iz hladne salate od kukuruza i tune pri čemu je došlo do razvojafebrilnog gastroenteritisa, a simptome je prijavilo 1566 osoba (72%) od kojih je hospitalizirano 292 osobe (19%). *L. monocytogenes* je izolirana iz jednoga uzorka krvi i 123 uzoraka stolice (od ispitanih 141 hospitaliziranih osoba). Znanstvenici su došli do zaključka da *L. monocytogenes* zahtjeva kratko vrijeme inkubacije (24 sata) kako bi izazvala gastrointestinalne simptome i groznicu. Istraživanjem je dokazano kako listerioza nije rijetka kod imunokompetetnih osoba i najčešće se manifestira u obliku probavnih bolesti i groznice.

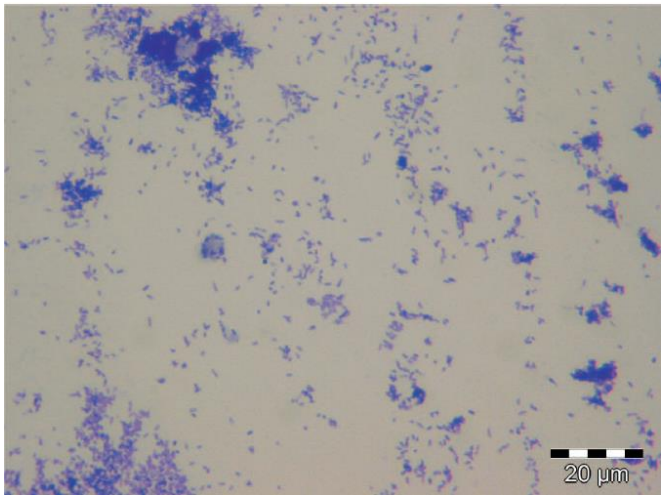
U radu o preživljavanju *L. monocytogenes* u svježe rezanim jagodama autora Flessa i sur. (2005.) korištene su svježe, zrele i neoštećene jagode koje su kupljene u lokalnom supermarketu dan prije pokusa ili na dan pokusa. Utvrđeno je da opstanak patogena jemoguć kada su temperature skladištenja namirnica ispod 10˚C. Smanjenje *L. monocytogenes* na jagodama koje su uskladištene na 48h na temperaturi od 24˚C nije postignuto sve dok one nisu uskladištene na 4˚C u trajanju od 4-7 dana. Svježe ili smrznute jagode se često koriste kao sastojak ili dodatak drugome jelu bez daljnje obrade te iako se smatraju nisko rizičnim voćem za širenje listerioze svakako bi trebalo biti na oprezu.

Osim u namirnicama biljnog podrijetla *L. monocytogenes* može kontaminirati i stočnu hranu biljne naravi. U istraživanju autorice Zadravec i sur. (2012.) o nalazu *L. monocytogenes* iz silaže za ishranu krava muzara ispitana su 32 uzorka silaže koji su sakupljeni slučajnim odabirom iz farmi mliječnih krava u okolici Križevaca. Svi dobiveni pozitivni rezultati, za koje je temeljem morfoloških svojstava, hemolitičke sposobnosti i određivanja katalaze i CAMP testa, podvrgnuti su i biokemijskoj identifikaciji bakterija do vrste automatiziranim sustavom api *Listera* (bioMerieux, Francuska) kojim se određuje 10 različitih biokemijskih osobina.

Rezultati istraživanja dokazali su prisutnost *L. monocytgenes* u 6 uzoraka silaže (18, 75%). Na temelju rezultata provedenog istraživanja, autori su zaključili da je učestalost *L. monocytogenes* u silaži relativno rijetka. No, to ne umanjuje stvarnu opasnost za zdravlje životinja, a potom i ljudi budući da je *L. monocytogenes* vrlo proširena u okolišu i teško je spriječiti bolest u uzgojima. Zato je potrebno pozornost posvetiti pripremi zdrave, kvalitetne silaže, odnosno sprječavati kontaminaciju prostora i okoliša.

4.PRISUTNOST *LISTERIA MONOCYTOGENES*U NAMIRNICAMA ŽIVOTINJSKOGA PODRIJETLA

U prirodnim uvjetima od listerioze oboljevaju najčešće goveda i ovce. Nešto rjeđe zaraženi budu svinje, koze, psi i perad. Što se tiče divljih životinja, najčešće oboljevaju kunići, zečevi, srne, lisice i razne ptice (Karakašević, 1989). Iako se mikrobiološka neispiravnost gotovog proizvod često vezuje za zaraženost sirovina ili nepravilnosti u procesu proizvodnje, u slučaju *L.monocytogenes*, u rizičnoj grupi se nalaze svježe, neprerađene namirnice kao što su mlijeko, meso i meki sirevi. Osim toga, može biti prisutna i u čokoladnom mlijeku, jogurtu, raznim vrstama gotovih jela, kao što su kobasice, šunka, paštete, kuhana piletina, morski plodovi itd. (Popović i Đurđević-Milošević, 2008.). Prema istraživanjima autorice Markov i sur. (2009.) o prisutnosti *L. monocytogenes*u svježem siru i vrhnju domaće proizvodnje s područja grada Zagreba utvrđeno je da od 120 ispitanih uzoraka mliječnih proizvoda njih 64 bilo je kontaminirano patogenim mikroorganizmima. Od svih ispitanih uzoraka 4 uzorka su bila pozitivna na rod *Listeria*. Od 60 uzoraka vrhnja domaće proizvodnje *Listeria* je je potvrđena u 6 uzoraka. PCR analizom dokazana je *L. monocytogenes* u 1, 66% uzoraka vrhnja (Slika 2.) dok u uzorcima sira nije dokazana.

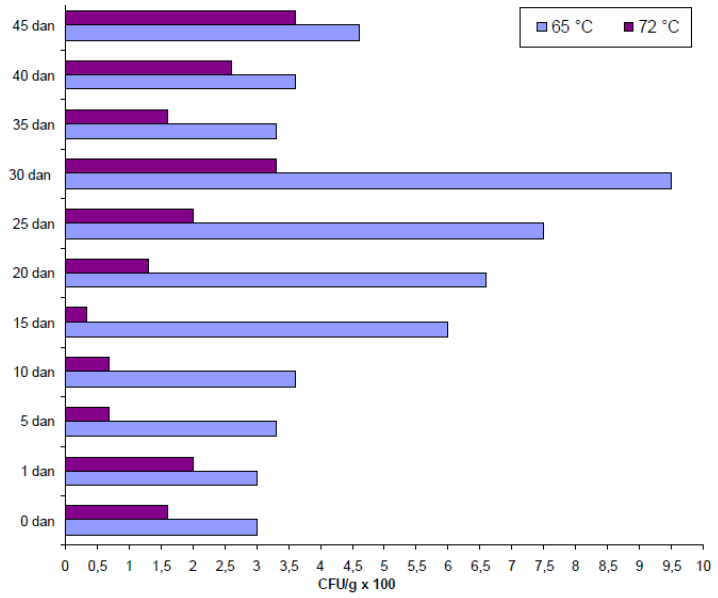


Slika 2. Izolat bakterije *L. monocytogenes* iz vrhnja, povećanje 10 × 100 (mjerna crta 20 µm)

(Markov i sur., 2009.)

U istraživanju Čaklovica i sur. (2011.) o utjecaju toplinske obrade i skladištenja na održivost bakterije *L. monocytogenes* u hrenovkama koje je obavljeno u razdoblju od 2008. – 2009. godine eksperimentalno je proizvedeno 69 uzoraka hrenovki od goveđeg/junećeg mesa te je za inokulaciju korišten komercijalni referentni soj bakterije *L.monocytogenes* ATCC 13932. Uzorci hrenovki su raspoređeni u skupinama prema temperaturi toplinske obrade i skladišteni su 0,5°C. Izolacija i brojanje bakterije *L. monocytogenes* u eksperimentalno inokuliranim hrenovkama provedena je službenom NMLK metodom (Lončarević i sur., 2008.). Nakon sekundarnog obogaćivanja korištena je podloga za detekciju i brojanje *L. monocytogenes* - Listeria Agar (Fluka). Bakterija *L. monocytogenes* je potvrđena na osnovu slijedećih testova: Gram-bojenje, pokretljivost, enzimska reakcija, katalaza i ß– hemoliza na krvnom agaru. Karakteristične zeleno-plave kolonije bakterije *L. monocytogenes* okružene mutnim vijencem su nakon toga prebrojane i njihov broj je pomnožen s razrjeđenjem da bi se dobio konačan broj cfu/g.

Autori su dokazali da opstanak i dinamika razvoja bakterije *L. monocytogenes*u hrenovkama nakon toplinske obrade kuhanjemna različitim temperaturama s jednakim vremenom skladištenja pored inicijalnog broja direktno zavisi od zastupljenosti vode u proizvodu i aktivnosti vode što je neophodno za opstanaki razvoj svih mikroorganizama te kompetitivne mikroflore. Dokazano je da temperatura skladištenja od 0,5˚ C ne zaustavlja razvoj *L. monocytogenes* te je potvrđeno je da je bakterija *L. monocytogenes*, u usporedbi s većinom patogenih uzročnika trovanja hranom, izuzetno otporna na utjecaje različitih temperatura toplinske obrade kod onečišćenih proizvoda (Grafikon 1.).



Grafikon 1.Preživljavanje bakterije L. monocytogenes u prethodno toplinski obrađenim (65°C i 72°C) hrenovkama pri skladištenju na temperaturi od 0,5°C u trajanju od 45 dana

(Čaklovica, K. i sur., 2011.)

Nadalje, prema istraživanju Daltona (1997.) dokazana je prisutnost *L. monocytogenes* u čokoladnom mlijeku u Ilinoisu 1994.godine. Četrdeset i pet ljudi (75%) od 60 koji su konzumirali mlijeko su prijavili neki tip simptoma koji bi mogli odgovarati simptomima trovanja *L. monocytogenes* (Tablica 1.). Razdoblje inkubacije iznosilo je 20 sati. Četiri osobe su hospitalizirane u prosjeku 8 bolničkih dana i nije zabilježen smrtni slučaj. Laboratorijskim istraživanjem neotvorenih mliječnih proizvoda čokoladnog mlijeka utvrđena je prisutnost *L. monocytogenes*u količini od 12×10^9 i 8, 8×10^8cfu po mililitru. Također *L. monocytogenes*je izolirana u 2 od 64 uzoraka mliječnih proizvoda u samoj mljekari.

Tablica1.Prikaz simptoma *L. monocytogenes* nakon konzumacije kontaminiranoga čokoladnoga mlijeka (Dalton i sur., 1997.)

SIMPTOMI	% LJUDI
PROLJEV	79
UMOR	74
GROZNICA	72
POVRAĆANJE	26
GRLOBOLJA	3
KRVAVI PROLJEV	3

5. KLINIČKA SLIKA LISTERIOZE

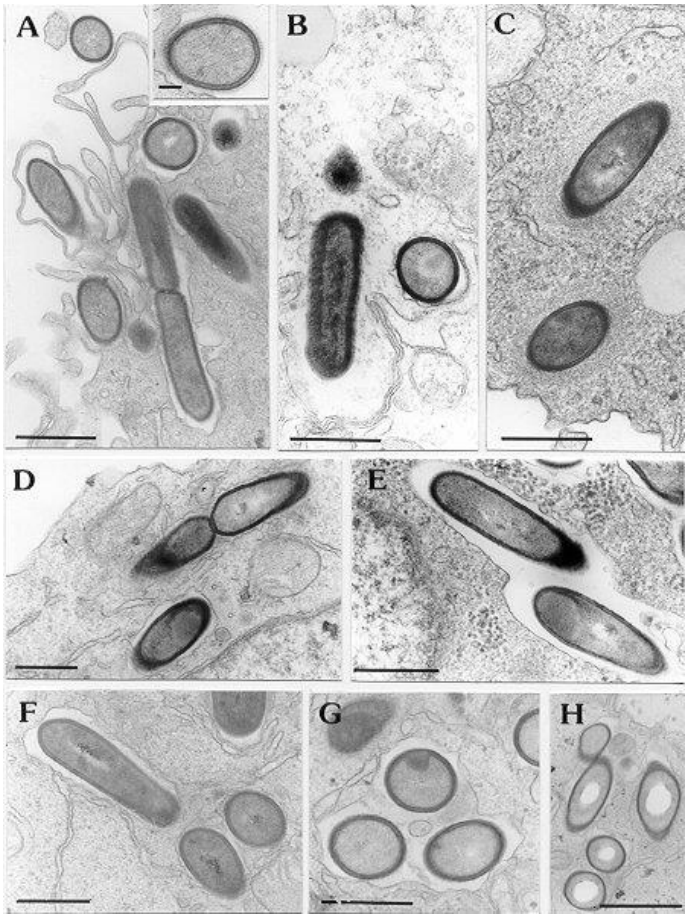
Nakon konzumacije kontaminirane hrane biljnog ili životinjskog podrijetla bolest se ne mora razviti kod svih ljudi. Rizične skupine su trudnice i njihova nerođena djeca (*L.monocytogenes* prolazi kroz posteljicu), ljudi s oslabljenim imunološkim sustavom (oboljeli od AIDS-a, nekih vrsta raka, astmatičari, bubrežni bolesnici, alkoholičari i dr.) te osobe starije životne dobi (Karakašević, 1989.). Prvi simptomi mogu se javiti i 12 sati nakon infekcije (Slika 4.), a obično su slični simptomima gripe i/ili tzv. crijevne viroze – bolovi u mišićima, vrućica, proljev, povraćanje (Slika 5.). Gastroenteritis koji uzrokuje *L. monocytogenes*, a čija inkubacija najčešće iznosi 21 dan dovodi do proljeva u trajanju od jednog do tri dana. Uz proljeve kao prepoznatljivo obilježje kod pacijenata dolazi do pojave vrućice, glavobolje, bolova u mišićima i ukočenog vrata, mučnine u trbuhu, pa čak i smetenosti, gubitka ravnoteže i konvulzija. Pravi problemi nastaju ako se bolest proširi i na živčani sustav, pa se javljaju simptomi meningitisa – vrtoglavica, ukrućenost vrata, gubitak ravnoteže. Bolest se uspješno liječi različitim vrstama antibiotika, no samo u slučaju ako se pravovremeno dijagnosticira.

Kod infekcije u trudnoći *L. monocytogenes* se može razmnožavati u rodnici i maternici, a do eventualne pojave simptoma dolazi uglavnom u trećem tromjesečju trudnoće. Tada se najčešće javlja vrućica, glavobolje te bolovi u zglobovima i mišićima, a komplicirani slučajevi nerijetko završavaju prijevremenim porodom ili pobačajem. Simptomi se obično povlače nakon jednog do dva tjedna (Karakašević, 1989.).

Novorođenačka infekcija dolazi u dva oblika. U ranom obliku infekcija listeriozema događa se u maternici te dovodi do preuranjenog poroda i pojave septičkog oblika bolesti (sindrom *granulomatosis infantiseptica*), a uzročnika je moguće izolirati iz krvi, posteljice, ušiju, nosa i ždrijela.Kasniji oblik javlja se tijekom prolaska kroz vaginalni kanal, premda je zabilježen i kod poroda carskim rezom - tada se obično manifestira kao febrilni sindrom praćen gnojnim meningitisom, a u određenom broju slučajeva kao gastroenteritis ili upala pluća (Karakašević, 1989.).

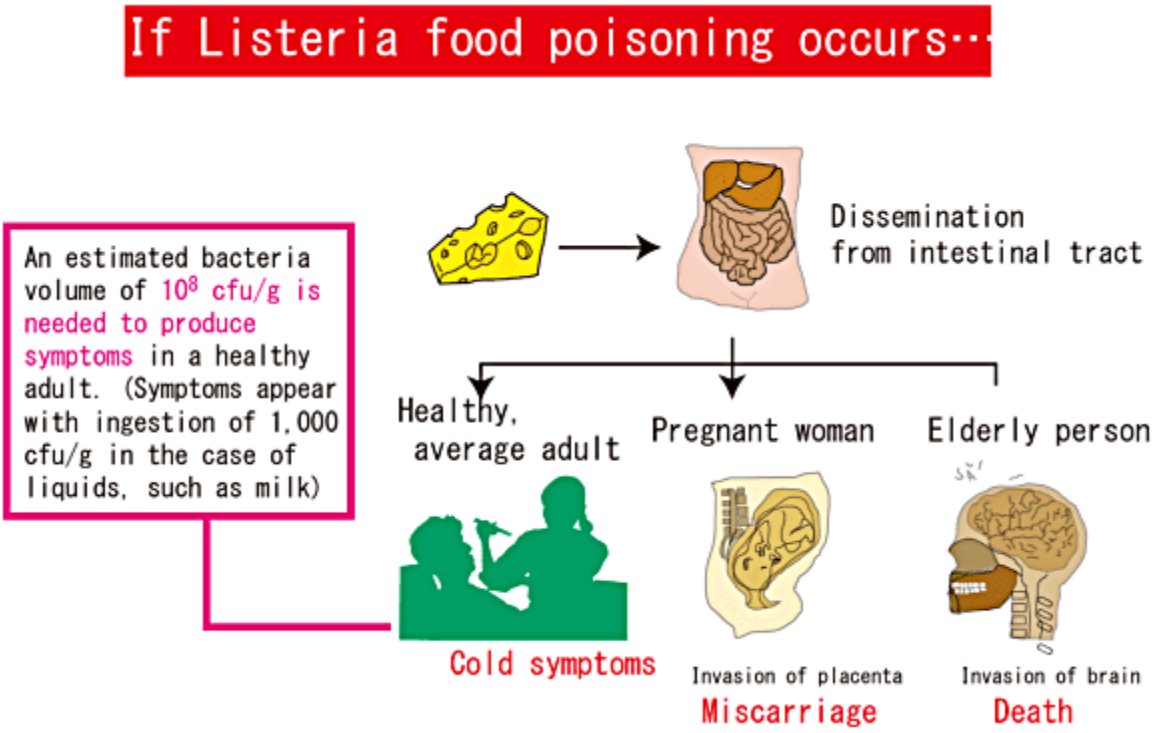
Infekcija središnjeg živčanog sustava zauzima centralno mjesto jer ovaj mikroorganizam ima posebnu sklonost invaziji moždanog tkiva (posebice moždanog debla) kao i ovojnica mozga. Može se razviti paraliza moždanih živaca i udova, meningitis, encefalitis, meningoencefalitis, a u vrlo rijetkim slučajevima i razvoj gnojnih žarišta u mozgu.

Okuloglandularna listerioza dovodi do upale očne jabučice i povećanja regionalnih limfnih čvorova, a razvija se nakon unosa infektivnog organizma kroz spojnicu oka. U slučaju da se ne liječi može dovesti do bakterijemije i meningitisa (Karakašević, 1989.).



Slika 3. Prikaz *L. monocytogenes* nakon infekcije , slika A: 14h nakon infekcije,slike B,C,D,F,G : 3h poslije infekcije, slike E,H : 5h poslije infekcije.

(http://www.tehnologijahrane.com/enciklopedija/rod-listeria)



Slika 4. Prikaz simptoma nakon zaraze *L. monocytogenes*

(http://www2.kaiyodai.ac.jp/~kimubo/english/research/torikumi/1.html)

5.1. POKUSNI MODEL LISTERIOZE

Uspostavljanjem mnogobrojnih modela *in vitro* i *in vivo*, *L. monocytogenes* postala je jedna odvodećih bakterijskih modela za proučavanje staničneimunosti na fiziološkoj, staničnoj i molekularnoj razini (Kaufmann, 1993.). Iako je listerioze niz godina u mnogo brojnim studijama *in vivo* korištena kao model unutarstaničnoga patogena za proučavanje mehanizama stanične imunosti, mehanizam patogeneze bolesti koju uzrokuje, nije u potpunosti razjašnjen (Bubonja i sur., 2007.).

U istraživanjima autora Bubonje i sur. (2007.) tijekom triju uzastopnih dana primjene nižih doza bakterije na miševima smanjen je postotak smrtnosti u usporedbi s primjenom ekvivalentne jednostruke doze, dovodeći do produljene bakterijemije u inficiranih životinja. Tim pokusom je potvrđena mogućnost kumulativna učinka infektivne doze uzastopnom konzumacijom manjeg broja bakterija. U probavnome sustavu inficiranih životinja nije bilo nikakvih važnijih patoloških pojava dok se razvoj sustavne listerioze

očitovao velikom količinom bakterija u jetri, slezeni, bubrezima i plućima.Kliničkom slikom bolesti dominirao je nekrotični hepatitis i bronhopneumonija. U većine inficiranih životinja došlo je do prodora bakterija u mozak te do razvoja meningoencefalitisa. Nadalje, Bubonja i sur. (2007.) su u eksperimentalnom modelu mišje kongenitalne listerioze istraživali promjene u imunološkom odgovoru gravidnih ženki na sustavnoj i lokalnoj razini. Utvrđeno je da kod ženki inficiranih u 15- tom danu graviditeta dolazi do smanjenje sposobnosti eliminacije bakterija u odnosu na negravidne inficirane ženke te dolazi do pojave nekrotičnog hepatitis. Kod gravidne ženke zbog oslabljenog imuniteta dolazi do umnožavanja bakterija u placenti i fetalnim tkivima. Pokusom je dokazano da je placenta djelomično zaštićena sve dok ne dođe do bakterijske kolonizacije. Nakon toga placenta postaje žarište infekcije.

Autori su zaključili da ubikvitarno saprofitno svojstvo listerije smanjuje vjerojatnost potpune eliminacije listerije. Kontrolnim higijensko-epidemiološkim mjerama nastoji se ciklus kruženja listerije između namirnica – okoliša i čovjeka – životinja. Dodatna, rana dijagnoza i bolje razumijevanje patogeneze listerioze, mogu pridonijeti prevenciji, unapređenju liječenja i smanjenju često teških posljedica te bolesti.

6. SIGURNOST U PROIZVODNJI I PRERADI NAMIRNICA BILJNOGA I ŽIVOTINJSKOGA PODRIJETLA

U svrhu pomoći tijelima nadležnim za provođenje kontrole vezano za provjeru usklađenosti hrane s mikrobiološkim zahtjevima, ministarstvo RH na temelju Zakona o hrani donijelo je Pravilnik o mikrobiološkim kriterijima za hranu i službene kontrole (NN 99/2011). Pravilnik definira obveze proizvođača koji moraju osigurati sukladnost hrane s odgovarajućim kriterijima koji su navedeni u pravilniku. Valja napomenuti da se pravila primjenjuju na proizvode koji se nalaze na tržištu i na proizvode prilikom uvoza te se ne primjenjuju na proizvode koji su već na tržištu. Ukoliko je na tržište stavljen neispravan proizvod nadležno tijelo za provođenje službene kontrole ovlašteno je zaustaviti prodaju.

Službene kontrole provode se prema planu uzrokovanja i moraju biti temeljene na analizi rizika, uzimajući u obzir rezultate postupka samokontrole proizvođača. Službeno uzorkovanje i mikrobiološko ispitivanje samo su dio postupka verifikacije. Udovoljavanje propisanim uvjetima može se provjeriti na više načina uključujući revizije, kontrole (inspekcije), monitoring, nadziranje, uzorkovanje i mikrobiološko ispitivanje.

Strategija uzorkovanja podrazumijeva planirani postupak za odabir uzoraka iz populacije i za provođenje uzorkovanja u svrhu dobivanja potrebnih podataka. Terminologija za odabir uzorkovanja iz populacije je u trenutnom postupku izrade u EUROSTAT/ Statističkom uredu za sigurnost hrane. EUROSTAT je predložio sljedeće definicije ovih triju prepoznatih strategija uzorkovanja:

- objektivno uzorkovanje- zasnovano na odabiru slučajnog uzorka koji je statistički reprezentativan za populaciju koja se analizira

- selektivno uzorkovanje- planirana strategija gdje se odabiru uzorci u prethodno definiranim “visoko ugroženim” grupama populacije. Uzorci se odabiru kako bi razjasnili ili dokumentirali nezadovoljavajuće uvjete ili sumnju na kvarenje proizvoda

- uzorkovanje na temelju sumnje- odabir uzoraka gdje se jedinice odabiru prosudbom i na temelju iskustva te uzorci nisu odabrani slučajno

Uzorkovanje može biti provedeno zbog više razloga:

- zbog provjere sukladnosti s kriterijima propisanim u Pravilniku o mikrobiološkim kriterijima za hranu
- zbog provjere mikrobiološke sigurnosti hrane za koju ne postoje propisani mikrobiološki kriteriji
- zbog dobivanja općih podataka o mikrobiološkom statusu određenih proizvoda stavljenih na tržište
- zbog pažljivog promatranja jedne ili više tvrtki u poslovanju s hranom potvrđujući njihov sustav upravljanja sigurnošću hrane
- zbog provjere ispravnosti pojedinih serija proizvoda
- zbog ispitivanja sumnje na mogućnost pojave krize uzrokovane hranom, pritužbi, itd.
- zbog prepoznavanja i prikupljanja podataka o novim mikrobiološkim rizicima ili rizicima u nastajanju kao izvora podataka za izradu profila rizika i analize rizika

Podaci u vezi pojave i širenja patogena u lancu prehrane se prikupljaju metodama monitoringa i nadziranja. Prilikom kontrole mikrobiološke opasnosti u hrani može se smatrati da monitoring i nadziranje uključuju sljedeće karakteristike:

- monitoring- provođenje rutinskog mikrobiološkog ispitivanja radi otkrivanja mikrobiološkog onečišćenja hrane
- nadziranje- provođenje sustavnog promatranja subjekta u poslovanju s hranom u svrhu provođenja korektivnih mjera

Dostupnost podataka o planovima samokontrole koji primjenjuju proizvođači u objektima iz zemalja u kojima je hrana proizvedena ograničena je graničnim inspekcijskim službama. Naime, u slučajevima hrane životinjskog podrijetla, uvoz je dozvoljen samo za onu hranu koja je proizvedena u objektima odobrenim za izvoz u EU.

U slučajevima pojave bolesti uzorkovane hranom ispitivanjima se otkrivaju sumnjive serije proizvoda i identifikacija objekta gdje je hrana proizvedena/ prerađena. Nadležno tijelo procijenjuje situaciju i odlučuje o uzimanju uzoraka za mikrobiološkog ispitivanja. Nadležno tijelo samo bira postupke uzorkovanja te sam plan uzorkovanja. Plan uzorkovanja i mikrobiološke granične vrijednosti trebaju se birati prema ozbiljnosti zdravstvenog rizika i očekivanih uvjeta u kojima se hranom rukuje. Planovi uzorkovanja sa

dva ili tri moguća ispitivanja se prema dobivenom rezultatu dijele na zadovoljavajuće i nezadovoljavajuće (Tablica 2.)

Tablica 2.Primjer intepretacije zadovoljavajućega rezultata u planu uzorkovanja (Pravilnik o mikrobiološkim kriterijima za hranu i službene kontrole. (Narodne novine, br. 99/2007, 74/2008.).

Kategorija hrane		Mikroorganizmi/njihovi toksini, metaboliti	Plan uzimanja uzorka		Granične vrijednosti		Ispitna referentna metoda	Faza u kojoj se kriterij primjenjuje
			n	c	m	M		
2.2.6.	Maslac i vrhnje načinjeni od sirovog mlijeka ili mlijeka koje je obrađeno temperaturom nižom od temp. pasterizacije	*E. coli*	**5**	**2**	**10 cfu/g**	**100 cfu/g**	HRN EN ISO 6579	Kraj proizvodnog procesa

Učestalost uzorkovanja ovisi o vrsti proizvoda npr. kod trupova, mljevenoga mesa te mesnih proizvoda pravilnikom je propisano tjedno uzorkovanje dok za ostale proizvode sami proizvođači moraju odrediti učestalost uzorkovanja.

Službeni uzorak ovlaštena osoba za provođenje službene kontrole šalje na ispitivanje u laboratorij. Standarizirani postupci prilikom prijevoza uzoraka u laboratorij, pohranjivanje i početak mikrobiološkog ispitivanja opisani su normom ISO 7218: 2007, EN ISO 7218: 2007.

Metode koje se koriste kod službenih kontrola su najčešće referentne, no u slučaju da metode nisu propisane trebale bi se koristiti standardizirane metode prema CEN i/ ili ISO normama. Ostale metode, kao što su metode Međunarodne mljekarske federacije i metode Nordijskog Odbora za analizu hrane (NMKL), također se mogu koristiti ako je tako određeno nacionalnim zakonodavstvom. Međutim i ostale metode bi trebale dati jednake rezultate kao i referentne metode.Za validaciju mikrobioloških metoda koristi se postupak HRN EN ISO 16140. (Smjernice za uzorkovanje i mikrobiološko ispitivanje hrane u okviru službenih kontrola, 2011.).

7. PREVENCIJA I ZAŠTITA OD ZARAZE BAKTERIJOM *LISTERIA MONOCYTOGENES*

Iako *L. monocytogenes* ne predstavlja problem zdravim ljudima jer se javlja u simptomima sličnima prehladi najviše se od bakterije trebaju čuvati starije osobe i trudnice. Naime, ta skupina ljudi moraju svakodnevno paziti koje namirnice kupuju te gdje ih kupuju (Karakašević, 1989.) Vrlo je važna kvaliteta smrznute hrane koja se kupuje te sama kvaliteta kupljenoga mesnatoga proizvoda. Za mesne proizvode vrlo je važno da se proizvod pravilno pripremi što znači da je jako važna temperature na kojoj će te peći ili kuhati određeni proizvod. Valja imati na umu da listerioze podnosi jako niske temperature te se ne možemo od nje zaštititi smrzavanjem namirnica (Karakašević, 1989.) (Tablica 3.). Gotovu hranu je potrebno pojesti u što kraćem roku te nipošto ne smijemo čuvati namirnicu duže od propisanog roka trajanja. Najefikasniji način za ubijanje bakterije te ujedno jedan od najboljih načina zaštite protiv listerije je kuhanje namirnica. Sam postupak kuhanja kobno djeluje na listeriju i to temperature iznad 74˚C (Mackey i sur., 1989.).

Tablica 3. Toplinska otpornost *L.monocytogenes* u različitim mesnim namirnicama

(Farber i Peterkin, 1991.)

NAMIRNICA	GOVEDINA	PILEĆA PRSA	JETRENA KOBASICA	MESO RAKA	GOVEĐI ODREZAK
˚C	**60**	**70**	**60**	**60**	**70**

Biljne namirnice mogu također biti izvor zaraze te je potrebno prije konzumacije namirnicu više puta oprati kako bi se riješili površinskih nečistoća koje mogu izazvati zarazu. One proizvode s čvršćom korom (primjerice krastavci) potrebno je dodatno iščetkati čistom četkom za četkanje voća i povrća. Važno je paziti i na vremensko razdoblje čuvanja namirnica te se preporučuje da se u što kraćem roku namirnica pojede kako ne bi došlo do zaraza (Mackey i sur.,1989.). Na temelju Pravilnika o mikrobiološkim kriterijima za hranu u RH (NN 74/2011) donešeni su zakoni koji omogućuju kontroliranje i

ispitivanje različitih tipova namirnica kako bi se spriječila mogućnost od nastajanja bilo kakvih zaraza.

Kriteriji za sigurnost hrane se moraju poštivati cijelo vrijeme roka trajanja hrane te je dužnost samostalnih proizvođača hrane da odgovara za kvalitetu i ispravnost hrane koju stavlja na tržište. Određena namirnica zadovoljava ako svih 5 odnosno 10 elementarnih jedinica uzorka pokaže odsutnost bakterije *L. monocytogenes* u 25 g. U gotovoj hrani u kojoj može doćo do rasta *L. monocytogenes* (osim u gotovoj hrani za dojenčad i gotovoj hrani za posebne medicinske namjene) dozvoljena je prisutnost 100 cfu/g. Ovaj se kriterij primjenjuje ukoliko proizvođač može dokazati nadležnom tijelu i/ili drugim tijelima nadležnim za provođenje inspekcije da proizvod ne prelazi granicu od 100 cfu/g tijekom roka trajanja. Proizvođač može utvrditi privremene granične vrijednosti tijekom procesa, koje moraju biti dovoljno niske da bi jamčile da se do kraja roka upotrebe neće prijeći granica od 100 cfu/g.

U Republici Hrvatskoj je Ministarstvo poljoprivrede 2013. godine izdalo Zakon o veterinarstvu s naputcima o načinu provođenja mjera kontrole zdravlja životinja gdje je za listeriozu naređeno provođenje sljedećih mjera:

- radi otkrivanja listerioze, svaki pobačaj krave, ovce i koze mora biti prijavljen veterinaru
- od životinje koja je pobacila ovlašteni veterinar mora uzeti uzorke, te iste dostaviti u službeni laboratorij radi pretrage na listeriozu
- na listeriozu mora biti pretražen mozak ovaca, koza i goveda koje pokazuju kliničke znakove poremećaja središnjeg živčanog sustava i poremećaja u ponašanju

8. ZAKLJUČAK

Rod *Listeria* obuhvaća 8 vrsta. Među najpoznatijim i ujedno najopasnijim predstavnicima ovog roda je *L. monocytogenes* koja je uzročnik listerioze. *L. monocytogenes* predstavlja značajan problem za prehrambenu industriju te potencijalnu opasnost po ljudsko zdravlje. Izolirana je iz različitih namirnica biljnog i životinjskog podrijetla te je prisutna i u prirodnom okruženju kao što su rijeke, potoci tlo itd. Osobito je opasna za trudnice, starije osobe i osobe s oslabljenim imunitetom. Prvi simptomi zaraze mogu biti vidljivi već u roku od 12 sati nakon konzumacije zaražene hrane. Simptomi bolesti se očituju od probavnih problema do infekcije središnjeg živčanog sustava koji mogu završiti i letalnim ishodom. Kako bi spriječili mogućnost zaraze potrebno je provoditi kvalitetnu kontrolu u proizvodnji i preradi namirnica.

9. POPIS LITERATURE

1. Aureli, P., Fiorucci, C. Giovanni., Caroli, D., Marchiaro, G., Novara, O., Leone, L., Salmaso, S., (2000.): An outbreak of febrile gastroenteritis associated with corn contaminated by *Listeria monocytogenes.*The New England Journal of Medicine.342(17): 1236-1241.
2. Bubonja, M., Vučković, D., Rubeša-Mihaljević, R., Abram, M. (2007.): Činitelji bakterije i domaćina u patogenezi listerioze, Medicina, 43:15-20.
3. Čaklovica, Smajlović, K., Čaklovica, F., Alagić, D., Članjak E. (2011.): Utjecaj toplinske obrade barenjem i skladištenja na održivost bakterije *Listeria monocytogenes* u hrenovkama. Meso, 13(3): 148- 154.
4. Dalton, C., Austin, C., Sobel, Y., Hayes, P., Bibb, W., Graves, L., Swaminathan, B., Proctor, M., Griffin, P., (1997.): An outbreak of gastroenteritis and fever due to*Listeria monocytogenes* in milk. New England Journal of Medicine, 336(2): 100-105.
5. Farber, J.M., Peterkin, P. I. (1991.): *Listeria monocytogenes*, a Food-Borne Pathogen. Microbiological reviews, 55(3): 476-511.
6. Flessa, S., Lusk, D., Harris, L., (2005.): Survival of *Listeria monocytogenes* on freshand frozen strawberries. International Journal of Food Microbiology. 101: 255-262.
7. Karakašević, B. (1989.): Parazitologija i nematologija. Medicinska knjiga. Beograd-Zagreb.
8. Kaufmann, SH.(1993.): Immunity to intracellular bacteria. University of Ulm. 11:129-63.
9. Kovačević, M. (2010.): *Listeria monocytogenes* u minimalno procesiranom voću i povrću. Specijalistički rad. Sveučilište J.J. Strossmayera u Osijeku.
10. Leverentz, B., Conway, W., Camp, M., Janisiewicz, W., Abuladze, T., Yang, M., Saftner, R., Sulakvelidze, A. (2003.): Biocontrol of *Listeria monocytogenes* on Fresh-Cut Produce byTreatment with Lytic Bacteriophages and a Bacteriocin. Applied and environmental microbiology. 69(8): 4519–4526.
11. Lončarević S., Okland, M., Sehic, E., Norli H.S., Johansson,T.(2008.): Validation of NMKL method No. 136 -- *Listeria monocytogenes*, detection and enumeration in foods and feed. 124(2): 154- 163.
12. Mackey, B. M., Bratchell, N. (1989.): The heat resistance of *Listeria monocytogenes.* Applied Microbiology, 9: 89-94.

13. Markov, K., Frece, J., Čvek, D., Delaš, F. (2009.): *Listeria monocytogenes* i drugi kontaminanti u svježem siru i vrhnju domaće proizvodnje s područja grada Zagreba. Mljekarstvo. 3: 225-231
14. Narodne novine (2011.) Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja: Pravilnik o mikrobiološkim kriterijima za hranu u RH, broj 74. Službeni list Republike Hrvatske.
15. Narodne novine (2011.)Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja: Pravilnik o mikrobiološkim kriterijima za hranu i službene kontrole, broj 99. Službeni list Republike Hrvatske.
16. Narodne novine (2013.) Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja: Zakon o veterinarstvu, broj 41. Službeni list Republike Hrvatske.
17. Popović, G., Đurđević-Milošević, D. (2008.): Prisustvo bakterija *Listeria monocytogenes* u namirnicama i prateći rizik za zdravlje potrošača. Zbornik naučnih radova Instituta PKB Agroekonomik, Beograd. 151- 158.
18. Zadravec, M., Tkalec J. V., Majnarić, D., Dvojković, M. (2012.): Nalaz bakterijske vrste *Listeria monocytogenes* iz silaže za ishranu krava muzara. Zbornik sažetaka. Simposzij mljekarskih stručnjaka. 74-75.

10. SAŽETAK

L. monocytogenes predstavlja jako veliki problem za prehrambenu proizvodnju i za ljudsko zdravlje jer je uzročnik bolesti listerioze. Izvor zaraze je najčešće hrana biljnoga ili životinjskoga podrijetla, a izolirana je iz prirodnih okruženja kao što su rijeke, potoci, tlo itd. Trudnice, osobe starije dobi te osobe s oslabljenim imunitetom predstavljaju rizične skupine koje mogu biti zaražene listeriozom. Simptomi bolesti se očituju od probavnih problema do infekcije središnjeg živčanog sustava koji mogu završiti i letalnim ishodom. U prevenciji i zaštiti vrlo je važno provođenje kontrole kvalitete i zdravstvene ispravnosti u proizvodnji i preradi namirnica. Važno je pripaziti gdje se kupuje hrana i od koga se kupuje.

Ključne riječi: *Listeria monocytogenes*, biljni proizvodi, životinjski proizvodi, infekcija, listerioza

11. SUMMARY

L. monocytogenes is a very big problem for food production and human health as a cause of listeriosis. The source of infection is the most common food of plant or animal origin, and isolated from the natural environment such as rivers, streams, soil and so on. Pregnant women, elderly people and people with a weakened immune system are at risk groups that may be infected with listeriosis. Symptoms of the disease are manifested by digestive problems and infection of the central nervous system that can finish and lethal outcome. The prevention and protection is very important to the implementation of quality control and health safety in production and processing of foods. It is important to be careful where you buy food and from whom to buy.

MAIN WORDS: *Listeria monocytogenes*, vegetable products, animal products, infection, listeriosis

12. POPIS TABLICA

Tablica 1. Prikaz simptoma *L.monocytogenes* nakon konzumacije kontaminiranoga čokoladnoga mlijeka (Dalton i sur., 1997.) str.9

Tablica 2. Primjer intepretacije zadovoljavajućega rezultata u planu uzorkovanja (Pravilnik o mikrobiološkim kriterijima za hranu i službene kontrole (Narodne novine, br. 99/2007, 74/2008.) str. 16

Tablica 3. Toplinska otpornost *L.monocytogenes* u različitim mesnim namirnicama (Farber i Peterkin, 1991.) str. 17

13. POPIS GRAFIKONA

1. Grafikon 1. Preživljavanje bakterije *L. monocytogenes* u prethodno toplinski obrađenim (65°C i 72°C) hrenovkama pri skladištenju na temperaturi od 0,5°C u trajanju od 45 dana (Čaklovica, K. i sur., 2011.) str. 8

13. POPIS SLIKA

Slika 1. Mikroskopska slika *L. monocytogenes* (https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Listeria_Monocytogenes:_A_Pathological_Perspective), str. 3.

Slika 2.Izolat bakterije *L. monocytogenes* iz vrhnja, povećanje 10 × 100 (mjerna crta 20 µm) (K. Markov i sur.) str. 6

Slika 3. Prikaz *L. monocytogenes* nakon infekcije , A: 14h nakon infekcije,B,C,D,F,G : 3h poslije infekcije, E,H : 5h poslije infekcije (http://www.tehnologijahrane.com/enciklopedija/rod-listeria) str. 11

Slika 4. Prikaz simptoma nakon zaraze *L. monocytogenes* (http://www2.kaiyodai.ac.jp/~kimubo/english/research/torikumi/1.html) str. 12

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Ariela Pešerović

Poljoprivredni fakultet u Osijeku

Završni rad

PRISUTNOST I ZNAČAJ BAKTERIJE *LISTERIA MONOCYTOGENES* U NAMIRNICAMA BILJNOGA I ŽIVOTINJSKOGA PODRIJETLA

PRESENCE AND SIGNIFICANCE OF *LISTERIA MONOCYTOGENES* IN PLANT AND ANIMAL FOOD

Ariela Pešerović

Sažetak:

L. monocytogenes predstavlja jako veliki problem za prehrambenu proizvodnju i za ljudsko zdravlje jer je uzročnik listerioze. Izvor zaraze je najčešće hrana biljnoga ili životinjskoga podrijetla, a izolirana je iz prirodnih okruženja kao što su rijeke, potoci, tlo itd. Trudnice, osobe starije dobi te osobe s oslabljenim imunitetom predstavljaju rizične skupine koje mogu biti inficirane listeriozom. Simptomi bolesti se očituju od probavnih problema do infekcije središnjeg živčanog sustava koji mogu završiti i letalnim ishodom. U prevenciji i zaštiti vrlo je važno provođenje kontrole kvalitete i zdravstvene ispravnosti u proizvodnji i preradi namirnica. Važno je pripaziti gdje se kupuje hrana i od koga se kupuje.

Ključne riječi: *Listeria monocytogenes*, biljni proizvodi, životinjski proizvodi, infekcija, listerioza

Summary:

L. monocytogenes is a very big problem for food production and human health as a cause of listeriosis. The source of infection is the most common food of plant or animal origin, and isolated from the natural environment such as rivers, streams, soil and so on. Pregnant women, elderly people and people with a weakened immune system are at risk groups that may be infected with listeriosis. Symptoms of the disease are manifested by digestive problems and infection of the central nervous system that can finish and lethal outcome. The prevention and protection is very important to the implementation of quality control and health safety in production and processing of foods. It is important to be careful where you buy food and from whom to buy.

Main words: *Listeria monocytogenes*, vegetable products, animal products, infection, listeriosis

Datum obrane: