

Anita Kukułowicz

Akademia Morska W Gdyni

## WYSTĘPOWANIE PAŁECZEK *LISTERIA MONOCYTOGENES* W WYBRANYCH WARZYWACH LIŚCIASTYCH

*Listeria monocytogenes* zanieczyszczać może warzywa liściaste mające styczność z glebą, przez co stanowiąc mogą źródło zarażeń i zachorowań na listeriozę. Ze względu na zdolność do tworzenia biofilmów na powierzchniach roślinnych drobnoustroje te mogą przetrwać etapy mycia i odkażania, a następnie namnażać się w gotowym produkcie, stwarzając zagrożenie zdrowotne dla konsumentów. Celem niniejszych badań była ocena bezpieczeństwa wybranych warzyw liściastych ze względu na występowanie pałeczek *Listeria monocytogenes*. W wyniku przeprowadzonych badań obecność pałeczek *Listeria monocytogenes* stwierdzono w dwóch próbkach, co stanowiło około 9,5% pozytywnych wyników.

**Słowa kluczowe:** *Listeria monocytogenes*, warzywa liściaste.

### WSTĘP

W ostatnich latach nastąpił wzrost zainteresowania świeżymi warzywami oraz owocami nie tylko wśród konsumentów dbających o zdrowie. Popyt na świeże, zdrowe, jak również łatwe do przygotowania produkty przyczynił się do rozwoju wielu nowych, minimalnie przetworzonych dań gotowych, wykorzystujących m.in.: świeżo cięte lub minimalnie przetworzone warzywa liściaste i kielki [7]. Produkty pojawiające się na półkach sklepowych nie są przez producentów poddawane utrwalaniu termicznemu. W celu wydłużenia terminu przydatności do spożycia oraz zagwarantowania bezpieczeństwa zdrowotnego sałatki warzywne poddawane są kombinacji kilku czynników utrwalających – tzw. teoria płotków Leistnera [9]. Dzięki zastosowaniu łagodnych technologii przetwarzania surowców, składniki zachowują świeżość i naturalność [10]. Sałatki o niskim stopniu przetworzenia, składowane w temperaturze od 0 do 5°C, muszą zostać rozprowadzone w przeciągu tygodnia. Czynniki, które wpływają na okres przydatności oraz stan mikrobiologiczny przygotowanych surowców warzywnych, są: dobre praktyki rolnicze w zakresie uprawy roślin, dobre praktyki higieniczne stosowane podczas zbioru, jakość wody wykorzystywanej do płukania, sposób pakowania i materiały opakowaniowe, transport oraz przechowywanie we właściwej temperaturze [8].

Drobnoustroje kolonizujące powierzchnie świeżo zebranych warzyw stanowią głównie Gram-ujemne bakterie saprofityczne: *Pseudomonas spp.*, *Xanthomonas spp.*, *Enterobacter spp.*, można jednak stwierdzić na ich powierzchni występowanie

bakterii patogennych, takich jak *Salmonella*, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli*. Warzywa liściaste, mające styczność z gruntem, mogą być również siedliskiem bakterii Gram-dodatnich, m.in. *Clostridium spp.*, *Staphylococcus aureus* i *Listeria monocytogenes*. Ze względu na zdolność do tworzenia biofilmów na powierzchniach roślinnych, drobnoustroje te mogą przetrwać etapy mycia i odkażania [7, 8]. Proces obierania i cięcia warzyw przyczynia się do niszczenia komórek roślinnych, przez co zwiększa się ilość płynów komórkowych bogatych w składniki odżywcze, umożliwiających namnażanie przetrwałych mikroorganizmów [7]. W związku z tym istotne jest staranne mycie warzyw po etapie obierania i cięcia, dzięki któremu okres przechowywania warzyw minimalnie przetworzonych może być przedłużony o kilka dni [8].

Celem niniejszych badań była ocena bezpieczeństwa wybranych warzyw liściastych ze względu na występowanie pałeczek *Listeria monocytogenes*.

## 1. MATERIAŁ I METODY

Badaniom poddano wybrane warzywa liściaste, m.in.: szpinak, rukolę, roszponkę, mieszanki sałat oraz kiełki, które zakupiono w jednym z hipermarketów na terenie Trójmiasta. Badania przeprowadzono ogółem na 21 próbkach. Wszystkie zakupione produkty poddawane były analizie w dniu zakupu.

W celu oznaczenia pałeczek *Listeria monocytogenes* zastosowano wybiórcze podłoże chromogenne Rapid' *L.Mono* firmy BIO-RAD do wykrywania i oznaczania liczby komórek (bez potwierdzenia identyfikacji kolonii) tych drobnoustrojów w produktach spożywczych. Zastosowane podłoże chromogenne umożliwiała identyfikację pałeczek *Listeria monocytogenes* na podstawie wykrywania aktywności fosfolipazy i braku zdolności do metabolizowania ksylozy. Po 24–48 godzinach inkubacji kolonie pałeczek *Listeria monocytogenes* były niebieskie bez żółtego halo. Procedura wykrywania *L.monocytogenes* polegała na wstępnym wzbogacaniu 25 g próbki w 225 ml podłoża płynnego ½ FRASER i inkubacji w temperaturze  $30 \pm 1^\circ\text{C}$  przez  $24 \pm 2$  godziny. Po danym czasie inkubacji wzbogacającej pobierano jałową pipetą 0,1 ml hodowli i wysiewano kroplę na podłoże chromogenne Rapid' *L.Mono* przy brzegu płytki, a następnie jałową wymazówką rozprowadzano kroplę po podłożu w sposób izolacyjny. Po przeprowadzonym posiewie płytki inkubowano w temperaturze  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  przez  $24 \pm 3$  godziny. Metoda wykorzystująca podłoże Rapid *L.Mono* została zaaprobowana przez AFNOR (*The Association Francaise de Normalisation*) jako metoda alternatywna dla referencyjnego standardu NF EN ISO 11290-1, dotyczącego wykrywania pałeczek *Listeria monocytogenes* w produktach spożywczych pod numerem atestu: BRD: 07/04-09/98.

## 2. WYNIKI I DYSKUSJA

Źródłem pałeczek *L.monocytogenes* są zazwyczaj produkty typu *ready-to-eat*, surowe mleko, sery dojrzewające produkowane z mleka niepasteryzowanego, mięso i jego przetwory oraz warzywa i sałatki z dodatkiem surowych warzyw [3].

Po przebadaniu wszystkich zakupionych warzyw liściastych obecność pałeczek *Listeria monocytogenes* stwierdzono w dwóch próbkach, co stanowiło około 9,5% pozytywnych wyników. Jedną z prób stanowiła mieszanka sałat, natomiast drugą – kielki słonecznika (tab. 1).

**Tabela 1.** Występowanie pałeczek *Listeria monocytogenes* w warzywach liściastych

**Table 1.** Occurrence of *Listeria monocytogenes* in leafy green vegetables

Rodzaj warzyw	Występowanie w danym rodzaju [%]	Występowanie w stosunku do ogółu badanego materiału [%]
Szpinak	0	0
Rukola	0	0
Roszonka	0	0
Kielki	25	4,8
Mieszanki sałat (lodowa, cykoria, endywia, botwinka)	14,3	4,8

W badaniach Cordano i in. [1] występowanie tych pałeczek wykryto w 22 z 216 świeżo przygotowanych sałatkach sklepowych, sałatkach z surowych lub gotowanych warzyw gotowych do spożycia. Stanowiło to w stosunku do badań własnych podobny odsetek zanieczyszczonych prób. Gurler i in. [4] odnotowali obecność *L.monocytogenes* w 13% prób pochodzących z sałatek typu cesar oraz w 9% sałatek rosyjskich. W przeprowadzonych badaniach własnych częstość wykrywania *Listeria monocytogenes* była natomiast ponad dwukrotnie niższa niż w badaniach Ponniah i in. [6], którzy stwierdzili występowanie tych pałeczek w 22,5% różnych warzyw. Seo i in. [7] wykazali obecność *L.monocytogenes* tylko w jednym z 345 przebadanych warzyw. Produkt ten stanowiły kielki. Kielki były również jedną z dwóch prób badań własnych, w których stwierdzono występowanie tych bakterii. Namnażaniu *Listeria monocytogenes* w surowych warzywach o niskim stopniu przetworzenia sprzyja m.in. temperatura chłodnicza, w której zazwyczaj przechowywany jest ten rodzaj produktów [2]. Występowaniu tych bakterii sprzyjać może również sposób mycia warzyw przed etapem sortowania i pakowania. Wykorzystywane w tym celu związki chloru wpływają na redukcję drobnoustrojów tlenowych w warzywach liściastych, natomiast mogą być nieskuteczne wobec *Listeria monocytogenes* kolonizujących kapustę oraz sałatę [9]. Nieefektywne może okazać się także stosowanie modyfikowanej atmosfery, gdyż zgodnie z literaturą przedmiotową w nisko przetworzonych warzywach pakowanych tym systemem wzrastać mogą m.in. *Listeria monocytogenes* [10].

Poziom pałeczek *L.monocytogenes* zanieczyszczających warzywa o niskim stopniu przetworzenia po trzech dobach przechowywania w warunkach chłodniczych może wzrosnąć z  $1 \times 10^2$  do  $1,5 \times 10^6$  jtk/g, stwarzając zagrożenie zdrowotne dla potencjalnych konsumentów [5].

## WNIOSKI

1. Przeprowadzone badania wskazują, że warzywa i kiełki o niskim stopniu przetworzenia zawierać mogą pałeczki *Listeria monocytogenes*.
2. Istnieje konieczność ciągłego monitorowania występowania oraz poziomu zanieczyszczenia *Listeria monocytogenes* produktów roślinnych o niskim stopniu przetworzenia.

## LITERATURA

1. Cordano A.M., Jacquet C., *Listeria monocytogenes* isolated from vegetable salads sold at supermarkets in Santiago, Chile: prevalence and strain characterization, International Journal of Food Microbiology, 2009, No. 132(2–3), p. 176–179.
2. Dziennik Urzędowy Unii Europejskiej, *Decyzja Komisji z dnia 5 lutego 2010 r. dotycząca wkładu finansowego Unii na rzecz skoordynowanego programu monitorowania występowania Listeria monocytogenes w niektórych rodzajach żywności gotowej do spożycia przeprowadzanego w państwach członkowskich*, 2010/75/UE.
3. Galińska E., Knap J.P., Stroczyńska-Sikorska M., *Listerioza – mało znana, niebezpieczna choroba zakaźna*, Medycyna Ogólna, 2010, t. 16(XLV), nr 4, s. 516–527.
4. Gurler Z., Pamuk S., Yildirim Y., Ertas N., *The microbiological quality of ready-to-eat salads in Turkey: A focus on Salmonella spp. and Listeria monocytogenes*, International Journal of Food Microbiology, 2015, No. 196, p. 79–83.
5. Maćkiw E., *Mali mieszkańcy naszych posiłków – uwaga na zagrożenia Listeria monocytogenes w żywności*, Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego, PZH, Warszawa 2015, www.docplayer.pl.
6. Ponniah J., Robin T., Paie M.S., Radu S., Ghazali F.M. et al., *Listeria monocytogenes in raw salad vegetables sold at retail level in Malaysia*, Food Control, 2010, No. 21, p. 774–778.
7. Seo Y.H., Jang J.H., Moon K.D., *Microbial Evaluation of Minimally Processed Vegetables and Sprouts Produced in Seoul, Korea*, Food Science and Biotechnology, 2010, No. 19(5), p. 1283–1288.
8. Sinigaglia M., Albenzio M., Corbo M.R., *Influence of process operations on shelf-life and microbial population of fresh-cut vegetables*, Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 1999, No. 23, p. 484–488.
9. Witrowa-Rajchert D., *Eksperyta – technologie minimalnie przetworzonych owoców i warzyw*, Warszawa 2011, www.agengpol.pl.
10. Wójcik-Stopczyńska B., *Mikrobiologiczna jakość salatek warzywnych o niskim stopniu przetworzenia*, Roczniki PZH, 2004, nr 55(2), s. 139–145.

## THE PRESENCE OF *LISTERIA MONOCYTOGENES* IN SELECTED LEAFY GREEN VEGETABLES

### Summary

*Listeria monocytogenes* can contaminate leafy green vegetables that have contact with the soil, and because of that they can be a source of poisonings and disease called listeriosis. Due to the ability to create biofilms on the surfaces of plants these micro-organisms can survive stages of cleaning and disinfecting, and then proliferate in a finished product creating a threat to consumers' health. The aim of this study was to assess safety of selected leafy green vegetables in terms of presence of *Listeria monocytogenes*. The results of the study revealed presence of *Listeria monocytogenes* in 2 samples, which constituted around 9.5% of positive results.

**Keywords:** *Listeria monocytogenes*, leafy green vegetables.