

Monitorowanie stanu higieny w warunkach produkcyjnych za pomocą pomiaru bioluminescencji

Sara Dzik, Patryk Ciechanowski

Sonac Uśnice Sp. z o.o.

Odpowiednio wykonane zabiegi mycia i dezynfekcji stanowią podstawę produkcji zwierzęcej oraz przetwórstwa pasz i żywności. Są również kluczowym aspektem zachowania bezpieczeństwa biologicznego, w celu zapobiegania i zwalczania chorób na fermach (zwłaszcza wielkotowarowych) [16]. Każdorazowo choroby zakaźne oraz choroby odzwierzęce pojawiające się w stadzie, niosą za sobą poważne konsekwencje, także gospodarcze, które odczuwa całe społeczeństwo. Przede wszystkim, istotna jest świadomość zagrożenia oraz opracowanie i wdrożenie odpowiednich procedur bezpieczeństwa biologicznego w danym gospodarstwie, a także współpraca właścicieli gospodarstw z właścicielami rzeźni. Zatem skuteczny system monitorowania, stosowanie dobrych praktyk produkcyjnych i higienicznych, znajomość aspektów bioasekuracji oraz odpowiednie zarządzanie stanowią gwarancję bezpiecznej produkcji [4].

Jakość przeprowadzonych zabiegów w dużej mierze zależy od umiejętności oraz staranności wykonania czynności przez pracownika. Ważne jest także odpowiednio dobrane stężenie używanego preparatu czy pH środowiska [3]. Środek dezynfekcyjny powinien być dobrany odpowiednio do potrzeb i przeznaczenia. Dlatego też należy zwrócić uwagę na jego właściwości chemiczne, mechanizm działania, jaki powinien być czas kontaktu substancji czynnej z dezynfekowaną powierzchnią, przeciwko jakim drobnoustrojom jest najskuteczniejszy. Kluczowe jest również środowisko, w jakim należy go stosować – problem najczęściej stanowi dolny zakres temperatury. Wiele środków dezynfekcyjnych jest nieskutecznych w niskich temperaturach. Zatem jeśli taka sytuacja ma miejsce, do preparatu można dodać np. glikol propylenowy, który zwiększa skuteczność dezynfekcji w niskich temperaturach [7]. Utrzymanie odpowiedniej higieny urządzeń i pomieszczeń produkcyjnych wiąże się również z posiadaniem pewnego zakresu wiedzy o zagrożeniach mikrobiologicznych, które mogą wystąpić na poszczególnym etapie produkcji. Zapewnienie i utrzymanie standardów higienicznych wymaga również znajomości źródeł zanieczyszczeń i możliwości ich eliminacji [14].

Gruntowne mycie powinno obejmować czyszczenie na sucho (usunięcie odpadów zwierzęcych, odchodów i ściółki, kurzu oraz usunięcie i dokładne oczyszczenie wszelkiego ruchomego wyposażenia) oraz czyszczenie na mokro. Powierzchnie powinny być następnie splukane

i pozostawione do wyschnięcia przed zastosowaniem środka dezynfekcyjnego [2]. Ma to na celu zapewnienie, że dezynfektant wejdzie w kontakt z powierzchniami w wymaganym stężeniu, zostanie wchłonięty w powierzchnię i szczeliny, a także nie zostanie rozcieńczony przez nadmiar wody [5].

Jak podają Kwiatek i in. [8] bezpieczeństwo żywności powinno obejmować każdy etap produkcji, począwszy „od pola”, a skończywszy na „stole konsumenta”. Oznacza to, że gwarancją zapewnienia bezpiecznego produktu końcowego jest podejmowanie szeregu zintegrowanych działań, zaczynając od produkcji surowca, poprzez właściwą higienę pasz, zapewnienie odpowiednich warunków utrzymania zwierzętom, bezpieczną technologię produkcji oraz obrót i handel, aż do momentu spożycia przez konsumenta bezpiecznego produktu. Co więcej, każdy z wymienionych etapów jest tak samo ważny [4].

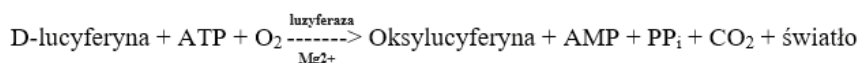
W związku z powyższym, aspekty związane z dekontaminacją drobnoustrojami, zarówno na etapie produkcji podstawowej, jak i podczas przetwórstwa, magazynowania i dystrybucji pasz oraz żywności stanowią podstawę w utrzymaniu łańcucha „od pola do stołu”. Bezpieczeństwo produkcji żywności i pasz uważane jest za podstawowy i najważniejszy determinant jakości wyrobu gotowego, warunkujący jego dopuszczenie do obrotu, co szczegółowo zostało uregulowane w prawie europejskim [9].

Mycie i dezynfekcja w procesie produkcyjnym nie powinny być traktowane jako dodatkowy nakład pracy i ponadplanowy koszt, tylko jako inwestycja, gdyż przekłada się na uzyskanie pożądaných wyników [15]. Ponadto, pod uwagę należy wziąć również regularny monitoring skuteczności mycia i dezynfekcji, aby mieć pewność, że podejmowane działania są skuteczne – wiążą się z utrzymaniem odpowiedniej higieny produkcji i środowiska, a także nie generują nieefektywnych kosztów.

Ocenę skuteczności mycia i dezynfekcji przeprowadza się za pomocą tradycyjnych wymazów środowiskowych. Próbkę wysyłana jest do laboratorium mikrobiologicznego, a następnie poddawana analizom. Jednakże w tym wypadku na wynik należy poczekać kilka dni. Dlatego też alternatywną metodą, stosowaną w warunkach produkcyjnych – umożliwiającą natychmiastową ocenę czystości mikrobiologicznej danej powierzchni – jest bioluminescencja. Może być ona stosowana zarówno w zakładach przetwórstwa, produkcji materiałów paszowych, jak i w rzeźniach oraz w budynkach inwentarskich dla zwierząt. Ponadto, metoda ta może być stosowana w sposób ciągły podczas procesu produkcyjnego, co w przypadku wykrycia nieprawidłowości – pozwala na podjęcie natychmiastowych działań w celu wprowadzenia korekt i ustalenia zagrożeń w czasie rzeczywistym [12].

Adenozynotryfosforan (ATP) jest głównym nośnikiem energii dla wszystkich żywych organizmów. Związek ten jest nukleotydem zbudowanym z adeniny, rybozy i tryfosforanu. Wykorzystywany jest przez komórki jako uniwersalny nośnik energii niezbędnej do przebiegu wielu biochemicznych reakcji. Detekcja tego związku w środowisku świadczy o obecności żywych organizmów [13]. Niezależnie od źródła, cała energia, czy to z utleniania chemicznego, czy z wychwytywania światła, jest przekształ-

cana przez żywe komórki w ATP. To właśnie w tej formie komórki zużywają pozyskaną energię na wszystkie procesy, które jej wymagają, w tym biosyntezę, czy ruchliwość. Zatem, występowanie ATP w komórkach sprawia, że jego wykrycie świadczy o obecności żywych organizmów [11]. Istnieje kilka sposobów oznaczania ATP z próbek środowiskowych. Przykładem jest bioluminescencja – ocena żywotności komórek – światło emitowane podczas reakcji jest wprost proporcjonalne do ilości dodanego ATP (reakcja na poziomie lucyferyna-lucyferaza) [10]. Emitowanie światła w procesie bioluminescencji można przedstawić za pomocą reakcji [11]:



Lucyferaza, enzym, który chemicznie generuje światło jako produkt uboczny utleniania substratu d-lucyferyny, produkowana jest przez północnoamerykańskiego świetlika *Photinus pyralis*. Reakcja katalizowana przez lucyferazę w obecności jonów magnezu implikuje konwersję d-lucyferyny w oksylucyferynę. Jest to reakcja, podczas której ATP przekształcane jest w AMP (adenozynomonofosforan) z uwolnieniem pirofosforanu i emisją światła w zakresie długości fali 400-700 nm, z emisją szczytową na poziomie 562 nm [10, 11]. Szosland-Fałtn i Królasik [13] wskazują, że luminescencja, to pojęcie dosłownie określające: „zimne świecenie”, czyli zjawisko zachodzące pod wpływem różnych rodzajów energii (z pominięciem energii cieplnej), na skutek emisji fal świetlnych poprzez luminofory. Autorki podkreślają, iż komórki drożdży, zarodników pleśni oraz alg zawierają więcej ATP niż komórki bakterii, podczas gdy spory bakterii posiadają znacznie mniejszą ilość tego związku niż komórki wegetatywne. Ponadto komórki drobnoustrojów izolowane z naturalnych środowisk zawierają mniej ATP w porównaniu z komórkami hodowanymi w warunkach laboratoryjnych.

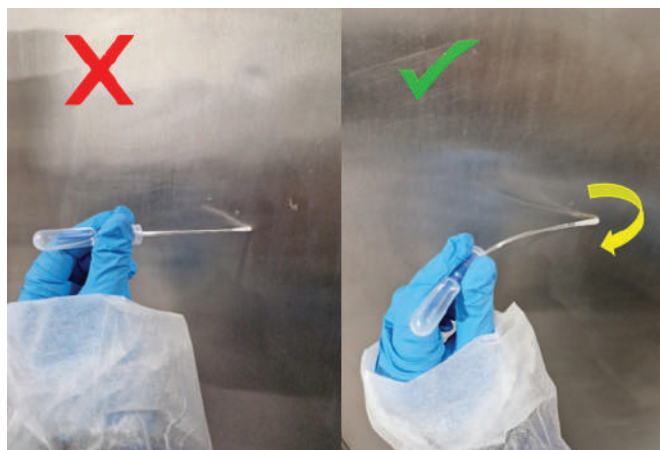
Podręcznym urządzeniem umożliwiającym dokonanie szybkiego pomiaru bioluminescencyjnego w warunkach produkcyjnych jest luminometr wraz z kompatybilnymi wymazówkami. Luminometr dokonuje pomiaru światła, a wynik podawany jest w umownych jednostkach świetlnych RLU (*Relative Light Unit*) [1, 6, 14]. Można go zastosować do kontroli stanu higienicznego pomieszczeń produkcyjnych, maszyn i urządzeń, sprzętu, pomieszczeń biurowych czy dłoni pracowników.

Zatem jak krok po kroku dokonać oceny skuteczności mycia i dezynfekcji w warunkach produkcyjnych? Przede wszystkim w pierwszej kolejności należy wytypować punkty, które będą reprezentatywne dla skuteczności procesów. W tym przypadku pomocna może okazać się analiza ryzyka.

Kolejno, należy dokonać inspekcji wzrokowej wytypowanych do oceny punktów. Tego typu kontrola może opierać się na 3-stopniowej skali:

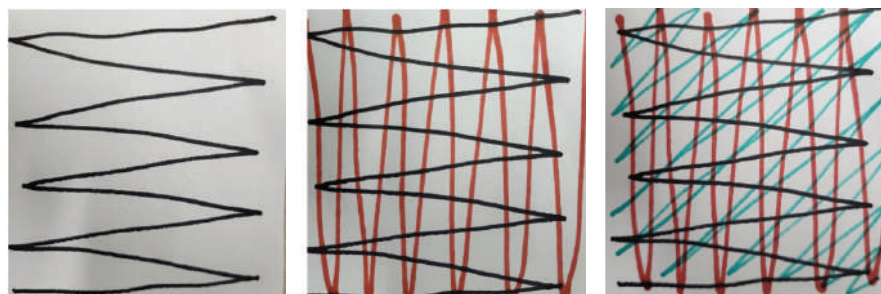
1 – mycie i dezynfekcja były skuteczne, brak widocznych zabrudzeń; 2 – mycie i dezynfekcja były raczej skuteczne, widoczne niewielkie zabrudzenia; 3 – mycie i dezynfekcja były niezadowolające, widoczne wyraźne zabrudzenia. W przypadku wskazania punktu 2 lub 3, mycie i dezynfekcję należy powtórzyć [6]. Wówczas uzyskana informacja czy mycie było skuteczne, jest natychmiastowa i nie ma potrzeby przeprowadzania dalszych testów.

Pomiaru luminometrem dokonuje się w trzech etapach: A – wymaz czystościowy kompatybilną sterylną wymazówką; B – kontrola wzrokowa wymazówek po dokonaniu wymazu; C – test za pomocą luminometru. Przed rozpoczęciem pomiaru, należy zachować wszelkie standardy bezpieczeństwa i higieny – w tym zapewnienie odpowiedniej odzieży ochronnej. Po myciu i dezynfekcji należy odczekać, aż powierzchnia będzie sucha lub po zastosowaniu preparatu na bazie alkoholu – odczekać 15 min (chyba że instrukcja od producenta wskazuje inaczej) i dopiero wtedy pobrać wymazy. W przeciwnym razie wynik może być zafałszowany. W etapie pierwszym należy określić wielkość ocenianej powierzchni – najczęściej przyjmuje się powierzchnię 10×10 cm. Wacik wymazówki należy docisnąć do ocenianej powierzchni i obracać go podczas wymazu (rys. 1).



Rys. 1. Wacik należy obracać podczas wymazu, aby wymaz był wykonany prawidłowo (fot. P. Ciechanowski)

Wymaz powinien być wykonany w sposób krzyżowy, czyli tak, aby cały obszar badanej powierzchni (10×10) został pokryty wymazówką (rys. 2).



Rys. 2. Wymazu należy dokonać w sposób krzyżowy (fot. S. Dzik)

Po skończonym wymazie należy przeprowadzić inspekcję wzrokową czystości wacika – da to natychmiastowy wynik kontroli. Jeżeli wacik jest zabrudzony – zabrudzenia widoczne są gołym okiem, oznacza to, że mycie i dezynfekcja nie dały oczekiwanych efektów i muszą być ponownie przeprowadzone [17]. Jeżeli wacik jest czysty, należy aktywować wymazówkę i dokonać pomiaru luminometrem. Odczytany wynik w jednostkach RLU nie należy utożsamiać z mikrobiologiczną jednostką tworzącą kolonię CFU (*Colony Forming Unit*). Aby móc uzyskać obraz, w jaki sposób otrzymany wynik z pomiaru luminometrem przekłada się na potencjalne zanieczyszczenie powierzchni, metodę tę należy zwalidować.

Celem walidacji luminometru jest zastosowanie bioluminescencji jako alternatywnej, szybkiej i podręcznej metody potwierdzającej czystość mikrobiologiczną w warunkach produkcyjnych. Ponadto, walidacja metody umożliwi korzystanie z urządzenia w warunkach produkcyjnych do kontroli stanu higienicznego pomieszczeń produkcyjnych, maszyn i urządzeń, sprzętu, pomieszczeń biurowych, dłoni pracowników, inne. Co więcej, na skutek walidacji metody możliwa będzie interpretacja uzyskanych wyników na podstawie zestawienia pomiaru luminometrem z tradycyjną metodą hodowlaną. Proces walidacji powinien opierać się na doniesieniach literatury naukowej i branżowej, regulacjach prawnych, wcześniejszych badaniach walidacyjnych przeprowadzonych w przedsiębiorstwach o podobnym profilu produkcyjnym, wiedzy na temat skuteczności środka kontrolowanego, wytycznych GHP i HACCP, obowiązujących normach ISO, wytycznych *Codex Alimentarius*.

Efektywność mycia i dezynfekcji na każdym etapie produkcji żywności powinna być monitorowana – począwszy od produkcji pierwotnej. Warunkuje to rzeczywisty wzrost poziomu bezpieczeństwa wyrobu gotowego. Aby podczas procesu produkcyjnego móc oszacować skuteczność omawianych procesów konieczne są: kontrola wzrokowa mytej i dezynfekowanej powierzchni, a także potwierdzenie badaniami mikrobiologicznymi. Pomocne w tym zakresie może okazać się korzystanie z luminometrów, które dzięki pomiarowi bioluminescencji mogą stanowić rzetelne źródło informacji (jeżeli me-

toda ta zostanie odpowiednio zwalidowana) o bieżącym stanie higienicznym danej powierzchni.

Literatura: 1. Arkel A., Willemsen I., Kluytmans J., 2021 – The correlation between ATP measurement and microbial contamination of inanimate surfaces. *Antimicrobial Resistance and Infection Control* 10, 116-121. 2. Dzik S., Mituniewicz T., 2019 – DDD w chowie drobiu. *Ogólnopolski Informator Drobiarski* 9, 26-40. 3. Dzik S., Mituniewicz T., 2020 – Czyste obiekty inwentarskie 11, 28-44. 4. Dzik S., Mituniewicz T., 2021 – Rola dezynfekcji w produkcji drobiarskiej 9, 22-38. 5. Gosling R.J., 2018 – A review of cleaning and disinfection studies in farming environments. *Livestock* 23(5): 232-237. 6. Heinemann C., Meyer I., Bogel F.T., Schmid S.M., Hayer J.J., Steinhoff-Wagner J., 2020 – Individual training for farmers based on results from protein and ATP rapid tests and microbiological conventional cultural methods improves hygiene in pig fattening pens. *Journal of Animal Science* 98(1): 1-10. 7. Kołacz R., Dobrzański Z., 2019 – Higiena i dobrostan zwierząt, Wrocław 2019. 8. Kwiatek K., Osiński Z., Przeniosło-Siwczyńska M., Kukier E., 2015 – Zabiegi dezynfekcji, dezynsekcji i deratyzacji jako ważne elementy higieny w łańcuchu żywnościowym. *Życie Weterynaryjne* 90(2): 112-115. 9. Michalczyk J., 2019 – Bezpieczeństwo żywnościowe z perspektywy państw Unii Europejskiej. *Ekonomia Międzynarodowa* 25, 18-45. 10. Morciano G., Sarti A.C., Marchi S., Missiroli S., Falzoni S., Raffagello L., Pistoia V., Giorgi C., Di Virgillio F., Pinton P., 2017 – Use of luciferase probes to measure ATP in living cells and animals. *Nature Protocols* 12(8): 1542-1562. 11. Shama G., Malik D.J., 2012 – The uses and abuses of rapid bioluminescence-based ATP assays. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 216, 115-125. 12. Sygula-Cholewińska J., Lech T., Szostak-Kot J., Błyskal B., Sawoszuk T., 2014 – ATP bioluminescence method in surface hygiene monitoring. *Polish Society of Commodity Science* 2014. 13. Szosland-Fałtyn A., Królasik J., 2014 – Metoda bioluminescencyjna oznaczania ATP – jako alternatywna metoda detekcji drobnoustrojów w przemyśle spożywczym. *Postępy Nauki i Technologii Przemysłu Rolno-Spożywczego* 69(2-4): 37-43. 14. Tomczyk Ł., Szablewski T., Cegielska-Radziejewska R., 2014 – Ocena skuteczności procesu mycia i dezynfekcji powierzchni roboczych metodą pomiaru stężenia ATP. *Aparatura Badawcza i Dydaktyczna* 4, 299-302. 15. Winnicki S., 2008 – Czysta hodowla. *Farmer* 16, 10-12. 16. Wójcik A., Mituniewicz T., Piotrowska J., 2019 – Higieniczne i produkcyjne wskaźniki dobrostanu drobiu. *Przegląd Hodowlany* 5, 10-14. 17. www.spozywcetechnologie.pl

Problem fałszowania mięsa

Sławomir Mroczkowski

Politechnika Bydgoska

Podrobione ziarna ryżu z plastiku, oliwa z oliwek z dodatkiem olejów technicznych, mleko w proszku z toksyczną melaminą, masło z oleiną palmową, plastikowe nadzienie jagodzianek – oto szokujące przykłady fałszowania artykułów spożywczych. Lista oszukanej żyw-

ności jest długa. Dawniej fałszowano produkty wysokiej jakości, o uznanej marce i pozycji na rynku jak np. koniaki, szampany. Dziś fałszuje się zarówno towary luksusowe, jak i te nabywane przez mniej zamożnych konsumentów, kupowane na co dzień, oraz spożywane od święta. Fałszerstwu podlegają produkty jednoskładnikowe i wieloskładnikowe. Właściwie przedmiotem oszustwa może być wszystko, na czym można zarobić.

Fałszowanie żywności wiąże się z kwestią jej jakości handlowej, czyli zgodności produktu z deklaracją producenta. W przypadku braku takiej zgodności możemy mówić o nielegalnym procederze. Fałszowanie żywności należy rozpatrywać zarówno w aspekcie zdrowot-