

**Barbara Breza-Boruta, Beata Szala, Magdalena Kroplewska**

Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy w Bydgoszczy  
e-mails: breza@utp.edu.pl; szabea@utp.edu.pl; magdalenakroplewska@wp.pl

---

## **POWIETRZE NA LINIACH PRODUKCYJNYCH ZAKŁADU MIĘSNEGO JAKO ŹRÓDŁO ZANIECZYSZCZENIA MIKROBIOLOGICZNEGO**

---

### **AIR ON PRODUCTION LINES OF A MEAT PROCESSING PLANT AS A SOURCE OF MICROBIAL CONTAMINATION**

---

DOI: 10.15611/pn.2016.461.04

JEL Classification: Q18

**Streszczenie:** W pracy określono koncentrację aerozolu bakteryjnego i grzybowego w powietrzu hal produkcyjnych zakładu mięsnego. Szczególną uwagę zwrócono na występowanie potencjalnie patogennych bakterii *Listeria* spp. i *Escherichia coli*. Badania wykonano w 7 punktach pomiarowych wyznaczonych na różnych etapach procesu produkcji oraz w holu wewnętrznym zakładu. Próbkę powietrza pobierano metodą zderzeniową za pomocą impaktora MAS-100 Eco. Wykazano większą koncentrację bakterii i grzybów pleśniowych w powietrzu hal produkcyjnych w strefie niskiego ryzyka niż w strefie wysokiego ryzyka. W badanym powietrzu sporadycznie występowały pałeczki *E. coli*, natomiast inne bakterie grupy coli stwierdzono w sześciu punktach pomiarowych. Ponadto wykazano obecność bakterii z rodzaju *Listeria*, a identyfikacja molekularna potwierdziła wśród wyizolowanych szczepów *L. monocytogenes*. Powietrze może stanowić zatem źródło skażenia zarówno drobnoustrojami saprofitycznymi, jak i patogenami na różnych etapach produkcji.

**Słowa kluczowe:** powietrze wewnętrzne, skażenie mikrobiologiczne, mikroorganizmy, *Listeria*, zakład mięsny.

**Summary:** This paper presents the results of the microbiological air purity assessment. Concentrations of bacterial and fungal aerosols were determined. Particular attention was paid to the presence of potentially pathogenic bacterium *Listeria* spp. and *E. coli*. The study was conducted for 7 sampling points located at the consecutive stages of the production line and hallway of the meat processing plant. Air samples were collected with the compaction method using the MAS – 100 Eco type impactor. The results show higher concentrations of bacteria and mould fungi in the low risk area air than in the high risk area air. *E. coli* occurred sporadically, other coliform bacteria were isolated from the samples collected from 6 sampling points. Moreover, the presence of *Listeria* spp. was discovered, and confirmed with the use of PCR technique as *L. monocytogenes*. Thus, it was proven that air can be a source of microbial contamination with the saprophytes and pathogens at each and every production stage.

**Keywords:** indoor air, microbial contamination, microorganisms, *Listeria*, meat plant.

## 1. Wstęp

W procesach przetwórstwa mięsnego nadrzędnym zadaniem jest zminimalizowanie mikrobiologicznego zanieczyszczenia surowców, półproduktów i produktów gotowych drobnoustrojami pochodzącymi z reinfekcji. Jednym ze źródeł skażenia są mikroorganizmy przenoszone przez powietrze w postaci bioaerozolu. Stanowi on różnorodny kompleks cząstek składających się m.in. z saprofitycznych i patogennych bakterii, strzępek i zarodników grzybów oraz wirusów [An i in. 2004; Gąska-Jędruch, Dudzińska 2009]. W bioaerozolu występują również szkodliwe produkty metabolizmu drobnoustrojowego, takie jak: endo- i enterotoksyny, glukany, mykotoksyny, alergeny, lotne związki organiczne i inne [Ławniczek-Walczyk i in. 2013].

Powietrze jest środowiskiem niekorzystnym do życia mikroorganizmów (nie rozwijają i nie namnażają się w nim), to jednak w otoczeniu linii produkcyjnych może być źródłem zanieczyszczenia, a jednocześnie stanowić swego rodzaju przenośnik mikroorganizmów. Jakość powietrza ma istotne znaczenie do określenia warunków higienicznych panujących w zakładach przetwórstwa mięsnego oraz do ustalenia mechanizmów zanieczyszczania i psucia się produktów mięsnych [Shale, Lues 2007; Kornacki 2014].

Oszacowanie stężenia bioaerozolu jest utrudnione z powodu dużej liczby parametrów mających bezpośredni lub pośredni wpływ na liczebność aeromikroflory. Najważniejszymi źródłami drobnoustrojów w powietrzu pomieszczeń produkcyjnych jest instalacja wentylacyjna i klimatyzacyjna, personel, aparatura, kurz na konstrukcjach budowlanych, surowce, półprodukty, materiały pomocnicze, opakowania [An i in. 2004; Szosland-Fałtyń i in. 2012]. Specyfika produkcji zakładu mięsnego stwarza idealne warunki do rozwoju mikroorganizmów. Wynika to głównie z prowadzenia produkcji otwartej, na którą składa się bezpośrednie działanie człowieka na surowiec, a także oddziaływanie środowiska wewnątrzzakładowego. Mięso stanowi bardzo dobrą pożywkę dla rozwoju i bytowania drobnoustrojów. Sprzyja temu znaczna zawartość substancji białkowych, będąca dla mikroorganizmów łatwo dostępnym źródłem węgla i azotu, a także duża ilość wody i innych cennych składników odżywczych przy obojętnym odczynie środowiska [Pałkowska 2013]. W środowisku produkcyjnym mogą występować mikroorganizmy zarówno saprofityczne, jak i chorobotwórcze, które stanowią zagrożenie dla mięsa w każdej fazie przetwórczej. W powietrzu najczęściej obecna jest mikroflora saprofityczna, w tym: bakterie rodzaju *Micrococcus*, *Sarcina*, *Staphylococcus*, przetrwalniki *Bacillus* spp. i *Clostridium* spp., zarodniki grzybów *Alternaria*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Mucor*, promieniowce, drożdże z rodzaju *Rhodotorula*, *Candida* [Stetzenbach i in. 2004; Shale, Lues 2007]. Zauważa się również występowanie mikroflory patogennej, wśród której spotykane są bakterie z rodziny *Enterobacteriaceae* (*Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*), *Listeria* spp., *Staphylococcus aureus* i inne, które przyczyniają się do bezpośredniego zagrożenia otoczenia linii produkcyjnych [Lues i in. 2007; Dobeic i in. 2011].

Pomimo ciągłego dążenia przedsiębiorców do poprawy jakości produktów wciąż borykamy się z problemami związanymi z zakażeniami i zatruciami pokarmowymi. Do bardziej niebezpiecznych bakterii należy *Listeria monocytogenes* wywołująca listeriozę u ludzi i zwierząt. Gatunek ten został szeroko opisany w literaturze przedmiotu i stanowi jedno z aktualnych zagadnień epidemiologicznych i epizootologicznych. Znajduje się na liście chorób zakaźnych podlegających zgłaszaniu w krajach Unii Europejskiej [Galińska i in. 2010]. Ze względu na to, że bakterie z rodzaju *Listeria* tolerują ekstremalne warunki (rosną w szerokim zakresie temp. 0-45°C, przy pH 6-9 oraz wysokim zasoleniu), powoduje ich szerokie rozpowszechnienie w różnych środowiskach [Muskalska, Szymczak 2015]. Można je wyizolować na liniach produkcyjnych przetwórstwa spożywczego, w tym na wszystkich etapach produkcji zakładów mięsnych, zarówno z surowca, półproduktu, jak i produktu gotowego. Najlepiej rozwinięte zdolności adaptacyjne wykazuje *L. monocytogenes*, która wzrasta również w temperaturze -2°C oraz przy pH poniżej 4,5. Z kolei całkowitą inaktywację tego gatunku uzyskuje się dopiero w temperaturze powyżej 75°C [Gibbons i in. 2006; Barazi, Erkmén 2008]. Jak podaje Dobeic i in. [2011], artykuły mięsne są narażone na skażenie pałeczkami *L. monocytogenes* przenoszonymi między innymi drogą powietrzną.

Badania mikrobiologiczne czystości powietrza są bardzo istotnym elementem Dobrej Praktyki Higienicznej w zakładach przetwórstwa rolno-spożywczego. Określenie składu i koncentracji bioaerozolu na liniach produkcyjnych w sektorze mięsnym może wskazać kierunek zmian w postępowaniu prowadzącym do obniżenia ryzyka skażenia mikrobiologicznego zarówno surowca, jak i gotowego produktu, a w efekcie poprawić bezpieczeństwo konsumenta.

Celem badań było oznaczenie poziomu stężenia aerozolu bakteryjnego i grzybowego w halach produkcyjnych zakładu mięsnego, co pozwoliło ocenić czystość mikrobiologiczną powietrza na poszczególnych etapach procesu produkcji. W ramach badań szczególną uwagę zwrócono na występowanie potencjalnie chorobotwórczych pałeczek *Listeria* spp. i bakterii grupy coli.

## 2. Materiał i metody badań

### 2.1. Pobór próbek

Próbki powietrza do analiz mikrobiologicznych pobierano w trzech powtórzeniach na liniach produkcyjnych zakładu przetwórstwa mięsnego na terenie województwa kujawsko-pomorskiego. Jest to średniej wielkości przedsiębiorstwo o zdolności produkcyjnej na poziomie 300-400 ton gotowych wyrobów tygodniowo. Zakład prowadzi rozbiór surowca, produkcję oraz sprzedaż produktów i wyrobów z udziałem mięsa czerwonego oraz drobiowego według odpowiednich grup asortymentowych. Do badań wytypowano łącznie 7 punktów pomiarowych, z czego trzy w strefie niskiego ryzyka (hala przyjęcia surowca – pkt 1, rozbiór – pkt 2, wędzarnia – pkt 3) oraz trzy

stanowiska w strefie wysokiego ryzyka (linia pakowania wędlin – pkt 4, magazyn wędlin – pkt 5, linia krojenia i pakowania próżniowego – pkt 6). Punkt kontrolny (pkt 7) wyznaczono poza działem produkcji, w holu komunikującym pomieszczenia biurowe z laboratorium i magazynem. Szczegółowy opis stanowisk badawczych przedstawiono w tab. 1.

Próbki powietrza pobierano metodą zderzeniową za pomocą impaktora MAS-100 Eco (prod. Merck, Niemcy). Aparatem zasysano ściśle określoną objętość powietrza przez perforowaną głowicę aparatu, pod którą znajdowała się jałowa płytka Petriego (śr. 90 mm) z odpowiednim podłożem agarowym. Szybkość zderzania mikroorganizmów z powierzchnią agaru wynosi około 11 m/s, co gwarantuje zebranie wszystkich cząstek o wielkości ponad 1  $\mu\text{m}$ . Prędkość pobierania powietrza dla użytego próbnika Mas-100 wynosi 100 l/min, co umożliwi pobranie w jednym cyklu do 1000 l powietrza. W wytypowanych punktach pomiarowych pobierano powietrze o objętości w zakresie od  $1 \times 10^{-2} \text{ m}^3$  do  $5 \times 10^{-2} \text{ m}^3$ . Pomiary wykonano w dwóch terminach, tj. w okresie letnim (15.07.2015) i jesiennym (19.10.2015), w godzinach od 10.00 do 14.00 w trakcie aktywnej pracy zakładu i przy pełnej obsadzie personelu na stanowiskach pracy. W trakcie badań dokonywano również pomiaru temperatury powietrza na poszczególnych stanowiskach, a odczytane wartości zaprezentowano w tab. 1.

**Tabela 1.** Specyfikacja punktów pomiarowych w halach produkcyjnych zakładu przetwórstwa mięsnego

Nr stanowiska	Punkt poboru powietrza	Charakterystyka stanowiska	Temperatura powietrza [°C]	
			I t.*	II t.
1	Przyjęcie surowca	Rampa przyjęcia surowca połączona z korytarzem, którym transportowane są przyprawy do strefy produkcji	15,0	11,5
2	Rozbiór	Hala, w której znajdują się dwa stoły rozbiorowe	12,0	9,0
3	Wędzarnia	15 komór przejazdowo wędzarniczo-parzelniczych	30,0	18,0
4	Linia pakowania	Linia pakowania wędlin i wędzonek technologią MAP (pakowanie w atmosferze modyfikowanej)	7,0	4,0
5	Magazyn	Magazyn wędlin i innych wyrobów wychłodzonych (gotowych do spakowania)	4,1	8,1
6	Linia krojenia i pakowania	Pomieszczenie wyposażone w trzy krajalnice do wędlin i trzy maszyny pakujące (Multivac) w atmosferze modyfikowanej oraz urządzenie do pakowania próżniowego	6,5	8,0
7	Punkt kontrolny	Korytarz przy pomieszczeniach biurowych – łączy biura produkcji i kontroli jakości z magazynem wyrobów gotowych oraz laboratorium	20,0	21,0

\* Termin badań: I – w okresie letnim, II – w okresie jesiennym.

Źródło: opracowanie własne.

## 2.2. Analizy mikrobiologiczne

W badanym powietrzu hal produkcyjnych zakładu mięsnego oznaczono następujące grupy mikroorganizmów: ogólną liczbę bakterii i grzybów pleśniowych, bakterie z rodzaju *Listeria* oraz pałeczki *Escherichia coli* i inne grupy coli. Do hodowli bakterii ogółem zastosowano agar odżywczy standardowy NA – Merck, Niemcy (inkubacja 37°C, 48 h); dla grzybów pleśniowych użyto agaru brzeckowego – Merck (inkubacja 26°C, 120 h); bakterie z rodzaju *Listeria* izolowano na podłożu chromogennym ALOA według Ottavianiego i Agostiego–Mercka (inkubacja 37°C, 24-48 h); dla pałeczek *Escherichia coli* i innych bakterii grupy coli wykorzystano agar Endo z fuksyną i laktozą – Merck (inkubacja 37°C przez 24 h). Każdą grupę mikroorganizmów oznaczano w trzech powtórzeniach we wszystkich punktach pomiarowych. Po okresie inkubacji zliczano wyrosnięte kolonie bakteryjne i grzybowe. Do badań diagnostycznych grzybów stosowano podłoże PDA (agar glukozowo-ziemniaczany, firmy Merck), a ich przynależność rodzajową określano za pomocą klucza Domscha i in. [1990].

W celu potwierdzenia diagnostyki *E. coli* otrzymane czyste kolonie poddawano testom z szeregu biochemicznego IMViC. W przypadku identyfikacji *Listeria* spp. kolonie o charakterystycznym zielonkawym zabarwieniu przeszczepiono na podłoże TSA (agar tryptozowo-sojowy), a po upływie doby zawieszono w bulionie BHI. DNA bakteryjne izolowano zgodnie z protokołem dołączonym do zestawu Genomic Mini AX Bacteria Spin (A&A Biotechnology, Polska). Przynależność gatunkową pozyskanych szczepów określano z zastosowaniem metod mikrobiologii molekularnej za pomocą łańcuchowej reakcji polimerazy (PCR). Do mieszaniny reakcyjnej wykorzystano dwie pary starterów o sekwencjach: 5'-CAGCAGCCGCGGTAATAC-3', 5'-CTCCATAAAGGTGACCCT-3' oraz 5'-CCTAAGACGCCAATCGAA-3', 5'-AAGCACTTGCAACTGCTC-3' (Sigma-Aldrich, USA) umożliwiające powielanie dwóch różnych fragmentów DNA (gen kodujący 16S rRNA i gen *hly*) według Kuana i in. [2013]. Produkty uzyskane w wyniku reakcji PCR rozdzielano z użyciem elektroforezy w polu elektrycznym (85 min przy napięciu 80V) na 1,5-procentowym żelu agarozowym.

## 2.3. Opracowanie wyników

Koncentrację badanego bioaerozolu wyrażono jako liczbę komórek zdolnych do rozwoju w formie kolonii obecnych w pobranej objętości powietrza. Uzyskaną liczebność jtk skorygowano za pomocą statystycznej tablicy konwersji według Fellerera. Następnie koncentrację drobnoustrojów przeliczono na 1 m<sup>3</sup> powietrza (jtk/m<sup>3</sup>). Metoda korekcji statystycznej oparta jest na zasadzie, że wraz ze wzrostem koncentracji drobnoustrojów w próbie wzrasta prawdopodobieństwo, że kilka drobnoustrojów trafi w tę samą dziurę w perforowanej pokrywie. Tablica przeliczeniowa oparta jest na wzorze Fellerera:

$$Pr = N [1/N + 1/N-1 + 1/N-2 + \dots + 1/N-r+1],$$

gdzie: Pr – prawdopodobna statystyczna całkowita liczba kolonii, N – numer kolejnego z 400 otworów w głowicy próbnika, r – liczba jednostek tworzących kolonie na standardowej szalce Petriego.

Analizie statystycznej poddano wyniki liczby jtk/m<sup>3</sup>, określając średnią i odchylenie standardowe – SD dla wartości uzyskanych z dwóch terminów w 7 punktach pomiarowych. Do określenia istotności różnic pomiędzy średnimi wykorzystano test Tukeya na poziomie istotności  $p = 0,05$ . Obliczenia statystyczne wyników wykonano w programie Statistica 10 (StatSoft Polska).

### 3. Wyniki i dyskusja

Poziom koncentracji bioaerozolu oznaczony na liniach produkcyjnych zakładu mięsnego zaprezentowano w tabelach 2-4. Wartości uzyskane dla ogólnej liczby bakterii od 40 do 810 jtk/m<sup>3</sup> wskazują, że największe zanieczyszczenie powietrza występowało poza halami produkcyjnymi, tj. na korytarzu łączącym pomieszczenia biurowe z magazynem i wyjściem na zewnątrz obiektu (tab. 2). Analiza statystyczna potwierdziła istotnie wyższą liczebność aerozolu bakteryjnego na stanowisku 7. w stosunku do pozostałych punktów pomiarowych wytypowanych na liniach produkcyjnych zarówno w pierwszym jak i drugim terminie. Największe stężenie bakterii ogółem na tym stanowisku może wynikać z licznego przemieszczania się pracowników zakładu zarówno administracji, jak i produkcji, co przyczynia się do wzmożonego ruchu i wymiany powietrza. Natomiast na obszarze produkcji najwięcej bakterii oznaczono w powietrzu przy rozbiórce surowca, a ich liczba dochodziła do 480 jtk/m<sup>3</sup>.

W przypadku aerozolu grzybowego największe stężenie odnotowano w hali przy komorach wędzarniczo-parzelniczych (pkt 3). Liczba zarodników na tym stanowisku wynosiła 230 jtk/m<sup>3</sup> i była istotnie wyższa niż w pozostałych pomieszczeniach, jedynie zbliżone wartości uzyskano w hali przyjęcia surowca w drugim terminie badań (tab. 2). Należy dodać, że panowała tam zdecydowanie wyższa temperatura w porównaniu z innymi pomieszczeniami produkcyjnymi dochodząca nawet do 30°C. Ponadto na występujące zanieczyszczenie mógł wpływać bardziej wzmożony ruch personelu dowożącego wędliny i inne wyroby na wózkach wędzarniczych. Zdecydowanie mniej zanieczyszczone powietrze przez grzyby pleśniowe nieprzekraczające 125 jtk/m<sup>3</sup> odnotowano na liniach strefy wysokiego ryzyka (pkt 4, 5 i 6). Według norm określonych przez Krzysztofika [1992] dopuszczalna liczba grzybów w pomieszczeniach produkcyjnych przemysłu mięsnego wynosi  $5 \times 10^2$  jtk w 1 m<sup>3</sup> powietrza. Należy jednak dodać, że proponowane wartości dopuszczalnego stopnia mikrobiologicznego zanieczyszczenia powietrza opracowano na podstawie pomiarów wykonanych metodą sedymentacyjną.

Prezentowane wyniki są porównywalne z rezultatami badań uzyskanymi przez Breza-Borutę [2015] w zakładzie przetwórstwa mięsa drobiowego, w którym warto-



ści dla mikroflory bakteryjnej w powietrzu nie przekroczyły 310 jtk/m<sup>3</sup>, a grzybów pleśniowych 260 jtk/m<sup>3</sup>. Z kolei Kręgiel [2006], kontrolując powietrze otaczające linie technologiczne, wykazała znacznie większe zanieczyszczenie aerozolem grzybowym osiągające 1243 jtk/m<sup>3</sup>, natomiast stężenie aerozolu bakteryjnego było dużo niższe – w granicach od 40 do 100 jtk/m<sup>3</sup>.

**Tabela 2.** Stężenie aerozolu bakteryjnego i grzybowego w halach produkcyjnych zakładu przetwórstwa mięsnego

Stanowisko pomiarowe	Bakterie ogółem [jtk/m <sup>3</sup> ]				Grzyby pleśniowe [jtk/m <sup>3</sup> ]			
	I termin		II termin		I termin		II termin	
	średnia	SD	średnia	SD	średnia	SD	średnia	SD
1	280,0	15,3	40,0	5,0	85,0	11,0	210,0	20,1
2	480,0	34,6	110,0	10,9	50,0	5,6	50,0	5,0
3	422,0	49,0	70,0	6,2	230,0	24,1	220,0	22,5
4	140,0	13,2	45,0	4,3	86,7	5,8	86,7	6,7
5	415,0	28,9	50,0	5,0	55,0	5,0	125,0	5,9
6	360,0	20,0	160,0	17,3	5,0	0,7	113,3	10,4
7	810,0	125,3	760,0	72,1	120,0	10,6	140,0	15,1
NIR = 87,52					NIR = 32,83			

SD – odchylenie standardowe, NIR – różnice istotne w teście Tukeya ( $p = 0,05$ ) dla stanowisk pomiarowych i terminu analiz.

Źródło: opracowanie własne.

W badanym bioaerozolu zidentyfikowano również bakterie z rodzaju *Listeria*. W okresie letnim izolowano je z powietrza na terenie działu przyjęcia i obróbki surowca, w otoczeniu wędzarni oraz na korytarzu, przy czym ich koncentracja kształtowała się na niskim poziomie do 6 jtk /m<sup>3</sup> (tab. 3). Natomiast nie stwierdzono ich obecności na stanowiskach wyznaczonych w strefie wysokiego ryzyka. Z kolei w drugim terminie badań tych potencjalnie patogenicznych bakterii występowało jeszcze mniej, ze wszystkich bowiem pobranych próbek powietrza na terenie zakładu wyizolowano łącznie 10 szczepów, jednakże wykryto je m.in. w magazynie (pkt 5) oraz na linii krojenia i pakowania wędlin (pkt 6). Szczegółowe badania diagnostyczne oparte na łańcuchowej reakcji polimerazy potwierdziły wśród wyizolowanych szczepów *L. monocytogenes*. Gatunek ten wykryto tylko na jednym stanowisku pomiarowym – w hali rozbioru surowca. We wszystkich pozostałych punktach badawczych identyfikacja molekularna wykluczyła obecność *L. monocytogenes*. Należy dodać, że do reakcji PCR wykorzystano dwie pary starterów. Pierwszy z nich był genem kodującym 16S rRNA charakterystycznym dla wszystkich gatunków należących do *Listeria* (938 pz), drugi zaś to gen *hly* (702 pz), kodujący jeden z najlepiej poznanych czynników wirulencji *L. monocytogenes* – listeriolizy-

nę O (LLO). Gen *hly* odgrywa bardzo istotną rolę w patogenezie *L. monocytogenes*, ponieważ szczepy mające mutację tego genu nie są chorobotwórcze [Liu i in. 2007]. Ze względu na to, że bakteria ta wykazuje się wysokim odsetkiem przypadków śmiertelnych, szczególnie wśród osób z grup ryzyka (m.in. noworodków i kobiet w ciąży, osób starszych), kładzie się duży nacisk na kontrolę i zapobieganie jej występowaniu w środowisku produkcyjnym oraz żywności [Galińska i in. 2010; Gahan, Hill 2014]. Zatem bardzo istotne jest szybkie wykrycie tego patogenu na etapie przetwarzania surowca oraz wyeliminowanie wszelkich dróg jego przeniesienia, w tym również aerogennej.

**Tabela 3.** Zanieczyszczenie powietrza hal produkcyjnych przez bakterie *Listeria* spp.

Stanowisko pomiarowe	Koncentracja jtk/m <sup>3</sup>			
	I termin		II termin	
	średnia	SD	średnia	SD
1	2,0	0,15	2,0	0,15
2	6,0	0,7	0,0	0,0
3	4,0	0,2	2,0	0,0
4	0,0	0,0	0,0	0,0
5	0,0	0,0	4,0	0,5
6	0,0	0,0	2,0	0,2
7	2,0	0,15	0,0	0,0
NIR = 1,57				

SD – odchylenie standardowe, NIR – różnice istotne w teście Tukeya ( $p = 0,05$ ) dla stanowisk pomiarowych i terminu analiz.

Źródło: opracowanie własne.

Inspekcja Weterynaryjna w 2011 roku skontrolowała na terenie Polski 38 539 obiektów, w tym zakłady przetwórstwa mięsnego [Pałkowska 2013]. Z uzyskanych wyników kontroli wynika, że zanieczyszczenie bakteriami z rodzaju *Listeria* najczęściej występowało w mięsie drobiowym. W badaniach przedstawionych przez Dobeć i in. [2011] wykazano, że *Listeria* spp. występowała w powietrzu na terenie trzech ubojni i trzech małych zakładów mięsnych. Wśród oznaczonych izolatów autorzy nie wykryli gatunku *Listeria monocytogenes*, natomiast szczepy takie jak: *L. seeligeri* i *L. innocua* były obecne w próbach bioaerozolu pobranych na stanowiskach dzielenia, patroszenia i mycia tusz wieprzowych. Dostępne w piśmiennictwie dane wskazują, że *L. monocytogenes* wykrywana jest w określonych grupach żywności m.in. w produktach nabiałowych (miękkie sery, sery pleśniowe, niepasteryzowane mleko, lody) oraz różnych typach mięsa takich jak: fermentowane wędliny, parówki, hot-dogi, indyk, szynka RTE (ready-to-eat), pasztety [Gibbons i in. 2006; Kuan i in. 2013; Muskalska, Szymczak 2015]. Pamiętać należy o możliwościach adaptacyj-



nych do jakich są zdolne przystosować się te bakterie, mimo ekstremalnych warunków środowiska, m.in. zachowując żywotność w powietrzu [Gahan, Hill 2014].

Zanieczyszczenie powietrza przez pałeczki *Escherichia coli* w monitorowanym zakładzie wykryto tylko na jednej linii produkcyjnej strefy wysokiego ryzyka (pkt 6) i to w niskiej koncentracji – 2 jtk/m<sup>3</sup> (tab. 4). Zdecydowanie wyższe stężenie odnotowano dla bakterii grupy coli, które w hali rozbioru (pkt 2) dochodziło do 66 jtk/m<sup>3</sup>. Również w badaniach przeprowadzonych przez Breza-Borutę [2015] na terenie zakładu mięsnego największą liczbę bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* uzyskano w powietrzu hali rozbioru mięsa drobiowego, a wartość ich wynosiła 36 jtk/m<sup>3</sup>. Występowanie pałeczek coli w powietrzu linii produkcyjnych, zwłaszcza w strefie wysokiego ryzyka stwarza potencjalne zagrożenie dla wytwarzanych produktów w końcowych etapach produkcji w trakcie krojenia oraz pakowania wędlin. W badanych próbkach powietrza pobranych z tego sektora produkcji (pkt 4, 5 i 6) bakterii grupy coli wyizolowano tylko 2 jtk/m<sup>3</sup>. Według danych literaturowych zakażenie pałeczką okrężnicy może wystąpić już przy obecności w żywności od 10 do 50 komórek i prowadzi to do zaburzeń pracy przewodu pokarmowego trwających w słabszym przebiegu choroby do 4 dni [Szosland-Fałtyń i in. 2012]. Pałeczki coli należą do bakterii Gram-ujemnych i poza tym, że mogą wywoływać zatrucia pokarmowe są źródłem aktywnych immunologicznie endotoksyn, stanowiących zagrożenie dla zdrowia pracowników zakładów przetwórczych [Ławniczek-Walczyk i in. 2013]. Potencjalnie chorobotwórcze bakterie *E. coli* jak i wcześniej opisane *Listeria* spp. należą do 2. grupy ryzyka i zagrożenia szkodliwymi czynnikami biologicznymi zgodnie z Dyrektywą 2000/54/WE.

**Tabela 4.** Zanieczyszczenie powietrza hal produkcyjnych przez *Escherichia coli* i bakterie grupy coli

Stanowisko pomiarowe	<i>E. coli</i> [jtk/m <sup>3</sup> ]				Bakterie grupy coli [jtk/m <sup>3</sup> ]			
	I termin		II termin		I termin		II termin	
	średnia	SD	średnia	SD	średnia	SD	średnia	SD
1	0,0	0,0	0,0	0,0	2,0	0,11	8,0	1,5
2	0,0	0,0	0,0	0,0	66,0	6,0	2,0	0,0
3	0,0	0,0	0,0	0,0	16,0	2,0	6,0	1,0
4	0,0	0,0	0,0	0,0	2,0	0,0	0,0	0,0
5	0,0	0,0	0,0	0,0	0	0,0	2,0	0,0
6	2,0	0,11	0,0	0,0	2,0	0,11	2,0	0,2
7	0,0	0,0	2,0	0,0	22,0	2,6	4,0	0,4
NIR = 0,08					NIR = 4,90			

SD – odchylenie standardowe, NIR – różnice istotne w teście Tukeya ( $p = 0,05$ ).

Źródło: opracowanie własne.

Lues i in. [2007] badając stężenie i rozkład bioaerozolu w zakładzie drobiarskim o dużej wydajności produkcyjnej, wykryli liczne bakterie patogenne i w znacznie

wyższych stężeniach niż w prezentowanych wynikach. Autorzy w pobranym powietrzu stwierdzili, m.in. *E. coli* w stężeniu  $1,5 \times 10^3$  jtk/m<sup>3</sup>, bakterie grupy coli w ilości  $1,6 \times 10^3$  jtk/m<sup>3</sup>, *Salmonella* spp. –  $5,5 \times 10^3$  jtk/m<sup>3</sup>, *L. monocytogenes* –  $9,3 \times 10^3$  jtk/m<sup>3</sup> oraz grzyby, których koncentracja dochodziła max. do  $1,4 \times 10^4$  jtk/m<sup>3</sup>. Istotny wpływ na tak wysokie zanieczyszczenie powietrza, na co zwrócili uwagę cytowani badacze miały miejsca poboru próbek, które wyznaczono na początkowych etapach produkcji strefy uboju, obejmujące obszar zabijania i odpierzania, natomiast w kolejnych halach przetwarzania, tj. patroszenia, chłodzenia, pakowania i wysyłki stężenie bioaerozolu stopniowo się zmniejszało.

W oparciu o przeprowadzoną diagnostykę taksonomiczną grzybów stwierdzono w badanym bioaerozolu dominację pleśni rodzaju: *Aspergillus*, *Alternaria* i *Cladosporium*. Z danych zawartych w tabeli 5 wynika, że najbardziej zróżnicowany skład jakościowy grzybów występował w otoczeniu komór wędzarniczych. W punkcie tym poza ww. pleśniami zidentyfikowano: *Epicoccum* sp., *Geotrichum* sp., *Monilia* sp., *Mucor* sp. Podobny skład jakościowy aerozolu grzybowego w halach produkcyjnych oznaczono w badaniach prezentowanych przez Kręgiel [2006] i Breza-Borutę [2015], przy czym pod względem ilościowym dominowały grzyby z rodzaju *Penicillium*. Jak donoszą również inni autorzy grzyby te należą do typowej mikroflory powietrza, których zarodniki z łatwością rozprzestrzeniają się w środowisku, zarówno wewnętrznym i zewnętrznym [Stetzenbach i in. 2004; Kornacki 2014]. Wszystkie oznaczone gatunki grzybów na monitorowanych stanowiskach zgodnie z Dyrektywą 2000/54/WE i rozporządzeniem Ministra Zdrowia z dnia 22 kwietnia 2005 r. należą do pierwszej grupy ryzyka i zagrożenia szkodliwymi czynnikami biologicznymi.

**Tabela 5.** Skład grzybów pleśniowych wyizolowanych z powietrza na stanowiskach badawczych na terenie zakładu mięsnego

Rodzaj pleśni						
Stanowiska pomiarowe						
1	2	3	4	5	6	7
<i>Acremonium</i>	<i>Alternaria</i>	<i>Alternaria</i>	<i>Alternaria</i>	<i>Alternaria</i>	<i>Alternaria</i>	<i>Alternaria</i>
<i>Alternaria</i>	<i>Aureobasidium</i>	<i>Aspergillus</i>	<i>Aspergillus</i>	<i>Aspergillus</i>		<i>Aspergillus</i>
<i>Aspergillus</i>	<i>Botrytis</i>	<i>Cladosporium</i>	<i>Penicillium</i>	<i>Botrytis</i>		<i>Cladosporium</i>
	<i>Geotrichum</i>	<i>Epicoccum</i>		<i>Cladosporium</i>		<i>Monilia</i>
		<i>Geotrichum</i>		<i>Mucor</i>		<i>Penicillium</i>
		<i>Monilia</i>		<i>Penicillium</i>		<i>Rhizopus</i>
		<i>Mucor</i>				

Źródło: opracowanie własne.

Na podstawie zarejestrowanych stężeń mikroorganizmów należy stwierdzić, że powietrze w otoczeniu hal produkcyjnych nie było znacząco zanieczyszczone. Z otrzymanych wartości w punktach pomiarowych wytypowanych w strefie niskie-

go i wysokiego ryzyka na obszarze produkcyjnym wynika, że największe stężenie dla większości badanych grup drobnoustrojów (bakterii ogółem, *Listeria* spp., pałeczek grupy coli) odnotowano w hali rozbioru (pkt 2). Czynnikiem wpływającym na poziom skażenia na tym stanowisku mógł być ciągły obieg surowca oraz pracownicy, bowiem hala była wyposażona w dwa stoły rozbiorowe i połączona z dwoma magazynami porozbiorowymi gdzie łącznie pracowało 40 pracowników. Jak wynika z licznych doniesień to pracownicy stanowią istotne źródło zanieczyszczeń powietrza, ich aktywność na stanowiskach pracy, a także przemieszczanie się w obrębie działów produkcyjnych. Drobnoustroje mogą być wydzielane ze śliną w czasie mówienia, kichania oraz kaszlu, również ich źródłem może być odzież robocza, obuwie, a także włosy i ręce zwłaszcza jeśli nie są zabezpieczone odpowiednimi środkami ochronnymi (czepki, rękawice, maseczki i inne) [Szosland-Fałtyń i in. 2012]. Przypuszcza się, że ponad 25% mikroorganizmów obecnych w powietrzu hal produkcyjnych pochodzi właśnie od pracowników [Shale, Lues 2007].

Istotnym parametrem wpływającym na rozprzestrzenianie się bioaerozolu i utrzymanie żywotności drobnoustrojów obecnych w powietrzu są warunki klimatyczne. W czasie wykonywanych pomiarów najwyższa temperatura powietrza była przy komorach wędzarniczo-parzelnicznych (pkt 3), a następnie na korytarzu (pkt 7, tab. 1). W tych punktach uzyskano istotnie najwyższe wartości dla grzybów pleśniowych w porównaniu z innymi stanowiskami, co mogło wynikać z korzystniejszych warunków do rozprzestrzeniania się zarodników. Z kolei w pomieszczeniach produkcyjnych gdzie była najniższa temperatura powietrza w granicach 4-8 °C, grzybów identyfikowano zdecydowanie mniej. W przypadku mikroflory bakteryjnej nie zauważono takich zależności zważywszy, że w bioaerozolu poza mezofilami mogą utrzymywać się, a w pomieszczeniach o niższej temperaturze nawet dominować bakterie psychrofilne.

Drobnoustroje w powietrzu wewnętrznym są mniej narażone na czynniki meteorologiczne (temperatura, opady atmosferyczne, promieniowanie UV) dlatego też okres ich przeżywalności jest dłuższy, a liczebność nie podlega tak dużym wahaniom sezonowym (zima/lato) jak w powietrzu zewnętrznym, stabilniejszy jest także skład gatunkowy [Gaska-Jędruch, Dudzińska 2009].

Ze względu na zagrożenie jakie może stwarzać bioaerozol w środowisku produkcyjnym konieczne są odpowiednie normatywy regulujące dopuszczalne zawartości drobnoustrojów w powietrzu. Do tej pory w Polsce nie ma obowiązujących aktów prawnych określających czystość mikrobiologiczną powietrza hal produkcyjnych przemysłu spożywczego. Na przestrzeni ostatnich lat złożone zostały przez krajowe komitety specjalistów oraz niezależne grupy naukowców propozycje zakresów wartości dopuszczalnego stężenia bioaerozolu w pomieszczeniach zamkniętych. Na uwagę zasługują opracowania Górnego [2004], w których powołuje się na wytyczne Krzysztofika dopuszczające ogólną liczbę drobnoustrojów w przemyśle mięsnym do 500 jtk oraz stężenie grzybów do 50 jtk w 1 m<sup>3</sup> powietrza. Odnosząc się do tego kryterium, stan czystości mikrobiologicznej powietrza na liniach produkcyj-

nych monitorowanego zakładu mięsnego ze względu na skażenie bakteryjne można uznać za zadawalający, ale zdecydowanie zostały przekroczone wartości dla zanieczyszczenia pleśniami. Skład mikrobiologiczny powietrza jest ważnym elementem wśród parametrów jakościowych środowiska produkcyjnego wpływających na bezpieczeństwo wytwarzanych produktów.

#### 4. Podsumowanie

Oznaczony poziom stężenia aerozolu bakteryjnego i grzybowego w otoczeniu linii produkcyjnych monitorowanego zakładu mięsnego wskazuje, że powietrze stanowić może istotne źródło wtórnego zanieczyszczenia mikrobiologicznego na poszczególnych etapach produkcji, począwszy od przyjęcia i obróbki surowca, aż po wytwarzanie gotowego produktu. Wyższą koncentrację bakterii i zarodników grzybów pleśniowych w powietrzu hal produkcyjnych stwierdzono w strefie niskiego ryzyka niż w strefie wysokiego ryzyka. Wśród oznaczonych grzybów dominowały rodzaje powszechnie występujące w powietrzu (*Aspergillus*, *Alternaria* i *Cladosporium*). Sporadycznie w badanym powietrzu występowały pałeczki *E. coli*, natomiast inne bakterie grupy coli odnotowano w sześciu punktach pomiarowych. Ponadto wykazano obecność bakterii z rodzaju *Listeria*, a identyfikacja molekularna potwierdziła wśród oznaczonych szczepów gatunek *L. monocytogenes*. Przenieszone drogą aero-geną chorobotwórcze mikroorganizmy stanowią niebezpieczeństwo nie tylko dla konsumentów zanieczyszczonej żywności, ale także pracowników zakładu. Dlatego niezmiernie ważnym jest zachowanie najwyższych standardów higieny pracy i wszelkich z tym związanych procedur.

#### Literatura

- An H.R., Mainelis G., Yao M., 2004, *Evaluation of a high-volume portable bioaerosol sampler in laboratory and field environments*, Indoor Air, 14, s. 385-393.
- Barazi A., Erkmen O., 2008, *Survival of Listeria monocytogenes in sucuk during manufacturing and storage periods at different modified atmosphere*, Roumanian Biotechnological Letters, 13(5), s. 49-58.
- Breza-Boruta B., 2015, *Zanieczyszczenia mikrobiologiczne powietrza hal produkcyjnych zakładu przetwórstwa mięsnego jako potencjalne zagrożenie pracowników*, Medycyna Środowiskowa, 4, s. 37-42.
- Dobeic M., Kenda E., Micunovic J., Zdovc I., 2011, *Airborne Listeria spp. in the red meat processing industry*, Czech Journal of Food Sciences, 29(4), s. 441-447.
- Domsch K.H., Gams W., Anderson T.H., 1990, *Compendium of Soil Fungi*, Academic Press, New York.
- Dyrektywa 2000/54/WE Parlamentu Europejskiego oraz Rady Unii Europejskiej z dnia 18 września 2000 r. w sprawie ochrony pracowników przed ryzykiem związanym z narażeniem na działanie czynników biologicznych w miejscu pracy, Official Journal of the European Communities, L. 262/21, Bruksela.
- Gahan C.G.M., Hill C., 2014, *Listeria monocytogenes: survival and adaptation in the gastrointestinal tract*, Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 4(9), s. 1-7.

- Galińska E., Knap J.P., Stroczyńska-Sikorska M., 2010, *Listerioza – mało znana, niebezpieczna choroba zakaźna*, Medycyna Ogólna, 16(4), s. 516-527.
- Gąska-Jędruch U., Dudzińska M., 2009, *Zanieczyszczenia mikrobiologiczne w powietrzu wewnętrznym*, Monografie Komitetu Inżynierii Środowiska, 59, s. 31-40.
- Gibbons I., Adesiyun A., Seepersadsingh N., Rahaman S., 2006, *Investigation for possible source(s) of contamination of ready-to-eat meat products with Listeria spp. and other pathogens in a meat processing plant in Trinidad*, International Journal of Food Microbiology, 23, s. 359-366.
- Górny R.L., 2004, *Biologiczne czynniki szkodliwe: normy, zalecenia i propozycje wartości dopuszczalnych*, Podstawy Metody Oceny Środowiska Pracy, 3(41), s. 17-39.
- Kornacki J., 2014, *Airborne contamination: A microbiologist's perspective*, Food Safety Magazine 20(4), s. 14-19.
- Kręgiel D., 2006, *Zanieczyszczenie mikrobiologiczne powietrza hali technologicznej a jakość produkowanych opakowań*, Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 1(46), s. 52-58.
- Krzysztofik B., 1992, *Mikrobiologia powietrza*, Wydawnictwo Politechniki Warszawskiej, Warszawa.
- Kuan C.H., Wong W.C., Pui C.F., Mahyudin N.A., Tang J.Y.H., Nishibuchi M., Radu S., 2013, *Prevalence and quantification of Listeria monocytogenes in beef offal at retail level in Selangor, Malaysia*, Brazilian Journal of Microbiology, 44(4), s. 1169-1172.
- Ławniczek-Walczyk A., Górny R.L., Golofit-Szymczak M., Niesler A., Wlazło A., 2013, *Occupational exposure to airborne microorganisms, endotoxins and beta-glucans in poultry houses at different stages of the production cycle*, Annals of Agricultural and Environmental Medicine, 20(2), s. 259-268.
- Liu D., Lawrence M.L., Ainsworth A.J., Austin F.W., 2007, *Toward an improved laboratory definition of Listeria monocytogenes virulence*, International Journal of Food Microbiology, 118, s. 101-115.
- Lues J.F.R., Theron M.M., Venter P., Rasephei M.H.R., 2007, *Microbial composition in bioaerosols of a high-throughput chicken-slaughtering facility*, Poultry Science, 86(1), s. 142-144.
- Muskalska K.B., Szymczak B., 2015, *Postępy badań nad bakteriami rodzaju Listeria*, Postępy Mikrobiologii, 54(2), s. 123-132.
- Pałkowska A., 2013, *Wpływ kontroli monitorowania warunków przechowywania i dostaw na optymalizację jakości mikrobiologicznej mięsa*, Zeszyty Naukowe Akademii Morskiej w Gdyni, 80, s. 43-50.
- Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 22 kwietnia 2005 r. w sprawie szkodliwych czynników biologicznych dla zdrowia w środowisku pracy oraz ochrony zdrowia pracowników zawodowo narażonych na te czynniki (Dz.U. 2005, nr 81, poz. 716 z późn. zm.: Dz.U. 2008, nr 48, poz. 288).
- Shale K., Lues J.F.R., 2007, *The etiology of bioaerosols in food environments*, Food Reviews International, 23, s. 73-90.
- Stetzenbach L.D., Buttner M.P., Cruz P., 2004, *Detection and enumeration of airborne biocontaminants*, Current Opinion in Biotechnology, 15, s. 170-174.
- Szosland-Fałtyn A., Królasik J., Krępska M., Polak E., 2012, *Wpływ poziomu zanieczyszczeń mikrobiologicznych urządzeń produkcyjnych i rąk pracowników na jakość bakteriologiczną gotowego produktu spożywczego*, Postępy Nauki i Technologii Przemysłu Rolno-Spożywczego, 67(3), s. 115-127.