

Značaj nalaza *Listeria monocytogenes* u mlijeku i mliječnim proizvodima*

Branka Magdalenić

Izlaganje sa znanstvenog skupa — Conference paper

UDK: 673.055:579.86

Sažetak

Listeria monocytogenes je prvi puta detaljno opisana 1926. godine kada ju je Murray izolirao iz kunića. Bakterija je gram-pozitivni asporogeni, kratki štapić. Raste od 1° C do 45° C, s optimalnim rastom pri 30—37° C. Može rasti uz pH 5,0—9,0. *L. monocytogenes* je aerobna do fakultativno anaerobna i patogena je za čovjeka i životinje. Izaziva oboljenje listeriozu. Zaražena trudnica *L. monocytogenes* može transplacentarno prenijeti na fetus.

Početna kontaminacija može prouzrokovati oštećenja embrija, nakon čega može doći do pobačaja, ili rađanja mrtvorodenčeta.

Kod životinja, najčešće goveda, ova bakterija izaziva encefalitis, mastitis i pobačaj.

Iako se zna da je *L. monocytogenes* patogena za čovjeka i životinje više od 50 godina, glavni značaj ovog organizma, kao patogenog kontaminanta hrane, objavljen je 1980. g.

Broj listerijskog trovanja hranom je mali i nizak u usporedbi s ostalim trovanjima hranom, ali je smrtnost visoka (30%). Zadnjih desetljeća povećava se broj objavljenih slučajeva listerioze.

L. monocytogenes je izolirana iz mlijeka, sira, mesa, riba i povrća. U usporedbi s ostalim patogenim bakterijama, *L. monocytogenes* je sposobna rasti pri niskim temperaturama, termorezistentnija je od ostalih nesporogenih bakterija koje izazivaju trovanje hranom.

Ovo izlaganje ukazuje na ponašanje *L. monocytogenes* u tekućim mliječnim proizvodima, fermentiranim mliječnim proizvodima, u sirevima i drugim proizvodima od mlijeka.

Ova bakterija raste i preživljava u različitim vrstama sireva. Preživljavanje i patogenost u sirevima ovisi uglavnom o rodu *L. monocytogenes* i različitim uvjetima proizvodnje, zrenja i uskladištenja sireva.

Brzo i pouzdano otkrivanje *L. monocytogenes* u mlijeku i mliječnim proizvodima od velike je važnosti s obzirom na posljedice unosa istih u organizam.

Za procjenu dobre kvalitete sirovog mlijeka i mliječnih proizvoda značajno je istraživanje i dokazivanje prisutnosti *L. monocytogenes*.

Pridržavanje propisane higijenske procedure za vrijeme proizvodnje i prerade mlijeka vjerojatno može smanjiti izbijanje listerioze izazvane mliječnim proizvodima.

* Rad iznijet na XXX Simpoziju za mljekarsku industriju, održanom u Zagrebu, 1992. godine.

Riječi natuknice: Listeria monocytogenes u mlijeku, trovanja hranom, L. monocytogenes: u tekućim mliječnim proizvodima, fermentiranim mliječnim proizvodima, u siru i drugim proizvodima od mlijeka, preživljavanje L. monocytogenes u mliječnim proizvodima, dokazivanje prisustva L. monocytogenes.

Uvod

Listerioza je bolest izazvana bakterijom *Listeria monocytogenes*. Kod životinja, najčešće goveda, ova bakterija izaziva encefalitis, mastitis i pobačaj.

Kod čovjeka listerioza može biti lokalizirana u gornjim dijelovima respiratornog trakta, obuhvaćajući i limfne žlijezde. Kod žena izaziva oboljenje reproduktivnih organa. Listerioza u žena se transplacentarno prenosi i na fetus, izazivajući oštećenja embrija, što može dovesti do pobačaja ili rađanja mrtvorodenčadi.

Godinama se vjerovalo da se listerioza u ljudskom organizmu razvija direktnim kontaktom sa zaraženom životinjom. Danas se zna da se *L. monocytogenes* prenosi sa životinje na čovjeka preko hrane, a na životinje silažom.

Zadnjih decenija povećava se broj objavljenih radova o listeriozi. Broj listerijskih trovanja hranom je nizak u usporedbi s drugim trovanjima hranom, ali je smrtnost razmjerno velika (30%) (Debevere, 1991.).

Izbijanje listerioze za vrijeme 1980. bilo je povezano s konzumacijom hrane, a izvori su bili mliječni proizvodi. Intenzivna mikrobiološka istraživanja u Americi pokazala su prisutnost *L. monocytogenes* u sirovom mlijeku i nekim specijalnim sirevima (Wenzel i sur., 1990.).

Do nalaza *L. monocytogenes* u mliječnim proizvodima dolazi zbog grešaka u pasterezaciji sirovog mlijeka ili kontaminacije proizvoda drugim izvorima.

Prisutnost *L. monocytogenes* u mliječnim proizvodima povezana je i s karakteristikama ovog mikroorganizma: bakterija je gram-pozitivni, asporogeni, kratki štapić, aerobno do fakultativno anaerobna. Raste kod pH vrijednosti u rasponu od 5,0–9,0. Otporna je na niske temperature jer se može razmnožavati i na temperaturi +4°C, otporna je i prema povišenoj temperaturi, alkalnoj i kiseljoj sredini, dobro uspijeva i na hranilištima s 10% NaCl. (El-Gazzar i sur., 1991.).

L. monocytogenes je često teško izolirati iz hrane zbog konkurentne mikroflore koja je prirodno prisutna u produktu. Zbog toga se nastoji izvršiti inhibicija drugih mikroorganizama te se u hranilište na kojem se vrši identifikacija *L. monocytogenes* dodaju različiti agensi: litium-klorid, naladiksna kiselina, feniletanol, natrijum-telurit, polimiksin itd. (El-Gazzar i sur., 1991.).

1. RAST I PREŽIVLJAVANJE *LISTERIA MONOCYTOGENES* U MLIJEKU I MLIJEČNIM PROIZVODIMA

1.1. Sirovo mlijeko

Pored listerioznog mastitisa mlijeko može biti lako kontaminirano

ovom bakterijom iz prirodnih izvora kao što su zemlja, silaža, fekalije ili nečisti pribor.

Takvo mlijeko može imati 2000–20000 bakterijskih stanica/ml. Istraživanja Lovetta i sur. su pokazala da je *L. monocytogenes* bila prisutna u 4,2% mlijeka iz sabirnih tankova na farmama iz tri područja Amerike, dok je istraživanje u centralnom dijelu Španjolske pokazalo da je *L. monocytogenes* bila izolirana u 45,3% testiranih uzoraka sirovog mlijeka (El-Gazzar i sur., 1991.).

U sirovom mlijeku se nalazi prirodni antimikrobni sustav – laktoperoksidaza tiocionin vodikov peroksid (LP). Proučavano je djelovanje laktoperoksidaze na rast *L. monocytogenes* u mlijeku. Kao test-mikroorganizmi uzeta su četiri soja *L. monocytogenes* (Scott A., 5069, ATCC 19119, NCTC 11994) i istraživani su na niskim temperaturama nakon dodatka 0,25 mM natrium-tiocijanata i 0,25 mM vodikovog peroksida. Utvrđeno je da LP sustav baktericidno djeluje na sva četiri soja i to u uvjetima temperature od 4–8°C. Koncentracija tiocijanata znatno opada za vrijeme prvih 8 sati inkubacije kod obje temperature. Djelovanje LP sustava ovisi o temperaturi, trajanju inkubacije i o broju *L. monocytogenes* (Gaya i sur., 1991.).

Kada supstrat sadrži malo (30–50) bakterija *L. monocytogenes*, LP sustav može potpuno inaktivirati stanice u trajanju inkubacije od 12–24 h/4°C. S brojem od 10⁴ stanica baktericidni efekt je vidljiv jer se broj stanica smanjuje na polovicu, a i uz brojne stanice *L. monocytogenes* 10⁷ dolazi također do znatnog smanjenja populacije (El-Shenaway i sur., 1990.).

Djelovanje LP sustava u sirovom mlijeku može biti korisno za kontrolu razvoja *L. monocytogenes* na niskim temperaturama.

1.2. Pasterizirano mlijeko

Kod praćenja učestalosti pojave *Listeria* spp. u mlijeku i mliječnim proizvodima u Engleskoj svega 1,1% pasteriziranog kravljeg mlijeka je sadržavalo *L. monocytogenes*. Broj listeria je bio malen (Greenwood i sur., 1991.).

Epidemija listerioze u Massachusettsu 1993. god. je bila povezana s konzumiranjem pasteriziranog mlijeka. To je navelo istraživače da istražuju sposobnost preživljavanja pasterizacije *L. monocytogenes*. Utvrđeno je da je pasterizacija (71,7°C/15s) (HTST – High Temperature/Short Time) dovoljna da inaktivira 15 log₁₀ *L. monocytogenes*/ml. To se odnosilo na listerije koje su dospjele u mlijeko iz kontaminiranog prirodnog okoliša. Termorezistentna *L. monocytogenes* koja dopijeva u mlijeko iz bolesnog vimena (intracelularni položaj – mikrofagi i leukociti u mlijeku) se podvrgava znatno višoj pasterizaciji (76,4–77,8°C/15 s).

Mali broj stanica je preživio toplinsku obradu od 72,7°C/16 sekundi koja je veća od HTST pasterizacije. Identifikacija stanice *L. monocytogenes* provedena je prethodnim obogaćivanjem, a ne metodom direktnog nacjepljivanja jer termičkom obradom dolazi do oštećenja stanica koje se trebaju revitalizirati.

Dakle, za uništenje slobodnih *L. monocytogenes* dovoljna je HTST pasterizacija. Termička obrada koja se koristi u proizvodnji sireva može oštetiti, ali ne i uništiti stanice *L. monocytogenes* (El-Gazzar i sur., 1991.).

Čokoladno mlijeko

Istraživanja Rosenowa i Martha pokazala su da *L. monocytogenes* preživljava i raste u čokoladnom mlijeku kad se čuva na 4°C. Čokoladno mlijeko se inokuliralo s *L. monocytogenes* i čuvalo na 4, 8, 13, 21 i 35°C. Generacijsko vrijeme kretalo se od 28,8 do 40,8 sati (4°C), 5 do 7,2 sata (13°C) i 0,65 do 0,69 sati (35°C) što ukazuje da čokoladno mlijeko podržava razvijanje *L. monocytogenes* puno dulje nego samo mlijeko.

Utvrđeno je da dodatak čistog karagenana ne pospješuje rast *L. monocytogenes*, ali karagenan, kakao i šećer zajedno u obranom mlijeku povećavaju rast *L. monocytogenes*.

Kakao poboljšava rast jer može snabdjeti bakteriju s dodacima esencijalnih aminokiselina, peptida i drugih faktora rasta (El-Gazzar i sur., 1991.).

1.4. Fermentirani mliječni proizvodi

Da bi se utvrdilo preživljavanje *L. monocytogenes* u uvjetima niskih temperatura u slučaju naknadne kontaminacije, inokuliralo se sterilno obrano mlijeko s 10^3 stanica *L. monocytogenes*/ml i dodavalo 0,1–0,5% mliječne kulture (*Streptococcus lactis*, *Streptococcus cremoris*, *Streptococcus thermophilus* ili *Lactobacillus bulgaricus*/*S. thermophilus* (LBST) fermentiralo (21, 30, 37 i 42°C), a zatim uskladištavalo (4°C). Broj *L. monocytogenes* se povećavao ili smanjivao, u ovisnosti o količini upotrebene »starter« kulture.

S 0,1% inokulumom *L. monocytogenes* je preživljavala 6–13 tjedana, a s 0,5% inokulumom je opstajala 9–13 tjedana pri fermentaciji 21°C, zatim 2–3 tjedna i 4–7 tjedana u mlijeku fermentiranom pri 30°C. Inokulum je bio *S. lactis* i *S. cremoris*. Fermentacijom sa *S. thermophilus* pri 37°C i 42°C preživljavanje je bilo 20–32 tjedna s 0,1% i 4–25 tjedana s 0,5%-tnim inokulumom.

LBST inokulum je štetno djelovao na preživljavanje *L. monocytogenes* gdje je nakon fermentacije (42°C i 37°C) preživljavanje bilo 1–2 tjedna kada je dodana »starter« kultura s 0,5% i 3–12 tjedana kad je dodana 0,1%-tna kultura (Schaack i sur., 1988.).

U cilju sličnog istraživanja preživljavanja *L. monocytogenes* također je analiziran i jogurt s različitim količinom masti i suhe tvari. Inokulum je bio različitog postotka. »Starter« kulture su bile: *Lactobacillus bulgaricus* i *Streptococcus thermophilus*. Titracijska kiselost jogurta bila je 0,09%. Svaki jogurt je naciepljen s *L. monocytogenes* i preživljavanje je praćeno 1–7, 14, 21 i 28 dana. Za vrijeme skladištenja na 4°C *L. monocytogenes* je preživljavala duže u jogurtima s više suhe tvari i višim pH dok količina masti nije znatno utjecala (Griffita i sur., 1990.).

Istraživanja Wenzela i Martha pokazala su, također, da inhibicija rasta *L. monocytogenes* ovisi o količini inokuluma mliječne kulture, inkubacijskoj temperaturi i o samoj vrsti listerija (El-Gazzar i sur., 1991.).

1.5. Sirevi

1.5.1. Meki sirevi (bez zrenja) – Cottage

Tijekom proizvodnje mekih sireva često dolazi do kontaminacije s *L.*

monocytogenes. Da bi se istražila sposobnost preživljavanja ove bakterije tijekom procesa proizvodnje i uskladištenja, inokulirano je obrano mlijeko s 10^4 – 10^5 *Listeria*/ml i napravljen Cottage sir klasičnim postupkom. Za vrijeme proizvodnje broj *Listeria* je bio relativno konstantan nakon stvaranja gruš (57,2°C/30 min). Identifikacija je rađena s predobogaćenjem i izbrojano je < 10 stanica/g što ukazuje na mali broj preživjelih stanica u procesu sirenja. Tijekom uskladištenja sira na 3°C do 28 dana, *L. monocytogenes* je bila identificirana 54% u broju od < 10 – 710 stanica/g (El-Gazzar i sur., 1991.).

1.5.2. Bijeli salamureni sirevi – Feta

Istraživanja su pokazala da *L. monocytogenes* preživljava više od 90 dana u Feta siru za vrijeme zrenja (4°C). Ukoliko je sir proizveden od sirovog mlijeka ili termički obrađenog mlijeka, koje je kontaminirano s *L. monocytogenes*, kao i nakon zrenja takvog sira pri temperaturi višoj od 1,7°C 60 dana, također je utvrđena prisutnost ove bakterije.

6%-tna salamura koja je potrebna u početnoj fazi zrenja ovog sira omogućava rast *L. monocytogenes* (El-Gazzar i sur., 1991.).

1.5.3. Sirevi s plijesnima na površini – Camembert

L. monocytogenes nađena je i na površini Camembert i Brie sireva. Meke površine zrelih sireva, za razliku od tvrdih sireva, ima relativno visok pH (> 6,0) što omogućuje rast plijesni i drugih mikroorganizama.

Ryser i Marth (1987.) su proizveli Camembert sir od pasteriziranog mlijeka inokuliranog s 5×10^2 *Listeria*/ml i pratili rast *L. monocytogenes* tijekom proizvodnje, zrenja i uskladištenja. Broj *Listeria* se povećavao do 5×10^3 /g sira prvih 24 sata nakon proizvodnje. Za vrijeme zrenja, prvih 25 dana, nije bilo povećanja broja stanica pri temperaturi 6°C, da bi kasnije došlo do rapidnog rasta *L. monocytogenes* od 5×10^7 stanica/g i taj broj ostaje nakon 65 dana zrenja, što je u izravnoj vezi s povećanjem pH sira.

Na pogoršavanje kvalitete Camembert sira također može utjecati i *L. monocytogenes* koja preživljava u 18%-tnoj salamuri, pri 12°C više od 21 dan (Mastusaki i sur., 1992.).

1.5.4. Sirevi s plijesnima u unutrašnjosti tijesta – plavi sirevi – Roquefort, Gorgonzola

Papageorgiou i Marth (1989.) su pratili rast i sposobnost preživljavanja *L. monocytogenes* za vrijeme proizvodnje i zrenja sira. U tu svrhu inokulirali su pasterizirano mlijeko s 3,7% masti s dva soja *L. monocytogenes* (Scott A i California) i proizveli sir uobičajenim postupkom. Zrenje je provedeno na 9–24°C 84 dana, a potom je sir uskladišten na 4°C. Uzorci mlijeka, gruš, sirutke i sira istraživani su na pH, broj *Listeria* (direktnim naciepljivanjem), inicijalni broj u inokulumu 1 – 2×10^3 jedinica koje stvaraju kolonije/ml.

U početnoj fazi broj *L. monocytogenes* je rastao prva 24 sata do $0,58$ – $1,22 \log_{10}$ jedinica koje stvaraju kolonije/g. Tvorba kiseline zaustavlja rast (pH 5,0 i niži).

Prvih 1–50 dana zrenja dolazi do postepenog smanjenja broja *L. monocytogenes*.

togenes. U kasnijoj fazi zrenja sira nema rasta, ali tijekom 50—120 dana zrenja dolazi do povećanja pH s rastom *Penicillium roqueforti* i taj pH omogućava daljnje preživljavanje *L. monocytogenes*. Tako, sir kao supstrat ni s ostalim bakterijama ne inaktivira *L. monocytogenes* u potpunosti (Papageorgiou i sur., 1989.).

1.5.5. Sirevi s površinskim zrenjem koje uzrokuju bakterije — Limburg, Romadur, Bel Paese

Valdes i sur. (1991.) su utvrdili inhibitorno djelovanje korinebakterija, izoliranih iz ovakvih vrsta sireva na listerija vrste.

Čistu zonu inhibicije pokazivale su slijedeće bakterije: *Brevibacterium linens*, *Arthrobacter nicotianae* i *Arthrobacter nucleogenes*.

1.5.6. Polutvrđi sirevi — Trapist

Istraživanja Kovincica i sur., (1991.) pokazala su preživljavanje *L. monocytogenes* u Trapistu za vrijeme 90 dana zrenja. U cilju istraživanja inokulirano je pasterizirano mlijeko s 2,46—5,38 log₁₀ jedinica koje stvaraju kolonije/ml. Nakon 30 dana zrenja Trapista dolazi do povećanja broja *L. monocytogenes*, dok u kasnijoj fazi zrenja dolazi do opadanja populacije *L. monocytogenes* sa smanjenjem vlage u siru i pH kao i s povećanjem NaCl i titracijske kiselosti.

1.5.7. Tvrđi sirevi — Parmezan, Cheddar

Yousef i Marth (1990.) su proizveli Parmezan od pasteriziranog mlijeka i inokulirali ga s 10⁴—10⁵ stanica *L. monocytogenes*/ml. Poslije 3—16 tjedana zrenja identificirana je *L. monocytogenes* direktnim nacjeppljivanjem. Nakon 10 mjeseci zrenja Parmezana, nije se utvrdila prisutnost *L. monocytogenes*, što ukazuje da ova vrsta sira nije povoljna za preživljavanje i rast *L. monocytogenes*.

Ryser i Marth (1987.) su proizveli Cheddar sir i dobili slijedeće rezultate: Pasterizirano punomasno mlijeko su inokulirali s 5 × 10² stanica *L. monocytogenes*. Nakon 14 dana uskladištenja broj se povećao na 5 × 10³ stanica/g sira, a broj se smanjivao ukoliko je čuvanje bilo na 6°C ili 13°C nakon 154—434 dana.

60 dana čuvanja Cheddar sira proizvedenog od sirovog ili termički obrađenog mlijeka s 5 × 10² listerija/ml nije bilo dovoljno da eliminiira *L. monocytogenes* (El-Gazzar i sur., 1991.).

1.6. Maslac

Vrhnje s 32% do 43% mliječne masti je pasterizirano i inokulirano s 1 × 10⁴ do 1 × 10⁵ jedinica koje stvaraju kolonije/g. Maslac sa 79,5—81% mliječne masti sadržavao je 2,6%—7,9% inicijalnog broja *L. monocytogenes*. Kontaminirani maslac je uskladišten na 13, 4—6 ili —18°C. Broj *L. monocytogenes* se povećavao u maslacu čuvanom pri 4, 6 i 13°C. Broj veći od 10⁴—10⁵ jedinica koje stvaraju kolonije/g ostaje u maslacu nakon 70 dana skladištenja. Taj broj je utvrđen u proizvodnji maslaca u domaćinstvima (ručno bućkanje). Takav

maslac sadrži više vlage koja pospješuje rast *L. monocytogenes*.

Maslac uskladišten u uvjetima niskih temperatura sadržavao je do 10^3 /g *L. monocytogenes* i taj broj ostaje nakon 70 dana zamrzavanja. Zamrzavanje kontaminiranog maslaca omogućuje preživljavanje *L. monocytogenes* aproksimativno inicijalnom broju. Da bi bio proizveden maslac bez listerije, vrhnje mora biti pravilno pasterizirano (El-Gazzar i sur., 1991.).

1.7. Mlijeko u prahu

L. monocytogenes nije pronađena u mlijeku u prahu. Istraživanja su pokazala da u mlijeku u prahu proizvedenom postupkom raspršivanja s 30% suhe tvari i inokuliranom s 10^5 – 10^8 *L. monocytogenes* i uskladištenim pri 25°C 16 tjedana, dolazi do progresivnog odumiranja stanica tijekom skladištenja te se broj stanica smanjuje do 10^4 /g *L. monocytogenes* (El-Gazzar i sur., 1991.).

1.8. Mliječni dodaci

Smrt trudnice izazvana listerijom, čiji se uzročnik nalazio u bočici sirila koja je tri mjeseca čuvana u hladnjaku, potvrdila je važnost određivanja *L. monocytogenes* u dodacima koji se koriste u proizvodnji mliječnih proizvoda (El-Gazzar i sur., 1991.).

1.8.1. Pepsin

El-Gazzar i Marth su inokulirali govedi pepsin — sirilo s 10^3 – 10^4 *L. monocytogenes*/ml i čuvali ga pri 7°C. *L. monocytogenes* se održala 14–28 dana. Kad je inokulum bio 10^5 – 10^6 stanica *L. monocytogenes*/ml, preživljavanje stanica bilo je 28–42 dana (El-Gazzar i sur., 1991.).

1.8.2. Prehrambene boje

Anato boja je inokulirana s 10^3 – 10^6 *L. monocytogenes*/ml i uskladištena (22°C). Uzorci su bili pregledani i utvrđeno je da, nakon 7 dana, patogena bakterija nije bila prisutna (El-Gazzar i sur., 1991.).

2. DJELOVANJE OKOLINE NA RAST I PREŽIVLJAVANJE *L. MONOCYTOGENES*

Prirodna okolina, tj. supstrat u kojem se nalazi *L. monocytogenes* znatno utječe na rast i preživljavanje. Glavni čimbenici su: temperatura, pH, CO_2/O_2 , NaCl, nisin, djelovanje pasterizacije, djelovanje inhibitora, itd.

2.1. Djelovanje NaCl

Istraživanja su pokazala da je *L. monocytogenes* tolerantna prema NaCl i sposobna rasti u 10% NaCl. Potvrđeno je da može preživjeti čak do godinu dana u 16% NaCl pri pH 6. *L. monocytogenes* preživljava pri 37°C 15 dana u 10,5% NaCl, 5 dana u 20–30% NaCl, dok se vrijeme preživljavanja udvostručuje kad je temperatura niža od 22°C. Pri 4°C bakterija može preživjeti u 10,5–30% NaCl više od 100 dana (El-Gazzar i sur., 1991.).

2.2. Kiselost

Minimalna vrijednost pH uz koju raste *L. monocytogenes* je 5,0. Ova bakterija je sasvim rezistentna prema alkalnoj sredini i može rasti u tekućoj sredini pri pH 9,6. Daljnja istraživanja su pokazala da *L. monocytogenes* može rasti i uz pH 4,4, ali pri nižim temperaturama (10°C) (El-Gazzar i sur., 1991.).

2.3. Niska temperatura

Ova bakterija pripada u grupu psihrotrofnih mikroorganizama. Metoda hladnog predobogaćenja za identifikaciju *L. monocytogenes* omogućuje bolje odvajanje ovog mikroorganizma od drugih koji ne rastu pri niskim temperaturama. Farrag i suradnici su također dokazali da *L. monocytogenes* može biti i inaktivirana u prisustvu *Pseudomonas fluorescens*, što ovisi o temperaturi i o inicijalnom broju populacije (Farrag i sur., 1991.).

2.4. Inhibitorno djelovanje litium-klorida

Rast *L. monocytogenes* u bujonu za obogaćenje bio je inhibiran u prisustvu litium-klorida u koncentraciji većoj od 2%, dok ostali konkurentni mikroorganizmi mogu rasti u prisustvu litium-klorida (Cox i sur., 1990.).

2.5. Natrium-benzoat

Komercijalni ekstrakti sirila obično sadrže 0,1% natrium benzoata koji ima ulogu konzervansa. Prisustvo natrium benzoata uništava *L. monocytogenes* za vrijeme skladištenja pri 7°C. pH sirišnog ekstrakta je približno 5,5—5,8 te je antimikrobna aktivnost vezana uz benzojevu kiselinu.

Prisustvo 0,2—0,3% natrium benzoata u triptozna bujonu je dovoljno za inaktivaciju patogene bakterije za trajanja inkubacije 21°C/117 sati. Istraživanja pokazuju da je 0,8—1% natrium-benzoata dovoljno da inaktivira *L. monocytogenes* prisutnu u gršu — koagulumu tijekom sirenja (El-Gazzar i sur., 1991.).

2.6. Nisin

Nisin se smatra antimikrobnim peptidom koji se, kao aditiv, dodaje mlijeku i mliječnim proizvodima. Njegova aktivnost je izraženija kad se dodaje punomasnom mlijeku. Ukoliko se produktu dodaje emulzija Tween 80, ona će povećavati aktivnost nisina i dolazi do jače inhibicije *L. monocytogenes* u proizvodu (Jung i sur., 1992.).

2.7. Lizozim

Sirevi koji sadrže lizozim samostalno ili zajedno s EDTA (Etilendiamin tetra-aceticacid), reduciraju *L. monocytogenes* približno deset puta prvih 3—4 tjedna zrenja. Djelovanje lizozima je dosta izraženo u Camembert siru tijekom njegovog zrenja. Neka istraživanja sugeriraju upotrebu lizozima kao konzervansa da zaštiti prehrambene proizvode od kontaminacije s *L. monocytogenes* (Hughey i sur., 1989.).

2.8. Hidrostatski tlak

U proizvodnji UHT mlijeka, mlijeko se podvrgava hidrostatskom tlaku od 2,380 atm do 3,480 atm. Istraživanja su pokazala da se populacija od 10^8 jedinica koje stvaraju kolonije/ml inaktivira djelovanjem tlaka od 3,400 atm 80 min i 23°C (Styles i sur., 1991.).

Zaključak

L. monocytogenes može biti prisutna u mnogim mliječnim proizvodima, bilo da je unesena iz okoline ili naknadnom kontaminacijom. Stoga je neophodna kontrola dokazivanja prisutnosti ovog mikroorganizma u procesu proizvodnje, zrenja i skladištenja mlijeka i proizvoda od mlijeka.

Primjena HACCP sustava (Higienic Analysis Critical Control Point) doводи do pronalaženja kritičnih točaka higijenske kontrole, a samim time sprečavanja i naknadne kontaminacije ovom bakterijom.

Pravilan higijenski i tehnološki postupak u mljekarama svakako će smanjiti izbijanje listerioze konzumiranjem mliječnih proizvoda.

THE IMPORTANCE OF TEST RESULTS *LISTERIA MONOCYTOGENES* IN MILK AND MILK PRODUCTS

Summary

Listeria monocytogenes was first described in detail by Murray in 1926 when bacterium was isolated from rabbits. The bacterium is gram-positive, asporogenous and rod-shaped. It grows at 1 to 45° C, its optimum of growth being at 30-37° C. It can grow at pH values ranging from 5,0 to 9,0. *L. monocytogenes* is aerobic to facultatively anaerobic and pathogenic to humans and animals. The incidence of listeriosis is caused by *Listeria monocytogenes*. Infection of pregnant women with *L. monocytogenes* can lead to transplacental infection of the foetus.

Earlier infection may cause damage to the embryo, so in some instances abortion or stillbirth occurred immediately.

This bacterium can cause encephalitis, mastitis and abortion in dairy cattle.

Although *L. monocytogenes* has been known as a human and animal pathogen for over 50 years, the potentially important role of this organism as a food-borne pathogen has only surfaced in the 1980.

The number of listeria food poisoning cases is small and very low compared to other forms of food poisoning, but the mortality rate is higher (30%). The number of reported cases of listeriosis is increasing during the last decades.

L. monocytogenes has been isolated from milk, cheese, meat, fish and vegetables. In contrast to most of other pathogenic bacteria, *L. monocytogenes* is able to grow at refrigeration temperatures, and seems to be more thermoresistant than other nonsporulating food poisoning bacteria.

This paper deals with the behavior of L. monocytogenes in fluid milk products, fermented dairy products, cheeses, and other dairy products.

These bacteria survive in different kinds of cheese and grow in cheese. The behavior of the pathogen in cheese depends mainly on the strain of L. monocytogenes and on different conditions of cheese manufacturing, ripening and storage.

The importance of prompt and reliable detection of L. monocytogenes in milk and milk products is connected to possible consequences for consumer.

One significant point in evaluation of good quality raw milk and milk products is the investigation assigned to prove the presence of L. monocytogenes.

The use of appropriate hygienic procedures during the milk processing should reduce the likelihood of listeriosis outbreaks associated with dairy foods.

Additional index words: Listeria monocytogenes in milk, food poisoning, L. monocytogenes in: fluid milk, fermented milk, cheese and other dairy products, survival of L. monocytogenes in dairy products, proving the presence of L. monocytogenes.

Literatura

- COX, L.J., DOOLEY, D., BEUMER, R. (1990): Effect of Lithium Chloride other Inhibitors on the growth of *Listeria* spp., **Food Microbiology** 7 (4) 311–325.
- DEBEVERE, J.H. (1991): *Listeria monocytogenes* food-borne infection: Present-day situation and control, **Voeding** (the Hague) 52 (10) 258–263.
- EL-GAZZAR, F.E., MARTH, E.H. (1991): *Listeria monocytogenes* and listeriosis related to milk, milk products and dairy ingredients: A Review I *Listeria monocytogenes*, Listeriosis and responses of the pathogen to environmental conditions, **Milchwissenschaft** 46 (1) 14–19.
- EL-GAZZAR, F.E., MARTH, E.H. (1991): *Listeria monocytogenes* and listeriosis related to milk, milk products and dairy ingredients: A Review II *Listeria monocytogenes* and dairy technology, **Milchwissenschaft** 46 (2) 82–86.
- EL-GAZZAR, F.E., MARTH, E.H. (1991): An apparent benzoate resistant strain of *Listeria monocytogenes* recovered from milk clotting agent of animal origin, **Milchwissenschaft** 46 (6) 350–354.
- EL-SHENAWAY, M.A., GARCIA, H.S., MARTH, E.H. (1990): Inhibition and inactivation of *Listeria monocytogenes* by the lactoperoxidase system in raw milk, buffer or a semi-synthetic medium, **Milchwissenschaft** 45 (10) 638–641.
- FARRAG, S.A., MARTH, E.H. (1991): Variation in initial populations of *Pseudomonas fluorescens* affects behavior of *Listeria monocytogenes* in skim milk at 7° C or 13° C, **Milchwissenschaft** 46 (11) 718–721.
- GAYA, P., MEDINA, M., NUNEZ, M. (1991): Effect of the lactoperoxidase system on *Listeria monocytogenes* behavior in raw milk at refrigeration temperatures, **Applied and Environmental Microbiology** 57 (11) 3355–3360.
- GREENWOOD, M.H., ROBERTS, D., BURDEN, P. (1991): The occurrence of *Listeria* spp. in milk and dairy products. A national survey in England and Wales, **International Journal of Food Microbiology** 12 (2–3) 198–206.

- GRIFFITA, M., DEIBEL, K.E. (1991): Survival of *Listeria monocytogenes* in yoghurt with varying levels of fat and solids, **Journal of Food Safety** 10 (3) 219–230.
- HICKS, S.J., LUND, B. M. (1991): The survival of *Listeria monocytogenes* in cottage cheese, **Journal of Applied Bacteriology** 70 (4) 308–314.
- HUGHEY, V.L., WILGER, P.A., JOHANSON, E.A. (1989): Antibacterial activity of hen EGG white lysozyme against *Listeria monocytogenes* Scott A in foods, **Applied and Environmental Microbiology** 55 (3) 631–638.
- JUNG, P.S., BODYFELT, F.W., PAESCHEL, M.A. (1992): Influence of fat and emulsifiers on the efficacy of nisin in inhibiting *Listeria monocytogenes* in fluid milk, **Journal of Dairy Science** 75 (2) 387–393.
- KOVINCIC, I., VUJIČIĆ I.F., SVABIC-VLAHOVIC, M., VULIĆ M., GAGIC, M., WESLEY, I.V. (1991): Survival od *Listeria monocytogenes* during the manufacture and ripening of trappist cheese, **Journal of Food Protection** 54 (6) 418–420.
- MATSUSAKI, S., KATAYAMA, A., OKADA, M., ENDO, R., TANAKA, K., SEKIYA, A., SHIBATA, K. (1992): Behavior of *Listeria monocytogenes* during the manufacture, ripening and storage of Camembert cheese after contamination of pasteurized milk and brine with this organism, **Journal of the Food Hygienic Society of Japan** 32 (6) 498–503.
- PAPAGEORGIOU, D. K., MARTH, E. H. (1989): Fate of *Listeria monocytogenes* during the manufacture and ripening of blue cheese, **Journal of Fod Protection** 52 (7) 459–465.
- RYSER, E.T., MARTH, E.H. (1987): Fate of *Listeria monocytogenes* during the manufacture and ripening of Camembert cheese, **Journal of Food Protection** 50 (5) 372–378.
- SCHAACK, M.M., MARTH, E.H. (1988): Survival of *Listeria monocytogenes* in refrigerated cultured milks and yoghurt, **Journal of Food Protection** 51 (11) 848–852.
- STYLES, M.F., HOOVER, D.G., FARKAS, D.F. (1991): Response of *Listeria monocytogenes* and *Vibrio parahemolyticus* to high hydrostatic pressure, **Journal of Food Science** 56 (5) 1404–1407.
- VALDES-STAUER, N., GOETS, H., BUSSE, M. (1991): Antagonistic effect of coryneform bacteria from red smear cheese against *Listeria* spp., **International Journal of Food Microbiology** 13 (2) 119–130.
- WENZEL, J.M., MARTH, E.H. (1990): Behavior of *Listeria monocytogenes* at 4 and 7° C in raw milk inoculated with commercial culture of lactic acid bacteria, **Milchwissenschaft** 45 (12) 772–774.
- YOUSEF, A.E., MARTH, E.H. (1990): *Listeria monocytogenes* during the manufacture and ripening of Parmesan cheese, **Journal of Dairy Science** 73 (12) 3351–3356.

Adresa autora — Author's address:

Mr. Branka Magdalenić
Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb

Primljeno — Received:

20. 12. 1992.