

Content of cadmium, mercury and lead in bovine and porcine kidney tissue

Summary

The paper presents the results of the study of heavy metals: cadmium (Cd), mercury (Hg) and lead (Pb) in kidney tissue of 78 cattle and 45 pigs from rural regions of Croatia, sampled in 2009. Cd and Pb levels were determined by atomic absorption spectrometry by application of graphite technique, and Hg levels by direct burning on a mercury analyser. Cd, Hg and Pb levels determined in bovine kidney tissue significantly exceeded the levels established in pigs. The obtained results of Cd and Pb corresponded to the values from rural regions of other EU countries, while Hg levels were lower in comparison to other EU regions. In 13% of bovine kidney samples, Cd levels exceeding the maximum permitted levels (1 mg/kg) were found, while only in 1.15% of bovine kidney tissue, Pb levels exceeded the maximum permitted ones (0.5 mg/kg). Levels exceeding the maximum permitted quantity were not found in porcine kidneys. Maximum permitted Hg levels are not set forth in EU or Croatian legislation; thus the results were compared with reference values. In only 1.15% of bovine kidney samples, Hg levels exceeded 0.3 mg/kg, while no such case was found in pigs. The results have confirmed the need to control Cd, Hg and Pb levels in bovine kidney tissue on slaughter line. At the same time, porcine kidney tissue is suitable for consumption by general population as Cd and Pb levels were below maximum permitted ones.

Key words: cadmium, lead, mercury, cattle, pigs

Gehalt von Kadmium, Quecksilber und Blei im Nierengewebe der Rinder und der Schweine

Zusammenfassung

In der Arbeit sind die Untersuchungsergebnisse von Schwermetallen Kadmium (Cd), Quecksilber (Hg) und Blei (Pb) im Nierengewebe von 78 Rindern und 45 Schweinen aus Ruralgebieten der Republik Kroatien dargestellt, die Musterproben (Sampled) fanden im Laufe 2009 statt. Der Cd und Pb Gehalt ist durch die Methode der Atomabsorption der Spektrometrie durch die Anwendung der Graphittechnik bestimmt, während Hg durch direkte Verbrennung am Quecksilberanalysator vorgenommen wurde. Die Mengen von Cd, Hg und Pb vorgefunden im Nierengewebe der Rinder waren bedeutend höher in Bezug auf die Mengen, die bei Schweinen festgestellt worden sind. Die bekommenen Cd und Pb Werte stimmen mit den Resultaten bei Rindern und Schweinen überein, während die festgestellten Hg Mengen bei beiden Tierarten niedriger sind als die Mengen festgestellt in Ruralgebieten anderer Länder der Europäischen Union. Bei 13 % der Rinderniermuster waren die festgestellten Cd Mengen höher als die höchst zugelassene Menge von 1 mg/kg, während bei insgesamt 1,15 % des Rindernierengewebes die festgestellten Pb Mengen höher waren als die höchst zugelassene Menge von 0,5 mg/kg. In den Schweinenieren wurden keine Mengen über die höchst zugelassenen Mengen festgestellt. Die höchst zugelassenen Hg Mengen sind weder durch die Legislative der Europäischen Union noch durch die Legislative der Republik Kroatien bestimmt, so wurden die Resultate mit Werten aus der Literatur verglichen. Nur bei 1,15 % der Rinderniermuster waren die Hg Mengen höher als 0,03 mg/kg, während bei Schweinen kein solcher Fall vorgefunden worden ist. Die bekommenen Resultate bestätigen den Bedarf der Mengenkontrolle von Cd, Hg und Pb im Rindernierengewebe auf der Schlachtlinie. Gleichzeitig ist das Schweinenierengewebe günstig für die Konsumation bei breiteren Populationsschichten, weil die festgestellten Cd und Pb Mengen niedriger als die höchst zugelassenen Mengen sind.

Schlüsselwörter: Kadmium, Blei, Quecksilber, Rinder, Schweine

Il contenuto di cadmio, mercurio e piombo nel tessuto renale di bovini e maiali

Sommario

Quest'articolo presenta i risultati di una ricerca di metalli pesanti il cadmio (Cd), il mercurio (Hg) e il piombo (Pb) nel tessuto renale di 78 bovini e 45 maiali di aree rurali di Repubblica di Croazia, che sono stati sottoposti alla campionatura durante il 2009. Il contenuto del cadmio e del piombo è stato determinato per un metodo di spettrometria di assorbimento atomico mediante l'applicazione di una tecnica di grafite, e il contenuto di mercurio è stato determinato per un'infiammazione diretta sull'analizzatore di mercurio. Le quantità di cadmio, mercurio e piombo, determinate nel tessuto renale bovino erano notevolmente più alte rispetto alle quantità determinate dai maiali. I valori ottenuti di cadmio e piombo corrispondono ai risultati ottenuti sia da bovini, che da maiali, ma i valori di mercurio determinati da ambedue le specie di animali sono più bassi delle quantità determinate nelle aree rurali di altri paesi dell'Unione Europea. Nel 13% di campioni di reni bovini le quantità di cadmio che sono state determinate erano più alte di quantità ammesse (1 mg/kg), e le quantità di piombo più alte della quantità ammessa del 0,5 mg/kg erano presenti solamente nell'1,15% del tessuto renale bovino. Nelle reni di maiali non sono state determinate le quantità che superavano le più alte quantità ammesse. Le più alte quantità ammesse di mercurio non sono determinate dalle leggi dell'Unione Europea, né da quelle di repubblica di Croazia, e i risultati ottenuti sono stati comparati con i valori trovati nella letteratura. Nei soli 1,15% dei campioni di reni bovini i valori superavano 0,03 mg/kg, mentre dai maiali non è stato trovato nemmeno un caso simile. I risultati ottenuti affermano la necessità di controllo delle quantità di cadmio, mercurio e piombo nel tessuto renale bovino sulla linea di macellazione. Contemporaneamente, il tessuto renale di maiali è adatto al consumo da parte di una popolazione vasta perché sono state determinate le quantità più basse delle più alte quantità ammesse.

Parole chiave: cadmio, piombo, mercurio, bovini, maiali

Uzorkovanje hrane i površina za mikrobiološku pretragu

Pinter¹, N.

Stručni rad

Sažetak

Rezultati mikrobioloških ispitivanja ovise o načinu uzimanja, pripreme, pohranjivanja, prijevoza, dopreme i ispitivanja uzoraka. Učestalost uzorkovanje hrane i površina koje dolaze u dodir s hranom tijekom prerade i pripreme određena je u okviru samokontrole koju moraju uspostaviti subjekti u poslovanju s hranom Nadležno tijelo za provođenje službene kontrole mora provjeravati da li je subjekt u poslovanju s hranom sastavio i primjenjuje li planove samokontrole i ispitivanja, te odgovarajuće mjere u slučaju nezadovoljavajućih rezultata mikrobiološkog ispitivanja. Na taj način se pred proizvođače postavlja i odgovornost za zdravstvenu ispravnost hrane koju stavljaju na tržište.

KLjučne riječi: uzorkovanje, mikrobiološka ispitivanja, subjekt u poslovanju s hranom, službene kontrole

Uvod

Uloga mikrobioloških kriterija definirana je Pravilnikom o mikrobiološkim kriterijima za hranu (NN RH, br. 74/08 i 156/08) u cilju zaštite zdravlja ljudi od mikrobioloških rizika, te usklađivanja istovrsnih pravila za sve subjekte u poslovanju s hranom (SPH). Osnovna načela sigurnosti hrane su u preventivnom pristupu gdje glavnu odgovornost imaju SPH koji su dužni provoditi odgovarajuće mjere dobre proizvođačke (DPP) i higijenske prakse (DHP) te postupke temeljene na načelima HACCP sustava. Uzimanje uzoraka i mikrobiološko ispitivanje ne zamjenjuje primjenu mjera sprečavanja pojave opasnosti i upravljanju rizikom. Ujedno, Pravilnik (Anonim., 2008) je usklađen s Uredbom EZ br. 2073/2005 o mikrobiološkim kriterijima za hranu, utvrđeni su kriteriji za određene mikroorganizme i pravila kojih se SPH mora pridržavati prilikom provođenja općih i posebnih zahtjeva u skladu s Pravilnikom o higijeni hrane (Anonim., 2007b).

Učestalost uzimanja uzoraka i provjera prisutnosti mikroorganizama definira se u okviru samokontrole. Uzimanje uzoraka i mikrobiološka ispitivanja moraju biti uključena u postupku validacije i verifikacije plana samokontrole. U okviru procesa vlastite kontrole veličina i broj jedinica uzoraka, učestalost uzorkovanja i provođenje ispitivanja moraju biti obrazloženi u preduvjetnim programima (DPP, DHP, Standardni sanitacijski operativni postupci - SSOP) ili u postupcima temeljenim na načelima HACCP sustava ukoliko to nije zakonski propisano. Postupci uzimanja uzoraka i ispitne metode koji su različiti od onih definiranih važećim propisima „higijenskog paketa“ primjenjuju se ukoliko SPH dokaže da su validirane prema normi HRN EN ISO 16140 i daju jednaka jamstva kao i definirane metode u važećim propisima o mikrobiološkim kriterijima za hranu. SPH unutar postupaka samokontrole mora načiniti postupke za upravljanje uzorcima od njihovog uzimanja, pohranjivanja do

dostave u laboratorij na ispitivanje. Laboratoriji ovlašteni za službenu analizu moraju biti akreditirani prema normi HRN EN ISO/IEC 17025. U slučaju nezadovoljavajućih rezultata, SPH mora poduzeti odgovarajuće korektivne mjere sukladno Zakonu o hrani (Anonimno, 2007a).

Odgovornost subjekta u poslovanju s hranom

Zakonski nije propisana veličina i broj uzoraka kada SPH uzima uzorke ili provodi ispitivanja hrane u okviru svog vlastitog procesa proizvodnje, ali metoda i način uzorkovanja mora biti obrazložena u preduvjetnim programima (DHP, DPP) ili u postupcima temeljenim na načelima HACCP sustava. Sukladno Pravilniku o mikrobiološkim kriterijima za hranu (Anonim., 2008) dopušteno je da unutar planova samokontrole SPH može predvidjeti uzimanje uzoraka hrane koja nije navedena u Kriteriju higijene u procesu proizvodnje (u Poglavlju 2. Priloga I.), te dokazivati ili/ili odrediti broj mikroorganizama i njihovih

¹ **bojnik mr. Nino Pinter**, Služba za prijem i potporu Uprave za materijalne resurse, Ministarstvo obrane RH, Sarajevska 7, 10 000 Zagreb,

Tablica 1. Najmanja učestalost uzimanja uzoraka od trupova papkara (Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja – Vodič za mikrobiološke kriterije za hranu, 2009.)

Table 1 The least frequent sampling of cloven-hoofed animal carcasses (the Ministry of Agriculture, Fisheries and Rural Development – Microbiological criteria for foodstuffs, 2009).

Kapacitet proizvodnje (godišnji prosjek) Production capacity (annual average)	Kategorija rizika Risk category		
	niski low	srednji medium	visoki high
Više od 100 UG*/tjedno More than 100 CH*/week	Jednom tjedno Once a week		
Između 41 i 100 UG 1/tjedno Between 41 and 100 CH 1/week	Svaka dva mjeseca Every two months	Jednom mjesечно Once a month	Svaki 15 dana Every 15 days
Između 21 i 40 UG 1/tjedno Between 21 and 40 CH 1/week	Svaka tri mjeseca Every three months	Svaka dva mjeseca Every two months	Jednom mjesечно Once a month
Između 11 i 20 UG 1/tjedno Between 11 and 20 CH 1/week	Svaka četiri mjeseca Every four months	Svaka tri mjeseca Every three months	Svaka dva mjeseca Every two months
Između 6 i 10 UG 1/tjedno Between 6 and 10 CH 1/week	Svaki šest mjeseci Every six months	Svaka četiri mjeseca Every four months	Svaka tri mjeseca Every three months
Do 5 UG 1/tjedno Up to 5 CH 1/week	Jednom godišnje Once a year	Svaki šest mjeseci Every six months	Svaka četiri mjeseca Every four months

* 1 UG (1 uvjetno grlo) podrazumjeva životinju ili skupinu istovrsnih životinja težine 500 kg, a odnosi se na jedno odraslo govedo ili dva teleta ili jednog kopitara ili 5 svinja ili 10 ovaca ili koza ili 20 janjadi, kozića ili odojaka čija je težina manja od 15 kg.

* 1 CH (1 conditional head) means one animal or a group of the same animals of 500 kg of weight and it relates to one adult bovine, or two calves, or one cloven-hoofed animal, or 5 pigs, or 10 sheep or goats, or 20 lambs, kids or suckling pigs which weigh less than 15 kg.

graničnih vrijednosti. Za procjenu mikrobiološke kakvoće hrane važna je količina i broj dostavljenih uzoraka. Uzorci za mikrobiološku pretragu moraju predstavljati prosječan sastav cjelokupne količine namirnica. Broj uzoraka određuje se ovisno o stanju namirnica zatečenom pri uzimanju uzoraka i o njihovoj količini i vrsti, te o mjestu i datumu njihove proizvodnje (Mioković i sur., 2004a).

navesti učestalost uzimanja uzoraka s radnih površina i opreme radi provjere prisutnosti bakterija *Listeria monocytogenes* i *Enterobacteriaceae*. Način i učestalost uzorkovanja moraju biti opisani i detaljno obrazloženi u planu samokontrole, a u svrhu prihvaćanja rezultata mikrobioloških ispitivanja i jamstva od strane SPH.

Pohrana, prijevoz i ispitivanje uzoraka

Rezultati mikrobioloških ispitivanja ovise o načinu uzimanja uzoraka, uvjetima i trajanju transporta do laboratorija, kao i postupaka s uzorcima u samom laboratoriju (Duraković

i Duraković, 2001). SPH mora uspostaviti postupke s uzorcima nakon njihovog uzimanja, te mora provjeriti s laboratorijem sukladnost takvih postupaka kako ne bi utjecali na rezultat mikrobioloških ispitivanja.

U postupcima upravljanja uzorcima mora se definirati najduže vrijeme koje može proći od trenutka uzimanja uzoraka do početka mikrobiološkog ispitivanja u laboratoriju, uvjeti i temperatura pohranjivanja uzoraka. Uzorci se moraju čuvati na točno određenoj temperaturi pohranjivanja, a oni koji se brzo kvare ne bi se smjeli zamrzavati i dovoditi u direktan dodir s površinama niske temperature (0°C).

U svrhu osiguranja preciznosti ispitivanja, ukoliko se izričito zahtjeva treba omogućiti praćenje temperature za vrijeme prijevoza uzoraka. Naime, osim sterilnog rada pri uzimanju uzoraka, na mikrobiološki status namirnica najviše mogu utjecati temperaturni uvjeti u transportu uzoraka do laboratorija.

Hrvatska norma ISO 7218:1999 propisuje da se svježe i ohlađene namirnice moraju transportirati na temperaturi između 0 °C i 4 °C, a smrznute ispod -18 °C. Ni u kojem slučaju ne smije se dopustiti odmrzavanje smrznutih namirnica, kao ni smrzavanje ohlađenih. Mikrobiološka pretraga takvih uzoraka nema smisla, budući da takvim manipuliranjem mikrobiološka slika postaje sasvim drugačija (Mioković i sur., 2004a).

Laboratoriji subjekta u poslovanju s hranom

Uzimanje uzoraka za mikrobiološko ispitivanje u laboratoriju unutar SPH mora biti sukladno dobroj laboratorijskoj praksi. Ukoliko je rezultat analize uzoraka na prisutnost salmonela i bakterije *L. monocytogenes* pozitivan, SPH u skladu s člankom 14. Zakona o hrani (Anonim., 2007a)

Tablica 2. Najmanja učestalost uzimanja uzoraka od trupova brojlera (Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja – Vodič za mikrobiološke kriterije za hranu, 2009.)

Table 2 The least frequent sampling of broiler carcasses (the Ministry of Agriculture, Fisheries and Rural Development – Microbiological criteria for foodstuffs, 2009).

Kapacitet proizvodnje (godišnji prosjek) Production capacity (annual average)	Kategorija rizika Risk category		
	niski low	srednji medium	visoki high
Više od 100.000 tjedno More than 100.000 a week	Jednom tjedno Once a week		
Između 50.000 i 100.000 tjedno Between 50.000 and 100.000 a week	Svaka 2 mjeseca Every two months	Jednom mjesечно Once a month	Svaki 15 dana Every 15 days
Između 10.000 i 50.000 tjedno Between 10.000 and 50.000 a week	Svaka 4 mjeseca Every four months	Svaka 3 mjeseca Every three months	Svaka 2 mjeseca Every two months
Do 10.000 tjedno Up to 10.000 a week	Svaki 6 mjeseci Every six months	Svaka 4 mjeseca Every four months	Svaka 3 mjeseca Every three months
Do 500 tjedno Up to 500 a week	Jednom godišnje Once a year	Svaki 6 mjeseci Every six months	Svaka 4 mjeseca Every four months

Tablica 3. Najmanja učestalost uzimanja uzoraka od trupova pura (Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja – Vodič za mikrobiološke kriterije za hranu, 2009.)

Table 3 The least frequent sampling of turkey carcasses (the Ministry of Agriculture, Fisheries and Rural Development – Microbiological criteria for foodstuffs, 2009).

Kapacitet proizvodnje (godišnji prosjek) Production capacity (annual average)	Kategorija rizika Risk category		
	niski low	srednji medium	visoki high
Više od 30.000 tjedno More than 30.000 a week	Jednom tjedno Once a week		
Između 15.000 i 30.000 tjedno Between 15.000 and 30.000 a week	Svaka 2 mjeseca Every two months	Jednom mjesечно Once a month	Svaki 15 dana Every 15 days
Između 1.000 i 15.000 tjedno Between 1.000 and 15.000 a week	Svaka 4 mjeseca Every four months	Svaka 3 mjeseca Every three months	Svaka 2 mjeseca Every two months
Do 1.000 grla/ tjedno Up to 1.000 head of cattle/ week	Svaki 6 mjeseci Every six months	Svaka 4 mjeseca Every four months	Svaka 3 mjeseca Every three months

mora takvu seriju smatrati zdravstveno neispravnom te poduzeti odgovarajuće korektivne mjere.

Uzimanje uzoraka za mikrobiološko ispitivanje

Pored pravilnog uzorkovanja i transporta, na rezultate mikrobiološke pretrage može utjecati i postupak

s uzorcima u samom laboratoriju. Mikrobiološka pretraga svježih i ohlađenih uzoraka namirnica mora uslijediti najkasnije 24 sata nakon zaprimanja (Mioković i sur., 2004a).

Uzimanje uzoraka za mikrobiološko ispitivanje pri službenoj kontroli se provodi u cilju verifikacije pošti-

vanja mikrobioloških kriterija propisanih Pravilnikom o mikrobiološkim kriterijima za hranu (Anonim., 2008), provjere mikrobiološke ispravnosti hrane, ocjene učinkovitosti sustava samokontrole ali i sukladnosti serije proizvoda u odnosu na važeće propise o hrani. Službene kontrole naročito se pažljivo provode u slučaju trovanja ili u sudske svrhe, te radi identifikacije i dobivanja podataka o novim mikrobiološkim opasnostima u svrhu procjene rizika.

Nadležno tijelo za provođenje službene kontrole mora provjeravati je li SPH sastavio i primjenjuje li planove samokontrole i ispitivanja, te provodi li i koje mjere u slučaju nezadovoljavajućih rezultata mikrobiološkog ispitivanja. Najmanje jednom tjedno SPH uzima uzorke za mikrobiološka ispitivanja u klaonicama i u objektima koji proizvode mljeveno meso, mesne pripreme i strojno otkošteno meso. Za klaonice manjeg kapaciteta (Anonimno, 2007c, 2007d, 2008) nije predviđena mogućnost određivanja drugačije učestalosti uzorkovanja, ali se za takve objekte predviđa oslobađanje obveze uzorkovanja najmanje jednom tjedno ukoliko se analizom opasnosti utvrdi opravdanost zbog nepostojanja rizika a uz odobrenje nadležnog inspekcijskog tijela.

Uzimanje uzoraka obavlja se tjedno u različite dane kako bi se obuhvatili svi radni dani u tjednu. U slučaju dnevnog klanja manje od pet papkara i kopitara ili 15 komada peradi, predviđeni broj životinja s kojih se uzimaju uzorci mora se dopuniti prilikom sljedećih klanja. Prema normi HRN ISO 17604 (Mikrobiologija hrane i stočne hrane – Uzorkovanje s trupova za mikrobiološku analizu) uzorci s trupova uzimaju se nedestruktivnom metodom. Pri pohrani i prijevozu uzoraka do laboratorija za mikrobiološko ispitivanje, uzorci se moraju ispitati u što kraćem vremenu (do 24 sata od uzimanja uzoraka).

Prilikom slanja uzoraka u vanjski laboratorij uzorci se moraju držati na temperaturi između 0°C i +4°C, te ih se ne smije zamrzavati. Uzorci moraju biti popraćeni popratnim dokumentom (zapisnikom o slanju uzoraka na laboratorijsko ispitivanje).

Mjesta s kojih se uzimaju uzorci moraju biti opisani u postupcima uzorkovanja koje je uspostavio SPH, a ovisi o tehnologiji i postupcima obrade u klaonici, odnosno o vrsti životinje. U svrhu pregleda mjesta s najvećom kontaminacijom tj. pri određivanju broja aerobnih mezofilnih bakterija i enterobakterija odabrana su četiri moguća mjesta (od predviđenih u normi HRN ISO 17604). Kod goveda uzimaju se uzorci s vrata, vrha prsišta, bočnog dijela trbuha i butova, a u ovaca i koza uzimaju se uzorci s trbuha, postranog dijela grudnog koša (rebra), s vrha prsišta i prsiju. U svinja se uzorci uzimaju s buta, obraza, srednjeg dijela buta i trbuha, a u konja s trbuha, vrha prsišta i buta.

Način i mjesta uzorkovanja za provjeru prisutnosti bakterija *Salmonella spp.* na trupovima goveda nisu propisani. U skladu s postupcima koji se primjenjuju u klaonicama odobrenim za izvoz uzorci se uzimaju s tri mjesta: but, trbuh i vrat. Novi Vodič za mikrobiološke kriterije za hranu donosi smjernice za metode uzorkovanja i upućuje na normu HRN ISO 17604 prilikom uzorkovanja za ispitivanja ukupnog broja aerobnih mezofilnih bakterija i enterobakterija. Vodič definira nedestruktivnu metodu uzorkovanja trupova abrazivnom spužvom prilikom određivanja prisutnosti *Salmonella spp.* Treba uzorkovati najmanje 100 cm² površine, a rezultati ispitivanja se odnose na 50 uzastopnih uzoraka prikupljenih u 10 serija uzorkovanja (5 uzoraka u svakoj seriji). Ukoliko su rezultati ispitivanja na prisutnost salmonela pozitivni, SPH obavještava nadležno tijelo koje inzistira na ponovnoj

Tablica 4. Najmanja učestalost uzimanja uzoraka u objektima za proizvodnju mljevenog mesa, mesnih pripravaka i strojno otkoštenog mesa (Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja – Vodič za mikrobiološke kriterije za hranu, 2009.)

Table 4 The least frequent sampling in facilities for the production of minced meat, meat preparations and mechanically separated meat (the Ministry of Agriculture, Fisheries and Rural Development – Microbiological criteria for foodstuffs, 2009).

Kapacitet proizvodnje (godišnji prosjek) Production capacity (annual average)	Kategorija rizika Risk category		
	niski low	srednji medium	visoki high
Više od 5 tona/tjedno More than 5 tons/ week	Jednom tjedno Once a week		
Od 1 tone do 5 tona/tjedno From 1 ton to 5 tons/ week	Svaka 2 mjeseca Every two months	Jednom mjesečno Once a month	Svakih 15 dana Every 15 days
Od 0.5 tona do 1 tone/tjedno From 0.5 tons to 1 ton/ week	Svaka 4 mjeseca Every four months	Svaka 3 mjeseca Every three months	Svaka 2 mjeseca Every two months
Do 0.5 tona/ tjedno Up to 0.5 tons/ week	Svakih 6 mjeseci Every six months	Svaka 4 mjeseca Every four months	Svaka 3 mjeseca Every three months

procjeni samokontrole u svakoj fazi proizvodnje, te provjerava jesu li uzimani uzorci s površina koje dolaze u direktan ili indirektan dodir s trupovima. Pri svakom sljedećem pozitivnom nalazu salmonela potrebno je utvrditi pošiljku životinje i obavijestiti uzgajivača kako bi se poduzele odgovarajuće mjere na farmi, te u konačnici nadležno tijelo ocjenjuje i mogućnost poduzimanja jedne ili više mjera iz članka 54. Pravilnika o službenim kontrolama koje se provode radi verifikacije postupanja u skladu s odredbama propisa o hrani za životinje, te propisa o zdravlju i zaštiti životinja (Anonimno, 2007d).

Mikulić i Humski (2009) ističu kako Pravilnik o mikrobiološkim kriterijima za hranu (N.N. 74/08) ne definira metodu uzorkovanja klaoničkih trupova za propisane mikrobiološke parametre iako navodi da se vrijednosti istih mikrobioloških parametara odnose samo na primjenu destruktivnih metoda uzorkovanja. Tako SPH ostaje mogućnost uzorkovanja i nedestruktivnim metodama. Kako norma HRN ISO 17604 opisuje nekoliko metoda uzorkovanja trupova au-

torice su opisale dvije destruktivne metode, metodu uzorkovanja vadičepom i izrezivanja tkiva uz šablono.

Od nedestruktivnih metoda primijenile su metodu uzorkovanja mokrim i suhim brikom s pamučnim vrhom, metodu uzorkovanja spužvom i metodu uzorkovanja tampon gazom. Naglašavaju da se destruktivnim metodama uzimaju sve bakterije s određenog područja na trupu, pa su dobivene vrijednosti u konačnici veće. No kod primjene nedestruktivnih metoda prednost je da se jednostavnije izvode i nema negativnih učinaka na vrijednost trupa (oštećenja), te omogućuju ispitivanja većih površina. Istraživanja su pokazala da je metoda uzorkovanja spužvom od poliuretana istovrijedna zamjena destruktivnim metodama. Destruktivne metode učinkovitije su za oporavak bakterija iz trupova. Nedestruktivnim metodama mogu se uzorkovati veća područja trupa pa su pouzdanije u dokazivanju patogena poput *Salmonella spp.* Učinkovitost oporavka bakterija uzorkovanih nedestruktivnim metodama raste s većom abrazivnošću materijala. Murray

i sur. (2001) navode da se u svrhu standardizacije ocjene higijenske kakvoće junećih polovica u Sjevernoj Irskoj prosuđuje postupak obriska.

Mioković i sur. (2004) su opisali postupke HACCP-koncepcije u cilju osiguranja mikrobiološke kakvoće junećeg mesa. S površine junećih polovica uzimani su obrisci i otisci Hygicult otisnim pločicama (Orion Diagnostica, Finska) te uzorci destruktivnom metodom isječka. Na površini junećih polovica u uzorcima uzetim postupkom obriska, prosječni ukupni broj aerobnih bakterija iznosio je $3,43 \pm 0,71 \log_{10}/\text{cm}^2$. Ukupni broj bakterija u uzorcima isječaka kretao se od $2,00 \log_{10}/\text{cm}^2$ to do najviše $4,34 \log_{10}/\text{cm}^2$, i prosječno iznosio $3,43 \pm 0,62 \log_{10}/\text{cm}^2$. U uzorcima obrisaka i isječaka utvrđene su sulfitreducirajuće klostridije u 30,0%, *Proteus* vrste u 22%, a *E.coli* i koagulaza-pozitivni stafiločki u 4% pretraženih uzoraka. Hygicult otisnim pločicama određen ukupni broj aerobnih bakterija kretao se od $0,48 \log_{10}/\text{cm}^2$ do $1,93 \log_{10}/\text{cm}^2$ i prosječno iznosio $1,03 \pm 0,29 \log_{10}/\text{cm}^2$ a utvrđen je nalaz *E.coli* u 6,0% i enterobakterija u 24% uzetih otisaka s površine junećih polovica.

Postupak obriska jednostavna je i pouzdana metoda praćenja mikrobiološke kakvoće površine junećih polovica. Nasuprot tome, postupak Hygicult otisnih pločica orijentacijska je metoda provjere bakterijskog onečišćenja polovica koja ne može zamijeniti uobičajene propisane postupke monitoringa. Učestalost uzorkovanja kojom SPH uzima uzorke i provodi ispitivanja radi utvrđivanja broja aerobnih mezofilnih bakterija i bakterije *E. coli* u mljevenom mesu i mesnim pripravcima odnosno u strojno otkošenom mesu može se umanjiti do jedne serije uzorkovanja svakih 15 dana ukoliko su rezultati mikrobiološke pretrage negativni u

šest uzastopnih analiza. Međutim, tri uzastopna nezadovoljavajuća rezultata mikrobiološke pretrage vraćaju dinamiku uzorkovanja na jednom tjedno u različite dane. Učestalost kojom SPH uzima uzorke i provodi ispitivanja na prisutnost salmonela može se također mijenjati ovisno o broju uzastopnih zadovoljavajućih rezultata mikrobiološke pretrage (30, odnosno 150 ukupno).

Najmanja učestalost uzimanja uzoraka od trupova papkara, brojlera i pura prikazani su u tablici 1., 2. i 3., a u objektima za proizvodnju mljevenog mesa, mesnih pripravaka i strojno otkošenog mesa u tablici 4.

Službeno uzorkovanje provode osposobljeni izvršitelji koji uzimaju uzorke za službenu kontrolu u skladu s Pravilnikom o službenim kontrolama koje se provode radi verifikacije postupanja u skladu s odredbama propisa o hrani za životinje, te propisa o zdravlju i zaštiti životinja (Anonim, 2007d). Uzorkovanje se izvodi u svim fazama proizvodnje, izradi, preradi, pohrani, prijevozu, distribuciji i prometu hrane, uključivši i uvoz hrane.

Način uzimanja uzoraka je takav da se spriječi njegova naknadna kontaminacija, kvarenje i oštećenje. Osoba koja uzorkuje mora se pridržavati načela dobre higijenske prakse uz obaveznu upotrebu zaštitne odjeće i obuće te higijenu ruku, pranje i dezinfekciju. Uzorkovanje se provodi sterilnim priborom i sterilnom ambalažom koja je napravljena od materijala koja ne utječe na sadržaj, senzorska svojstva i druge osobine uzorka. Uzorak mora biti reprezentativan za pošiljku ili za proizvodnu seriju. Ovaj način uzorkovanja se koristi prilikom uzorkovanja u proizvodnji, veleprodaji i pri uvozu.

Najmanja količina uzorka (jedna jedinica uzorka) zadovoljavajuća za provedbu mikrobioloških ispitivanja je 500 g ili 500 ml. Ukoliko nije mo-

guće osigurati navedenu minimalnu količinu uzorka, prije uzorkovanja se mora o količini posavjetovati s laboratorijem u kojeg će dostaviti uzorak. Nakon uzimanja uzorka potrebno je uzorak staviti u torbu za hlađenje i pohraniti na hladnom mjestu. Prijevoz uzorka do laboratorija provodi se u temperaturnim uvjetima koji ne dovode do njegovih mikrobioloških promjena. Tijekom prijevoza hlađene uzorke potrebno je pohranjivati u točno određenoj temperaturi usklađenoj prema preporučenoj temperaturi navedenoj u deklaraciji, a smrznute uzorke pri temperaturi i u uvjetima koji sprečavaju otapanje, te se dostavljaju u što kraćem vremenu.

* Ovaj je rad je dio znanstvenog projekta Ministarstva znanosti, obrazovanja i športa broj 053-0531854-1853

Literatura

Anonimno (2009): Vodič za mikrobiološke kriterije za hranu, Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja, Ulica grada Vukovara 78 10000 Zagreb, izdanje: lipanj 2009.

Anonimno (2007a): Zakon o hrani, NN RH br. 46/07

Anonimno (2007b): Pravilnik o higijeni hrane, NN RH, br. 99/07 i 27/08

Anonimno (2007c): Pravilnik o higijeni hrane životinjskog podrijetla, NN RH, br. 99/07

Anonimno (2007d): Pravilnik o službenim kontrolama koje se provode radi verifikacije postupanja u skladu s odredbama propisa o hrani za životinje, te propisa o zdravlju i zaštiti životinja, NN RH, br. 99/07

Anonimno (2008): Pravilnik o mikrobiološkim kriterijima za hranu, NN RH, br. 74/08 i 156/08

Duraković, S., L. Duraković (2001): Mikrobiologija namirnica: osnove i dostignuća. Kugler, Zagreb.

Mikulić, M., A. Humski (2009): Metode uzorkovanja trupova za mikrobiološku analizu. Znanstveno-stručni sastanak Veterinarska znanost i struka. Zagreb, 1.-02. listopada 2009. Zbornik sažetaka, 46-47.

Mioković, B., L. Kozračinski, M. Sertić, B. Njari (2004): Microbiological Quality Of Yearling Beef Carcass Halves. *Archiv für Lebensmittel-*

ttelgiene. 55, 4-7

Mioković, B. B. Njari, L. Kozačinski, N. Zdoec (2004a): Utjecaj postupka uzorkovanja na mikrobiološku ispravnost namirnica

animalnog podrijetla, Meso VI (6), 46-50

Murray, K.A., A. Gilmour, R.H. Madden (2001): Microbiological quality of chilled beef carcasses in northern Ireland: A baseline sur-

vey. J. Food Prot. 64 (4), 498-502.

Zaprimljeno 23.2.2010.
Prihvaćeno 10.5.2010.

m

Food sampling and the surface for microbiological analysis

Summary

Results of microbiological analyses depend on methods of sampling, preparing, storing, transport, delivery and analyzing of samples. The frequency of food sampling and surfaces which come in contact with food during processing and preparing are determined within a self-control frame which needs to be established by food business operators. Competent authorities in charge for carrying out official control must control whether food business operators have made and if they apply the plans of self-control and analyses, and suitable measures in a case of unsatisfying results of microbiological research. Responsibility for the health safety of products that appear on the market is put upon the producers in that way.

Key words: sampling, microbiological analyses, food business operator, official controls

Musterprobenprozess von Nahrung und Flächen für mikrobielle Untersuchung

Zusammenfassung

Die Resultate der mikrobiellen Untersuchungen hängen von der Art der Abhebung, Vorbereitung, Unterbringung, Beförderung und Untersuchung der Muster ab. Die Häufigkeit des Musterprobenprozesses von Nahrung und Flächen, die während der Verarbeitung und Vorbereitung in Berührung mit Nahrung kommen, ist im Rahmen der Selbstkontrolle bestimmt, die die Subjekte in Nahrungsgeschäften (food business operators) verwirklichen sollen. Die zuständige Institution für die Durchführung der offiziellen Kontrolle soll prüfen, ob das Subjekt in Nahrungsgeschäften die Pläne der Selbstkontrolle und des Prüfens verfasst hat und ob es sie verwendet, sowie ob das Subjekt die notwendigen Maßnahmen im Falle der unzufriedenstellenden Resultate der mikrobiellen Untersuchungen trifft. Auf diese Weise werden die Hersteller verantwortlich für die gesundheitliche Richtigkeit der Nahrung, die ihrerseits auf den Markt placiert wird.

Schlüsselwörter: Musterprobenprozess (Sampled), mikrobielle Untersuchungen, Subjekt in Nahrungsgeschäften (food business operators), offizielle Kontrollen

Il campionamento delle sostanze alimentari e la superficie per una ricerca microbiologica

Sommario

I risultati delle ricerche microbiologiche dipendono dalla maniera in cui i campioni vengono presi, preparati, depositati, trasportati ed esaminati. La frequenza di campionatura di alimenti e delle superfici che vengono in contatto con gli alimenti durante il processo di lavorazione e preparazione è determinata nell'ambito di autocontrollo che deve essere stabilito dai soggetti impiegati nell'industria alimentare (food business operators). Un organo presupposto ad eseguire un controllo ufficiale deve controllare se un soggetto incluso nel food business ha fatto i progetti di autocontrollo e di esame, e se li applica. Lo stesso organo deve anche controllare se ci sono dei mezzi di controllo se i risultati di ricerca microbiologica si dimostrano non soddisfacenti. In tal modo i produttori vengono costretti ad una responsabilità della sicurezza alimentare di prodotti che escono al mercato.

Parole chiave: campionamento, ricerca microbiologica, soggetto impiegato nell'industria alimentare (food business operators), controlli ufficiali



Norovirusi u školjkašima kao akutni problem današnjice

Škoko¹, I., E. Listeš¹, I. Listeš¹, L. Kozačinski²

Stručni pregled

Sažetak

Uzgoj morskih organizama duž jadranske obale ima dugu tradiciju koja datira još iz 19. stoljeća. Hranidbena vrijednost školjaka se temelji na odnosu bjelančevina i masti, uz velike količine glikogena. Osim velike koristi koju organizmi što žive u vodenoj sredini pružaju čovjeku, oni su i realna opasnost za zdravlje. Školjkaši filtriraju velike količine vode da bi se prehranili, te na takav način akumuliraju različite patogene porijeklom iz ljudskog fecesa. Usvajanjem europske regulative (European regulation 91/492/EC) koja propisuje prihvatljive količine bakterijskih patogena, znatno se smanjio utjecaj bakterija na izbijanje gastroenteritisa, ali ne i bolesti izazvane viralnim uzročnicima. Norovirus (NoV, prije „Norwalk-like virus“) predstavlja najvažnijeg uzročnika nebakterijskog gastroenteritisa u svijetu. U industrijaliziranom svijetu NoV je moguće odgovoran za preko 80% svih izbijanja gastroenteritisa. NoV spada u porodicu Calciviridae, a podijeljen je u pet genogrupa (GI-GV), za genogrupu GI, GII i GIV je poznato da izazivaju bolest u ljudi. Nakon infekcije ljudi kontaminiranim školjkašima, epidemija se širi fekalno-oralnim putem, iako do prijenosa bolesti može doći i direktnim kontaktom s osobom, ili viralnim česticama u aerosolu. Iako je bolest uglavnom blaga i samolimitirajuća, može biti i ozbiljna kod pacijenata koji već imaju nekakve zdravstvene smetnje. Četiri su osnovna problema kod detekcije NoV iz školjaka; niski nivo virusne kontaminacije, velika varijabilnost virusa, prisustvo interferirajućih supstanci koje inhibiraju molekularnu detekciju i genetska varijabilnost NoV. Dva su koraka uključena kod detekcije enterovirusa iz kontaminiranih školjki, a to je izdavanje i koncentracija virusa iz hepatopankreasa školjkaša i detekcija virusa uz pomoć reverzne transkripcije (RT) PCR metode. Zbog same strategije procjene rizika potrebno je provesti pretraživanje školjakaša na prisustvo NoV. U Evropi (CEN), je osnovao radnu grupu stručnjaka, za razvoj i validaciju referentne horizontalne metode za detekciju NoV u hrani, uključujući školjkaše.

Ključne riječi: školjkaši, norovirus, gastroenteritis

Uvod

More, odnosno organizmi koji žive u morskoj sredini imaju veliko značenje u prehrani ljudi, napose u današnje vrijeme isticanja važnosti zdrave prehrane. Uzgoj morskih organizama duž jadranske obale ima dugu tradiciju koja datira još iz 19. stoljeća (Skaramuca i sur., 1997). Znanje stečeno dugogodišnjim radom na uzgoju školjakaša i riba, omogućilo je razvoj marikulture, kakva je danas. Od školjakaša se za ljudsku prehranu prvenstveno uzgajaju dagnje, kamenice, i školjke iz porodice *Aracidae*. Iz prirodnih se staništa najčešće iskorištavaju kunjka *Arca noae*, prnjavica, *Venus verrucosa*, bijela dagnja, *Modiolus barbatus*, kopito *Spondylus gaedoropus*, jakopska kapica, *Pecten jacobaeus* i unatoč zakonskim zabranama, prstac *Litopha-*

ga lithopaga, te plemenita periska, *Pinna nobilis* (Bratoš i sur., 2004). Ishrana školjakaša i njihov rast su ovisni o određenim količinama i vrstama algi, populaciji fitoplanktona, kojima se hrane. Za uspješno uzgajanje školjakaša potrebni su specifični geomorfološki, abiotski i biotski uvjeti sredine. Najprikladniji su veći zaljevi sa suženim ulazom i plići kanali u kojima se vodene mase za vrijeme plime ponovno vraćaju natrag u more, zajedno s larvama školjakaša (Matulić, 2005). Uzgoj školjakaša se može podijeliti u dvije faze. U prvom dijelu života, ličinke školjakaša pripadaju planktonskoj zajednici, dok je odrasla školjka tipični bentosni organizam, tako da je prva faza prikupljanje mladih školjakaša, a druga je uzgoj do konzumne veličine. Količina školjakaša u komerci-

jalnom uzgoju primarno je određena količinom sakupljenog mlada. Mlad dagnji se prikuplja rahlo ispletenim konopom postavljenim vodoravno između stupova parkova ili plutača. Nasadažu se u mrežasta najlonska crijeva za uzgoj do konzumne veličine, dok se za prikupljanje mladih kamenica upotrebljavaju snopovi grančica vezanih zajedno najlonskim konopom ili plastičnim pločicama crne, pa se prikupljene kamenice nasadažu cementiranjem na konop ili se direktno nasadažu u kutije za uzgoj kamenica. Na kraju 16-mjesečnog ciklusa proizvodnje dagnje narastu do veličine 5-7 cm, kada su spremne za tržište prema Pravilniku o tržnim standardima određenih proizvoda ribarstva (Anonim., 2009b). Na slici 1. je shematski prikaz fiksnog parka za uzgoj školjaka-

¹ Ines Škoko, dr.vet.med., dr.sc. Eddy Listeš, dr.vet.med., Irena Listeš, dr.vet.med.; Hrvatski Veterinarski Institut, Podružnica Veterinarski Zavod Split, Laboratorij za mikrobiologiju hrane, Poljička cesta 33, Split, e-mail: i.skoko.vzs@veinst.hr

² dr.sc. Lidija Kozačinski, izvanredni profesor, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu., Zavod za higijenu i thenologiju animanih namirnica, Heinzelova 55, Zagreb