

Badanie obecności antybiotykoopornych grzybów drożdżopodobnych w mięsie mielonym

Test of the presence of antibiotic-resistant yeast in minced meat

IZABELA STEINKA^{1/}, AGATA JANCZY^{2/}

^{1/} Akademia Morska w Gdyni

^{2/} Zakład Higieny Żywności, Gdański Uniwersytet Medyczny

Cel badań. Ocena obecności antybiotykoopornych grzybów drożdżopodobnych w mięsie mielonym.

Wyniki. Badania wykazały 86% zanieczyszczenie mięsa grzybami rodzaju *Candida*. Obecność grzybów, szczególnie *Candida krusei*, stwierdzono w 79% próbek mięsa, zarówno kurczaka jak i indyka, bez względu na rodzaj zastosowanego opakowania.

Wniosek. W badanych próbkach nie stwierdzono antybiotykoopornych grzybów drożdżopodobnych.

Słowa kluczowe: lekooporność, *Candida*, mięso mielone

Aim. To study the presence of antibiotic-resistant yeast in minced meat.

Results. The results showed a 86% contamination of meat with yeast from the *Candida* species. Most yeast, especially *Candida krusei*, was found in 76% of samples from chicken and turkey meat, regardless of the type of packaging used.

Conclusion. There were no antibiotic-resistant yeast species in the tested samples.

Key words: antifungal resistance, *Candida*, minced meat

© Probl Hig Epidemiol 2014, 95(1): 192-195

www.phie.pl

Nadesłano: 26.07.2013

Zakwalifikowano do druku: 25.02.2014

Adres do korespondencji / Address for correspondence

mgr inż. Agata Janczy

Zakład Higieny Żywności, Gdański Uniwersytet Medyczny

ul. Dębinki 7, 80-211 Gdańsk

e-mail: janczy.agata@gumed.edu.pl

Wprowadzenie

Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) w raporcie o zdrowiu na świecie, wydanym w 2005 roku, donosi że lekooporność drobnoustrojów stała się jedną z głównych przyczyn globalnych zagrożeń zdrowia publicznego [1]. Dodatkowo, w ostatnich latach notuje się wzrost zachorowań na kandydozy, a co za tym idzie, zwiększone zapotrzebowanie na różnego rodzaju leki przeciwwgrzybiczne.

Jedną z głównych przyczyn kandydoz jest obecność grzybów drożdżopodobnych *Candida albicans*, choć duże znaczenie przypisuje się również takim gatunkom jak *Candida glabrata*, *Candida tropicalis* czy *Candida krusei* [2-4].

Ostatnie lata pozwoliły zauważyć, że liczba pacjentów chorujących na kandydozę oporną na leki przeciwwgrzybiczne znacznie wzrosła. To zaś w konsekwencji sprzyja powstawaniu klinicznie nieustępujących dolegliwości, a także często nawracającym zmianom chorobowym [5]. Wiele publikacji skupia się aktualnie na lekooporności grzybów *Candida* [3, 6, 7]. Natomiast brak jest doniesień dotyczących możliwości

występowania opornych grzybów z rodzaju *Candida* w środkach spożywczych, w tym w mięsie.

Cel pracy

Ocena obecności antybiotykoopornych grzybów drożdżopodobnych w mięsie mielonym.

Materiał i metody

Materiał badawczy stanowiły 43 próbki mięsa mielonego: wieprzowego, wołowego, wieprzowo-wołowego oraz drobiowego (kurczak, indyk). Wszystkie rodzaje mięsa, w opakowaniach hermetycznych jak i nie pakowane hermetycznie, zostały zakupione w wybranych punktach sprzedaży na terenie Trójmiasta.

Badanie opierało się na posiewaniu homogenatów mięsa mielonego, na pożywkę chromogenną do szybkiej izolacji i identyfikacji drożdżaków z rodzaju *Candida*. Mieszanina chromogenna Chromogenic Lab-Agar w podłożu zawiera charakterystyczne enzymy, z pomocą których drożdżaki absorbując barwniki przybierają odpowiednie zabarwienie, umożliwiające ich identyfikację. W ten sposób możliwe było rozróż-

nienie grzybów drożdżopodobnych odpowiednio na: *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida krusei* oraz *Candida tropicalis*.

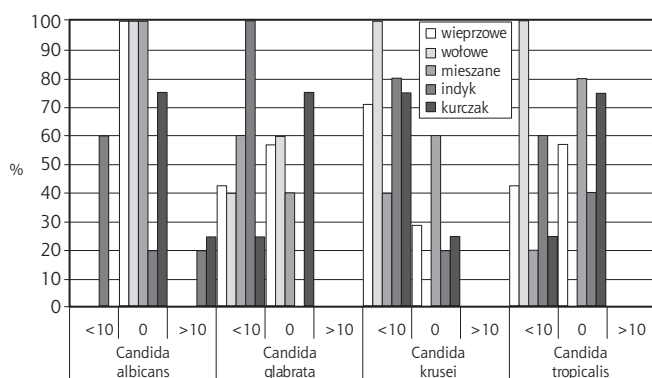
Oporności grzybów na środki przeciwgrzybiczne oceniano za pomocą zestawu Candifast Es Twin. Oporność grzybów oznacza się po ocenie wzrostu na podłożu. Zmiana barwy podłoża informuje o obecności grzybów lekoopornych.

Wyniki i omówienie

Spośród wszystkich 43 zbadanych próbek mięsa jedynie w 14% z nich nie wykazano obecności drożdżaków rodzaju *Candida*.

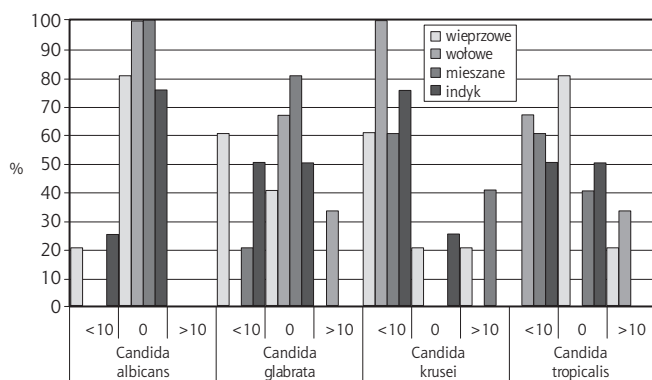
Na rycinach 1 i 2 zaprezentowano ocenę ilościową i gatunkową *Candida* w mięsie w zależności od sposobu pakowania.

Analiza wyników badań wskazała, że zaledwie w 16% próbek występowały grzyby gatunku *Candida albicans*. Porównywalnie licznie występowały w posiewach kolonie *Candida glabrata* oraz *Candida tropicalis*.



Ryc. 1. Odsetek próbek wykazujących obecność różnych gatunków drożdżaków w mięsie mielonym pakowanym hermetycznie

Fig. 1. Percentage of samples showing the presence of different species of yeast in minced meat packaged hermetically



Ryc. 2. Odsetek próbek wykazujących obecność różnych gatunków drożdżaków w mięsie mielonym pakowanym niehermetycznie

Fig. 2. Percentage of samples showing the presence of different species of yeast in minced meat packaged non-hermetically

Dominującym gatunkiem, występującym w 79% próbek, były drożdżaki gatunku *Candida krusei*.

Pod względem jakości mikrobiologicznej, mniej zanieczyszczeń grzybami rodzaju *Candida* zanotowano w mięsie pakowanym niehermetycznie. Szczególną uwagę należy zwrócić na mięso mieszane (wieprzowo-wołowe), pochodzące z sieci mniejszych punktów handlowych, terenu Trójmiasta. W próbkach tych nie odnotowano bowiem wzrostu grzybów drożdżopodobnych.

Najczęściej zanieczyszczone grzybami, w tym przez gatunek *Candida albicans*, okazały się być mielone mięsa kurczaka oraz indyka, pakowane w sposób niehermetyczny.

W mięsie mielonym pakowanym hermetycznie stwierdzono stosunkowo niewielki wzrost drożdżaków. Wyjątkiem były odpowiednio mięso wieprzowe pochodzące z zakładów mięsnych mniej znanej marki oraz mięso wołowe, zakupione w jednym z większych sklepów sieciowych Trójmiasta. Zarówno w mięsie wieprzowym jak i wołowym zanotowano znaczący wzrost komórek grzybów gatunków *Candida glabrata*, *Candida krusei* oraz *Candida tropicalis*, powyżej 10 jtk/g.

W tabeli I zaprezentowano wykaz lekoopornych grzybów rodzaju *Candida*, których obecność potwierdzono w mięsie mielonym, pochodzącym z różnych placówek handlowych.

Rycina 3 natomiast obrazuje procentową zawartość lekoopornych szczepów *Candida* w mięsie mielonym, zarówno pakowanym jak i nie pakowanym hermetycznie

Z analizy danych wynikało, iż najwyższy odsetek opornych grzybów występował wśród szczepów gatunku *Candida krusei*. Aż 52% wszystkich zbadanych drożdżaków *Candida krusei* wykazywało cechy lekooporności. 100% wrażliwością na leki przeciwgrzybiczne charakteryzował się gatunek *Candida glabrata*.

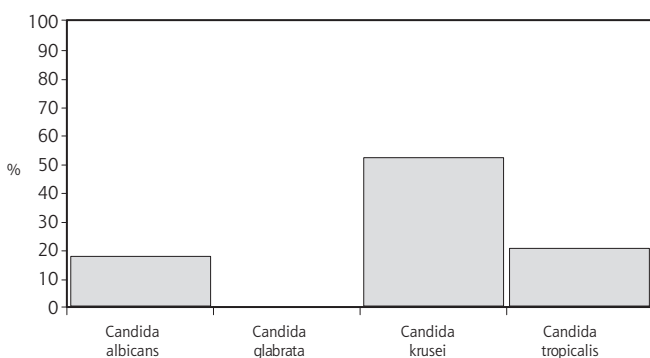
Warunki środowiskowe panujące w pomieszczeniach dla zwierząt są zazwyczaj korzystne do rozwoju drożdży i pleśni. Szczególną tendencją do występowania grzybic, przede wszystkim kandydozy, charakteryzują się ptaki. Od lat prowadzone są badania, mające na celu sprawdzenie wielkości występowania grzybów w pomieszczeniach dla ptaków oraz przypadków występowania grzybic wśród tych zwierząt [8, 9].

Wyniki niniejszego doświadczenia, w którym próbki mielonych kurczaków oraz indyków wykazywały obecność grzybów rodzaju *Candida*, potwierdzają informacje zawarte w publikacjach.

Podobne wnioski zawarto w pracy Shimaa Abou i wsp. Ich badania dotyczące jakości mikrobiologicznej mięsa owczego, bawolego, wołowiny oraz z kurczaka, wykazały że 12,15% próbek, w których wykryto najwyższy poziom zanieczyszczenia grzybami gatunku *Candida albicans* stanowiło mięso kurczaków [10].

Tabela I. Zestawienie wyników testu Candifast Es Twin
Table I. Summary of test results Candifast Es Twin

Rodzaj mięsa /Type of meat	Rodzaj sklepu /Miejsce zakupu /Place of purchase	Potwierdzona identyfikacja wybranych rodzajów grzybów /Confirmed identification of some types of fungi
Mięso nie hermetycznie pakowane /Meat not hermetically packaged		
Wieprzowe /Pork	A	<i>C. krusei</i>
Wieprzowe /Pork	B	<i>C. krusei</i>
Wołowe /Beef	C	<i>C. tropicalis</i>
Wołowe /Beef	D	<i>C. krusei</i>
Mieszane /Mixed	C	<i>C. krusei</i>
Indyk /Turkey	B	<i>C. krusei</i>
Indyk /Turkey	E	<i>C. albicans</i>
Indyk /Turkey	F	<i>C. albicans</i>
Mięso pakowane hermetycznie /Meat hermetically packaged		
Wieprzowe /Pork	G	<i>C. krusei</i>
Wieprzowe /Pork	D	<i>C. krusei</i>
Wieprzowe /Pork	H	<i>C. krusei</i>
Wieprzowe /Pork	I	<i>C. krusei</i>
Wołowe /Beef	J	<i>C. krusei</i>
Wołowe /Beef	K	<i>C. tropicalis, C. krusei</i>
Mieszane /Mixed	L	<i>C. krusei</i>
Mieszane /Mixed	G	<i>C. tropicalis</i>
Mieszane /Mixed	M	<i>C. tropicalis</i>
Indyk /Turkey	N	<i>C. krusei</i>
Indyk /Turkey	G	<i>C. krusei</i>



Ryc. 3. Antybiotykooporne szczepy w badanych próbkach mięsa mielonego

Fig. 3. Antibiotic-resistant strains in minced meat samples

Również Kedar i wsp. izolowali drożdżaki z mięsa kurcząt oraz indyków [11].

Występowanie grzybów rodzaju *Candida* stwierdzano nie tylko w mięsie surowym. Deak i wsp. oraz Diriye i wsp. przeprowadzili badanie, którego celem była charakterystyka mikroflory mięsa drobiowego (kurczak, indyk) surowego, mrożonego oraz poddane obróbce termicznej. Grzyby rodzaju *Candida* stanowiły dominującą mikroflorę zarówno mięsa gotowanego jak i mrożonego [12, 13].

Zmiany jakościowe żywności przypisywane są głównie działalności bakterii. Nowe i coraz doskonalsze metody przetwarzania i przechowywania żywności hamują rozwój bakterii, co w efekcie przyczynia się do

rozwoju drożdży, odpowiedzialnych za psucie się produktów spożywczych. W celu określenia potencjalnej roli drożdży w procesie zepsucia Nielsen i wsp. zbadali pięć różnych produktów mięsnych. W środkach spożywczych, w których nastąpiły zmiany sensoryczne, dominowały grzyby z rodzaju *Candida* [14].

Można przypuszczać, iż obecność grzybów w mięsie jest następstwem stosowania w szerokim zakresie antybiotyków jako dodatków do pasz [15].

Wykonano także badania, których celem było ustalenie w jakim stopniu produkty mięsne, jak szynka i kiełbasa, mogą być źródłem grzybów patogennych dla człowieka. Wyniki badań potwierdziły, że 15% próbek zawierało grzyby rodzaju *Candida*, z czego blisko 55% wszystkich izolatów *Candida* charakteryzowało się pozakomórkową aktywnością proteolityczną [16].

Do podobnych wniosków doszli Wolter i wsp. Przeprowadzone badania pozwoliły na wyodrębnienie i zidentyfikowanie *Candida* między innymi w salami i kabanosach [17].

Ocenę mikrobiologiczną i sensoryczną drobiu oraz jego przetworów pakowanych próżniowo i przechowywanych w warunkach chłodniczych przeprowadził Świderski i wsp. Autorzy sugerowali, że wysoką zawartością drożdży i pleśni charakteryzowało się mięso surowe. Do szybkiego wzrostu liczby drobnoustrojów, powyżej dopuszczalnej normy, dochodziło po 7-dniowym przechowywaniu w temperaturze 40°C. Najskuteczniejszą metodą ograniczania rozwoju drożdży i pleśni w pakowanych produktach okazało się wędzenia [18].

Analizowane dane literaturowe dotyczące obecności grzybów drożdżopodobnych w mięsie i jego przetworach nie zawierały jednak wyników badań nad antybiotykoopornością grzybów rodzaju *Candida* w żywności, co sugeruje potrzebę prowadzenia dalszych analiz.

Wnioski

1. Zanieczyszczenie grzybami z rodzaju *Candida* stwierdzono w 86% badanych próbek mięsa.
2. W 79% próbek mięsa mielonego występowały grzyby gatunku *Candida krusei*, natomiast jedynie w 10% próbek zanotowano obecność *Candida albicans*.
3. Mięso mielone wieprzowo-wołowe, pakowane w sposób niehermetyczny oraz wieprzowe i indycze w opakowaniach hermetycznych, pochodzące z niewielkich placówek handlowych oraz dużych sklepów sieciowych, nie stanowią źródła *Candida*.
4. Potencjalnym źródłem drożdżaków *Candida* mogą być kurczak oraz indyk, bez względu na rodzaj opakowania, w którym występują.
5. Ponad połowa (52%) grzybów *Candida krusei* poddanych badaniu wykazywała cechy lekooporności.

Piśmiennictwo / References

1. World Health Organization. Fifty-eight World Health Assembly, Geneva, 16-25 May 2005. Resolutions and Decisions Annex, Geneva 2005.
2. Jabra-Rizk MA. Fungal infections and drug resistance. *Emerg Med Crit Care Rev* 2006: 1-7.
3. Mishra N, et al. Pathogenicity and drug resistance in *Candida albicans* and other yeast species. A review. *Acta Microbiol Immunol Hung* 2007, 54(3): 201-235.
4. Szponar E, Bobowicz Z, Orkiszewska M. Występowanie i lekooporność grzybów z rodzaju *Candida* wyizolowanych z błony śluzowej jamy ustnej. *Dental Forum* 2005, I, XXXII.
5. Swoboda-Kopec E i wsp. Oporność klinicznych izolatów *Candida* na leki przeciwgrzybiczne. *Zakażenie* 1998, 3-4: 33-34.
6. Łukaszyk C i wsp. Pięcioletnia obserwacja lekooporności szczepów grzybów drożdżopodobnych u pacjentów onkologicznych. *Mikol Lek* 2000, 7(4): 209-215.
7. Odds F. The evaluation of antifungal resistance in *Candida* species. *Microbiol Today* 2004, 31: 166-167.
8. Fulleringer S, et al. Evaluation of the environmental contamination by thermophilic fungi in a turkey confinement house in France. *Poult Sci* 2006, 85: 1875-1880.
9. Wyatt R, Hamilton P. *Candida* species and crop mycosis in broiler chickens. *Poult Sci* 1975, 29, abstract.
10. Shima A-E, et al. Prevalence of *Candida albicans* and *Cryptococcus neoformans* in animals from Quena Governorate with special reference to RAPD-PCR patterns. *J Am Sci* 2011, 7(12): 20-31.
11. Kedar K, Esmeraldo M. Clinical laboratory investigation of involvement of systematic mycosis in outbreak of sudden death syndrome in broiler chicken in Kathmandu valley. *Nepal Vet World* 2009, 1(9): 265-267.
12. Deak T, Chen J, Beuchat L. Molecular characterization of *Yarrowia lipolytica* and *Candida zeylanoides* isolated from poultry. *Appl Environ Microbiol* 2000, 66(10): 4340-4344.
13. Diriyé F, Scorzetti G, Martini N. Methods for the separation of yeast cells from the surfaces of processed frozen foods. *Int J Food Microbiol* 1993, 19: 27-37.
14. Nielsen D, et al. Occurrence and growth of yeast in processed meat products – implications for potential spoilage. *Meat Sci* 2008, 80(3): 919-926.
15. Shibat-El-Hamed D. Some studies on poultry Mycosis in Quena Governorate. M. V. Sc. Thesis, Department of Poultry diseases, Faculty of Veterinary Medicine, Assuit University 2008.
16. Staib F, et al. Pathogenic yeast-like fungi in meat products. *Zentralbl Bakteriol A* 1980, 248(3): 422-429.
17. Wolter H, Laing E, Viljoen B. Isolation and identification of yeast associated with intermediate moisture meats. *Food Technol Biotechnol* 2000, 38(1): 69-75.
18. Świdorski F, et al. Evaluation of the quality of poultry meat and its processing for vacuum packaging. *Rocz PZH* 1997, 48(2): 193-200.