

MONIKA TWORKO, ALEKSANDRA MARKUCIŃSKA, ANNA WĘGRZYNEK

ZASTOSOWANIE BIOLUMINESCENCYJNEGO POMIARU ATP DO OCENY POZIOMU HIGIENY W GOSPODARSTWACH DOMOWYCH

Streszczenie

Celem pracy była ocena możliwości zastosowania bioluminescencyjnego pomiaru ATP do sprawdzenia poziomu higieny w gospodarstwach domowych i analiza uzyskanych wyników w zależności od rodzaju badanej powierzchni oraz lokalizacji gospodarstwa domowego. Badano 5 powierzchni kuchennych (blat stołu, zlew, deska do krojenia, ściana lodówki oraz jej uchwyt), łącznie w 100 domach, w mieście i na wsi, zlokalizowanych w województwie mazowieckim i podkarpackim.

Średnie wartości poziomu ATP na badanych powierzchniach kuchennych znacznie przekraczały akceptowane poziomy referencyjne, a także poziomy możliwe do przyjęcia (strefa ryzyka). To wskazuje na brak właściwych praktyk higienicznych podczas postępowania z żywnością w badanych gospodarstwach domowych. Najniższy poziom higieny stwierdzono w kuchniach miejskich gospodarstw województwa mazowieckiego oraz w kuchniach wiejskich województwa podkarpackiego. Metoda ATP może być przydatnym narzędziem oceny stanu higieny powierzchni w kuchniach.

Słowa kluczowe: gospodarstwa domowe, higiena, pomiar ATP

Wprowadzenie

Dane epidemiologiczne dotyczące zatruc pokarmowych wskazują na gospodarstwa domowe jako miejsce powstawania zagrożeń zdrowotnych związanych z żywnością. Zapobieganie tym zatruciom pokarmowym to przede wszystkim stosowanie właściwych praktyk higienicznych przy przygotowywaniu posiłków w domach [4, 11]. Najbardziej prawdopodobną przyczyną powstania zagrożeń w kuchniach domowych jest krzyżowe zanieczyszczenie powierzchni i produktów, szczególnie podczas przygotowania surowego drobiu lub mięsa, gdyż mogą one być źródłem dużej liczby opornych bakterii, takich jak *Salmonella* czy *Campylobacter*, które z łatwością rozprzestrzeniają się na powierzchniach w kuchni [2, 13]. Znaczącym źródłem mikroorganizmów jest zwłaszcza surowa żywność; nieuniknione jest również zanieczyszczenie nią

Mgr inż. M. Tworko, mgr inż. A. Markucińska, mgr inż. A. Węgrzynek, Zakład Technologii Gastronomicznej i Higieny Żywności, Wydz. Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa

powierzchni oraz sprzętu podczas przygotowywania posiłków. Ważne jest, aby nie dopuszczać do nagromadzenia zanieczyszczeń na powierzchniach z którymi często styka się żywność i na etapach kończących produkcję potraw. Obecność zanieczyszczeń pochodzących z pozostałości żywności, ciał obcych, mikroorganizmów może być ograniczana przez mycie i dezynfekcję [9, 14].

Scott i Bloomfield [15] stwierdzili, że czas przeżywalności mikroorganizmów na wielu powierzchniach w kuchni wynosi od 4 do 24 godz. Przeżywalność jest dłuższa, gdy zanieczyszczona mikrobiologicznie powierzchnia jest brudna i mokra. Niektóre gatunki rozmnażają się na zanieczyszczonych powierzchniach, a po dostaniu się do żywności mogą spowodować jej zepsucie lub potencjalne zagrożenie zdrowotne.

Właściwe utrzymywanie higieny w domu zmniejsza ryzyko powstawania i przenoszenia czynników chorobotwórczych. Jednak, aby żywność była bezpieczna pod względem zdrowotnym, domownicy powinni również przestrzegać określonych zasad postępowania z żywnością, stanowiących ważną część ochrony przed rozprzestrzenianiem się chorób [4, 17]. Ważne jest też poznanie newralgicznych miejsc w kuchniach domowych, które mogą być źródłem mikrobiologicznego zanieczyszczenia żywności.

W Zakładzie Technologii Gastronomicznej i Higieny Żywności SGGW prowadzone są badania ankietowe dotyczące higieny środowiska domowego i jej wpływu na bezpieczeństwo przygotowywanych potraw. Uzupełnieniem tych badań jest ocena czystości powierzchni roboczych w kuchniach domowych.

Celem pracy była ocena możliwości zastosowania bioluminescencyjnego pomiaru ATP do sprawdzenia poziomu higieny w gospodarstwach domowych i analiza uzyskanych wyników w zależności od rodzaju badanej powierzchni oraz lokalizacji gospodarstwa domowego.

Materiał i metody badań

Materiał do badań stanowiły powierzchnie robocze w kuchniach losowo wybranych 100 gospodarstw domowych województwa mazowieckiego (50) i województwa podkarpackiego (50). W każdym województwie badanie przeprowadzono w 25 kuchniach gospodarstw wiejskich i 25 miejskich. Pomiar wykonywano metodą ATP w 5 ustalonych miejscach (powierzchniach) w każdej kuchni: blat, na którym przygotowuje się posiłki, zlew, deski do krojenia, ściany lodówki oraz jej uchwyty. Zastosowano aparat Uni-Lite Xcel firmy Biotrace. Próbkę do badania pobierano za pomocą wymazówek (piór) znajdujących się w specjalnych probówkach. Po wyjęciu wymazówki z probówki pocierano jej końcówką badaną powierzchnię ograniczoną jałowym metalowym szablonem o powierzchni 25 cm². Następnie wymazówkę umieszczano w probówce, umożliwiając rozpoczęcie reakcji. Tak przygotowaną próbkę wkładano do aparatu Uni-Lite Xcel i po około 15-20 s odczytywano wynik w jednostkach RLU (Relative Light Units).

Wartość RLU jest wprost proporcjonalna do stężenia reagentów reakcji. W przypadku metody ATP wartość RLU zależy od ilości ATP, gdyż ten związek jest reagentem limitowanym, przyjmuje różne wartości natomiast stężenia pozostałych substratów reakcji są stałe, niezmiennie [10]. Reakcja polega na oksydatywnej dekarboksylacji lucyferyny katalizowanej przez lucyferazę, w obecności wysokoenergetycznego ATP oraz jonów magnezu. W wyniku reakcji następuje świecenie o intensywności proporcjonalnej do zawartości ATP w pobranej próbce przy jednoczesnym założeniu, że ilość ATP w komórce jest stała, a ilość emitowanego światła będzie proporcjonalna do liczby żywych komórek [1]. Intensywność światła mierzona jest luminometrem przy długości fali 562 nm, a wyrażana we względnych jednostkach świetlnych RLU (Relative Light Units) [10]. Reakcja powinna przebiegać również w odpowiednich warunkach pH (optimum 7,8–7,9, przedział 6,5–8,0) i temperatury (optimum 25°C, przedział 20–30°C [5, 8]. Na pomiar ATP może mieć wpływ niedostateczna ilość enzymów, jonów metali, zbyt krótki czas pomiarów impulsów świetlnych czy obecność endogennych ATP [5].

Niski poziom ATP w badanej próbce wskazuje, iż dana powierzchnia jest wolna od zanieczyszczeń organicznych i mikrobiologicznych, natomiast jeśli poziom ATP jest wysoki oznacza to, że powierzchnię należy uznać za zanieczyszczoną substancjami organicznymi i mikrobiologicznymi [16].

Metoda ta pozwala na szybką ocenę czystości mikrobiologicznej badanych obiektów, a przez to podjęcie natychmiastowych działań korygujących w przypadku uzyskania wyników niemieszczących się w ustalonych przedziałach krytycznych.

Pomiar ATP jest stosowany jako wskaźnik higieny, świadczący o obecności: zanieczyszczeń, które mogą zawierać bakterie lub inne mikroorganizmy, brudu, ekskrementów, żywności, itp. Metoda ta gwarantuje wykrycie nie tylko ATP pochodzenia mikrobiologicznego, ale również ATP z surowców i produktów spożywczych (ze względu na czystość i higienę nie jest ważne czy na powierzchni roboczej lub urządzeniu produkcyjnym znajdują się drobnoustroje, pozostałości materiału biologicznego, surowca czy też krwi) [6, 10].

Analizę statystyczną uzyskanych pomiarów higienicznych w zależności od miejsca zamieszkania przeprowadzono za pomocą dwuczynnikowej analizy wariancji.

Wyniki i dyskusja

Badania przeprowadzono w czasie normalnego funkcjonowania kuchni, bez dodatkowego czyszczenia i mycia. Szeroki zasięg odczytanego poziomu ATP można tłumaczyć różnicami między badanymi powierzchniami, np. ze względu na ich rodzaj, okres użytkowania, budowę, a także czyszczenie ich różnymi materiałami przez różne osoby. Otrzymane wartości średnie, minimalne, maksymalne oraz odchylenie standardowe przedstawiono w tab. 1. Uzyskane pomiary ATP porównano z wartościami referencyjnymi zaproponowanymi przez Worsfolda i Griffitha [18] do powierzchni kuchni domowych.

Z przedstawionego porównania wynika, że średnie wartości poziomu ATP wszystkich badanych powierzchni kuchennych przekraczały limity uznane za bezpieczne, a także tak zwaną strefę ryzyka. Porównanie wartości średnich wskazuje, że najbardziej zanieczyszczoną (najwyższe wartości RLU) powierzchnią były uchwyty lodówek, natomiast najmniej zanieczyszczoną była ściana lodówki. Według Grzebińskiej [7] uchwyty chłodziarki to miejsca mające częsty kontakt z dłońmi, dlatego narażone są one na zabrudzenia i z tego powodu są potencjalnym źródłem zanieczyszczenia.

Wysokie poziomy RLU stwierdzono również na powierzchni blatu stołu, deski oraz zlewu. Zlew jest miejscem sprzyjającym rozwojowi drobnoustrojów, ze względu na dużą ilość wody oraz wszelkich pozostałości organicznych na zmywakach po myciu brudnych naczyń. Wysokie wartości RLU ocenione na deskach do krojenia i blatach stołu mogą mieć związek z obecnością pozostałości żywności na tych powierzchniach.

Otrzymany poziom ATP z wielu powierzchni kuchni wskazywał na niepokojący poziom zabrudzenia, podczas gdy domownicy uważali swoje kuchnie za wystarczająco czyste do przygotowania żywności.

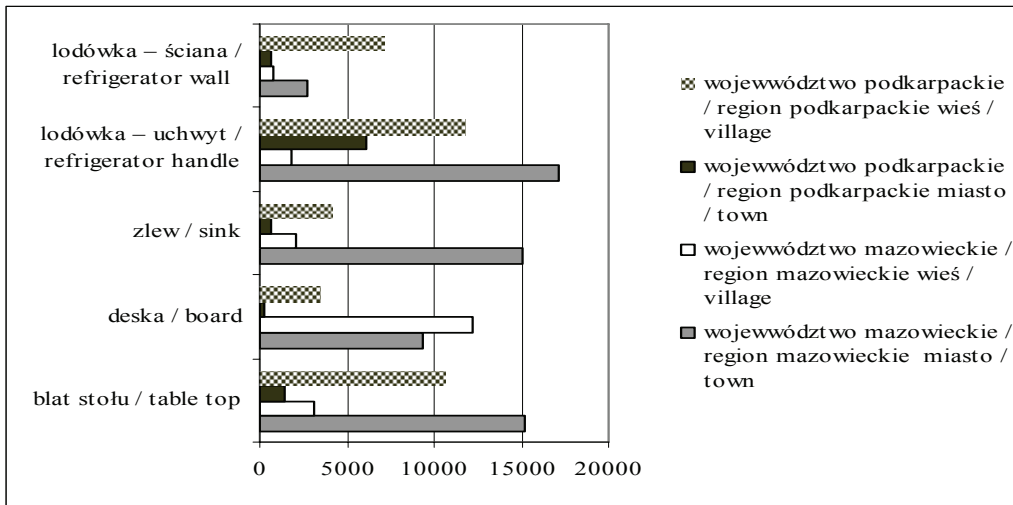
Tabela 1

Porównanie stanu higieny (RLU) badanych powierzchni kuchennych z wartościami referencyjnymi.
Comparison of hygiene level (RLU) of evaluated kitchen surfaces to references value.

Badane powierzchnie Surfaces evaluated	Badania własne Own study				Wartości referencyjne uzyskane w badaniach finansowanych przez Ministerstwo Rolnictwa, Rybactwa i Żywności w Wielkiej Brytanii [18] References value obtained during studies by sponsored Ministry of Agriculture, Fisheries and Food in Great Britain [18]		
	\bar{x} RLU	S_x RLU	Min RLU	Max RLU	Poziom akceptowany Accept RLU	Strefa ryzyka Caution RLU	Poziom nieakceptowany Reject RLU
Blat stołu Table top	7517,535	14256,96	91	94968	<336	336-403	>403
Deska Board	6266,05	27190,47	17	257394	<813	813-976	>976
Zlew Sink	5436,594	9387,014	29	54805	<621	621-745	>745
Uchwyt lodówki Refrigerator handle	9148	21665,13	12	125479	<171	171-205	>205

Uzyskane średnie wartości RLU powierzchni w kuchniach w zależności od miejsca zamieszkania (miasto, wieś, województwo podkarpackie, województwo mazowieckie) przedstawiono na rys. 1.

Hipotezę o wpływie miejsca zamieszkania na poziom higieny powierzchni w kuchniach zweryfikowano metodą dwuczynnikowej analizy wariancji. Starano się odpowiedzieć na pytanie, czy określone w planie doświadczenia dwa czynniki (województwo i typ miejscowości: miasto, wieś) powodują zróżnicowanie wyników badania parametrów ATP. Weryfikację postawionych hipotez zerowych: o wpływie obu czynników i interakcji pomiędzy tymi czynnikami wykonano przy przyjętym poziomie istotności $\alpha = 0,05$ (tab. 2).



Rys. 1. Ocena stanu higienicznego powierzchni kuchennych w zależności od lokalizacji – wartości średnie RLU.

Fig. 1. Hygiene level of kitchen surfaces depending on kitchen location – mean values RLU.

Tabela 2

Wyniki analizy wariancji dotyczące wpływu miejsca zamieszkania na poziom higieny badanych powierzchni.

Variance analyses concerning influence of residences on level of evaluated surfaces hygiene.

Czynnik Factor	Blat stołu Table top	Deska Board	Zlew Sink	Lodówka - uchwyt Refrigerator handle	Lodówka - ściana Refrigerator wall
	Wartości testu F / Value test F				
Województwo / Region	1,332	3,643*	16,122*	0,014	0,784
Typ miejscowości / Type of place	0,280	0,310	9,609*	1,272	0,843
Interakcja: Województwo. Typ miejsc. Interaction: Region. Type of place	16,010*	0,001	28,548*	6,138*	3,937*

Symbol * oznacza, że hipotezę zerową należy odrzucić / Symbol * mean that zero hypothesis should be rejected

Poziom ATP niektórych powierzchni kuchennych (deska, zlew) w badanych gospodarstwach w województwie mazowieckim różnił się statystycznie istotnie od poziomu RLU w gospodarstwach zlokalizowanych w województwie podkarpackim. Różnice statystycznie istotne występowały również w przypadku interakcji obu czynników: województwo i typ miejscowości, na badany poziom RLU.

Porównanie średnich wartości RLU powierzchni w badanych kuchniach zlokalizowanych w różnych miejscach, z wartościami referencyjnymi Worsfolda i Griffitha [18] pozwala na bardziej optymistyczne wnioski dotyczące higieny. Poziom higieny deski do krojenia w gospodarstwach miejskich województwa podkarpackiego można uznać jako akceptowany, natomiast pozostałe powierzchnie znajdują się w strefie ryzyka. Podobne wyniki czystości powierzchni uzyskali w swoich badaniach Worsfold i Griffith [18]. Ponad połowa blatów była na poziomie akceptowanym, jednak większość kurków kranów i uchwytów lodówek na poziomie nieakceptowanym.

Z kolei mikrobiologiczną ocenę powierzchni przeprowadzili Beumer i Gifell [13] w 1999 r. w 250 kuchniach domowych, w których w 15 różnych miejscach, między innymi na ścierkach do naczyń, deskach do krojenia i sprzęcie kuchennym badano obecność patogenów. W żadnej z badanych próbek nie stwierdzono obecności *Salmonella*. Mógł się do tego przyczynić fakt, że próbki nie były pobierane podczas przygotowywania posiłku lub bezpośrednio po jego przygotowaniu.

W innych pracach badawczych [3] stwierdzono, że 2 do 4 godzin po przygotowywaniu posiłków liczba Gram-ujemnych bakterii znacznie się zmniejszyła odpowiednio do wysuszenia powierzchni. Gram-dodatnie patogeny, takie jak *Clostridium perfringens* oraz bakterie z grupy coli wykryto we wszystkich badanych domach. *Bacillus cereus* i *Staphylococcus aureus* dominowały głównie w miejscach suchych. *Listeria monocytogenes* były obecne w 10% badanych gospodarstwach domowych.

W badaniach prowadzonych przez Larson [12] w 2003 r., zastosowanie metody ATP w gospodarstwach domowych zostało pozytywnie przyjęte przez domowników. Badania wskazały, że metoda ta może stanowić godne zaufania praktyczne narzędzie do oszacowania warunków higienicznych w domach. Dzięki temu metoda ta może być pomocna specjalistom ds. sanitarnych i innym zajmującym się przenoszeniem zagrożeń mikrobiologicznych w środowiskach domowych.

Wnioski

1. Średnie wartości poziomu ATP na badanych powierzchniach kuchennych znacznie przekraczały przyjęte akceptowane poziomy referencyjne, a także poziomy możliwe do przyjęcia (strefa ryzyka), co wskazuje na brak właściwych praktyk higienicznych podczas postępowania z żywnością w badanych gospodarstwach domowych.

2. Najniższy poziom higieny stwierdzono w kuchniach miejskich gospodarstw województwa mazowieckiego oraz w kuchniach wiejskich województwa podkarpackiego.
3. Metoda ATP może być przydatnym narzędziem oceny stanu higienicznego powierzchni w kuchniach.

Praca została wykonana pod kierunkiem naukowym prof. dr hab. Danuty Kołożyn-Krajewskiej i była prezentowana podczas XII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Lublin, 23–24 maja 2007 r.

Literatura

- [1] Adamczak M., Bednarski W., Kowalska A.: Szybkie testy biologiczne szansą poprawy i standaryzacji jakości żywności. *Przem. Spoż.*, 1999, **53**, 6, 36-40.
- [2] Beumer R.E., te Eiffel M.C. Pathogens in domestic kitchens: facts and fiction. In: Tuijelaars, A.C.J., Samson R. A., Rombouts F.M., Notermans S. (Eds.) *Food Microbiology and Food Safety into the Next Millenium*. Zeist, The Netherlands 1999, pp. 345-347.
- [3] Beumer R. R., Kusumaningrum H. D. Kitchen in daily life. *International Biodeterioration and Biodegradation* 2003, **51**, 299-302.
- [4] Beumer R. R., Kusumaningrum H. D. Survival and cross-contamination of foodborne pathogens in the domestic kitchen: a review. In: *Restaurant and Catering Food Safety: Putting HACCP on the Menu*, editors: Maunsell B., Bolton D.J. 2005, pp. 42-60.
- [5] Czaczyk K.: Bioluminescencyjny pomiar ATP – szybka metoda oceny zakażenia mikrobiologicznego. *Przem. Spoż.*, 1999, **53**, 12, 39-40.
- [6] Czajkowska D., Witkowska-Gwiazdowska A. Ocena stanu higieny w zakładach piwowskich. Zastosowanie metody oznaczania ATP. *Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 1996, **6**, 5-7.
- [7] Grzebińska W. Higiena Absolutna Coś Całkiem Proste (XXIII). *Przegl. Gastr.*, 2006, **1**, 4.
- [8] Jałosińska-Pieńkowska M.: Nowoczesne metody mikrobiologiczne w zapewnieniu i kontroli higieny produkcji żywności. W: *Higiena produkcji żywności – red. Kołożyn-Krajewska D.*, Wyd. SGGW, Warszawa 2003.
- [9] Josephson K.L., Rubino J.R., Pepper I.L. Characterization and quantification of bacterial pathogens and indicator organisms in household kitchen with and without the use of a disinfectant cleaner. *J. Appl. Microbiol.*, 1997, **83**, 737-750.
- [10] Kołożyn-Krajewska D. (red.): *Higiena produkcji żywności*. Wyd. SGGW, Warszawa 2003.
- [11] Kołożyn-Krajewska D., Korczak J.: Mikroorganizmy w przetwórstwie domowym i technologii potraw. W: *Mikroorganizmy w żywności i żywieniu - red. Gawęcki J., Libudzisz Z.*, Wyd. AR, Poznań 2006.
- [12] Larson E. L., Aiello A.E., Gomez-Duarte C., Lin S.X., Lee L., Della-Latta P., Lindhardt Ch.: Bioluminescence ATP monitoring as a surrogate marker for microbial load on hands and surfaces in the home. *Food Microbiol.*, 2003, **20**, 735-739.
- [13] Redmon E.C., Griffith C.J.: Consumer food handling in the home: a review of food safety studies. *J. Food Prot.*, 2002, **66** (1), 130-161.
- [14] Rusin P., Orosz-Coughlin P., Gerba C.: Reduction of fecal coliform, coliform and bathroom by disinfection with hypochlorite cleaners. *J. Appl. Microbiol.*, 1998, **85**, 819-828.

- [15] Scott E., Bloomfield S.F. The survival and transfer of microbial contamination via cloths, hands and utensils. *J. Appl. Bacteriol.*, 1990, **68**, 271-278.
- [16] Stoińska H.: Higiena personelu produkcyjnego. W: *Mikrobiologia i higiena w przemyśle spożywczym* red. - Żakowska Z., Stoińska H., Wyd. PŁ, Łódź 2000.
- [17] Worsfold D., Griffith C.J. Cross-contamination in domestic food preparation. *Hygiene and Nutrition in Foodservice and Catering*, 1996, **1**, 151-162.
- [18] Worsfold D., Griffith C.J. An assessment of cleanliness in domestic kitchens. *Hygiene and Nutrition in Foodservice and Catering*, 1996, **1**, 163-173.

APPLICATION OF BIOLUMINESCENCE ATP FOR LEVEL OF HYGIENE ESTIMATION AT HOMES

Summary

Aim of the study was assessment of ATP bioluminescence measurement results for hygiene level evaluation at homes. Analysis of obtained results was performed depending on kind of evaluated surface and location of housekeeping. Five kitchen surfaces (sink, board, wall and handle of refrigerator) at 100 homes in town and village localized in mazowieckie and podkarpackie region were evaluated. Mean values of ATP levels on evaluated kitchen surfaces considerably surpassed accept reference level as well as zone risk. It indicates lack of proper hygiene procedures during food preparation at evaluated homes. Lowest level of hygiene was obtained in town kitchens of mazowieckie region and in village kitchens of podkarpackie region. ATP method can be useful tool for surface hygiene estimation at homes.

Key words: household, hygiene, ATP measurement 