Mikrobiologická rizika.

Ochrana proti MO – principy.

Kamila Míková

VŠCHT PRAHA

Kategorie závažnosti alimentárních agens

- Původci ohrožující zdraví

Clostridium botulinum

Salmonella typhi

Listeria monocytogenes (těhotné ženy,děti,oslabená imunita)

Vibrio cholerae

Vibrio vulnificus

Intoxikace z mlžů a ryb

Toxiny vyšších rostlin (hub)

Kategorie závažnosti alimentárních agens – pokr.

- Původci vážných nebo chronických nemocí

Brucella

Campylobacter

E. coli

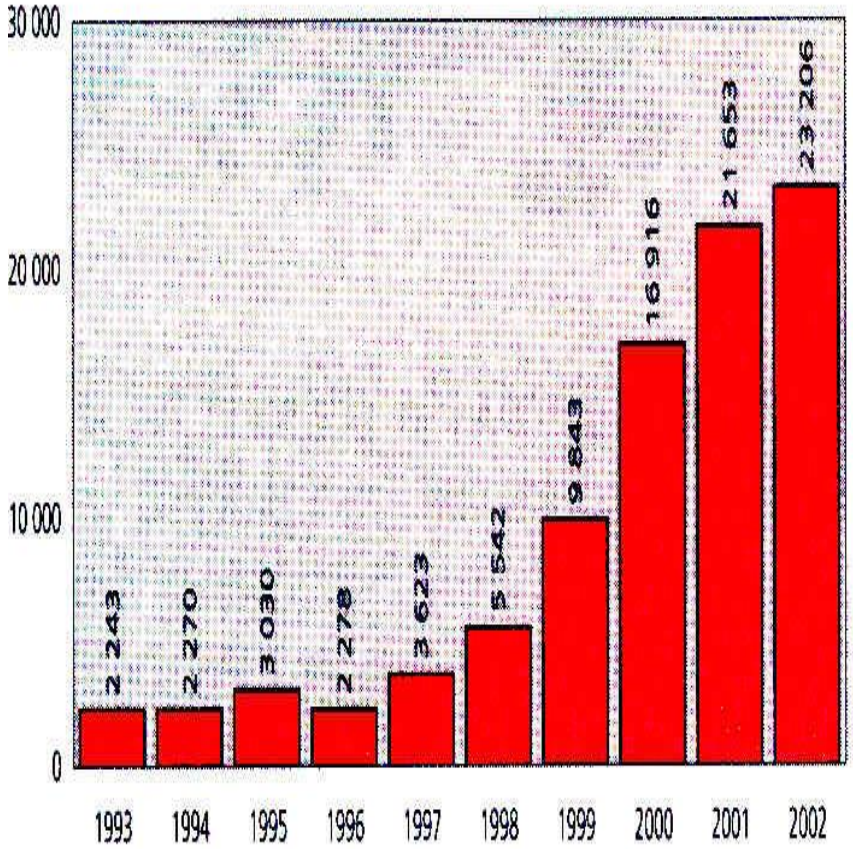
Salmonella spp.

Shigella spp.

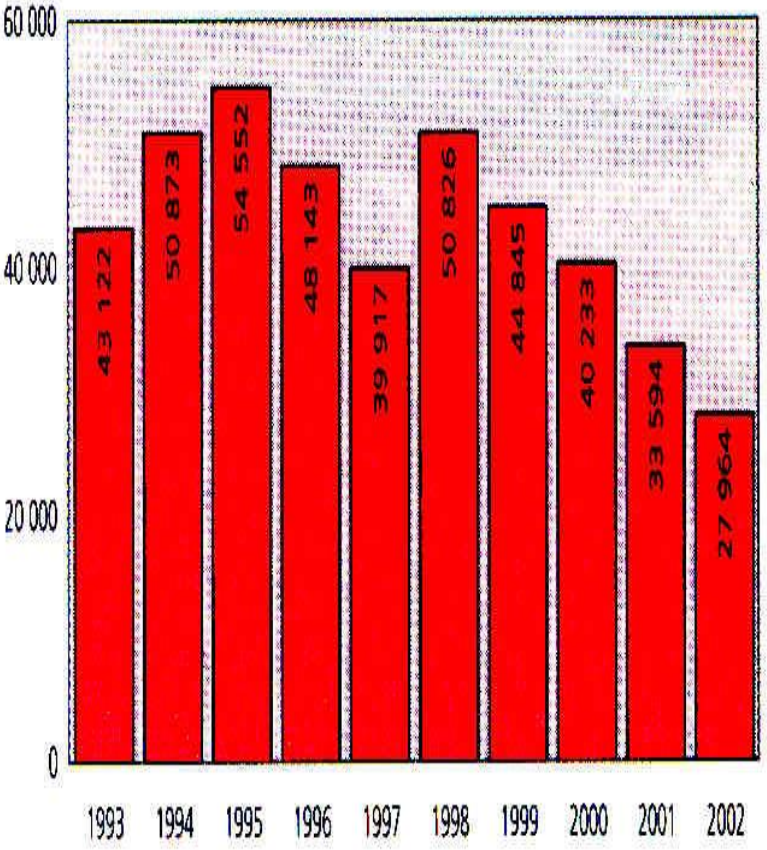
Streptococcus typ A

Vibrio parahaemolyticus

Klesá podíl otrav botulinem, stoupá výskyt listerióz

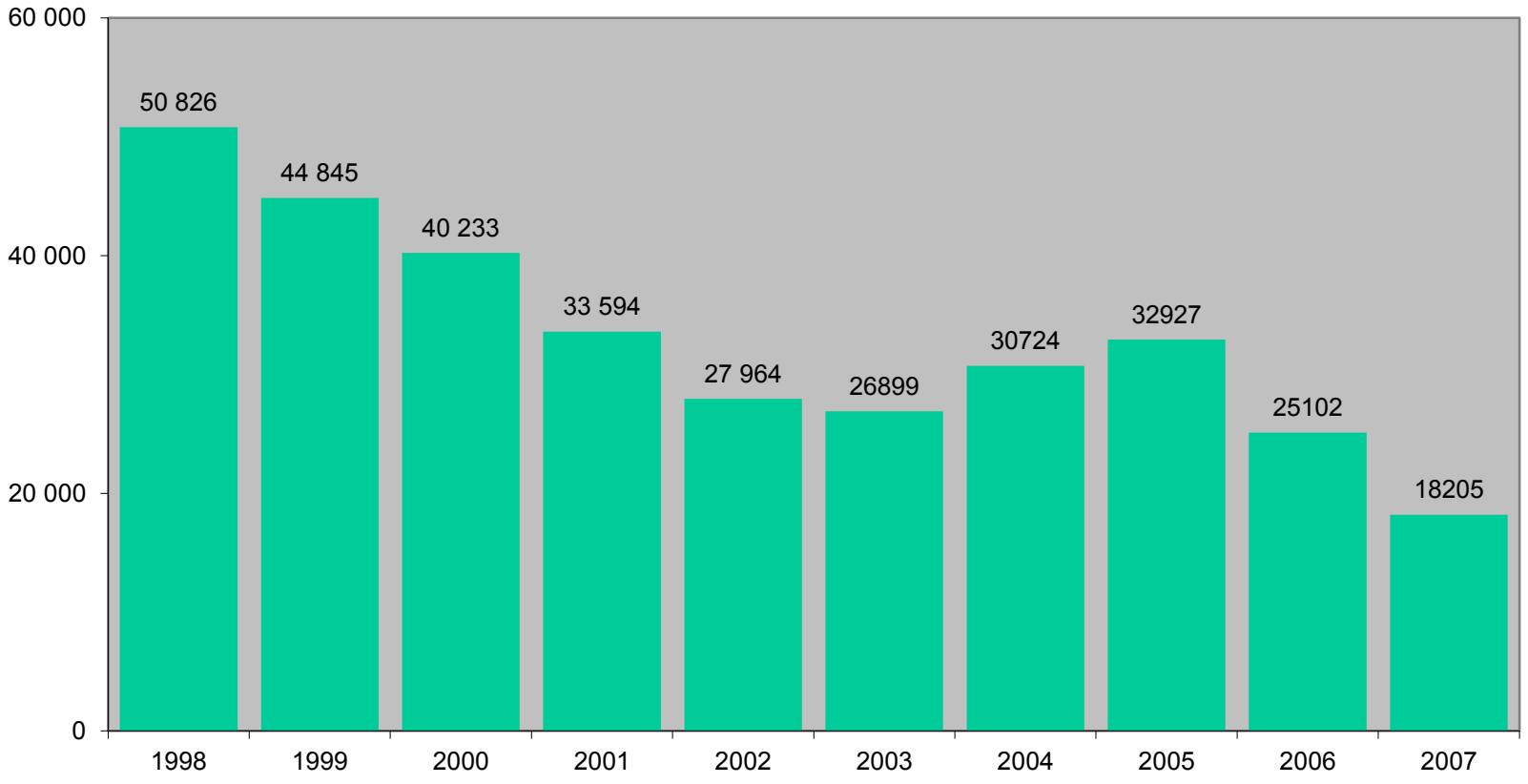


Campylobacter



Salmonella

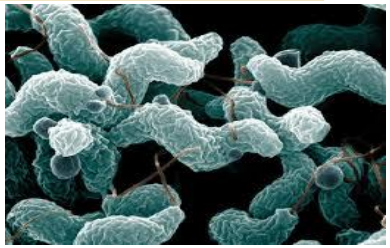
Počet onemocnění salmonelou z potravin v ČR 1998 - 2007



Souhrnná zpráva EFSA za rok 2013

- Kampylobakterióza - nejčastější alimentární onemocnění v EU (214 779 případů v r. 2013) - drůbež.
- Případy salmonelóz (celkem 82 694 případů v r. 2013) klesly, a to o 7,9 % ve srovnání s rokem 2012. Zpráva tento pokles přičítá úspěšné realizaci programů pro snižování salmonel prováděných u drůbeže ve členských státech v roce 2013.

- **Salmonela**
  - **Nejčastější původce onemocnění potravinou (> 90 %)**
  - **Ročně onemocní 1000-10000 lidí / 1 milion**
  - **Ročně zemře 1,5 lidí / 1 milion**
  - **Náklady na zdravotnictví :**
    - USA - 4 miliardy USD / rok (1350 USD / případ)
    - UK - 350-500 GBP / rok (800 / případ)



Campylobacter

- Kampylobakterióza je závažná alimentární infekce člověka připomínající salmonelózu, vyvolávaná termofilní bakterií Campylobacter jejuni
- Inkubační doba většinou 3-5 dní
- Zdrojem původce nákazy jsou teplokrevná zvířata, včetně domácích a ptáků, v jejichž střevech se C. jejuni nachází. Pravděpodobně největší rezervoár nákazy představuje drůbež.
- Zdrojem nákazy může být i člověk, který vylučuje C. jejuni ve stolici.
- Období nakažlivosti
- C. jejuni je vylučován ze stolice po celou dobu onemocnění a několik dní po jeho ukončení. Jsou známy případy, kdy vylučování trvalo 2 i více týdnů.
- Kampylobakterióza je akutní bakteriální střevní onemocnění různé závažnosti, které charakterizuje průjem, bolesti břicha, horečka, nevolnost a zvracení. Bolesti břicha bývají často doprovázeny kolikami. Nemoc trvá 4-7 dní

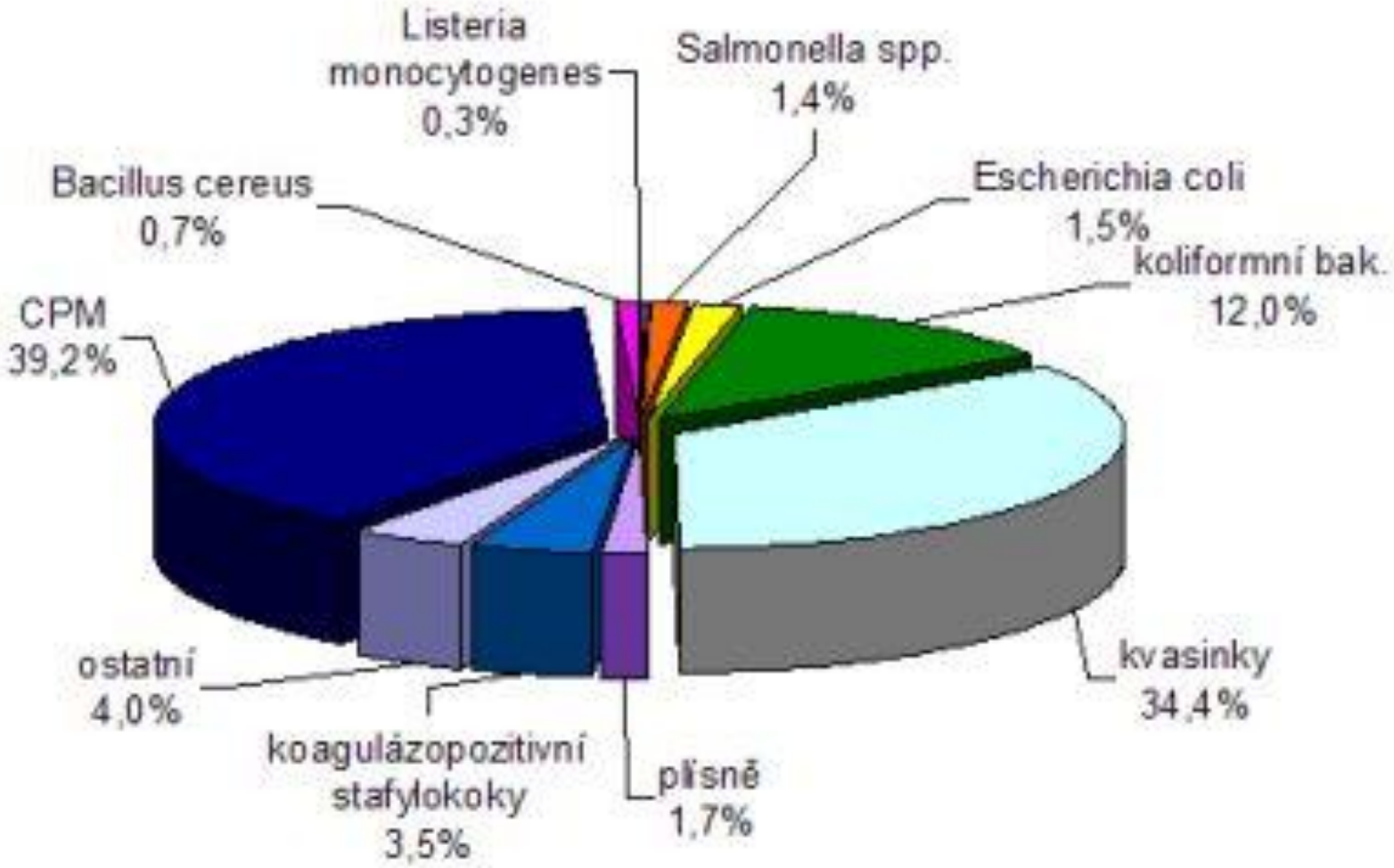
Kategorie závažnosti alimentárních agens – pokr.

- ✓ *Yersinia enterocolitica*
- ✓ Virus hepatitidy A
- ✓ Mykotoxiny
- ✓ Tetramin
- ✓ Chemické kontaminanty ?

Kategorie závažnosti alimentárních agens – pokr.

- Původci mírných onemocnění

✓ *Bacillus spp.*
✓ *Clostridium perfringens*
✓ *L. monocytogenes* (dospělí zdraví lidé)
✓ *Staphylococcus aureus*
✓ *Norwalk – like virus*
✓ Většina parazitů
✓ Histamin
✓ Těžké kovy ?


Listeria monocytogenes 0,3%
Salmonella spp. 1,4%
Escherichia coli 1,5%
koliformní bak. 12,0%
Bacillus cereus 0,7%
CPM 39,2%
kvasinky 34,4%
ostatní 4,0%
koagulázopozitivní stafylokoky 3,5%
plísně 1,7%

Vlastnosti nejvýznamnějších patogenních MO

	Salmonella	***Campylobacter jejuni***	***Cl. perfringens***
Zdroje kontaminace	Zaž. trakt člověk, zvíře	Zaž. trakt člověk, zvíře	Zaž. trakt člověk, zvíře,půda
Potraviny	Maso,drůbež vejce,mléko	Maso,drůbež vejce,mléko	Masové konzervy
Závažnost	Častý výskyt, smrtelná(děti staří lidé)	Častý výskyt USA, Evropa	Častý výskyt, spory

Infekční dávka	$>10^6$ (10^4)	Nízká (500/g)	Vysoká (10^9), 10mg toxinu
Inkubační doba	12-72 h	72-120 h	8-24 h
Symptomy	Průjem,horečka,zvracení	Průjem,horečka,zvracení	Průjem, není horečka
Vlastnosti	G^-,fakultativně anaerobní t(°C) 5 – 45 pH 4,5 – 9 aw min. 0,95 sůl max. 8%	G^- mikroaerofilní t(°C) 25 – 47 pH 4,9 – 9,5 aw min. ? sůl max. 2%	G^+,sporulující, anaerobní t(°C) 12 – 50 pH 4,0 – 10 aw min. 0,95 sůl max. 6%

	Yersinia enterocol.	***E. coli***	***E. coli O157H7***
Zdroje kontaminace	Zaž. trakt člověk, zvíře	Zaž. trakt člověk, zvíře	Zaž. trakt člověk, zvíře,půda
Potraviny	Maso,masné výrobky	Zelenina, sýry	Mleté maso a výrobky
Závažnost	Vzrůstající	Vzrůstající, toxiny	Velmi nebezpečná, smrtelná

Infekční dávka	Není známá	Vysoká 10^5-10^8/g	Není známá
Inkubační doba	24-36 h	12-72 h	2-10 dní
Symptomy	Průjem,horečka,zvracení	Průjem,horečka,zvracení	Hem.zánět tl.střeva,selhání ledvin
Vlastnosti	G^-,fakultativně anaerobní t(°C) 0-1 – 45 pH 4,5 – 9 aw min. 0,95 sůl max. 5-8%	G^-,fakultativně anaerobní t(°C) 4 – 45 pH 4,4 – 9,5 aw min. 0,95 sůl max. 6-8%	G^-,fakultativně anaerobní t(°C) 10 – 45 pH 4,4 – 9 aw min. 0,95 sůl max. 6-8%

- **E.Coli O157:H7**
  - ***První výskyt - 1982 (USA, hamburger)***
  - ***1982-1996 – 20 000 případů, z toho 100 smrtelných***
    - 1996 Skotsko, 400 onemocnění, 13 smrtelných
    - 1996 Japonsko, 8500 onemocnění, 5 smrtelných
    - 1997 USA, 12,5 tun hamburgerů staženo z trhu
  - ***Značná citlivost na vyšší teploty***
  - ***Inkubační doba - 12-72 hod., trvání 1-10 dnů***
  - ***Onemocnění***
    - Střevní (krvavé průjmy)
    - Systémové (HUS - hemolytic uremic syndrom) - rozklad červených krvinek a selhání funkce jater (2-7 % případů)
  - ***Zdroj - hovězí maso, mléko***

	St. aureus	***Bacillus cereus***	***Cl. botulinum***
Zdroje kontaminace	Lidé -pokožka, poranění,nos	Půdní bakterie	Zaž. trakt člověk, zvíře, půda
Potraviny	Hotová jídla, saláty,zákusky	Rýže	Šunka, ryby, konzervy (maso,zelenina)
Závažnost	Častá,ne vážná	Toxiny, spory	Zřídka,smrtelný toxin

Infekční dávka	1 mg toxinu	Vysoká 10^6/g	Velmi nízká 0,2µg toxinu
Inkubační doba	2-6 h	1-6 h	12-36 h
Symptomy	Průjem, zvracení	Průjem, zvracení	Poruchy vidění,ochrnutí, smrt
Vlastnosti	G^+,fakultativně anaerobní t(°C) 7-11 – 48 pH 4 – 10 aw min. 0,86 sůl max. 20%	G^+,fakultativně anaerobní t(°C) 10 – 50 pH 4,4 – 9,5 aw min. 0,91 sůl max. 10%	G^+,ananaerobní, spory t(°C) 3,3 – 48 pH 5 – 9 aw min. 0,94 sůl max. 10%

	Listeria monocytog.	***Shigella***	***Toxinogenní plísně***
Zdroje kontaminace	Prostředí - všude	Zaž. trakt člověk, zvíře	Prostředí
Potraviny	Vepř.maso, sýry, masné výrobky	Zelenina,ruční výroba	Cereálie,olejniny ovoce, ořechy
Závažnost	Velmi nebezpečná, smrtelná,poškození plodu	Vzrůstající	Významná (klim.podm.)

Infekční dávka	Nezámá, nízká pro sníženou imunitu	Vysoká 10^6/g	Různá
Inkubační doba	24 h-3 týdny	24-168 h	Po dlouhodobé konzumaci
Symptomy	Zánět mozk. blan,potrat	Průjem, horečka	Různé (rakovina)
Vlastnosti	G^-,fakultativně anaerobní t(°C) 1-4 – 45 pH 4,5 – 9 aw min. 0,92 sůl max. 10%	G^-,fakultativně anaerobní t(°C) 5 – 50 pH 4,4 – 9,5 aw min. 0,95 sůl max. 5-6%	Aerobní t(°C) 10 – 45 pH 1,5 – 11 aw min. 0,7-0,99 sůl max. 1-20%

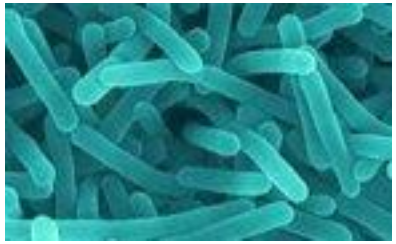
- **Listeria monocytogenes**
  - V poslední době roste počet případů
  - Vysoká úmrtnost u rizikových skupin obyvatel (cca 20-30 %)
  - V USA ročně ca 1850 případů, z toho 425 smrtelných, v ČR v roce 2006 zaznamenáno 8 úmrtí
  - Roste i při nízkých teplotách (nad 1°C)
  - Značné rozšíření v přírodě (sladká i slaná voda, vadnoucí vegetace, siláže, odpadní voda, výkaly zvířat)
  - Nejčastější zdroje nákazy - syrová zelenina (saláty), mléčné výrobky (měkké sýry), lahůdkové saláty
  - Inkubační doba 1-90 dnů
  - Onemocnění - mírná chřipka, bolesti hlavy, u rizikových skupin až onemocnění centrálního mozkového systému

Mikrobiologické nebezpečí

Nebezpečí :

- vlastnosti mikroorganismu (patogenita, virulence (životnost, schopnost vyvolat infekci), tvorba toxinů)
- vnímavost člověka (věk, imunita, nemoci, stres)

Nové technologie – minimálně opracované potraviny, chlazené potraviny, prodlužování trvanlivosti (tlaky řetězců)



Mikrobiologické riziko

Riziko :

- pravděpodobnost vzniku a závažnost onemocnění
- ovládání (snížení až vyloučení), bariery

Příklad : *Salmonella spp.*

Kojenecká výživa ≈ vysoké riziko

Syrové maso ≈ vysoké riziko (přímá konzumace)

≈ nízké riziko (bariery – teplota)

Konzervy ≈ žádné riziko

Mikrobiologické riziko – pokr.

Posouzení :

- přítomnost MO
- identifikace MO
- frekvence výskytu MO (vliv podmínek)
- epidemiologické studie
- nové patogeny – vlastnosti, ovlivňující faktory (Enterobacter sazakii – dětská výživa)

Mikrobiologické riziko – pokr.

Charakterizace :

- vlastnosti mikroorganismu – biologická povaha (bakterie, viry…)
- virulence
- způsob vyvolání onemocnění
- místa vstupu do organismu (ústa, střeva)
- rezistence k antibiotikům

Mikrobiologické riziko – pokr.

- vztah MO a potraviny :

  - odolnost k vnějším podmínkám (výrobní proces, teplota …)

  - složení potraviny (a_w, kyselost, konzervanty)

- vztah MO a hostitele :

  - vnímavost hostitele

  - specifita pro hostitele (*L. monocytogenes*)

Hodnocení rizika

- **Závažnost**
- 1 = Nevýznamné – Není znám dopad na lidské zdraví
- 2 = Nízké – Nevýznamný vliv na zdraví, ale může vyvolávat znepokojení
- 3 = Mírné – Způsobuje onemocnění, nutná léčba
- 4 = Vysoké – Nevratné poškození zdraví (trvalé následky, smrt)

Hodnocení rizika

- **Četnost**
- 1 = Zanedbatelná Žádné známé případy
- 2 = Nízká Může se objevit, jsou známy případy z literatury, ale neobjevilo se u výrobce
- 3 = Mírná Ojediněle se objevilo u výrobce
- 4 = Vysoká Vysoký výskyt u výrobce

Hodnocení rizika

- **Zjistitelnost**
- 1 = Vysoká ◌ Zjištěné u výrobce, pozastavený produkt
- 2 = Mírná ◌ Detekováno u výrobce, riziko, že byl produkt uveden na trh
- 3 = Nízká až zanedbatelná ◌ Zřídka nebo vůbec nedetekováno u výrobce

Klasifikace mikrobiálního nebezpečí v potravinách

- Skupina A – výrobky, které nejsou sterilované a jsou určeny pro rizikové skupiny spotřebitelů
- Skupina B – výrobek obsahuje rizikové složky
- Skupina C – technologický proces neobsahuje operace, jimiž by byly spolehlivě inaktivovány rizikové MO

Klasifikace mikrobiálního nebezpečí v potravinách – pokr.

- Skupina D – výrobek může být rekontaminován po skončení technologického procesu
- Skupina E – kontaminace výrobku během distribuce nebo při přípravě pokrmů (neodborné zacházení - spotřebitel)
- Skupina F – výrobek se konzumuje bez tepelného ošetření (výroba, kuchyňská úprava)

Druhy mikroorganismů (MO)

- MO působící kažení potravin – mění vůni, chuť, barvu, konzistenci, nemusí poškozovat zdraví
- MO působící onemocnění (patogeny) – při infekční dávce poškozují zdraví, nemusí vykazovat změny potraviny
- MO tvořící toxiny – zdraví poškozují toxiny (exo a endogenní)

Činnost MO - ochrana

$$R = \frac{\text{četnost mikroorganismů x virulence}}{\text{odolnost prostředí}}$$

R …intenzita mikrobiálních procesů v potravinách

Činnost MO – ochrana pokr.

Snižování rizika :

⇒ metody abiotické (přímá inaktivace mikroorganismů)

⇒ metody anabiotické (úprava prostředí)

Využívá se v HACCP při formulaci CCP.

Činnost MO – ochrana pokr.

Snižování četnosti MO a virulence

- 1. Vylučování mikroorganismů z prostředí (omezování kontaminace)

✓ čistota místností a zařízení

✓ čistota surovin, pomocného materiálu a přísad

✓ čistota vody

✓ čistota vzduchu

✓ čistota pracovníků

- Dodržování zásad SHP / SVP

Činnost MO – ochrana pokr.

- 2. Snižování počtu MO během zpracování

✓ praní surovin a tuhých polotovarů (loupání)

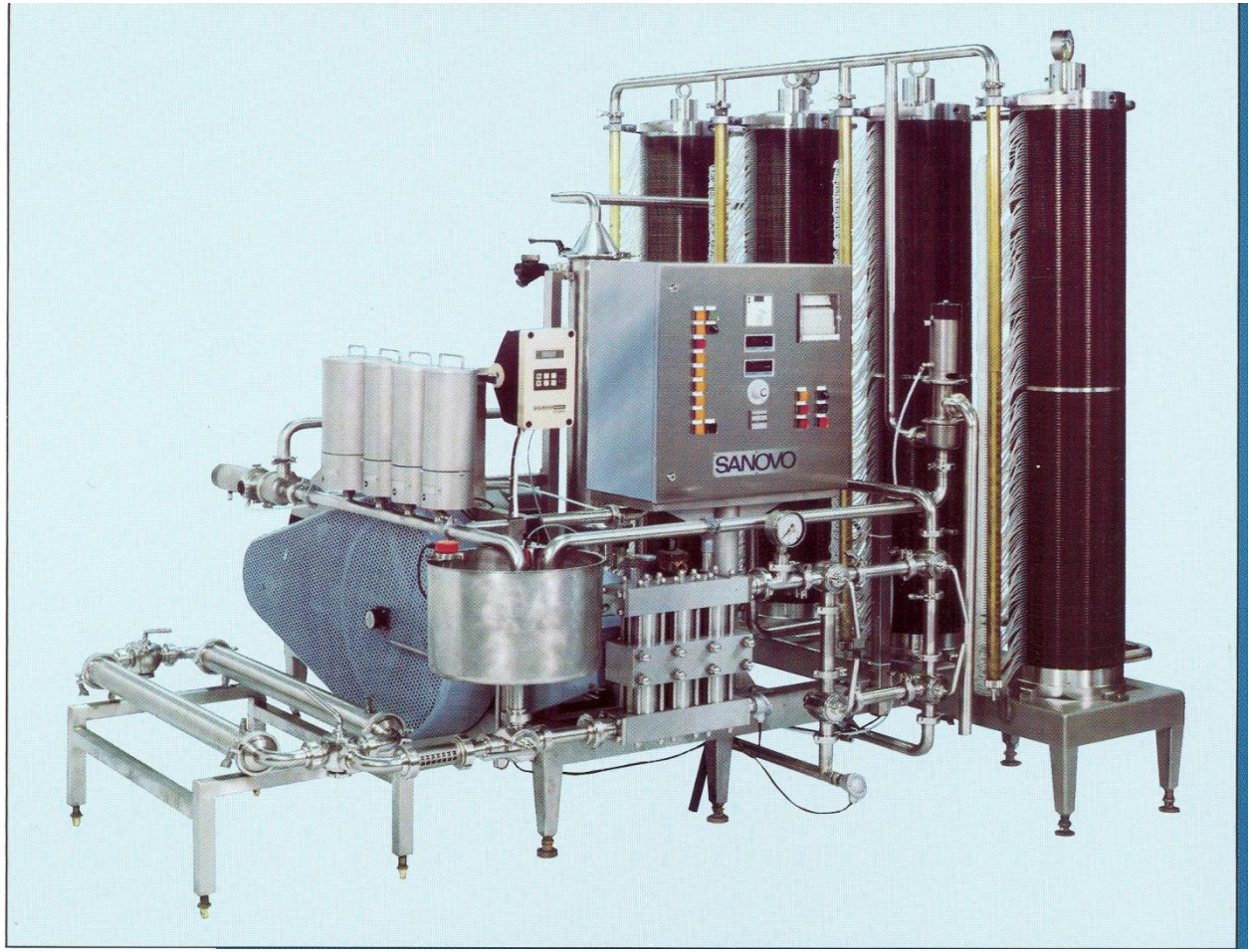
✓ odstřeďování kalových látek (šťávy)

- 3. Vylučování mikroorganismů z potravin (mechanická sterilace)

✓ mikrobiální filtrace vody

✓ mikrobiální filtrace šťáv

✓ ultrafiltrace a reverzní osmóza



Reverzní osmóza

Činnost MO – ochrana pokr.

- 4. Přímá inaktivace MO (pasterace,sterilace)

✓ fyzikální zákroky : teplota, el. proud, vysokofrekvenční ohřev, ozařování, ultrazvuk, hydrostatický tlak

✓ chemické zákroky : ozon, peroxid vodíku, oligodynamické Ag($\rightarrow Ag^+$)~ S-S vazby v buněčných membránách bakterií (blokace SH skupin dehydrogenáz); nano Ag - obaly,voda, dialkylestery kys. diuhličité (rozklad voda; AK→etylkarbamát), fumiganty (etylenoxid ⇒ suš. ovoce, koření, obaly, sklady)

Činnost MO – ochrana pokr.

Úprava prostředí

- 1. Odnímání vlhkosti

✓ sušení

✓ zahušťování (odparky)

✓ proslazování

✓ solení

Činnost MO – ochrana pokr.

- 2. Snižování teploty
- ✓ chlazení
- ✓ zmrazování
- 3. Odnímání kyslíku
- ✓ evakuace
- ✓ netečné plyny (N,CO_2)
- ✓ upravená atmosféra
- ✓ olejování

Činnost MO – ochrana pokr.

- 5. Chemická úprava

✓ chemické konzervanty

✓ uzení

✓ okyselování

✓ alkoholizace

✓ antibiotika

✓ fytoncidy

Činnost MO – ochrana pokr.

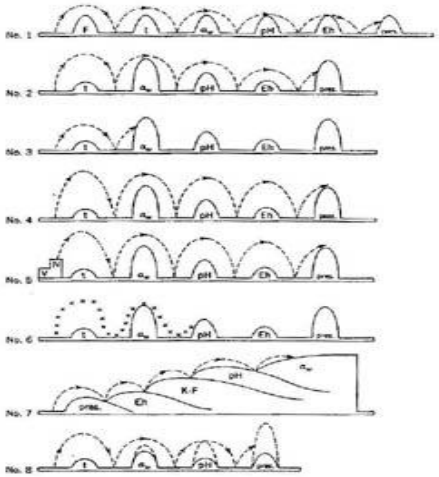
- 6. Biologická úprava

✓ etanolové kvašení

✓ mléčné kvašení

✓ biociny

Kombinované účinky („barierový efekt“)



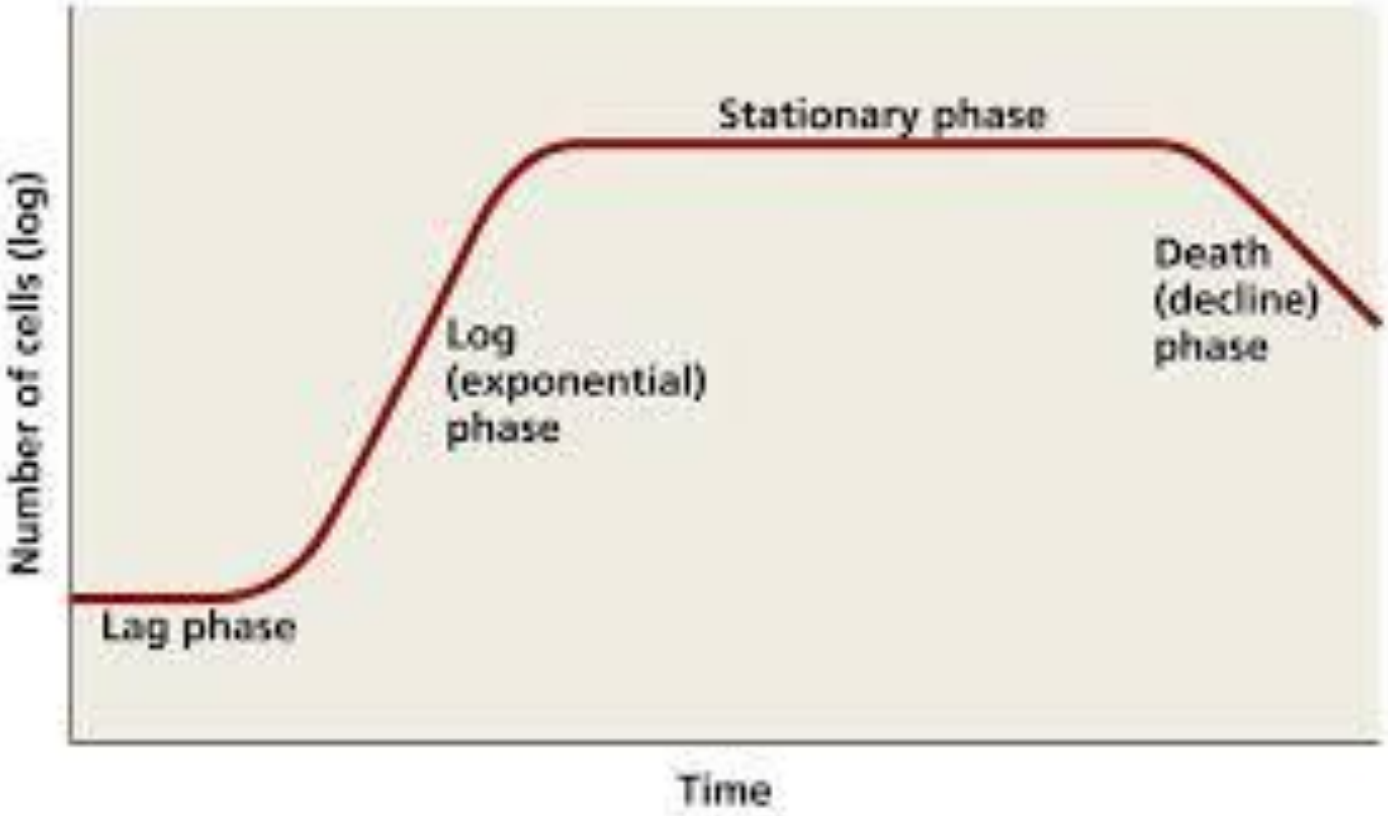
- F – tepelný zákrok – pasterace
- t – teplota
- aw – aktivita vody
- pH
- Eh – redoxní potenciál
- pres. – konzervační látka
- No. 5 – trampolínový efekt – např. multivitamínový nektar
- No.7 - kaskádový efekt –např. fermentovaný salám

Generační doba

Mikroorganismus	Generační doba (h)
Streptococcus thermophilus	0,20
Escherichia coli	0,35
Bacillus subtilis	0,43
Clostridium botulinum	0,58
Mycobacterium tuberculosis	12,0
Saccharomyces cerevisiae	2,0

Generační doba – doba potřebná k zdvojnásobení počtu buněk

Růstová křivka bakterií



Copyright © 2000 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

Množení bakterií v exponenciální fázi

GENERACE	POČET BAKTERIÍ
0	1
1	2
2	4
3	8
4	16
n	2^n

Počet bakterií obecně: $x = x_0 \cdot 2^n$

Faktory ovlivňující růst patogenních MO

MO	T (°C)			pH			a_w
	Min	Opt.	Max	Min	Opt.	Max	Min.
Bacillus cereus	5	30	50	4,4	7	9,3	0,93
Campylobacter	25	42	45	4,9	7	8,5	
C. botulinum E	3	30	45	5,0	7	8,5	0,97
C.perfringens	15	46	50	5,0	7	8,9	0,96
L.monocytogenes	0	37	44	4,5	7	8,0	
Salmonella spp.	6(4)	43	46	3,8	7	9,0	0,95
S. aureus	7	37	48	4,3	7	9,0	0,83
Vibrio cholerae	5	37	44	6,0	7	11	0,97

Tepelná rezistence spór

Přežívající spóry	Kombinace teploty a doby (pH 6,8; a_w 0,98)	
	T (°C)	Doba (min.)
C.botulinum E, Bacillus macerans a další bacily	90	10
C. botulinum A, B, některé bacily	100 / 120	30 / 3
B.stearotermophilus, C.sporogenes	115 / 120	10 / 4
C.thermosaccharolyticum	120	45

Ochranné faktory potravin

- kyselost (pH) :

potraviny kyselé (technologicky) - pH < 4,0

potraviny málo kyselé – pH 4,0 – 6,5

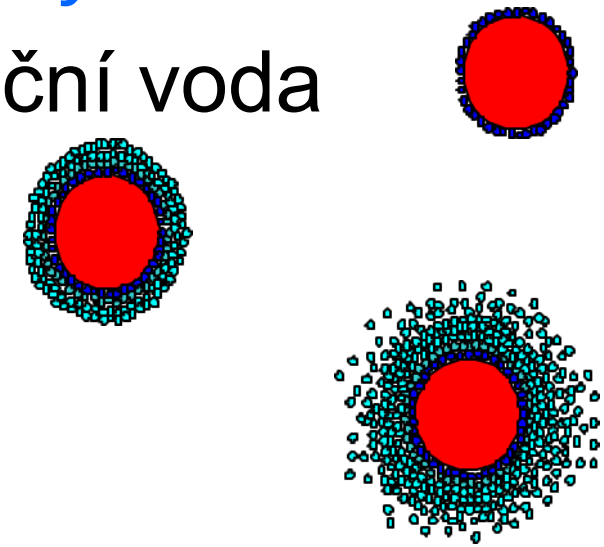
potraviny nekyselé – pH > 6,5

Hodnoty pH vybraných potravin a rozmnožování patogenních MO

Rozsah pH	Potraviny	Patogenní MO
> 7	bílek, černé olivy	do pH 8,5 většina MO
6,5 - 7	mléko, drůbež, šunka, tvaroh	*Salmonella, E.coli, Campylobacter*, *S. aureus, Clostridium, B.cereus*
5,3 - 6,4	maso,ryby, zelenina	tytéž, pomalejší rozmnož.
4,5 - 5,2	sýry, ovoce	tytéž, ustávání rozmnož.
3,7- 4,4	rajčata,majonéza, jogurt,džusy,ovoce	toxinogenní plísně
< 3,7	kvaš. zelí,dresinky, džemy	bakterie hynou, kvasinky,plísně

Ochranné faktory potravin

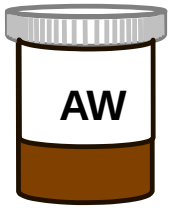
- dostupnost vody
  - pravá hydratační voda
  - voda vázaná
  - voda volná
  - aktivita vody – a_w („mobilnost vody“)



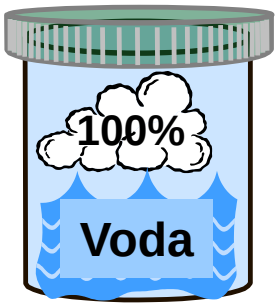
$a_w = p / p_{H2O}$

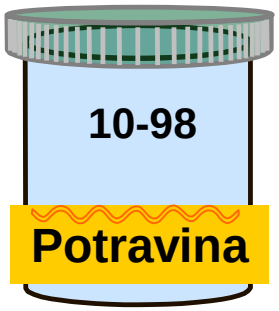
p – tenze par potraviny

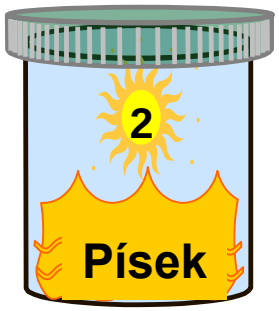
p_{H2O} - tenze par vody



Water Activity – aktivita vody a_w







- Mikroorganismy potřebují k růstu určité množství vody
- Množství vody využitelné mikroorganismy ~ a_w
- Poměr tlaku vodní páry nad vzorkem a tlaku vodní páry nad čistou vodou za stejné teploty :

$$a_w = pvz./pH2O$$

- Vodní aktivita je přímo úměrná rovnovážné relativní vlhkosti

$$\% RH = a_w . 100$$

Hodnoty a_w vybraných potravin a rozmnožování patogenních MO

a_w	Potraviny	Patogenní MO (schopné růstu)
0,98 - 0,999	mléko, maso,ryby, zelenina a ovoce v nálevu	*Salmonella,E.coli,S.aureus, Campylobacter,B.cereus,C. perfringens,C.botulinum*
0,93-0,97	sýry,salámy,solené maso a ryby, chléb	tytéž, pomalejší růst (*S.aureus* roste dobře)
0,85-0,92	slazené mléko, ferment.salámy	*S.aureus (netvoří toxin),* plísně (toxinogenní)
0,60-0,84	mouka, džemy,ořechy suš.ovoce,zelenina	patogeny ne, plísně,kvasinky
< 0,60	čokoláda,těstoviny, med,sušenky	patogeny nerostou, ale přežívají

Další ochranné faktory

- Redoxpotenciál (E_H) $\Rightarrow$ množství dostupného kyslíku (oxidační l.~ pozitivní E_H, redukční l. negativní E_H)

skupiny MO	**E_H** (mV)
aerobní	+ 500 až + 300
fakultativně anaerobní	+ 300 až - 100
anaerobní	+ 100 až - 250

Nároky významných MO na kyslík

Bakterie	Spory	Vztah ke kyslíku
Salmonella	ne	fak. anaerobní
St. aureus	ne	tolerantní
Clostridium	ano	anaerobní
Yersinia enterocolytica	ne	fak. anaerobní
Listeria monocytogen.	ne	aerobní
Bacillus cereus	ano	aerobní
Lactobacillus	ne	fak. anaerobní
Pseudomonas	ne	aerobní
Bacillus	ano	aerobní

Další ochranné faktory

- Antagonismus mezi MO

C. botulinum X Enterobacteriaceae

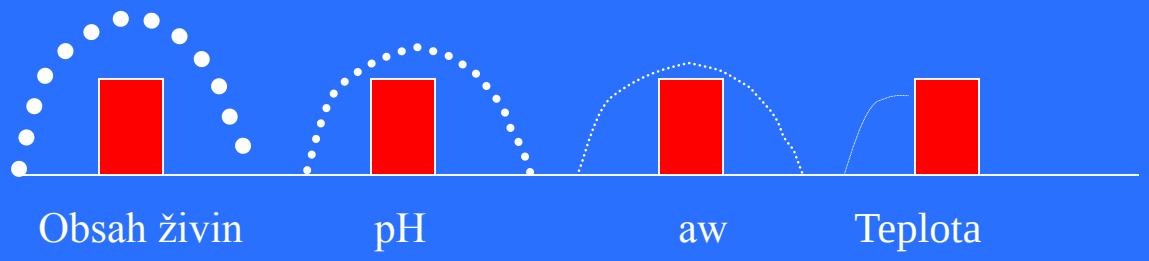
Salmonella X Pseudomonas, E.coli

S. aureus X laktobacily

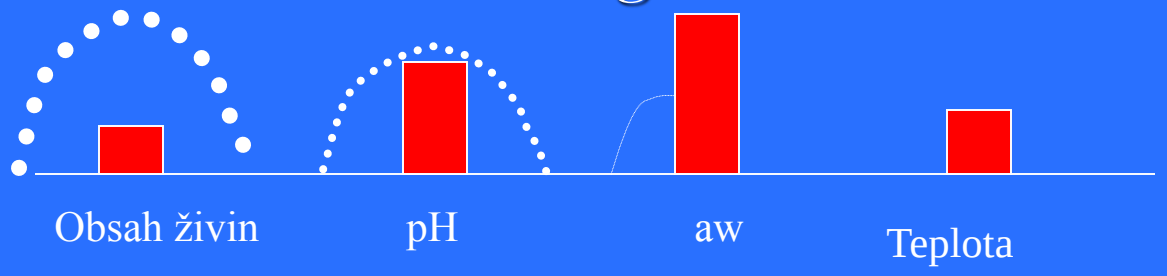
- Složky potraviny – bakteriociny, fytoncidy
- Dostupnost živin

Kombinace jednotlivých faktorů – tzv. překážkový (barierový) efekt

- Účinek jednotlivých parametrů se sčítá

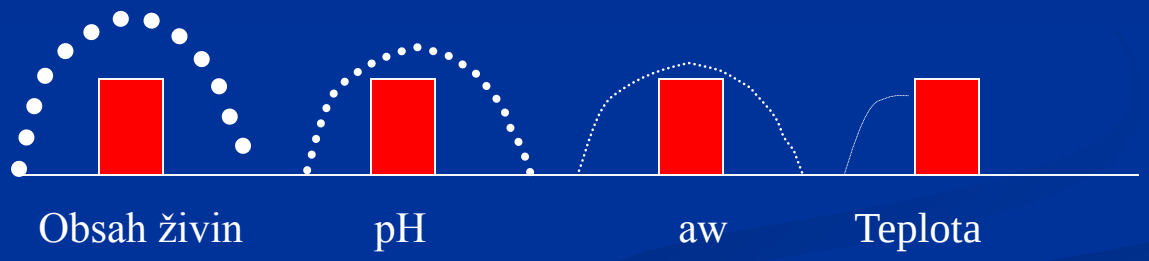
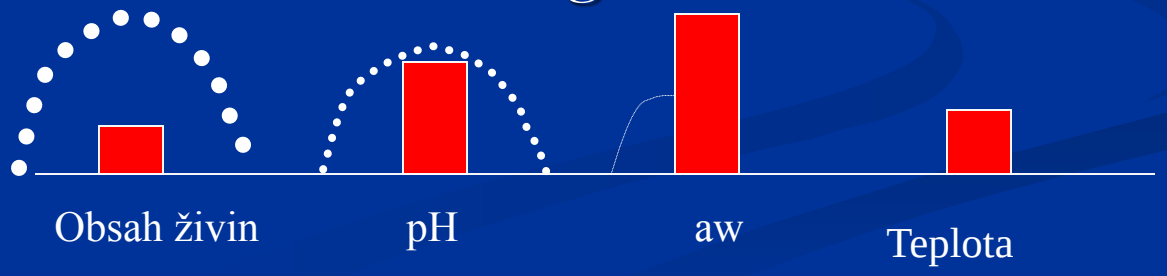


- Význam jednotlivých překážek závisí na složení potraviny a vlastnostech mikroorganismu



Kombinace jednotlivých faktorů – tzv. překážkový efekt

- Účinek jednotlivých parametrů se sčítá



- Význam jednotlivých překážek závisí na složení potraviny a vlastnostech mikroorganismu