

Sledování kvality stravování v Menze UTB ve Zlíně z hygienického hlediska

Bc. Radek Hrubý

Diplomová práce
2007



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav potravinářského inženýrství

akademický rok: 2006/2007

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Radek HRUBÝ**
Studijní program: **N 2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**

Téma práce: **Sledování kvality stravování v Menze UTB ve Zlíně z hygienického hlediska**

Zásady pro vypracování:

1. V teoretické části zpracujte literární rešerši týkající se charakteristiky a výskytu mikroorganismů v potravinářských produktech. Charakterizujte kritéria pro sledování kvality a jakosti potravinářských produktů.
2. V praktické části proveďte mikrobiologická stanovení přítomnosti mikroorganismů v pokrmeh a prostředí Menzy UTB ve Zlíně, sledujte výskyt mikroorganismů v závislosti na ročním období. Pokuste se identifikovat vybrané izolované mikroorganismy.
3. Na základě teoretické části a výsledků praktické části formulujte závěry týkající se hygieny stravování v prostředí Menzy UTB ve Zlíně.

Rozsah práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

dle doporučení vedoucího diplomové práce

Vedoucí diplomové práce:

Mgr. Leona Čechová, Ph.D.

Ústav potravinářského inženýrství a chemie

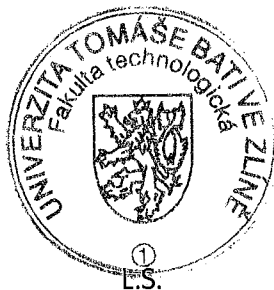
Datum zadání diplomové práce:

8. ledna 2007

Termín odevzdání diplomové práce:

31. května 2007

Ve Zlíně dne 2. května 2007



Ignác Hoza
prof. Ing. Ignác Hoza, CSc.
děkan

Ignác Hoza
prof. Ing. Ignác Hoza, CSc.
ředitel ústavu

Rád bych poděkoval Ing. Leoně Čechové, Ph.D. za odborné rady a čas, který mi věnovala při sestavování této diplomové práce, bez nichž by nevznikla.

Souhlasím s tím, že s výsledky mé práce může být naloženo podle uvážení vedoucího bakalářské práce a ředitele ústavu. V případě publikace budu uveden jako spoluautor.

Prohlašuji, že jsem na celé diplomové práci pracoval samostatně a použitou literaturu jsem citoval.

Ve Zlíně, 22. 05. 2007

.....

podpis

RESUMÉ

Anotace česky

Tato diplomová práce se zabývá v teoretické části aktuální platnou legislativou v odvětví výroby potravin. Dále jsou zde popsány hygienické požadavky na přípravu, výrobu, rozvoz, přepravu, skladování a uvádění pokrmů do oběhu.

V praktické části se práce zabývá sledováním hygienické úrovně v podniku společného stravování. V Menze UTB byly odebrány vzorky pokrmů, stěrů z hotových pokrmů, stěrů z kuchyňského nádobí a náčiní a stěrů pracovních ploch pro zpracování surovin a hotových pokrmů k mikrobiologické analýze.

Provedení izolace vybraných izolovaných bakterií z pokrmů a stěrů a jejich identifikace pomocí biochemických testů.

Klíčková slova: hygienické normy, onemocnění z potravin, otravy z plísní, odběr vzorků pokrmů, odběr vzorků stěrů, identifikace bakterií

Anotace ve světovém jazyce

In the theoretical part of this Master thesis is described an actual legislation in a department of food production. Then the description of hygienic standard of preparation, produce, distribution, transportation, storage and actuating dishes in circulation follow.

In the practical part is described a monitoring of a hygienic standard in a company of public catering. In the student's hall of UTB samples of food, scummings from boiled food, scummings from kitchen dishes and utensils and scummings from working surfaces for manufacturing of raw materials and boiled food were detracted for microbiology analysis.

The implementation of isolation of selected bacteria from food and scummings and their identification by way of biochemical tests.

Keywords: hygienic standards, affection from food, poisoning from fungi, taking of samples food, taking of samples scummings, identification of bacteria

OBSAH

ÚVOD.....	8
TEORETICKÁ ČÁST.....	9
1 LEGISLATIVNÍ POŽADAVKY NA VÝROBU POTRAVIN.....	10
1.1 Mikrobiologické požadavky dané legislativou na potraviny.....	10
1.1.1 Mikroklimatické podmínky.....	10
1.1.2 Zdravotní nezávadnost pokrmů.....	10
1.1.3 Tepelná úprava potravin.....	12
1.1.4 Ukončení tepelné úpravy pokrmu.....	12
1.1.5 Podmínky uvádění pokrmů do oběhu.....	12
1.1.6 Způsob stanovení kritických bodů a jejich evidence.....	13
1.1.7 Postup při odběru a uchovávání vzorků vyrobených pokrmů.....	13
1.1.8 Zásady provozní hygieny.....	14
1.1.9 Zásady osobní hygieny.....	14
1.2 Zákon o ochraně veřejného zdraví.....	15
1.2.1 Biologická nebezpečí.....	15
1.2.2 Všeobecně o mikroorganismech.....	16
1.2.3 Onemocnění z potravin a pokrmů.....	17
1.3 Nejvýznamnější onemocnění z potravin a pokrmů podle původců.....	18
1.3.1 Salmonelóza.....	18
1.3.2 Kampylobakterióza.....	20
1.3.3 Bacilární úplavice (shigelóza).....	21
1.3.4 Stafylokoková enterotoxikóza.....	22
1.3.5 Onemocnění vyvolané <i>Bacillus cereus</i>	23
1.3.6 Infekce vyvolané <i>Clostridium perfringens</i> typ A.....	24
1.3.7 Virová hepatitida A.....	24
1.4 Otravy z plísní.....	26
1.4.1 Nejdůležitější rody toxinogenních plísní.....	26
1.4.2 Přehled důležitých mykotoxinů.....	27
1.4.3 Detoxikace mykotoxinů.....	29
1.5 Chlazené, mražené a sterilované hotové pokrmy.....	30
1.5.1 Chlazené pokrmy.....	30
1.5.2 Hotové mražené pokrmy.....	31
1.5.3 Hotové pokrmy sterilované teplem – konzervy.....	31
1.6 Metody zjišťování patogenních mikroorganismů v potravinách.....	32
1.6.1 Klasické kultivační metody.....	32
1.6.2 Rychlé metody.....	33
1.6.3 Epidemiologické metody.....	33
1.7 Kultivační vyšetření.....	35
1.7.1 Obecné zásady kultivace a vyjadřování výsledků.....	35
1.7.2 Stanovení počtu enterokoků.....	36
1.7.3 Stanovení osmofilních kvasinek.....	37
1.8 Vyšetření povrchové mikroflóry.....	37
1.8.1 Vyšetření povrchové mikroflóry stěrovou metodou.....	38
1.9 Stanovení mikrobiální kontaminace prostředí potravinářských provozoven a obalů.....	39
1.9.1 Stanovení mikrobiální kontaminace ploch, provozního zařízení a obalů stěrovou metodou.....	39
PRAKTICKÁ ČÁST.....	40
2 METODIKA.....	41
2.1 Cíle práce a charakteristika odebíraných vzorků.....	41

2.1.1	Cíle práce.....	41
2.1.2	Charakteristika odebíraných vzorků.....	41
2.2	Použité půdy, pomůcky a zařízení.....	42
2.2.1	Živné půdy.....	42
2.2.2	Pomůcky a zařízení.....	46
2.2.3	Chemikálie a pomocné látky.....	47
2.3	Odběry vzorků, očkování, kultivace.....	47
2.3.1	Druhy zjišťovaných mikroorganismů.....	47
2.3.2	Odběry vzorků.....	47
2.3.3	Mikrobiologická analýza vzorků.....	48
2.4	Identifikace izolovaných kolonií.....	50
2.4.1	Gramovo barvení.....	50
2.4.2	KOH test.....	51
2.4.3	Důkaz produkce katalasy.....	51
2.4.4	Oxi test – test produkce oxidasy.....	52
2.4.5	Oxidačně-fermentační test (OF test).....	52
2.4.6	ENTEROtest.....	53
2.4.7	STAPHYtest.....	53
3	VÝSLEDKY A DISKUZE.....	54
3.1	Letní období.....	54
3.1.1	Polévky.....	54
3.1.2	Přílohy.....	56
3.1.3	Pokrm z masa a drůbeže.....	58
3.1.4	Omáčky a krémy.....	59
3.1.5	Jednosložkové a ostatní pokrmy.....	60
3.2	Podzimní období.....	62
3.2.1	Polévky.....	63
3.2.2	Přílohy.....	64
3.2.3	Pokrm z masa, drůbeže a pokrmy s použitím sóji.....	67
3.2.4	Omáčky a krémy.....	68
3.2.5	Jednosložkové a ostatní pokrmy.....	69
3.3	Porovnání letního a podzimního období z pohledu celkového počtu mikroorganismů v pokrmech.....	72
3.4	Stěry – letní období.....	73
3.5	Stěry – podzimní období.....	74
3.6	Identifikace vybraných izolovaných mikroorganismů.....	78
3.6.1	Identifikace gramnegativních bakterií.....	78
3.6.2	Identifikace grampozitivních bakterií.....	80
	ZÁVĚR.....	82
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	83
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	86
	SEZNAM OBRÁZKŮ.....	87
	SEZNAM TABULEK.....	88
	SEZNAM PŘÍLOH.....	89

ÚVOD

Zajištění bezpečnosti potravin a zdravotní nezávadnosti pokrmů je stanoveno v mnoha zákonech a vyhláškách o potravinách, vydaných Parlamentem České republiky. Stát toto odvětví velmi důsledně kontroluje z důvodu jednak ochrany zdraví spotřebitelů, jednak z důvodů ekonomických, kdy každý nemocný člověk stojí nemalé finanční prostředky. Proto Parlament České republiky schvaluje v průběhu každých dvou až tří let nové vyhlášky a zákony nebo jejich novely ke zvýšení ochrany zdraví populace. Mohlo by se zdát, že stát má zájem na zpřísnování norem. V důsledku povinnosti České republiky harmonizovat český právní řád s evropským, dochází v řadě přísných opatření k jistému uvolnění.

Na základě epidemiologických šetření lze konstatovat, že manipulace s pokrmy po tepelné úpravě patří mezi nejrizikovější činnosti ve stravovacích službách. Proto je nejen výroba, ale i rozvoz, přeprava skladování a uvádění pokrmů do oběhu ukotveno v základní právní normě vyhlášce 137/2004 Sb., o hygienických požadavcích na stravovací služby a zásadách osobní a provozní hygieny při činnostech epidemiologicky závažných. Tato vyhláška byla novelizována na vyhlášku 602/2006 Sb., která je v platnosti od 1. ledna 2007.

Fenoménem posledních několika let byla nutnost zavedení systému kritických bodů HACCP do potravinářských výroben. Tento systém má určit a sledovat operace ve výrobě, které s sebou nesou zvýšené riziko mikrobiální kontaminace nebo rozvoj patogenní mikroflóry v připravovaných pokrmech.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 LEGISLATIVNÍ POŽADAVKY NA VÝROBU POTRAVIN

Potraviny a pokrmy patří do kategorie výrobků, které podléhají zvýšené kontrole ze strany státu. Požadavky na zdravotní nezávadnost potravin a pokrmů z hlediska mikrobiologické kontaminace upravují vyhlášky vydané Ministerstvem zdravotnictví.

1.1 Mikrobiologické požadavky dané legislativou na potraviny

Mikrobiologické požadavky na potraviny jsou uvedeny ve vyhlášce 137/2004 Sb. a v novele 602/2002 Sb. Jsou zde uvedeny informace o tepelné úpravě pokrmů, správné hygienické a výrobní praxi a v neposlední řadě také provozní a osobní hygiena.

1.1.1 Mikroklimatické podmínky

Nelze-li pracovní operace ukončit do 30 minut, musí být v místnostech, kde se zachází se zchlazenými produkty a potravinami s nároky na nízké teploty při uchovávání, zajištěna teplota nejvýše 15 °C. Jedná se například o zpracování masa a ryb, přípravu polotovarů a rozpracovaných pokrmů ke zchlazení, výrobu studených pokrmů, plnění či ozdobování cukrářských výrobků. Při uplatnění odchýlného technického zajištění podmínek pracovních operací (např. dochlazované pracovní plochy) musí být zabezpečena zdravotní nezávadnost produktů a potravin (38).

1.1.2 Zdravotní nezávadnost pokrmů

Pokrmy musí vyhovovat mikrobiologickým a chemickým požadavkům. Limity obsahu patogenních mikroorganismů udává Nařízení komise ES 2073/2005. V tomto nařízení jsou uvedeny limity pouze pro bakterie *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp. a *Enterobacter sakazakii* (26).

Tab. 1. Bakteriální původci onemocnění z pokrmů dle Nařízení Komise (ES) (26)

Mikroorganismus	Kategorie pokrmů	Nejvyšší mezní hodnota na g (ml)
<i>Listeria monocytogenes</i>	potraviny určené k přímé spotřebě	10 ²
<i>Salmonella</i> spp.	potraviny určené k přímé spotřebě	negat/25
<i>Enterobacter sakazakii</i>	potraviny určené k přímé spotřebě pro kojeneckou a dětskou výživu	negat/10

Protože Nařízení Komise (ES) 2073/2005 obsahuje limity pouze pro tyto 3 mikroorganismy, používá se pro posouzení hygienické nezávadnosti potravin následující tabulka z vyhlášky 132/2004 Sb.

Tab. 2. Bakteriální původci onemocnění z pokrmů (37)

Mikroorganismus	Kategorie pokrmů	Nejvyšší mezní hodnota na g (ml)
<i>Bacillus cereus</i>	potraviny neurčené k přímé spotřebě potraviny určené k přímé spotřebě krom potraviny určených pro kojeneckou a dětskou výživu	10 ⁵ 10 ⁴
Termotolerantní <i>Campylobacter</i>	potraviny určené k přímé spotřebě	negat/25
<i>Clostridium perfringens</i>	potraviny neurčené k přímé spotřebě potraviny určené k přímé spotřebě krom potraviny určených pro kojeneckou a dětskou výživu	10 ⁵ 10 ⁴
<i>E. coli</i> O 157 a další verocytotoxin produkující <i>E. coli</i> (VTEC)	všechny druhy potravin	negat/25
<i>Listeria monocytogenes</i>	masné výrobky o a _w nižší nebo rovné 0,92 zmrazené výrobky konzumované v nezměněném stavu (zmrzlina) potraviny určené k přímé spotřebě	10 ² 10 ² negat/25
<i>Salmonella</i> spp.	potraviny určené k přímé spotřebě krom potraviny určených pro kojeneckou a dětskou výživu	negat/25
<i>Shigella</i> spp.	potraviny určené k přímé spotřebě	negat/25
<i>Staphylococcus aureus</i> a další druhy	potraviny určené k přímé spotřebě potraviny neurčené k přímé spotřebě	10 ⁴ 10 ⁵
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	ryby, měkkýši, koryši a hlavonožci z vod tropických a subtropických pásem určené k přímé spotřebě	negat/25
<i>Yersinia enterocolitica</i>	potraviny určené k přímé spotřebě	negat/25

negat/25 – nepřítomnost mikroorganismu v 25 g vzorku

Tab. 3. Indikátorové mikroorganismy (38)

Celkový počet mikroorganismů	všechny pokrmy krom pokrmů určených pro kojeneckou a dětskou výživu s výjimkou pokrmů, kde jsou takové mikroorganismy součástí kulturní mikroflóry	10 ⁶
	-živočišného původu	10 ⁷
	-rostlinného původu	10 ⁸
Koliformní bakterie	všechny pokrmy krom pokrmů určených pro kojeneckou a dětskou výživu	10 ⁵
<i>E. coli</i>	všechny pokrmy krom pokrmů určených pro kojeneckou a dětskou výživu	10 ⁴

Pokrmu, které uvedeným požadavkům neodpovídají a jsou jiné než zdravotně nezávadné, je zakázáno uvádět do oběhu (38).

V pokrmu nesmí být překročeny nejvyšší mezní hodnoty počtu mikroorganismů, nesmí obsahovat toxické produkty mikroorganismů ani mikroorganismy a mikrobiální metabolity, působící onemocnění z pokrmů v množství, které by mohlo ohrozit zdraví lidí (38).

1.1.3 Tepelná úprava potravin

Potravinu se musí tepelně upravovat po dobu zabezpečující zdravotní nezávadnost pokrmů a zachovávající jejich maximální nutriční hodnotu. Pokrmu, do nichž byly přidány za účelem ochucení, zahuštění nebo jiné úpravy v poslední fázi výroby přísady (koření, mouka), musí být po přidání těchto přísad dostatečně tepelně opracovány. Pro bezpečnou přípravu a výrobu pokrmů musí být ve všech částech pokrmu dosaženo minimálně tepelného účinku odpovídajícího působení nejméně 75 °C po dobu nejméně 5 minut. Pokud charakter pokrmu vyžaduje použití teploty nižší, musí doba působení teploty zajistit zdravotní nezávadnost pokrmu (38).

1.1.4 Ukončení tepelné úpravy pokrmu

Po ukončení tepelné úpravy se pokrmu ihned vydávají, popřípadě plní do obalů a uvádějí do oběhu tam, kde to technologie či charakter pokrmu umožňuje a pokrm nevyžaduje konečnou úpravu. Pokud konečná úprava teplého pokrmu vyžaduje teplotu nižší než 70 °C, neprodleně po jejím dokončení se pokrmu regenerují na teplotu nejméně 70 °C ve všech částech pokrmu. S pokrmu po ukončení tepelné úpravy se musí zacházet tak, aby byla vyloučena rizika jejich kontaminace a zachována jejich zdravotní nezávadnost. Veškeré technologické operace včetně dokončovacích prací musí kontinuálně navazovat bez prodlev tak, aby nebyla ohrožena zdravotní nezávadnost finálního produktu (38).

1.1.5 Podmínky uvádění pokrmů do oběhu

Pokrmu nevydané ve lhůtě, která byla určena osobou provozující stravovací službu v rámci postupů založených na zásadách kritických bodů, nelze dále skladovat, opakovaně ohřívat ani dodatečně zchlazovat nebo zmrazovat. Teplé pokrmu se uvádějí do oběhu tak, aby se dostaly ke spotřebiteli co nejdříve, a to za teploty nejméně 60 °C. Teplým pokrmem se pro účely vyhlášky rozumí potravina kuchyňsky upravená ke konzumaci v teplém stavu nebo udržovaná v teplém stavu po dobu uvádění do oběhu, rozvozu nebo přepravy (40).

1.1.6 Způsob stanovení kritických bodů a jejich evidence

Kritické body se stanoví v písemné nebo elektronické podobě takto (40):

- a) změny systému kritických bodů po dobu 1 roku,
- b) monitorovací postupy v kritických bodech po dobu 14 dnů od data výroby pokrmu, rozpracovaného pokrmu nebo polotovaru,
- c) překročení kritických limitů a nápravná opatření po dobu 14 dnů od data výroby produktu,
- d) výsledky ověřování účinného fungování kritických bodů po dobu 1 roku.

1.1.7 Postup při odběru a uchovávání vzorků vyrobených pokrmů

1. Vzorky se odebírají do čistých vyvařených či vysterilizovaných nádob s uzávěrem.
2. K odběru se používají lžíce, naběračky a další pomůcky vyvařené nebo vysterilizované, které nejsou používány při vlastní přípravě pokrmů.
3. Každá součást pokrmů (maso, omáčka, knedlíky) musí být uchovávána v samostatné vzorkovnici.
4. Je-li příloha součástí několika pokrmů (brambory, knedlíky), lze uchovávat jen jeden vzorek. To platí i tehdy, je-li například maso ze stejné partie dodávky součástí několika pokrmů, lišících se jen například omáčkou nebo přílohou.
5. Jsou-li stejné pokrmy ze stejných potravin připravovány několika pracovními skupinami, uchovávají se vzorky od každé skupiny.
6. Každý vzorek musí mít hmotnost nejméně 100 g, u kusových výrobků odpovídající počet kusů, u tekutých pokrmů 100 ml. U jednoporcových balení pokrmů se uchovává celá porce.
7. Vzorky pokrmů odebrané v teplém stavu se ihned uzavřou, urychleně zchladí a uchovávají se v chladničce při teplotě do 4°C.
8. Po uplynutí 48 hodin od výroby nebo doby použitelnosti se vzorky likvidují jako organický odpad. V případě soustředěného pracovního klidu se vzorky likvidují až po ukončení výdeje v první následující pracovní den.
9. O odebraných vzorcích se vede evidence, ve které se uvede:
 - a) datum odběru (případně hodina, jsou-li připravovány v různé době),
 - b) druh vzorku,
 - c) jméno zaměstnance, který odběr provedl.
10. Dokumenty o evidenci odběru vzorků se uchovávají 14 dnů ode dne odběru vzorků nebo 14 dnů ode dne likvidace vzorků (38).

1.1.8 Zásady provozní hygieny

Pro provozování stravovacích služeb, výrobu potravin a uvádění potravin do oběhu platí tyto zásady provozní hygieny:

- udržování sanitárních zařízení (šaten, umýváren, sprch a toalet) a pomocných zařízení (zařízení k umývání pracovní obuvi, sušení pracovních oděvů, ohříváren, místnosti pro odpočinek, prostor pro poskytování první pomoci a prostory pro uskladnění úklidových prostředků) a jejich vybavení v čistotě a provozu schopném stavu,
- skladování produktů a potravin neurčených pro stravovací službu jen v samostatném a označeném chladicím nebo mrazicím zařízení, které je umístěno mimo prostor výroby, přípravy, skladování a oběhu potravin a produktů, například v kanceláři, místnosti pro odpočinek nebo šatně,
- nepřechovávání předmětů nesouvisejících s výkonem pracovní činnosti v prostorách manipulace s potravinami a produkty,
- nepřipuštění vstupu nepovolaných osob do prostor manipulace s potravinami a produkty,
- odkládání osobních věcí, občanského oděvu a obuvi pouze v šatně nebo ve vyčleněném prostoru,
- pro úklid používání jen mycích, čistících a dezinfekčních prostředků, které jsou určeny pro potravinářství,
- nekouření v prostorách manipulace s potravinami a produkty a v prostorách, kde se myje nádobí,
- skladování čistících prostředků a přípravků pro provádění běžné ochranné dezinfekce, dezinfekce a deratizace v originálních obalech mimo prostory manipulace s potravinami a produkty,
- nepoužívání nádob a obalů určených pro potraviny a produkty k úschově čistících přípravků a přípravků pro provádění běžné ochranné dezinfekce, dezinfekce a deratizace (40).

1.1.9 Zásady osobní hygieny

Pro výkon činností epidemiologicky závažných při provozování stravovacích služeb, výrobě potravin a uvádění potravin do oběhu se stanoví tyto zásady osobní hygieny (12):

- pečování o tělesnou čistotu a před započítím vlastní práce, při přechodu z nečisté práce na čistou, po použití toalety, po manipulaci s odpady

a při každém znečištění si umýt ruce v teplé vodě s použitím vhodného mycího, popřípadě dezinfekčního prostředku,

- nošení čistých osobních ochranných prostředků odpovídajících charakteru činnosti, zejména pracovní oděv, pracovní obuv a pokrývku hlavy při výrobě potravin a pokrmů. Udržování pracovního oděvu v čistotě a jeho výměna podle potřeby v průběhu směny. Při pracovní činnosti vyžadující vysoký stupeň čistoty nebo při vyšším riziku kontaminace používání jednorázových ochranných rukavic a ústní roušky,
- neopouštění provozovny v průběhu pracovní doby v pracovním oděvu a v pracovní obuvi,
- vyloučení jakéhokoliv nehygienického chování (kouření, úpravy vlasů a nehtů),
- zajištění péče o ruce, nehty na ruku ostříhané na krátko, čisté, bez lakování, na ruku nenosit ozdobné předměty,
- ukládání použitého pracovního oděvu, jakož i občanského oděvu na místo k tomu vyčleněné; ukládání pracovního oděvu a občanského oděvu odděleně.

1.2 Zákon o ochraně veřejného zdraví

V tomto zákoně je pojednáno o možných příčinách vzniku mikrobiologických nebezpečí a dále o alimentárních infekcích a intoxikacích, které mohou být způsobeny mikroorganismy.

1.2.1 Biologická nebezpečí

Biologická nebezpečí jsou zdravotní nebezpečí způsobená živými organismy, přenášenými pokrmami nebo potravinami (41).

Biologická nebezpečí představují mikroorganismy a parazité, kteří se do organismu člověka dostávají potravou a vyvolávají onemocnění (salmonelóza, úplavice, trichinelóza). Mikroorganismy mohou člověka ohrozit i tak, že v pokrmu či dokonce až v zažívacím traktu vytvoří toxiny, které po konzumaci pokrmu nebo potraviny vyvolávají onemocnění (botulotoxin, toxiny plísní) (41).

Obecné příčiny vzniku mikrobiologických nebezpečí:

- a) primární kontaminace (suroviny obsahují mikroorganismy případně mikrobiální toxiny),
- b) během zpracování dojde k pomnožení mikroorganismů či k tvorbě toxinů (nevhodné skladování potravin či pokrmů, nedodržení stanovených technologických postupů apod.),
- c) technologické postupy, jejichž cílem je odstranění nebo usmrcení přítomných mikroorganismů, nejsou účinné (nedostatečné omývání, nedostatečné tepelné opracování...),
- d) sekundární kontaminace (zdravotně nezávadná surovina, polotovar, rozpracovaný nebo hotový pokrm je kontaminován mikroorganismy – např. křížová kontaminace z prostředí pracovních ploch, nástrojů, zařízení, rukou pracovníků atd.),
- e) citlivost skupiny konzumentů (samotná přítomnost patogenního mikroorganismu nebo toxinu v potravine či pokrmu nemusí vést k onemocnění; k jeho vzniku je nutná tzv. infekční dávka) (41).

1.2.2 Všeobecně o mikroorganismech

Mikroorganismy jsou velmi malé organismy, jednotlivě obvykle okem nepozorovatelné. Mezi mikroorganismy patří bakterie, kvasinky a plísňe, a dále podbuněčné struktury – viry a priony (36).

Pouhým okem lze přítomnost některých mikroorganismů rozpoznat teprve poté, kdy se silně pomnožily a vytvoří tzv. kolonie. V tekutých potravinách se růst mikroorganismů projevuje jako zákal. Na povrchu masa může způsobit nežádoucí činnost mikrobů oslizlost, změnu barvy apod. V salátech může dojít k nadměrnému kvašení, které se projeví přítomností bublin apod. Z kolonie plísni je prostým okem viditelná pouze svrchní část (fruktifikační mycelium) s rozmnožovacími částicemi (spory) (36).

Jsou-li potraviny znečištěny škodlivými – a obecně jakýmkoli nežádoucími – mikroorganismy, jedná se o kontaminaci (24).

Jsou-li mikroorganismy přeneseny z místa, kde se původně vyskytovaly (syrové maso, vejce), na nekontaminované potraviny, jedná se o jejich zavlečení neboli křížová kontaminace (24).

Mikroorganismy lze podle jejich vlivu na potraviny rozdělit na 2 hlavní skupiny (2):

- mikroorganismy s žádoucím účinkem,
- mikroorganismy s nežádoucím (škodlivým) účinkem.

Mikroorganismy s nežádoucím účinkem se dále dělí (41):

- a) mikroorganismy působící kažení potravin – tyto se obvykle vyskytují ve velkém počtu. Způsobují změnu vůně, barvy nebo konzistence potravin, vedou ke kažení, ale nemusí být nutně škodlivé pro člověka,
- b) mikroorganismy jako původci onemocnění – k těmto se řadí patogenní bakterie, které jsou pro člověka škodlivé až na výjimky tehdy, je-li jich dostatečně velký počet. Zpravidla nezpůsobují sensorické změny potravin. To znamená, že potraviny obsahující tyto bakterie, nemusí vykazovat žádnou změnu vůně, chuti nebo vzhledu,
- c) mikroorganismy vytvářející toxiny (jedy) – celá řada mikroorganismů v potravinách roste a rozmnožuje se a produkuje přitom toxiny, které mohou poškodit zdraví člověka.

1.2.3 Onemocnění z potravin a pokrmů

Díky globalizaci potravinářského průmyslu je řada epidemií velmi rozsáhlých – postihují zdraví značného množství osob a v důsledku toho mají nemalé ekonomické důsledky. Vzhledem k rozvoji cestovního ruchu a mezinárodního obchodu s potravinami, zvířaty a krmivy se objevují infekce nové, dříve vzácné či neznámé (36).

Každoročně u nás onemocní desítky tisíc lidí alimentární nákazou, kdy původce nákazy vstupuje do organismu trávicím ústrojím (36).

Je známo kolem 200 bakteriálních, virových i parazitárních původců, které mohou způsobit alimentární onemocnění. V ČR jsou jako nejčastější původci uváděny bakterie *Salmonella*, *Campylobacter* a některé typy virů (17).

Závažnost onemocnění je u jednotlivých nemocných odlišná. Rozhoduje o tom řada faktorů, hlavně věk a stav imunitního systému postižených. Děti, starší lidé a chronicky nemocné osoby snášejí tato onemocnění obecně hůř; průjmem či zvracením ztrácí značné množství tekutin a snadno se u nich rozvíjí různé komplikace. Dalším z rozhodujících faktorů je velikost infekční dávky. Čím je počet mikroorganismů vyšší, tím je průběh onemocnění těžší (17).

Hlavními příznaky alimentárních nákaz jsou průjmy, nevolnost, zvracení, bolesti břicha, bolestivé nucení na stolicí a často také teplota. Důsledkem průjmu a zvracení může být porucha vnitřního prostředí, poruchy oběhu a z nich vyplývající další důsledky (33).

1.3 Nejvýznamnější onemocnění z potravin a pokrmů podle původců

1.3.1 Salmonelóza

Původce

Původcem tohoto onemocnění jsou bakterie *Salmonella*, kterých je dnes známo více než 2000 typů. Jsou ničeny teplotou nad 70 °C, kyselým prostředím a běžnými dezinfekčními prostředky. V současnosti u nás převažuje *Salmonella* Enteritidis (96 % ze všech případů onemocnění) (14).

Výskyt

Salmonelóza je nejčastější alimentární nákazou u nás. V roce 2003 bylo v ČR zaznamenáno 99 epidemií, kdy cestou přenosu byly zdravotně závadné potraviny či pokrmy. Od r. 1997 do r. 2003 u nás zemřelo na salmonelózu 199 osob (36).

Tab. 4. Počet osob onemocněných salmonelózou v ČR v letech 1994 – 2006 (31, 36)

Rok/nemoc	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000
Salmonelóza	50873	54552	48143	39917	50826	44845	40233
Rok/nemoc	2001	2002	2003	2004	2005	2006	
Salmonelóza	33594	27964	26899	30724	32927	25402	

Zdroj nákazy

Nejčastějším zdrojem nákazy salmonelózou jsou infikovaná zvířata domácí i divoká, z jejichž masa, orgánů, mléka a vajec se vyrábějí potraviny. Zdrojem mohou být i infikovaní hlodavci a ptáci. Vzácněji může být zdrojem nákazy nemocný člověk nebo nosič vylučující salmonely stolicí, popř. močí (4).

Tab. 5. Přežívání salmonel v potravinách za chladírenské teploty (30)

Potravina	Přežití salmonel za chladírenské teploty
Maso čerstvé	až 18 dní
Maso uzené	až 60 dní
Mléko	až 60 dní
Máslo	až 212 dní
Tvaroh a sýry	až 270 dní
Zmrazené pokrmy	až 7 let
Oplatky	až 196 dní
Kyselé zelí	až 20 dní

Potravina	Přežití salmonel za chladírenské teploty
Marinované ryby	až 10 dní
Ovocná limonáda	až 14 dní
Sladové pivo	až 33 dní

Cesta přenosu

K přenosu dochází nejčastěji požitím kontaminovaných potravin. Kontaminace je (21):

- primární – výrobky jsou připraveny z masa, mléka, vajec a orgánů infikovaných zvířat,
- sekundární – původně nezávadná potravina je kontaminována salmonelami z infikovaných zvířat nebo lidí, často zkřížením čistého a nečistého provozu (kontaminované pracovní plochy, nádobí, náčiní).

Přenos se děje potravinami, které se nezpracovávají za vyšších teplot a které jsou dobrou živnou půdou pro pomnožení salmonel (majonézy, saláty, vaječné pomazánky, cukrářské výrobky) (2).

Inkubační doba

Inkubační doba salmonelózy je 6 – 72 hodin, obvykle však 12 – 36 hodin (36).

Preventivní opatření

Důležitá je osvěta týkající se soustavné výchovy nejen potravinářů, ale všeho obyvatelstva, seznámení veřejnosti s dodržováním „Deseti zlatých pravidel k zabezpečení zdravotní nezávadnosti potravin“ (30):

1. vybírat při nákupu jen takové potraviny, které jsou zdravotně nezávadné,
2. zabezpečit dokonalé provaření a propečení potravin,
3. zkonsumovat stravu bezodkladně po dovaření,
4. uchovat potraviny buď v teplém stavu nad 60 °C nebo ve studeném stavu pod 10 °C,
5. důkladně ohřívat již jednou uvařené potraviny před opětovnou konzumací,
6. zabránit styku mezi syrovými a již uvařenými potravinami,
7. umývat si opakovaně ruce před začátkem přípravy pokrmů a po jakémkoliv přerušení, zvláště po použití WC,

8. udržovat všechno nádobí v bezvadné čistotě,
9. ochraňovat potraviny před hmyzem, hlodavci a jinými zvířaty,
10. používat k přípravě potravin pitnou vodu.

1.3.2 Kampylobakteriόza

Původce

Původcem tohoto onemocnění je bakterie *Campylobacter jejuni* (36).

Výskyt

Onemocnění je rozšířeno po celém světě. U nás je druhou nejčastější alimentární nákazou.

Tab. 6. Počet osob onemocněných kampylobakteriόzou v ČR v letech 1994 – 2006 (31, 36)

Rok/nemoc	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000
Kampylobakteriόza	2270	3030	2278	3623	5542	9843	16916
Rok/nemoc	2001	2002	2003	2004	2005	2006	
Kampylobakteriόza	21653	23206	20063	25492	30268	22713	

Zdroj nákazy

Kampylobaktery mohou přenášet teplokrevná zvířata, nejčastěji drůbež. Zdrojem může být i člověk, který vylučuje bakterie stolicí (16).

Cesta přenosu

K přenosu kampylobakterů může dojít kontaktem s kontaminovanou drůbeží (syrová kuřata), použitím nedostatečně tepelně upraveného masa, především drůbežího. Je možný i mezilidský přenos (35).

Inkubační doba

Inkubační doba kampylobakteriόzy je většinou 3 – 5 dní, je známo i rozpětí 1 – 10 dní (36).

Preventivní opatření

Preventivní opatření jsou obdobná jako u salmonelóz. Je důležité dodržovat „Deset zlatých pravidel k zabezpečení zdravotní nezávadnosti potravin“ (30).

1.3.3 Bacilární úplavice (shigelóza)

Původce

Původce bacilární úplavice jsou bakterie rodu *Shigella*. Tyto bakterie jsou velmi citlivé na zevní prostředí (2).

Výskyt

Bacilární úplavice byla dříve velmi častá nákaza s 3-4 letými cykly. Od r. 1986 docházelo k trvalému poklesu nemocnosti. Díky snadnému šíření se často vyskytuje ve větších či menších epidemiích (36).

Tab. 7. Počet osob onemocněných shigelózou v ČR v letech 1994 – 2006 (31, 36):

Rok/nemoc	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000
Shigelóza	1803	1741	802	614	511	519	548
Rok/nemoc	2001	2002	2003	2004	2005	2006	
Shigelóza	354	286	381	325	278	289	

Zdroj nákazy

Shigelóza je výlučně lidské onemocnění. Zdrojem je tedy nemocný člověk nebo rekonvalescent (10).

Cesta přenosu

Shigelóza je typická nemoc „špinavých rukou“. Neumytýma rukama, zvláště po použití WC, mohou být kontaminovány např. předměty a následně potraviny a prostřednictvím nich mohou onemocnět další osoby (15).

Inkubační doba

Inkubační doba bacilární úplavice je obvykle 2 – 3 dny, ale může být i 1 – 5 dnů (36).

Preventivní opatření

Preventivní opatření proti kontaminaci potravin infekcí shigelózy spočívají zejména v (1):

- dodržování zásad osobní hygieny, zvláště čistoty rukou, zejména po použití WC,
- dodržování správných hygienických návyků při přípravě, manipulaci, skladování a distribuci všech druhů potravin, zvláště těch, které jsou konzumovány syrové (ovoce, zelenina),

- hygienickém zabezpečení a ochraně pitné vody pro společné stravování.

1.3.4 Stafylokoková enterotoxikóza

Původce

Původcem vzniku onemocnění stafylokokové enterotoxikózy jsou bakterie *Staphylococcus aureus*, produkující termostabilní toxin v potravíně před požitím (36).

Výskyt

Nejčastější epidemie stafylokokové enterotoxikózy jsou ve školních jídelnách, na školách v přírodě nebo na putovních táborech (2).

Zdroj nákazy

Zdrojem nákazy enterotoxikózou jsou lidé. Nejčastěji to jsou nosiči, z nichž až u 40 % osob se vyskytuje *Staphylococcus aureus* v nosohltanu, který produkuje toxin. Zdrojem mohou být i lidé s hnisavými kožními ložisky (zhnisaná řezná rána, bércové vředy), kteří se podílí na přípravě potravin (23).

Cesta přenosu

Cesta přenosu stafylokoků může být požitím potraviny, která byla kontaminována stafylokoky a po určitou dobu uchovávána za podmínek umožňující pomnožení mikrobů a produkci toxinů. Rizikovými bývají smetanové omáčky, uzeniny, sekaná masa, uvařená rýže, cukrářské výrobky (23).

Inkubační doba

Inkubační doba stafylokokové enterotoxikózy je velmi krátká, 1 – 6 hodin, v průměru 3 hodiny (36).

Preventivní opatření

Proti vzniku onemocnění, které způsobuje bakterie *Staphylococcus aureus*, je důležité dodržovat následující zásady (20):

- vyřazení osob s hnisavým onemocněním kůže nebo sliznic z přímého styku s potravinami,
- správné skladování potravin,
- omezení ručního zpracování potravin na minimum,

- příprava pokrmů bezprostředně před konzumací.

1.3.5 Onemocnění vyvolané *Bacillus cereus*

Původce

Původcem onemocnění je bakterie *Bacillus cereus* produkující 2 druhy toxinů (23):

- emetický (toxin A), který je termostabilní a vzniká pomnožením mikroba v potravíně,
- diarhetický (toxin B), který je termolabilní a je produkován po pomnožení mikroba v tenkém střevě.

Výskyt

Onemocnění vyvolané bakterií *Bacillus cereus* je rychlé, kvůli čemuž je mnoho intoxikací nehlášených a často unikají pozornosti. Epidemie se vyskytují hlavně ve školních kuchyních (36).

Zdroj nákazy

Zdrojem nákazy je ubikviterní mikrob *B. cereus*, který se běžně vyskytuje v půdě, prachu a vzduchu (2).

Cesta přenosu

Vektorem přenosu intoxikace jsou kontaminované potraviny, které byly po dokončení kuchyňské úpravy nevhodně skladovány. Rizikovými výrobky jsou vařená rýže, zeleninové saláty, výrobky studené kuchyně, masové výrobky a také cukrářské výrobky (6).

Inkubační doba

Inkubační doba obou toxinů je různá. U emetického toxinu (toxin A) to může být 1 – 5 hodin, u diarhetického (toxin B) je to déle, většinou 6 – 16 hodin (36).

Preventivní opatření

Preventivní opatření proti kontaminaci *B. cereus* je správné skladování potravin a příprava pokrmů bezprostředně před konzumací (20).

1.3.6 Infekce vyvolané *Clostridium perfringens* typ A

Původce nákazy

Původcem infekce jsou bakterie *Clostridium perfringens* typu A, které v trávicí soustavě produkují termolabilní toxin (33).

Výskyt

Infekce jsou hlášeny hlavně jako hromadná onemocnění v zařízeních společného stravování jako jsou školní kuchyně nebo letní tábory s nedokonalým kuchyňským zázemím (9).

Zdroj nákazy

Zdrojem infekce způsobené bakterií *Cl. perfringens* typu A je nejčastěji nemocný člověk, dále bacilonosič nebo zvířata (hovězí dobytek, drůbež, vepř, hmyz) (10).

Cesta přenosu

Cesta přenosu infekce je požití kontaminované potraviny. Většina epidemií je spojena s nedostatečným tepelným zpracováním potravin a jejich nevhodným skladováním (10).

Inkubační doba

Inkubační doba onemocnění způsobené bakterií *Cl. perfringens* je 6 – 22 hodin, obvykle ale 10 – 12 hodin (36).

Preventivní opatření

Preventivní opatření proti infekci jsou obdobná jako proti infekci způsobené bakterií *B. cereus*, tj. správné skladování potravin a příprava pokrmů bezprostředně před konzumací (33).

1.3.7 Virová hepatitida A

Původce

Původcem infekce je virus hepatitidy A, který je odolný vůči zevnímu prostředí (ve zmrazeném stavu přežívá léta). Je inaktivován pětiminutovým varem, UV zářením nebo dezinfekčními prostředky (32).

Výskyt

Onemocnění hepatitidou A postihuje především děti a mladé dospělé. V posledních letech dochází ke snížení počtu hlášených případů onemocnění (25).

Tab. 8. Počet osob onemocněných virovou hepatitidou A v ČR v letech 1994 – 2006 (31, 36)

Rok/nemoc	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000
Virová hepatitida A	945	1098	2083	1195	904	933	614
Rok/nemoc	2001	2002	2003	2004	2005	2006	
Virová hepatitida A	325	127	114	70	322	132	

Zdroj nákazy

Zdrojem nákazy jsou potraviny a voda, které byly kontaminovány kontaktem s infekčními výkaly, nebo může být virus přenášen díky nedostatečné osobní hygieně (20).

Cesta přenosu

Cesta přenosu hepatitidy A je fekálně – orální. Velmi snadno se šíří mezi osobami, které jsou v těsném kontaktu – např. v rodině či dětských kolektivech. Přenos je dále možný vodou (led vyrobený z kontaminované vody) či potravinami (nedostatečně tepelně upravené ryby, ústřice) (17).

Inkubační doba

Inkubační doba hepatitidy A je 15 – 50 dní, nejčastěji kolem 30 dní (36).

Preventivní opatření

Preventivní opatření proti vzniku onemocnění virem hepatitidy A jsou (20):

- dodržování zásad osobní hygieny potravinářských pracovníků i osob manipulujících s potravinami v domácnostech,
- dostatečné tepelné opracování potravin,
- zajištění zásobování nezávadnou pitnou vodou,
- očkování vnímavých jedinců.

Tab. 9. Nemocnost alimentárních onemocnění v letech 1998 – 2006 v České republice (počet případů / 100 000 obyvatel) (31)

Rok/diagnóza	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006
Salmonelózy	493	434	389	326	274	263	301	321	244
Kampylobakteriόzy	54	95	163	210	227	196	249	295	221
Střevní nákazy způsobené jinými bakteriálními agens	19	18	21	20	26	23	27	26	24
Shigelόzy	5	5	5	3	3	4	3	3	3
Alimentární intoxikace	5	5	11	7	3	1	2	1	1
Virové gastroenteritidy	9	8	12	11	23	21	35	36	54
Infekční gastroenteritidy neznámého původu	6	12	13	13	14	16	28	28	31

1.4 Otravy z plísní

Toxinogenní vláknité mikromycety (plísně) jsou mikroorganismy, které mají schopnost produkovat mykotoxiny. Patří k významným faktorům, které mohou v negativním smyslu ovlivnit zdraví člověka. Plesnivé potraviny, obsahující toxinogenní mikromycety a mykotoxiny, představují významné nebezpečí pro zdraví populace v ČR, zejména z hlediska tzv. pozdních toxických účinků, které mohou být karcinogenní (22).

Potraviny jsou vhodným substrátem pro kontaminaci, růst a rozmnožování toxinogenních mikromycet a následně pro produkci mykotoxinů. Z celkového počtu asi 114 druhů mikromycet, které mají význam v potravinách, je 65 druhů toxinogenních. K nejvýznamnějším toxinogenním mikromycetám patří producenti aflatoxinů (28).

Mykotoxiny jsou účinné látky mikroskopických hub, nebílkovinné povahy, toxické vůči člověku a hospodářským zvířatům a k expozici jimi dochází proti vůli a zájmům člověka. (3). Mykotoxiny patří mezi významné přírodní toxiny v potravinách. Jsou to sekundární metabolity metabolismu toxinogenních plísní (25).

1.4.1 Nejdůležitější rody toxinogenních plísní

Mezi nejdůležitější rody, jejichž druhy produkují významné mykotoxiny, patří rody *Aspergillus*, *Fusarium* a *Penicillium* (3).

Rod Aspergillus

Zástupci rodu *Aspergillus* mají ubikvitní rozšíření. Nacházejí se v půdě, na rostlinných zbytcích, na surovinách a potravinách, ve vzduchu, atd. Některé druhy jsou patogenní pro člověka a zvířata (34).

Rod Fusarium

Fusaria patří mezi nejrozšířenější plísně v přírodě. Plísně tohoto rodu jsou hojně přítomny v půdě, na částech rostlin apod. Parazitují také na vyšších rostlinách – způsobují hnilobu jablek, rajčat (8).

Rod Penicillium

Penicilia jsou velmi rozšířena v přírodě, na nejrůznějších organických materiálech, na různých surovinách a potravinách (34).

1.4.2 Přehled důležitých mykotoxinů

Aflatoxiny

Aflatoxiny produkují některé kmeny druhů *Aspergillus flavus* a *Aspergillus parasiticus*. Známé jsou aflatoxiny B₁, B₂, B_{2a}, G₂, G_{2a}, M₁, M₂, P₁, Q₁ a R₀ (18). Sporadicky se vyskytují zprávy o nálezů aflatoxiny – produkujících kmenů jiných mikroskopických hub, z rodů *Aspergillus* a *Penicillium*. Aflatoxin B₁ je nejsilnější dosud známý přírodní karcinogen (25).

Produkce aflatoxinů silně závisí na teplotě, vlhkosti, přístupu vzduchu, struktuře a chemickém složení substrátu. Důležité jsou i vlivy doprovodné mikroflóry (inhibice tvorby aflatoxinů vlivem *Aspergillus niger*). Existují látky, které jsou schopny biosyntézu aflatoxinů do určité míry blokovat (kofein), jiné (některá organická rozpouštědla) naopak jejich produkci zvyšují (3).

Aflatoxiny jsou schopny vyvolat u člověka Reyův syndrom, zánět jater, primární hepatom, kwashiorkor a stavy útlumu imunity (29).

Patulin

Patulin byl původně ve 40. letech popsán jako antibiotikum a dokonce po krátký čas léčebně využíván. Po objevení karcinogenity vůči zvířatům byl stažen a dnes je považován za významný mykotoxin (7).

Patulin je produkován řadou druhů mikroskopických hub rodů *Aspergillus*, *Byssochlamys* a *Penicillium* (název odvozen od *P. patulum*). V přírodě je poměrně rozšířen, důležitá je zejména jeho produkce na kazícím se ovoci, velice často v jablkách. Jsou rovněž popsány otravy dobytka ze zaplesnivělých siláží (17).

Patulin je jeden z mála dobře rozložitelných mykotoxinů. Podstatou detoxikace je reakce patulinu s –SH skupinami. Rovněž byl prokázán rozklad patulinu během alkoholového kvašení (29).

Ochratoxin A

Ochratoxin A je ze skupiny ochratoxinů nejdůležitější a nejtoxičtější. Je produkován některými druhy rodů *Aspergillus* a *Penicillium*. Hlavním účinkem ochratoxinu A na úrovni organismu je útlum imunity (3).

Ochratoxin A byl izolován zejména z obilí. Dalšími potravinami mohou být masné výrobky, což je dáno faktem, že ochratoxin A vytváří rezidua ve tkáních. Další potravinou, ve které se může vyskytovat ochratoxin A může být káva. Toto zjištění souvisí s nálezy toxikologicky významných koncentrací ochratoxinu A v lidské krvi v krevních konzervách (17).

Tab. 10. Limity koncentrací mykotoxinů v poživatinách ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) (39)

Poživatina	Aflatoxin B ₁	Aflatoxin M ₁	Patulin	Ochratoxin A
Všeobecně	0,005	0,005	0,05	0,02
Mléčná výživa kojenecká v přepočtu na obnovené mléko	-	0,00005	-	-
Ořechy a sušené ovoce k přímé spotřebě	0,002	-	-	-
Obiloviny	0,002	-	-	0,003
Dětská výživa	0,0005	0,00005	0,03	0,001
Kojenecká výživa	0,0005	0,00005	0,02	0,001
Koření	0,02			

Citrinin

Citrinin je produkován některými druhy rodu *Penicillium* a snad i *Aspergillus*. Původně byl objeven a používán jako antibiotikum, ale pro značnou toxicitu (nefrotoxický) byl vyrazen. Může se vyskytovat společně s ochratoxinem a zřejmě jde i o jeho prekursor. Po vyvolání metabolických bloků lze u kmenů produkujících ochratoxin zaznamenat pokles této

produkce a objevení produkce citrininu. Může se vyskytovat i ve „žluté rýži“ (rýže obsahující karoten), ale v našich podmínkách je kontaminantou zejména obilí (3).

Kyselina cyklopiazonová

Kyselina cyklopiazonová je produkována větším množstvím druhů *Aspergillus* a *Penicillium*. Paralelně bývají v substrátu přítomny i další příbuzné sloučeniny, amidy a iminy kyseliny cyklopiazonové (17).

Při podání obcházejícím jaterní bariéru byly pozorovány u běžných hospodářských a laboratorních zvířat křeče a úhyn s cyanózou. Při podání per os dochází především k poškození trávicí trubice a jater (3).

V menším množství se mykotoxin pravidelně vyskytuje v plísňových sýrech pod pokryvem *Penicillium camemberti*, vyskytuje se i v plísňových salámech. Dalším uvažovaným zdrojem je drůbeží maso (34).

Zearalenon

Zearalenon, ač nemá stereoidní strukturu, má účinky stereoidních hormonů estrogenů. Jsou rezeznávány účinky estrogení, antiestrogení, antiandrogení a anabolické, kterou jsou u jeho derivátů různým způsobem zastoupeny. V organismu se metabolicky aktivuje, asi 5 % se vylučuje močí, zbytek stolicí, během laktace asi 40 % mlékem (17).

Zearalenon s účinky estrogenů v potravě (hlavně obilniny a výrobky z nich) může vyvolat hyperestrogení syndrom. Je znám především u dobytka, kdy jsou popsány záněty rodidel, zmetání a poruchy plodnosti u samců (43).

Zearalenon a příbuzné látky byly prokázány jak v drůbeži, tak i v používaném krmivu. Problémy mohou nastat též u konzumace naklíčeného obilí a dalších semen (během klíčení dochází k nárůstu mykotoxinů) (17).

1.4.3 Detoxikace mykotoxinů

Domácí dokontaminace potravin je prakticky neproveditelná. Proto je nejlepší napadenou potravinu vyhodit. Někdy prováděné okrájení má význam jedině u málo a čerstvě napadených pevných potravin (jedna až dvě kolonie, ne starší tří dnů), protože mykotoxiny substrátem rychle difundují a v některých substrátech (chléb) může být i v hloubce makroskopicky neviditelné mycelium, které však může produkovat mykotoxiny. U kapalných a rosolovitých substrátů (kompoty, džemy, marmelády) je situace ještě

jednoznačnější. Zde vyskytující se mykotoxiny (hlavně patulin a kyselina penicillová) velice rychle difundují, takže jejich koncentrace je v celém objemu napadeného balení prakticky stejná. Napadené potraviny by měly být rovněž znehodnoceny tak, aby nedošlo k jejich následné konzumaci lidmi (3).

Tab. 11. Houboví a plísňoví původci onemocnění z pokrmů – mezní hodnoty (38)

Mikroorganismus	Kategorie potravin	Nejvyšší mezní hodnota na g (ml)
Kvasinky	potraviny určené k přímé spotřebě s výjimkou potravin, kde jsou kvasinky součástí kulturní mikroflóry	10^7
Plísně	ostatní potraviny (krom potravin určených pro kojeneckou a dětskou výživu) s výjimkou potravin, kde jsou plísně součástí kulturní mikroflóry	růst plísní viditelný prostým okem

1.5 Chlazené, mražené a sterilované hotové pokrmy

Vzhledem k tomu, že v dnešní době pracovně vytížené společnosti, která má stále méně času na přípravu poledních či večerních pokrmů, se stále více na trhu objevují chlazené nebo mražené hotové produkty. K jejich regeneraci je zapotřebí nejčastěji mikrovlnná trouba nebo vodní lázeň. Tímto se zkracuje doba potřebná k ohřevu pokrmu. Společnost tak ušetří čas potřebný na přípravu oběda či večeře.

Zároveň si podniky společného stravování mohou předpřipravít a zchladit hotové pokrmy, které v případě nutnosti mohou kdykoliv regenerovat, případně je mohou použít k odprodeji k přímé spotřebě. Tyto pokrmy však musí splňovat, tak jako hotové pokrmy v podnicích společného stravování, stanovené hygienické limity.

1.5.1 Chlazené pokrmy

Chlazené pokrmy jsou hotové pokrmy připravené běžnými kulinářskými postupy, které se ihned po přípravě zchladí na teplotu $+4^{\circ}\text{C}$ (38). Baleny jsou po jedné dávce – buď v mikrotenovém sáčku, nebo v hliníkové tvarované misce. Konzumují se po zahřátí. Pokles teploty změní natolik vnější podmínky, že v těchto potravinách dojde k zastavení růstu mezofilních mikrobů (např. koliformních), pokud růst pokračuje, pak se generační doby značně prodlužují. Tím se mezofilní mikroorganismy stávají nevýznamnou mikroflórou a dominantní složkou jsou zde psychofilní a psychrotrofní druhy, hlavně zástupci rodů *Pseudomonas*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Aeromonas*, *Acinetobacter*, *Clostridium*,

Yersinia a další. I jejich generační doby se však prodlužují s klesající teplotou (10 – 20 h při 5 °C, při 0 °C i stovky hodin) (27).

V potravinách uchovávaných v chladu se růst mikroorganismů nezastavuje, pouze zpomaluje. Výsledkem je, že za těchto teplot dochází k pomalému kažení potravin, které se může projevit málo zřetelným pachem a mírně změněnou chutí (zatučlá, atypická, cizorodá). Změny se začínají projevovat asi po pěti dnech skladování. V té době již bývají počty psychrotrofních mikroorganismů značně vysoké (11). Pro chlazené hotové pokrmy je maximální povolená doba skladování pět dní při teplotě nejvýše + 4 °C (38).

Růst patogenních mikroorganismů je nízkými teplotami rovněž citelně inhibován. Salmonely rostou obvykle od 10 °C, *Clostridium perfringens* roste dobře až od 12 °C. *Staphylococcus aureus* je schopen růstu asi od 7 °C, ale tvorba toxinu je na teplotu prostředí citlivější – ustává při 10 – 15 °C (11).

1.5.2 Hotové mrazené pokrmy

Při výrobě hotových mrazených pokrmů je nutné dodržet všechny hygienické požadavky. Po přípravě se nejčastěji plní do jednorčcových sáčků z umělých hmot nebo do hliníkových misek. Obvykle se ještě převažují a pak mrazí. Jsou připraveny k přímé konzumaci, strážník si je musí ohřát v horké vodě. Počet mikrobů nemá přesahovat před výdejním ohřevem 10^4 /g, u příloh $2 \cdot 10^4$ /g, u salátů ze syrové zeleniny $5 \cdot 10^4$ /g. Koliformní mikroorganismy, enterokoky, plísně a kvasinky nemají být přítomny vůbec. Dobrým indikátorem mikrobiální jakosti u těchto výrobků je *Staphylococcus epidermidis* (12).

Kritickými složkami hotových mrazených pokrmů jsou brambory a knedlíky, které jsou občas značně kontaminovány. Z mikroorganismů schopných vyvolávat onemocnění z potravin je třeba věnovat pozornost přítomnosti *Staphylococcus aureus*. Salmonely ani shigely nebývají zaznamenány, stejně tak *Clostridium perfringens*, které je jinak častým kontaminantem masitých polévek a omáček. Mykotoxiny se nevyskytují (11).

1.5.3 Hotové pokrmy sterilované teplem – konzervy

Konzervace teplem je dosud nejekonomičtější způsob uchování potravin. Konzervy jsou baleny tak, aby nemohlo dojít k sekundárnímu pronikání mikroorganismů do sterilní poživatiny (12).

U těchto výrobků nemá význam vodní aktivita ani obsah živin. Dominantní je pH, které svou hranicí 4 dělí konzervy na kyselé a na málo kyselé. V kyselých konzervách nemá

Clostridium botulinum podmínky pro rozvoj, zatímco v málo kyselých tato možnost je. Charakteristickým znakem pro konzervy je tzv. komerční sterilita (mohou být přítomny pouze ojedinělé spory aerobních mikroorganismů, které nemají možnost vyklíčit ani se pomnožovat). Suroviny používané pro výrobu konzerv musí být kvalitní a musí mít vyhovující mikrobiální jakost (1).

Kvalita polotovarů před plněním do plechovek nebo do skla a dodržování zásad správné sterilace jsou dva hlavní kritické body konzervářské výroby (11).

Tepelná rezistence mikroorganismů je značně variabilní. Inaktivace při dané teplotě probíhá logaritmicky, a to tím rychleji, čím je teplota vyšší. Vyšší počty mikrobů v polotovaru vyžadují delší dobu nebo vyšší teplotu záhřevu (11).

Častým projevem zkažení konzervy je bombáž, způsobovaná převážně činností sporulujících anaerobů produkujících plyn, jako jsou *Clostridium perfringens*, *Cl. sporogenes*, *Cl. putrefaciens*, *Cl. bifermentans*, *Cl. butyricum* a *Cl. pasterianum*. Ty se pomnožují v málo kyselých konzervách, hlavně masitých. Z fakultativně anaerobních se na kažení mohou podílet *Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *B. circulans* a další. Bombáže, vyvolávané činností nesporelujících mikrobů, např. koliformními mikroby nebo kvasinkami jsou ojedinělé a dokazují, že konzerva nebyla řádně uzavřena (33).

1.6 Metody zjišťování patogenních mikroorganismů v potravinách

Mikrobiologické metody k průkazu patogenních mikrobů v poživatinách jsou pouze jedna z komponent systému preventivních opatření, avšak klíčová, protože jedině jejich pomocí lze přítomnost patogenních mikrobů v potravine nebo prostředí zjistit. Proto verifikují účinnost všech ostatních opatření (13).

V posledních letech se používají k průkazu patogenních mikrobů v potravinách a ve výrobním prostředí tři typy metod:

- klasické kultivační metody,
- rychlé metody,
- epidemiologické metody.

Tyto kategorie metod se používají většinou k různým účelům a v různých situacích, takže se metody z různých kategorií vzájemně nezastupují, nýbrž doplňují (13).

1.6.1 Klasické kultivační metody

Kultivační metody se používají ke kontrolním rozborům, jejichž účelem je rozhodnout o přípustnosti poživatiny pro lidskou nebo živočišnou konzumaci, k vystavování

garančních osvědčení jakosti v tuzemských i mezinárodních dodavatelsko-odběratelských vztazích, k rozborům potravin, u kterých je podezření, že způsobily alimentární onemocnění, k mikrobiologické kontrole výrobního zařízení a prostředí (27).

Kvalitativní metody

Kvalitativní metody slouží k průkazu přítomnosti či nepřítomnosti zjišťovaného mikroba v určitém, metodou předepsaném množství vzorku (19).

Kvantitativní metody

Při očekávaném počtu stanoveného mikroba ve vzorku větším než 100/ml nebo 1000/g se stanovení provádí počítáním kolonií. Očkuje se na selektivně diagnostická média přímo z (tekutého) vzorku základního ředění nebo dalších ředění. Při nižších počtech se stanovení provádí v tekutých selektivních médiích metodou MPN (metoda nejvíce pravděpodobného počtu), nebo počítáním kolonií po zkoncentrování zjišťovaného mikroba ve vzorku centrifugací, membránovou filtrací nebo imunomagnetickou separací. Tomuto druhému způsobu se dává přednost, protože MPN je méně přesná (19).

1.6.2 Rychlé metody

Klasické kultivační metody k průkazu patogenních mikroorganismů v potravinách vyžadují dobu 7 až 10 dní. Požadavky potravinářské praxe na rychlé získávání informací o výskytu patogenních mikroorganismů v potravinách vedly k vývoji rychlých metod. Výhodou těchto metod je především rychlé získání negativních výsledků, tj. zjištění nepřítomnosti příslušného patogenního mikroorganismu ve vzorku. Pozitivní výsledky vyžadují obvykle další vyšetření vzorku klasickou metodou (27).

K výběru vhodného komerčního testu je třeba provést porovnání výsledku klasické metody a testu na materiálu, který má být analyzován (27).

1.6.3 Epidemiologické metody

Jestliže se z potravin, u které je důvodné podezření, že byla příčinou alimentární infekce nebo intoxikace, podaří vyizolovat mikroorganismus schopný způsobit takové onemocnění, je v hygienické praxi důležité (19):

- zjistit příčinný vztah mezi kontaminací potravin a případy onemocnění,
- pokud takový vztah existuje, identifikovat zdroj kontaminace potravin, aby se zjistilo, jak ke kontaminaci došlo a zdroj kontaminace byl zlikvidován.

Do nedávné doby takové zjištění často nebylo možné, zvláště pokud byla kontaminace způsobena sérovarem patogena velmi rozšířeným v prostředí. Další identifikace izolátů v rámci sérovaru se prováděla pouze fagotypizací, která má však omezenou rozlišovací schopnost, pokud je současně s určitým sérovarem rozšířen i určitý fagotyp (19).

Teprve rozvoj molekulární genetiky bakterií umožnil formulovat pojem klonu a vyvinout metody molekulárního typování k rozlišování a identifikaci klonů. Klony se navzájem liší strukturou chromozomu, často i extrachromozomálními genetickými elementy (19).

K molekulárnímu typování se v praxi nejčastěji používají tyto metody:

Spektra rezistence k antibiotikům (antibiogramy)

Metoda se zakládá na genetických rozdílech mezi klony určitého sérovaru k různým antibiotikům. Jestliže se použije k testování rozsáhlá série antibiotik, lze zařadit jednotlivé klony do tříd podle typických kombinací citlivosti (rezistence) k jednotlivým antibiotikům (27).

Fagotypizace

Fagotypizace je založena na rozdílné citlivosti (rezistenci) individuálních klonů k fágům, které lyzují daný sérovar (27).

Plazmidové profilování

Plazmidový profil je počet různých plazmidů, tj. počet plazmidů různých velikostí v buňkách klonu. Plazmidové profilování využívá rozdílů mezi plazmidovým složením jednotlivých klonů (19).

Elektroforéza polymorfních enzymů

Jednotlivé klony téhož sérovaru se geneticky liší mj. i tím, že jeden a tentýž enzym je v různých klonech kódován různými alelami svého strukturního genu. V tomto případě různé klony obsahují různé varianty téhož enzymu = isoenzymy. Isoenzymy téhož enzymu se poněkud liší některými svými fyzikálně-chemickými vlastnostmi, včetně pohyblivosti při elektroforéze v gelech (19).

Polymorfie délky restrikčních fragmentů (RFLP)

Metoda RFLP se využívá k molekulárnímu typování variability struktury chromozomů v jednotlivých klonech populace studovaného sérovaru. Chromozomy izolované z klonů se štěpí jednou nebo několika restrikčními endonukleasami z jiných druhů bakterií (27).

1.7 Kultivační vyšetření

1.7.1 Obecné zásady kultivace a vyjadřování výsledků

Při průkazu patogenních mikrobů musí být postupováno tak, aby jejich přítomnost byla spolehlivě vyloučena v co největším množství vyšetřované poživatiny (5).

Proto je třeba (5):

- a) kultivovat co největší množství vzorku,
- b) vzorky vždy co nejdokonaleji homogenizovat,
- c) používat kultivační metody umožňující co nejspolehlivější důkaz patogenních mikrobů,
- d) kromě přímé kultivace na selektivně diagnostických půdách vzorky vždy pomnožit v selektivní půdě a vyočkovat je na vhodnou pevnou půdu.

Zjišťování patogenních mikrobů je zásadně kvalitativní a za jejich pozitivní nález se považuje zjištění jakéhokoliv jejich množství ve vyšetřovaném vzorku (5).

V některých případech lze k vyjádření masivnosti infekce vyšetřované poživatiny zhodnotit jejich relativní četnost v celkové mikroflóře vzorku z půd naočkovaných nepomnoženým vzorkem (5).

Při průkazu podmíněně patogenních a indikátorových mikrobů a mikrobů, které mění hygienické vlastnosti a jakost výrobků, je nutné stanovit jejich počet v objemové nebo váhové jednotce. U nerozpustných a nehomogenizovatelných látek se stanoví počet těchto mikrobů na povrchu jejich částic v určité váhové jednotce, při vyšetřování pracovních ploch, náčiní aj. na určité plošné jednotce (5).

Proto se při posuzování významu podmíněně patogenních, indikátorových a hygienicky a technologicky nežádoucích mikrobů (5):

- a) kultivuje vždy přesně odvážené nebo odměřené množství vzorku,
- b) vzorek se vždy dokonale homogenizuje,
- c) je-li třeba, ředí se homogenizovaný vzorek v přesném poměru tak, aby po naočkování na půdy byly vyrostlé kolonie dobře počítatelné,
- d) jsou-li počty mikrobů stanovovány v tekutých půdách titračním způsobem, očkují se do půd tak ředěné vzorky, aby v očkovaném množství jednoho ředění byly přítomny ojedinele (v počtu 1 až 9 jedinců),
- e) používá se kultivačních půd a podmínek, které umožňují neomezený růst zjišťovaných mikrobů,

- f) na půdách zjišťované počty mikrobusů se přepočítají na objemovou, váhovou nebo plošnou jednotku.

1.7.2 Stanovení počtu enterokoků

Vzorek se kultivuje na selektivní diagnostické půdě, která potlačuje růst jiných mikrobusů a na které rostou enterokoky v charakteristicky zbarvených koloniích typické morfologie.

Metody se používá (5):

- 1) k posouzení zdravotní nezávadnosti poživatin, zejména těch, které jsou určeny k výživě vnímavé a málo odolné části populace (zejména kojenců),
- 2) ke zjištění znečištění mikroby střevního původu u látek, v kterých vlivem zpracování, opracování nebo ošetření byly koliformní mikroby usmrceny nebo se vyskytují jen v malých množstvích,
- 3) k posouzení, zda byly dodrženy některé předepsané technologické postupy.

a) Živné půdy

M-Enterococcus agar podle Slanetz-Bartleyové,

Eskulinová půda pro enterokoky (5).

- b) Postup zkoušky. Přesně odměřené množství takového ředění vzorku, aby počet vyrostlých kolonií enterokoků se pohyboval mezi 30 a 300, se rovnoměrně rozetře zahnutou skleněnou tyčinkou po povrchu předem v termostatu oschlé půdy. Je-li třeba, nechají se půdy dosušit v termostatu i po rozetření inokula (5).

Naočkované půdy se inkubují dva dny při teplotě 37°C, odečítají se však také po 24 hodinové inkubaci (5).

- c) Odečítání půd. Enterokoky na půdě podle Slanetz-Bartleyové vytvářejí kolonie 1 až 2 mm v průměru, hnědočerveně až růžově zbarvené, zpravidla okrouhlé, hladké a lesklé. Půda v jejich okolí je zbarvena (5).

Na eskulinové půdě enterokoky rostou v drobných koloniích, v průměru kolem 1 mm, zbarvených černě. Někdy jsou kolonie kovově lesklé. Kolem kolonií se vytváří černě zbarvený dvorec (5).

Kolonie, vytvářející charakteristickou barevnou reakci a mající enterokokům odpovídající morfologii, se spočítají a jejich počet se přepočte obvyklým způsobem na 1 ml nebo 1 g vzorku podle použitého ředění a jeho naočkovaného množství (5).

- d) Spolehlivost zkoušky. Půdy jsou selektivní a potlačují prakticky veškerou mikroflóru včetně ostatních streptokoků, mikrokoků a aerobních sporulátů (5).

Ojedinelé kmeny enterokoků však na půdách také nevyrůstají, takže skutečný počet enterokoků přítomný ve vyšetřované poživatině je spíše o něco málo vyšší než jejich počet zjištěný kultivací na uvedených půdách (5).

Vysoká selektivita půd má však výhodu v tom, že při odečítání a hodnocení půd postačí makroskopická diferenciacie a identifikace kolonií a není třeba provádět obtížnou, složitou a pracnou diferenciaci enterokoků od ostatních streptokoků podle růstových schopností, rezistence a biochemických vlastností (5).

1.7.3 Stanovení osmofilních kvasinek

Vzorky nebo jejich ředění se kultivují na půdách s vysokým obsahem cukru.

Metoda se používá ke stanovení počtu kvasinek schopných růst a uplatňovat svoji biochemickou aktivitu v prostředí o vysokém osmotickém tlaku (s vysokým obsahem cukru) (5).

a) Živné půdy a roztoky.

Sterilní 50% roztok glukózy

Masopeptonový agar nebo Sabouraudova půda, popř. sladinkový agar s 20 % glukózy.

1.8 Vyšetření povrchové mikroflóry

Povrchová mikroflóra se zjišťuje běžně u látek, které neumožňují pomnožení mikrobů a v kterých se mikroby vyskytují výhradně na povrchu částic. U látek práškových a zrnitých se mikroby vytřepávají do sterilního Butterfieldova nebo fyziologického roztoku a u poživatin kusových se používá metody stěrové nebo otiskové (jako při vyšetření pracovních a jiných ploch) (5).

U poživatin, na kterých se mikroby za vhodných podmínek mohou množit, se však povrchová mikroflóra zpravidla běžně nevyšetřuje (12). Povrchové, mikrobiálně kontaminované vrstvy se naopak při odběru vzorků odstraňují a vyšetřují se pouze části poživatiny z hloubky nejméně 1 cm pod povrchem (5).

Vyšetření povrchové mikroflóry se však provádí (5):

a) při posuzování vhodnosti podmínek při přepravě, úchově a skladování, zejména poživatin a poživatinových surovin,

b) při zjišťování masivnosti a druhu povrchové mikrobiální kontaminace výrobků a surovin.

1.8.1 Vyšetření povrchové mikroflóry stěrovou metodou

Metoda se používá při vyšetření povrchové mikroflóry látek rovného i nerovného povrchu.

- a) Posup zkoušky. Tampónem smočeným do sterilního Butterfieldova roztoku se setře za stálého otáčení tampónu na sebe kolmými tahy odměřená plocha povrchu dle šablony vyšetřované látky (stejně jako při mikrobiologickém vyšetřování pracovních a jiných ploch) (5).

Špejle se těsně nad tampónem odlomí do zkumavky se sterilním Butterfieldovým roztokem. Mikroby setřené tampónem se kvantitativně vytřepou do roztoku tak energickým třepáním, až se jednotlivá vlákna tampónu uvolní (5).

Neodebírání se stěr v laboratoři, přepravuje se odlomený tampón ponořený do Butterfieldova roztoku (5).

Protože mikroflóra povrchu poživatin, na kterých se mikroby mohou množit, bývá zpravidla velmi hojná, je třeba suspenzi mikrobů získanou vytřepáváním tampónu do roztoku ředit tak, aby naočkováním půd bylo docíleno izolovaných, počítatelných kolonií (5).

Kultivuje se na půdách a za podmínek vhodných pro průkaz zjišťovaných mikrobů.

Kultivací zjištěné počty kolonií se přepočítávají podle stupně ředění a jeho objemu naočkovaného do půd a podle velikosti setřené plochy na plochu 1 nebo 10 cm² vyšetřované látky (5).

- b) Spolehlivost a hodnocení. Tampónem se setře jen část mikrobů z povrchu vyšetřované poživatiny. Podíl mikrobů, který se tampónem setře z vyšetřované plochy, závisí na jakosti povrchu vyšetřované látky a na masivnosti mikrobiální kontaminace. U poživatin bývá obojí takového druhu a povahy, že se tampónem setře zpravidla mnohem menší část mikrobů než z pracovních a jiných ploch (5).

Při vyšetřování látek stejného nebo podobného druhu bývá odchylka zjištěných hodnot od hodnot skutečných přibližně stejná, takže jejich vyšetřováním se docílí srovnatelných hodnot (5).

Stěrovou metodou se zjišťuje počet mikrobů zjišťovaného druhu, které se nalézají na povrchu vyšetřované látky (5).

Metoda neumožňuje posoudit masivnost kontaminace poživatin při manipulaci, přepravě a úchově. Umožňuje však, zejména při srovnání s výsledky získanými otiskovou metodou, posoudit vhodnost podmínek jejich úchovy (5).

Výsledky vyšetření povrchové mikroflóry poživatin stěrovou metodou jsou vždy vyšší než výsledky metodou otiskovou, poněvadž mikrokolonie mikrobů setřené z povrchu poživatin se při zpracování vzorku rozptýlí v jednotlivé mikrobiální jednotky. Rozdíly jsou tím větší, čím déle a při čím nevhodnějších podmínkách byly vyšetřované poživatiny uchovávány (5).

Odebraný vzorek lze vhodně ředit. Proto je možné stěrovou metodou vyšetřovat a posuzovat i silně mikrobiálně kontaminované látky (5).

1.9 Stanovení mikrobiální kontaminace prostředí potravinářských provozoven a obalů

V potravinářských provozech se zjišťuje stupeň mikrobiální kontaminace a složení mikroflóry pracovních a jiných ploch, provozního zařízení, lahví, obalů, rukou a pracovních oděvů zaměstnanců, ovzduší aj. (12).

Z výsledků vyšetření se posuzuje dodržení hygienických a sanitačních opatření a zásad ve výrobnách, skladech a přepravních prostředcích a dodržení osobní hygieny (5).

1.9.1 Stanovení mikrobiální kontaminace ploch, provozního zařízení a obalů stěrovou metodou

Mikroorganismy kontaminující vyšetřovanou plochu se setřou sterilním tampónem, převedou se do sterilního Butterfieldova roztoku a kultivují se (5).

Metoda se používá ke zjištění stupně mikrobiálního znečištění a složení mikroflóry pracovních ploch, provozních zařízení, nádobí a náčiní, obalů, stěn, podlah, nábytku a výrobních zařízení, přepravních a skladovacích prostorů apod. (5).

- a) Postup zkoušky. Postup odběru, zpracování a kultivace vzorků je obdobný jako u vyšetření povrchové mikroflóry poživatin stěrovou metodou.
- b) Hodnocení. Výsledky vyšetření ploch hladkých a nevsakujících tekutiny jsou spolehlivé. U ostatních ploch jsou zjištěné hodnoty méně přesné, avšak dobře srovnatelné u ploch stejné jakosti. (5)

II. PRAKTICKÁ ČÁST

2 METODIKA

2.1 Cíle práce a charakteristika odebíraných vzorků

2.1.1 Cíle práce

V diplomové práci byly stanoveny tyto cíle:

- zpracování legislativních požadavků na mikrobiologickou bezpečnost potravin,
- stanovení mikrobiální jakosti vybraných pokrmů v Menze UTB a vybraných surovin pro výrobu pokrmů na různých typech pevných i tekutých půd pro kultivaci mikrobů,
- provedení odběru stěrů z pracovních ploch jednotlivých úseků zpracování surovin, jejich mikrobiologická analýza na pevných půdách,
- provedení odběru stěrů z jídelního nádobí, příborů a ploch, se kterými přicházejí strážníci do styku a pracovních ploch sloužících k výrobě pokrmů a jejich mikrobiologická analýza na pevných půdách pro kultivaci mikrobů,
- mikrobiologická identifikace vybraných izolovaných bakterií pomocí biochemických testů,
- na základě teoretické části a výsledků praktické části formulace závěrů týkajících se počáteční mikrobiologické kvality některých surovin pro výrobu pokrmů, hotových pokrmů připravených k výdeji pro strážníky a sanitační a dezinfekční péči o pracovní plochy a zařízení používaných ke zpracování surovin případně porcování již hotových pokrmů.

2.1.2 Charakteristika odebíraných vzorků

- odběr vzorků byl prováděn vždy sterilními odběrovými lžícemi do sterilních nádob, které byly překryty hliníkovou fólií,
- každá odebraná složka pokrmu (maso, příloha, omáčka) byla odebrána do samostatné nádoby,
- odběr vzorků pokrmů byl prováděn těsně před výdejním časem určeným pro strážníky.

2.2 Použité půdy, pomůcky a zařízení

2.2.1 Živné půdy

Plate Count Agar (PCA) (HiMedia)

Složení:

Enzymatický hydrolyzát kaseinu	5	g/l
Kvasničný extrakt	2,5	g/l
Glukosa	1	g/l
Agar	15	g/l

Konečné pH (při 25 ° C) $7,0 \pm 0,2$

Pro stanovení mikroorganismů v potravinách.

Příprava:

Na 1000 ml živné půdy bylo naváženo 23,5 g PCA. Složky byly naváženy do infúzní láhve, poté byla dolita destilovaná voda. Obsah láhve byl promíchán a následně autoklávován po dobu 15 minut. Nakonec byl agar nalit do Petriho misek.

Mannitol Salt Agar Base (MSA) (HiMedia)

Složení:

Pepton	10	g/l
Hovězí bujon.....	1	g/l
Chlorid sodný.....	75	g/l
D-mannitol	10	g/l
Fenolová červeň.....	0,025	g/l
Agar	15	g/l

Konečné pH (při 25 ° C) $7,4 \pm 0,2$

Pro selektivní izolace patogenních stafylokoků v potravinách.

Příprava:

Na 1000 ml živné půdy bylo naváženo 111 g MSA. Složky byly naváženy do infúzní láhve, poté byla dolita destilovaná voda. Obsah láhve byl promíchán a následně autoklávován po dobu 15 minut. Nakonec byl agar nalit do Petriho misek.

Violet Red Bile Agar (VRBA) (HiMedia)

Složení:

Masový pepton.....	7	g/l
Kvasničný extrakt	3	g/l
Žlučové soli – směs.....	1,5	g/l
Laktosa.....	10	g/l
Chlorid sodný.....	5	g/l
Neutrální červeň.....	0,03	g/l
Krystalová violet'	0,002	g/l
Agar	15	g/l

Konečné pH (při 25 ° C) $7,4 \pm 0,2$

Pro selektivní izolace a stanovení počtu koliformních bakterií z vody a potravin.

Příprava:

Na 1000 ml živné půdy bylo naváženo 41,53 g VRBA. Složky byly naváženy do infúzní láhve, poté byla dolita destilovaná voda. Obsah láhve byl promíchán a následně celá láhev byla zahřívána ve vodní lázni do 100 °C po dobu 15 minut. Nakonec byl agar nalit do Petriho misek.

Medium Slanetz-Bartleyové (S-B) Slanetz a Bartley (HiMedia)

Složení:

Tryptosa	20	g/l
Kvasničný extrakt	5	g/l
Dextrosa.....	2	g/l
Fosforečnan disodný	4	g/l
Chlorid tetrazol-trifenylnatý	0,4	g/l
Agar	15	g/l

Konečné pH (při 25 ° C) $7,2 \pm 0,2$

Pro detekci a stanovení enterokoků.

Příprava:

Na 1000 ml živné půdy bylo naváženo 46,5 g S-B. Složky byly naváženy do infúzní láhve, poté byla dolita destilovaná voda. Obsah láhve byl promíchán a následně celá láhev byla zahřívána ve vodní lázni do 100 °C po dobu 15 minut. Nakonec byl agar nalit do Petriho misek.

Chloramphenicol Yeast Glucose Agar (CHYGA) (HiMedia)**Složení:**

Kvasničný extrakt	5	g/l
Dextrosa	20	g/l
Chloramfenikol	0,1	g/l
Agar	14,9	g/l

Konečné pH (při 25 °C) 6,6 ± 0,2

Pro selektivní izolaci a stanovení počtu kvasinek a plísní.

Příprava:

Na 1000 ml živné půdy bylo naváženo 40 g CHYGA. Složky byly naváženy do infúzní láhve, poté byla dolita destilovaná voda. Obsah láhve byl promíchán a následně autoklávován po dobu 15 minut. Nakonec byl agar nalit do Petriho misek.

Xylose – Lysine Deoxycholate Agar (XLD) (HiMedia)**Složení:**

Kvasničný extrakt	3	g/l
L-lysin	5	g/l
Laktosa	7,5	g/l
Sacharosa	7,5	g/l
Xylosa	3,5	g/l
Chlorid sodný	5	g/l
Citran železito-amonný	0,8	g/l
Deoxycholan sodný	2,5	g/l

Thiosíran sodný.....6,8 g/l

Fenolová červeň.....0,08 g/l

Agar15 g/l

Konečné pH (při 25 ° C) $7,4 \pm 0,2$

Pro selektivní izolaci a stanovení počtu salmonel.

Příprava:

Na 1000 ml živné půdy bylo naváženo 56,68 g XLD. Složky byly naváženy do infúzní láhve, poté byla dolita destilovaná voda. Obsah láhve byl promíchán a následně celá láhev byla zahřívána ve vodní lázni do 100 °C po dobu 15 minut. Nakonec byl agar nalit do Petriho misek.

Triple Sugar Iron Agar (TSI) (HiMedia)

Složení:

Pepton20 g/l

Hovězí extrakt.....3 g/l

Kvasničný extrakt3 g/l

Laktosa.....10 g/l

Dextrosa.....10 g/l

Chlorid sodný.....1 g/l

Citrát železitý.....5 g/l

Pentahydrát thiosíranu sodného0,3 g/l

Fenolová červeň.....0,024 g/l

Agar12 g/l

Konečné pH (při 25 ° C) $7,4 \pm 0,2$

Pro rozlišení enterobakterií salmonel na základě biochemických reakcí.

Příprava:

Na 1000 ml živné půdy bylo naváženo 65 g TSI. Složky byly naváženy do infúzní láhve, poté byla dolita destilovaná voda. Obsah láhve byl promíchán a následně celá láhev byla

zahřívána ve vodní lázni, aby se rozpustil přítomný agar. Poté byla půda rozlita do zkumavek po 3 ml, ty uzavřeny kovovými zátkami a následně autoklávovány po dobu 15 minut. Po otevření autoklávu byly zkumavky uloženy tak, aby po zatuhnutí agaru vznikl šikmý povrch.

Modifikované médium dle Rappaporta Vassiliadise (R-V) (HiMedia)

Složení:

Enzymatický kaseinový hydrolyzát	5	g/l
Chlorid sodný.....	8	g/l
Fosforečnan draselný	1,6	g/l
Sextahydrát chloridu hořečnatého	40	g/l
Malachitová zeleň	0,04	g/l

Konečné pH (při 25 ° C) 5,2± 0,2

Použití jako selektivně obohacené médium pro izolaci salmonel z potravin a vzorků životního prostředí.

Příprava:

Na 1000 ml živné půdy bylo naváženo 30 g R-V. Složky byly naváženy do infúzní láhve, poté byla dolita destilovaná voda. Obsah láhve byl promíchán a následně rozlit po 5 ml do zkumavek, které byly uzavřeny kovovou zátkou. Zkumavky pak byly autoklávovány po dobu 15 minut.

2.2.2 Pomůcky a zařízení

Autokláv

Vodní lázeň

Sterilizátor

Biologický termostat

Stomacher

Třepačka

Analytické váhy

Mikroskop

Automatické pipety

Chladnička

Základní laboratorní pomůcky a běžný laboratorní materiál

2.2.3 Chemikálie a pomocné látky

Krystalová violet

Lugolův roztok

Kyselý etanol

Karbofuchsin

Imerzní olej, lékařský benzin

Koncentrovaná kyselina chlorovodíková

Chlorid sodný

2% hydroxid sodný

3% peroxid vodíku

2.3 Odběry vzorků, očkování, kultivace

2.3.1 Druhy zjišťovaných mikroorganismů

V odebraných vzorcích pokrmů byly na jednotlivých kultivačních půdách sledovány následující skupiny mikroorganismů.

Tab. 12. Sledované mikroorganismy

Kultivační půda	Skupina mikroorganismu
PCA	Celkový počet mikroorganismů
PCA	Psychrotrofní mikroorganismy
MSA	Stafylokoky
S-B	Enterokoky
VRBA	Koliformní mikroorganismy
CHYGA	Plísňe a kvasinky
XLD	Koliformní mikroorganismy a salmonely
TSI	Salmonely
R-V	Salmonely

2.3.2 Odběry vzorků

Při odběru vzorků pokrmů i stěrů se postupovalo podle normy ČSN 56 0100 (5).

Pokrmy

Odběry vzorků pokrmů byly prováděny přímo v Menze UTB vždy na začátku výdeje stravy. Odebíráno bylo z jídelních talířů nebo misek, které byly odnášeny ke stolu tak, jako

v případě strážníků, přicházejících do Menzy. Sterilními lžicemi bylo odebráno vždy minimálně 200 g do sterilních kádinek překrytých alobalem. K transportu odebraných vzorků byla použita termoizolační taška, ve které se nacházel chladící led. Použité lžice byly přepravovány odděleně.

Stěry z nádobí, pracovních ploch, surovin a hotových pokrmů

Stěry byly provedeny jednak z veřejně přístupných míst pro strážníky a jednak z výrobních míst, kam má přístup pouze personál Menzy. K odběru bylo použito sterilních vatových tampónů na plastové tyčce, sterilní kovové šablony o velikosti 10 cm² stírané plochy vzorku a sterilního fyziologického roztoku rozplněného po 1 ml ve zkumavkách uzavřených kovovým uzávěrem. Ve všech případech byla sterilně vyjmuta šablona a vatový tampón. Po přiložení šablony se dokonale setřel vymezený povrch, poté byla otevřena zkumavka s fyziologickým roztokem a daný tampón se tak zlomil o hrdlo zkumavky tak, aby zbývající špejle na tampónu nebyla příliš dlouhá. Zkumavka byla uzavřena, vložena do stojanu v termoizolační tašce a ihned přepravena do laboratoře.

2.3.3 Mikrobiologická analýza vzorků

Při mikrobiologické analýze vzorků se postupovalo podle normy ČSN 56 0100.

Očkování a kultivace – pokrmů

Po dopravě do laboratoře byly vzorky ihned očkované na již připravené půdy na Petriho miskách. Před očkováním bylo nutno odvážit přiměřené množství do sterilního speciálního igelitového sáčku, zředit 10x stanoveným množstvím destilované vody a homogenizovat pomocí stomachru. Poté byl vzniklý homogenizát za sterilních podmínek rozředěn do zkumavek a to až do koncentrace 10⁻². V případě celkového počtu mikroorganismů (PCA) byly použity všechny tři koncentrace (10⁰, 10⁻¹, 10⁻²), u stafylokoků (MSA) byly použity 2 koncentrace (10⁰, 10⁻¹), u enterokoků (S-B), kvasinek a plísní (CHYGA), psychrotrofních mikroorganismů (PCA), koliformních mikroorganismů (VRBA) a u půdy pro pomnožení salmonel (R-V) bylo použito neředěného vzorku (10⁰). Po 24 hodinové inkubaci R-V média byl proveden křížový roztěr bakteriologickou kličkou na Petriho misku s XLD agarem. Zároveň s provedením křížového roztěru na XLD půdě bylo zaočkováno médium TSI. TSI půda se nacházela ve zkumavce ve formě šikmého agaru. Kličkou bylo odebráno z R-V média s naočkovaným vzorkem pokrmu a byl proveden vpich do dna zkumavky s TSI půdou a následně potření povrchu půdy téže kličkou. Psychrotrofní mikroorganismy (PCA) a plísně a kvasinky byly kultivovány sedm dní.

Na všechny Petriho misky a do zkumavek bylo naočkováno 0,1 ml homogenizovaného roztoku vzorku.

V následující tabulce vyšetřovaných pokrmů jsou uvedeny počty očkovaných Petriho misek spolu s dobou a teplotou kultivace u různých skupin mikroorganismů.

Tab. 13. Teploty a délky inkubace naočkových Petriho misek a zkumavek (pokrmů)

Mikroorganismy	Doba kultivace (dny)	Teplota v termostatu (°C)	Počet naočkových Petriho misek
Celkový počet (PCA)	2	30	6 (ředění 10^0 , 10^{-1} , 10^{-2})
Stafylokoky (MSA)	2	37	4 (ředění 10^0 , 10^{-1})
Enterokoky (S-B)	2	37	2 (ředění 10^0)
Koliformní (VRBA)	2	37	2 (ředění 10^0)
Koliformní (XLD)	2	37	2 (ředění 10^0)
Koliformní (XLD)*	2	30	1 (křížový roztěr)
Salmonely (RV médium)	1	42	1 zkumavka
Salmonely (TSI)	2	30	1 zkumavka
Psychrotrofní (PCA)	7	20	2 (ředění 10^0)
Kvasinky a plísň (CHYGA)	7	20	2 (ředění 10^0)

*na půdu XLD byl bakteriologickou kličkou proveden křížový roztěr z RV média

Očkování a kultivace – stěry z nádobí, pracovních ploch, surovin a hotových pokrmů

Po dopravě do laboratoře byly zkumavky umístěny do třepačky k vyloučení mikroorganismů do fyziologického roztoku po dobu 20 minut. Po rozptýlení vatového tampónu byly pomocí mikropipety naočkovány Petriho misky. U stěrů z nádobí byly sledovány celkové počty mikroorganismů (PCA), stafylokoky (MSA), enterokoky (S-B) a kvasinky a plísň (CHYGA). U stěrů z pracovních ploch, surovin na přípravu pokrmů a hotových pokrmů byly sledovány celkové počty mikroorganismů (PCA), enterokoky (S-B), kvasinky a plísň (CHYGA) a psychrotrofní mikroorganismy (PCA).

V následující tabulce vyšetřovaných stěrů jsou uvedeny počty očkovaných Petriho misek spolu s dobou a teplotou kultivace u různých skupin mikroorganismů.

Tab. 14. Teploty a délky inkubace naočkových Petriho misek (stěry)

Mikroorganismy	Doba kultivace (dny)	Teplota v termostatu (°C)	Počet naočkových Petriho misek
Celkový počet (PCA)	2	30	2
Stafylokoky (MSA)	2	37	2
Enterokoky (S-B)	2	37	2
Plísň a kvasinky (CHYGA)	7	20	2
Psychrotrofní (PCA)	7	20	2

2.4 Identifikace izolovaných kolonií

V rámci laboratorní analýzy byla sledována nejen přítomnost mikroorganismů v pokrmech, ale i identifikace vybraných kolonií.

U všech kolonií byly provedeny následující testy:

- ❖ Gramovo barvení,
- ❖ KOH test,
- ❖ Důkaz produkce katalasy,
- ❖ Oxi test – test produkce oxidasy.

Po identifikaci Gramovým barvením a KOH testem byly u gram pozitivních koků provedeny tyto testy:

- ❖ Vyočkování na půdu Mannitol Salt Agar Base (MSA) a Plate Count Agar (PCA) se 7 % NaCl,
- ❖ V případě pozitivního nárůstu na MSA a PCA s NaCl identifikace podle STAPHYtestu.

Po identifikaci Gramovým barvením a KOH testem byly u gramnegativních bakterií provedeny tyto testy:

- ❖ OF test.

OF test rozdělil bakterie na fermentující, nefermentující, vytvářející plyn nebo alkalizující. Pro další určování byly použity fermentující gramnegativní bakterie, u kterých byl dále proveden:

- ❖ ENTEROtest.

2.4.1 Gramovo barvení

Princip fungování testu

Barvení podle Grama je jednou z nejdůležitějších diagnostických metod při určování rodů a druhů bakterií. Jedná se o barvení fixovaného preparátu a následné moření buněk roztokem jódu. Vzniká komplex barvivo – jód – složky buněčné stěny, který lze z buněk některých rodů nebo druhů mikroorganismů vyplavit etanolem nebo acetonem. Tyto druhy jsou označovány jako gramnegativní, jejich buněčné stěny jsou pro mikroskopická pozorování dobarvovány karbolfuchsinem nebo safraninem. Pokud barevný komplex zůstává v buněčných stěnách zachycen, označujeme organismy jako grampozitivní.

Postup

K provedení Gramova testu je zapotřebí 24 h stará kultura mikroorganismů, barvicí roztoky – krystalová violet, Lugolův roztok, karbolfuchsin nebo safranin, etanol nebo aceton, očkovací klička, podložní skla, imerzní olej a lékařský benzin, mikroskop.

Do středu ožihnutého podložního skla se nanese kapka sterilní vody a vyžíhanou kličkou se do ní přenese malé množství kultury z Petriho misky. Po rozmíchání suspenze se zhotoví tenký nátěr, který se nechá zaschnout. Pinzetou se sklo uchopí a provede se fixace preparátu plamenem. Preparát se převrství krystalovou violetí, po opláchnutí vodou se převrství Lugolovým roztokem. Následuje odbarvování preparátu acetonem nebo etanolem. Preparát se dobarví zředěným karbolfuchsinem. Sklo se opláchně vodou a osuší. Na usušený nátěr se kápne imerzní olej a mikroskopuje za použití imerzního objektivu.

Hodnocení

Grampozitivní organismy jsou zbarveny tmavě fialově až modročerně, gramnegativní bakterie jsou červené nebo růžové.

2.4.2 KOH test

U jednotlivých bakterií je možno Gramovu reakci zjistit pomocí rychlého testu s KOH, založeného na rozdílném složení buněčné stěny grampozitivních a gramnegativních bakterií.

Na podložní sklo se kápne 2% roztok KOH a do něho se pomocí kličky rozetře část bakteriální kolonie.

U gramnegativních bakterií se tvoří táhnoucí se viskózní hmota. U grampozitivních bakterií se tato viskózní hmota netvoří, protože silná peptidoglykanová vrstva jejich buněčné stěny je k účinkům louhů odolná.

2.4.3 Důkaz produkce katalasy

Při některých biochemických procesech vzniká toxický peroxid vodíku. Některé bakterie mají schopnost produkovat enzym katalasu, který rozkládá peroxid vodíku na vodu a molekulární kyslík. Anaerobní bakterie většinou tento enzym netvoří.

Na podložní sklo se kápne 3% peroxid vodíku a do kapky se rozetře kličkou 24 hodinová testovaná kultura.

Pozitivní reakce se projeví uvolňováním bublinek kyslíku ihned po přidání kultury.

2.4.4 Oxi test – test produkce oxidasy

Cytochromoxidasa je enzym, který se podílí na oxidativních procesech v buňce. Je přítomen u všech aerofilních bakterií s respiračním metabolismem. Podstatou testu je reakce derivátů p-fenylendiaminu se železem obsaženým v cytochromových respiračních komplexech. Přítomnost cytochromoxidasy je detekována barevnými reakcemi pomocí příslušných činidel.

24 hodinová kultura byla nanášena sterilní kličkou na proužek papíru, který byl nasycen činidlem. Je-li test pozitivní, vznikne během deseti sekund tmavě fialové zbarvení (Wursterová modř).

2.4.5 Oxidačně-fermentační test (OF test)

Cílem testu je zjistit zkvašování glukosy. V pozitivním případě testu vzniklé organické kyseliny způsobí změnu acidobazického indikátoru – reakční směs zežloutne. Reakce jsou vedeny ve zkumavkách ve dvou řadách – s parafinem (jako fermentační) a bez parafinu (oxidační).

Médium pro fermentaci cukrů (OF) (HiMedia)

Složení:

Pepton	10	g/l
Chlorid sodný.....	5	g/l
Glukosa	10	g/l
Bromtymolová modř.....	0,02	g/l
Agar	15	g/l

Konečné pH (při 25 ° C) 7,2 ± 0,2

Příprava:

Na 1000 ml živné půdy byly do infúzní láhve naváženy jednotlivé složky média a poté byla dolita destilovaná voda. Obsah láhve byl promíchán a následně autoklávován po dobu 15 minut. Agar byl rozplněn po cca 5 ml do zkumavek, zavíčkovan kovovými zátkami a znovu autoklávován po dobu 15 minut.

Vyžíhanou špičkou byla odebrána testovaná kultura, která byla vpíchnuta do dvou zkumavek s médiem pro fermentaci cukrů. Jedna zkumavka byla poté zakápnuta parafinem pro vytvoření anaerobního prostředí.

Tab. 15. Hodnotící schéma pro test na fermentaci cukrů

Zkumavka bez parafínu	Zkumavka s parafínem	Výsledek
barva se nezmění	barva se nezmění	nerozkládá glukózu
barva se nezmění	médium zežloutne	anaerobně oxidační
médium zežloutne	barva se nezmění	aerobně oxidační
médium zežloutne	médium zežloutne	fermentační
médium zmodrá	barva se nezmění	alkalizuje - nerozkládá glukózu
médium zežloutne, agar je potrhaný (vznik bublin)	médium zežloutne, agar je potrhaný (vznik bublin)	fermentační za vzniku plynu

2.4.6 ENTEROtest

ENTEROtest se využívá k identifikaci gramnegativních fermentujících tyček čeledi *Enterobacteriaceae*. Potvrzení příslušnosti ke střevním bakteriím se provádí testem na fermentaci glukózy, pro odlišení kmenů čeledi *Vibrionaceae* se provádí oxidasový test.

Postup inokulace se sestává z následujících kroků:

- příprava inokula, kdy z 24 hodinové kultury na běžné půdě je odpíchnuto kličkou izolovaná kolonie, která je suspendována ve 3 ml sterilního fyziologického roztoku. Suspenze musí být homogenní.
- příprava destičky, kdy je destička orientována na výšku a je odříznuta krycí fólie ze 3 stran. Následně je sejmuta i ochranná fólie překrývající jamky. Jednotlivé destičky se označí.
- inokulace, kdy je do každé jamky pipetováno 0,1 ml suspenze. Po zaočkování je nutno některé jamky zakápnout parafínem, čímž se zajistí anaerobní podmínky,
- inkubace, kdy je destička překryta fólií a vložena po polyetylenového sáčku. Inkubuje se 24 hodin při 37 °C.

Po inkubaci je zhodnoceno podle změny barvy jednotlivých jamek – orientace podle Barevné srovnávací stupnice. Identifikace byla provedena pomocí softwarového programu TNW Pro 6.5.

2.4.7 STAPHYtest

STAPHYtest se využívá k identifikaci grampozitivních koků, které lze kultivovat na půdách MSA a PCA s chloridem sodným (31).

Postup a hodnocení STAPHYtestu je obdobné jako u předchozího ENTEROtestu se specifickými změnami, typickými pro STAPHYtest (31).

3 VÝSLEDKY A DISKUZE

3.1 Letní období

V letním období byly vzorky z Menzy UTB ve Zlíně odebírány od 19. 6. 2006 do 27. 7. 2006. V tomto období bylo extrémně teplé počasí, kdy se teploty vyšplhaly ke 30 °C a po celé období odběru vzorků bylo sucho. V laboratoři bylo analyzováno 29 vzorků pokrmů.

V následující části jsou vzorky pokrmů děleny podle chodů, tzn. že zde jsou popsány nejdříve polévky, následují hlavní chody v pořadí – přílohy – pokrmy z masa a drůbeže – omáčky – jednosložkové a ostatní pokrmy.

V přílohách P 1. a P 2. jsou uvedeny následující počty mikroorganismů:

- a) celkové počty mikroorganismů všech vzorků pokrmů,
- b) počty stafylokoků a enterokoků všech vzorků pokrmů,
- c) počty koliformních mikroorganismů všech vzorků pokrmů,
- d) počty salmonel všech vzorků pokrmů,
- e) počty psychrotrofních mikroorganismů, plísní a kvasinek všech vzorků pokrmů.

3.1.1 Polévky

V tomto období byly odebrány čtyři vzorky polévek. Byly to:

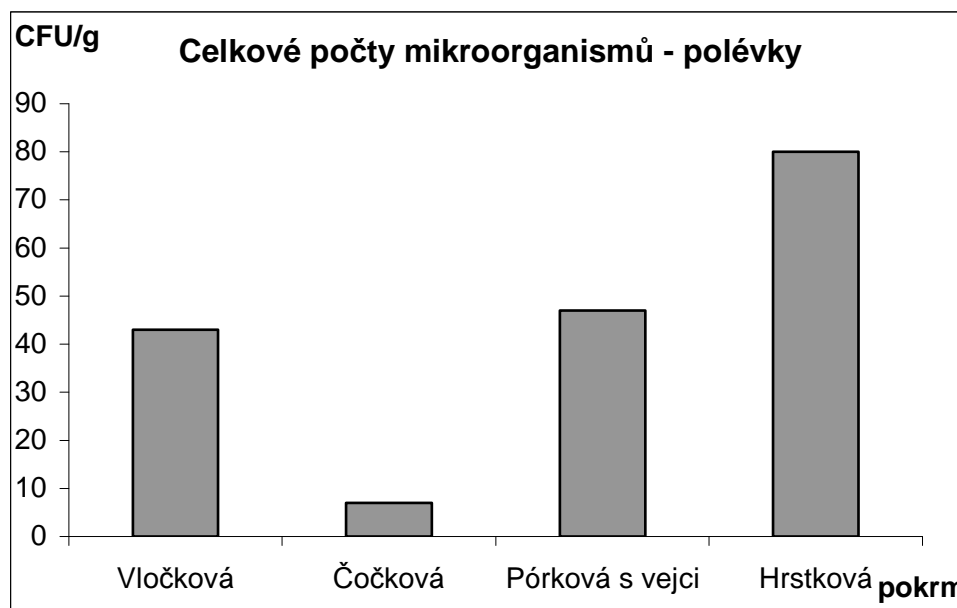
- polévka vločková,
- polévka čočková,
- polévka pórková s vejci,
- polévka hrstková.

Celkové počty mikroorganismů

V této skupině pokrmů byla nejvíce kontaminována polévka hrstková, která obsahovala 80 buněk/g vzorku. Nejméně mikrobů bylo zaznamenáno v polévce čočkové, kde koncentrace mikroorganismů nedosáhla 10 buněk/g vzorku.

Z následujícího grafu je patrné, že celkový počet mikroorganismů v polévkách nepřesahuje 80 buněk/g v pokrmu.

Průměrné počty celkových mikroorganismů v polévkách jsou uvedeny v příloze P 1.



Obr. 1. Celkové počty mikroorganismů u skupiny polévek

Počty stafylokoků (MSA) a enterokoků (S-B)

U skupiny polévek nebyly zjištěny žádné enterokoky. Stafylokoky byly nejvíce zaznamenány v polévce čočkové, kde jejich počet přesáhl hodnotu $2 \cdot 10^3$ buněk na g pokrmu. To, že celkový počet mikroorganismů v polévkách byl nižší než počty stafylokoků bylo způsobeno nejspíše selektivností půdy MSA. Mikroorganismy na půdě pro celkové množství mikroorganismů neměly dostatek živin pro svůj růst nebo byly přerosteny ostatní mikroflórou. Selektivní půda zase naopak potlačovala růst všech ostatních mikrobů kromě stafylokoků.

Při identifikaci bakterií, které se vyskytovaly v polévkách, byl zjištěn koagulasa negativní *Staphylococcus epidermidis*, který není považován za patogenní.

Počty koliformních mikroorganismů (VRBA)

Nebylo zjištěno žádné množství koliformních mikroorganismů v polévkách (příloha P 1.).

Počty salmonel (R-V médium, TSI, XLD)

U všech sledovaných pokrmů byl negativní nález salmonel.

Počty psychrotrofních mikroorganismů (PCA) a plísní a kvasinek (CHYGA)

Množství psychrotrofních mikroorganismů i kvasinek (příloha P 2.) byla velmi nízká, plísně se u vzorků polévek nevyskytovaly. Nejvíce psychrotrofních mikroorganismů bylo

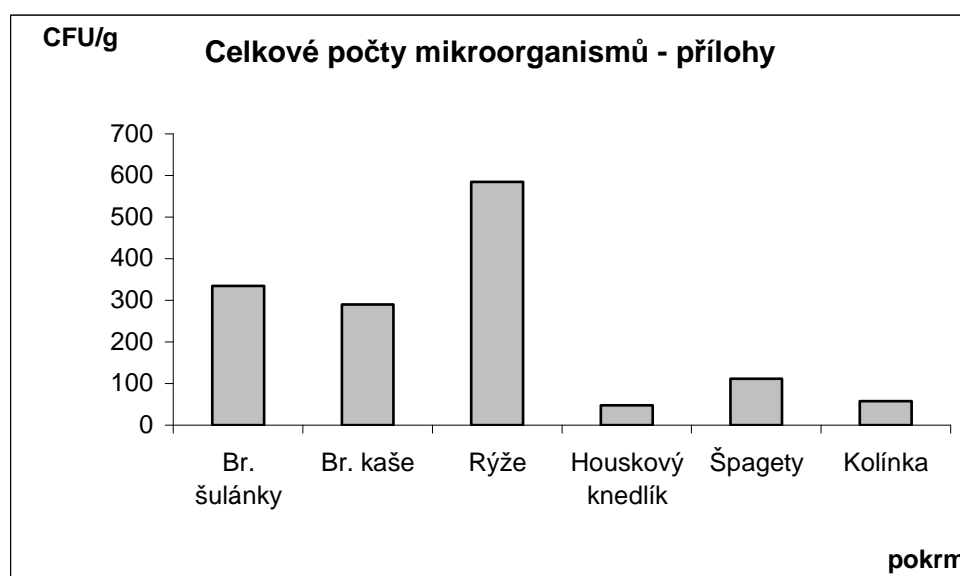
v polévce pórkové s vejci (80 buněk v g vzorku). Nejvíce kvasinek bylo přítomno v polévce vločkové (10 buněk v g vzorku).

3.1.2 Přílohy

V tomto období bylo odebráno sedm příloh:

- brambory,
- bramborové šulánky,
- bramborová kaše,
- rýže,
- houskový knedlík,
- těstoviny (špagety),
- těstoviny (kolínka).

Celkové počty mikroorganismů



Obr. 2. Celkové počty mikroorganismů u příloh

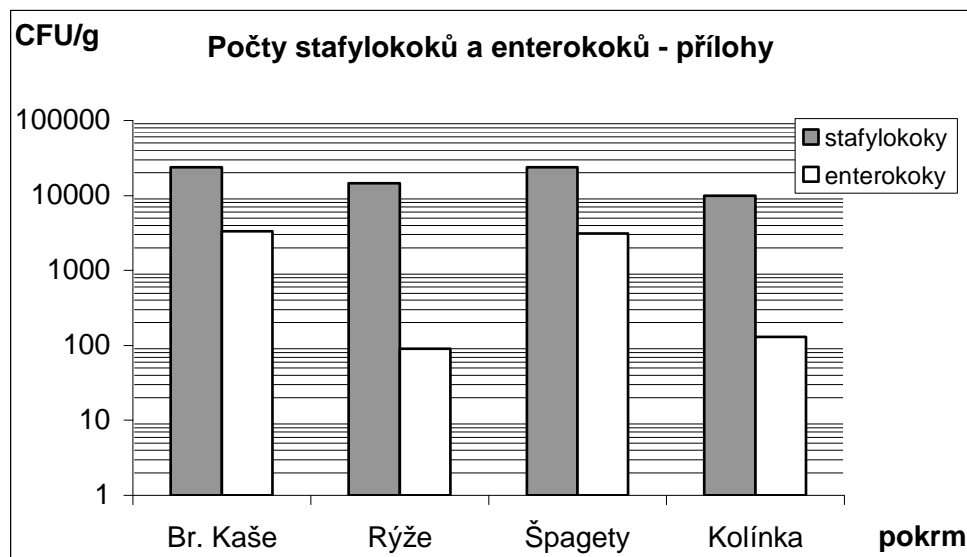
Celkové počty mikroorganismů u příloh (příloha P 1.) nepřesáhly $6 \cdot 10^2$ buněk na gram pokrmu. Nejvíce mikroorganismů bylo obsaženo ve vzorku rýže ($5,85 \cdot 10^2$ buněk/g), nejméně mikrobů bylo ve vzorku houskového knedlíku (47 buněk/g). Tyto hodnoty nepřekračují limit 10^6 daný vyhláškou 137/2004 Sb.

Počty stafylokoků (MSA) a enterokoků (S-B)

Počty stafylokoků byly značně vysoké u bramborové kaše, špaget, rýže a kolínek. Zjištěné počty (téměř $2,5 \cdot 10^4$ buněk v g pokrmu – příloha P 1.) překračují nejvyšší povolenou hodnotu koncentrace mikrobů 10^4 buněk/g povolené vyhláškou 132/2004 Sb. Tato

vyhláška byla nahrazena Nařízením Komise (ES) č. 2073/2005, avšak vzhledem k tomu, že vyhláška 132/2004 Sb. uvádí přísnější limity na výskyt mikroorganismů v potravinách, je v této diplomové práci na ní odkazováno. Nařízení Komise (ES) č. 2073/2005 již nestanovuje limit obsahu stafylokoků v některých potravinách. Vyhláška 132/2004 Sb. se vztahuje na obsah patogenních koagulasa pozitivních stafylokoků. V možnostech laboratoře ale nebylo možné odlišit koagulasa pozitivní a koagulasa negativní stafylokoky. Při identifikaci některých bakterií byly odebrány i bakterie z půdy pro stafylokoky a byly zjištěny pouze koagulasa negativní stafylokoky jako např. *St. pasteurii*, *St. epidermidis* nebo *St. gallinarum* u těstovin. Tyto mikroorganismy se běžně vyskytují u zvířat, v potravinách nebo na drůbeží kůži a nejsou považovány za patogenní.

Počty enterokoků byly výrazně nižší – nejvíce jich bylo přítomno v bramborové kaši – téměř $3,5 \cdot 10^3$ buněk. Vysoké počty stafylokoků a enterokoků oproti CPM byly způsobeny opět selektivností půdy, kdy na půdě MSA a S-B byl potlačen růst ostatních druhů mikroorganismů. Výskyt enterokoků souvisí s tím, že tyto koky jsou poměrně odolné vůči konzervačním zákrokům a mohou přežít v sušených potravinách nebo polotovarech. Rovněž tento výsledek (spolu s vysokým počtem stafylokoků) naznačuje, že při přípravě bramborové kaše nejspíše nedošlo k jejímu dostatečnému prohřátí (pokrm byl pravděpodobně připraven z polotovaru).



Obr. 3. Množství stafylokoků a enterokoků ve vybraných přílohách

Počty koliformních mikroorganismů (VRBA)

Jediným pokrmem, u kterého byly zjištěny koliformní mikroorganismy, byly těstoviny – špagety, u kterých byl počet koliformních mikroorganismů na půdě VRBA 10 buněk v g

(příloha P 1.). Tento počet nepřekračuje limit 10^5 buněk/g pokrmu stanovený vyhláškou 132/2004 Sb.

Počty salmonel (R-V médium, TSI, XLD)

U všech sledovaných pokrmů byl negativní nález salmonel.

Počty psychrotrofních mikroorganismů (PCA) a plísní a kvasinek (CHYGA)

Koncentrace psychrotrofních mikroorganismů byla u většiny příloh nízká. Pouze u rýže a špaget byla koncentrace vyšší – u rýže $5,3 \cdot 10^2$ buněk/g vzorku, u špaget $1,2 \cdot 10^2$ buněk/g vzorku. Vyhláška 137/2004 Sb. nestanovuje množství psychrotrofních mikroorganismů v potravinách, stanovuje pouze celkové počty mikrobů. Počet psychrotrofních mikroorganismů indikuje kažení potravin uchovávaných při teplotě lednice, proto bylo přistoupeno k jejich stanovení. Množství kvasinek byla u příloh mizivá (do 10 buněk v g vzorku), rovněž množství plísní byla zanedbatelná (do 5 buněk v g vzorku) (příloha P 2.).

3.1.3 Pokrmy z masa a drůbeže

V tomto období bylo odebráno pět vzorků pokrmů z masa a drůbeže. Byly to:

- vepřové maso ala bažant,
- vepřové žebírko,
- moravský vrabec,
- námořnické maso,
- krůtí řízek.

Celkové počty mikroorganismů

U pokrmů z masa a drůbeže byly celkové počty mikroorganismů poměrně nízké (příloha P 1.). Nejvíce buněk bylo v pokrmech vepřové žebírko ($5,65 \cdot 10^2$ buněk/g), dále pak v moravském vrabci ($2,13 \cdot 10^2$ buněk/g).

Počty stafylokoků (MSA) a enterokoků (S-B)

Enterokoky nebyly zjištěny téměř v žádném pokrmu z masa a drůbeže a když ano, tak ve velmi nízkém množství (příloha P 1.). U stafylokoků byl trend téměř stejný, pouze u krůtího řízku byl zjištěn poměrně vysoký obsah stafylokoků – téměř $3 \cdot 10^4$ buněk v g pokrmu, což téměř třikrát přesahuje nejvyšší povolené množství stafylokoků dané vyhláškou 132/2004 Sb. Nejčastěji izolovanou bakterií byl koagulasa negativní

St. piscifermentans, který se běžně může vyskytovat v potravinách a je považován za nepatogenní.

Počty koliformních mikroorganismů (VRBA)

U pokrmů z masa a drůbeže nebyly zjištěny počty koliformních mikroorganismů (příloha P 1.).

Počty salmonel (R-V médium, TSI, XLD)

U všech sledovaných pokrmů byl negativní nárůst salmonel.

Počty psychrotrofních mikroorganismů (PCA) a plísní a kvasinek (CHYGA)

Počty psychrotrofních mikroorganismů nepřesahovaly hodnotu 100 buněk v g vzorku (příloha P 2.), kromě jednoho vzorku masa – vepřové maso ala bažant – to obsahovalo $1,55 \cdot 10^2$ buněk/g. Následnou identifikací byla zjištěna koagulasa negativní bakterie *Staphylococcus gallinarum*, který se může běžně vyskytovat na drůbeží kůži a není pravděpodobně patogenní. Kvasinky nebyly v daných vzorcích pokrmů z masa a drůbeže zjištěny. Nejvíce plísní bylo zjištěno v moravském vrabci – 15 buněk/g.

3.1.4 Omáčky a krémy

V tomto období bylo odebráno pět vzorků omáček a krémů. Byly to:

- omáčka z vepřového masa ala bažant,
- omáčka z vepřového žebírka,
- omáčka na námořnické maso,
- rajská omáčka,
- krém na dukátové buchtičky.

Celkové počty mikroorganismů

Celkové počty mikroorganismů byly u všech pokrmů nízké (příloha P 1.). Největší množství mikroorganismů bylo v krému na dukátové buchtičky ($2,45 \cdot 10^2$ buněk/g) a v omáčce z vepřového žebírka ($2,17 \cdot 10^2$ buněk/g), což nepřekračuje limit 10^6 buněk/g potravin daný vyhláškou 137/2004 Sb.

Počty stafylokoků (MSA) a enterokoků (S-B)

U omáček a krémů byly celkově zjištěny zanedbatelné počty enterokoků a stafylokoků (příloha P 1.). Nejvíce enterokoků bylo zjištěno u krému na dukátové buchtičky (85 CFU/g), nejvíce stafylokoků bylo rovněž zjištěno u krému na dukátové buchtičky

($1,2 \cdot 10^2$ CFU/g). Výskyt enterokoků opět ukazuje na jejich možnou přítomnost v sušené surovině, tentokrát v pudingovém prášku.

Počty koliformních mikroorganismů (VRBA)

Omáčky a krémy nevykazovaly žádné množství koliformních mikroorganismů (příloha P 1.).

Počty salmonel (R-V médium, TSI, XLD)

U všech sledovaných pokrmů byl negativní nárůst salmonel.

Počty psychrotrofních mikroorganismů (PCA) a plísní a kvasinek (CHYGA)

U omáček a krémů pouze jeden vzorek přesáhl hodnotu 100 buněk/g u psychrotrofních mikroorganismů – byla to omáčka na námořnické maso, která obsahovala $1,05 \cdot 10^2$ buněk/g. Po identifikaci byl zjištěn koagulasa negativní *Staphylococcus gallinarum*, který bývá izolován z drůbeží kůže a pravděpodobně není patogenní. Jediné 2 vzorky obsahovaly kvasinky a plísně. Byly to rajská omáčka, která obsahovala 10 buněk plísní/g vzorku a krém na dukátové buchtičky, u něhož bylo zjištěno 40 buněk kvasinek/g a 20 buněk plísní/g vzorku (příloha P 2.). Množství kvasinek nepřesáhlo hodnotu 10^7 buněk/g potravin povolené vyhláškou 137/2004 Sb.

3.1.5 Jednosložkové a ostatní pokrmy

V tomto období bylo odebráno osm jednosložkových a ostatních pokrmů:

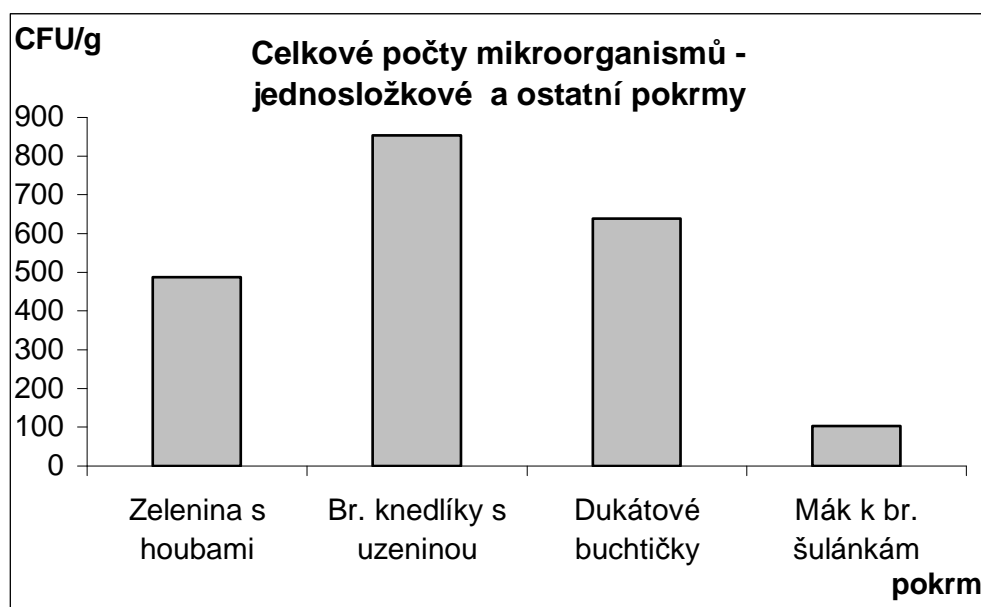
- hrachová kaše,
- pikantní fazole,
- vepřové rizoto,
- zelenina s houbami,
- bramborové knedlíky s uzeninou,
- dukátové buchtičky,
- vařené zelí,
- mák k bramborovým šulánkám.

Celkové počty mikroorganismů

Z jednosložkových a ostatních pokrmů byly nejvíce kontaminovány bramborové knedlíky s uzeninou – téměř $9 \cdot 10^2$ buněk v g pokrmu, což nepřekračuje limit 10^6 buněk/g potravin, který je daný vyhláškou 137/2004 Sb. Žádné celkové počty mikroorganismů

byly zaznamenány u vepřového rizota a pikantních fazolí (příloha P 1.). Identifikací byl zjištěn koagulasa negativní *Staphylococcus pasteurii*, který se může vyskytovat na zvířatech a v potravinách a *Staphylococcus xylosum*, který bývá zachycen na kůži člověka, v potravinách a prostředí. Oba mikrobi nejsou pravděpodobně patogenní.

Obsahy nejvýznamněji kontaminovaných vzorků uvádí následující graf.



Obr. 4. Celkové počty mikroorganismů vybraných jednosložkových pokrmů

Počty stafylokoků (MSA) a enterokoků (S-B)

K nejvíce stafylokoky kontaminovaným pokrmům patřily dukátové buchtičky ($5,38 \cdot 10^2$ buněk/g) a bramborové knedlíky s uzeninou ($4,3 \cdot 10^2$ buněk/g). Tyto hodnoty nepřekročily maximální povolené množství 10^4 buněk/g potravin, které je dané vyhláškou 132/2004 Sb. Enterokoky byly nejvíce kontaminovány dukátové buchtičky ($3,45 \cdot 10^2$ buněk/g) a mák k bramborovým šulánkám ($3,2 \cdot 10^2$ buněk/g) (příloha P 1.).

Počty koliformních mikroorganismů (VRBA)

K nejvíce kontaminovaným pokrmům patřily mák k bramborovým šulánkám (příloha P 1.) s počtem $4,8 \cdot 10^2$ buněk v g na půdě VRBA. Dalším pokrmem, ve kterém se koliformní mikroorganismy vyskytovaly, byly dukátové buchtičky ($8,5 \cdot 10^1$ buněk/g na půdě VRBA). Ani jeden z uvedených vzorků nepřekročil hranici 10^5 buněk/g vzorku, která je stanovená vyhláškou 137/2004 Sb. Nárůst gram pozitivních koků i koliformních mikroorganismů na máku potvrzuje předpoklad, že u tepelně neopracované potraviny (suroviny) by měl být

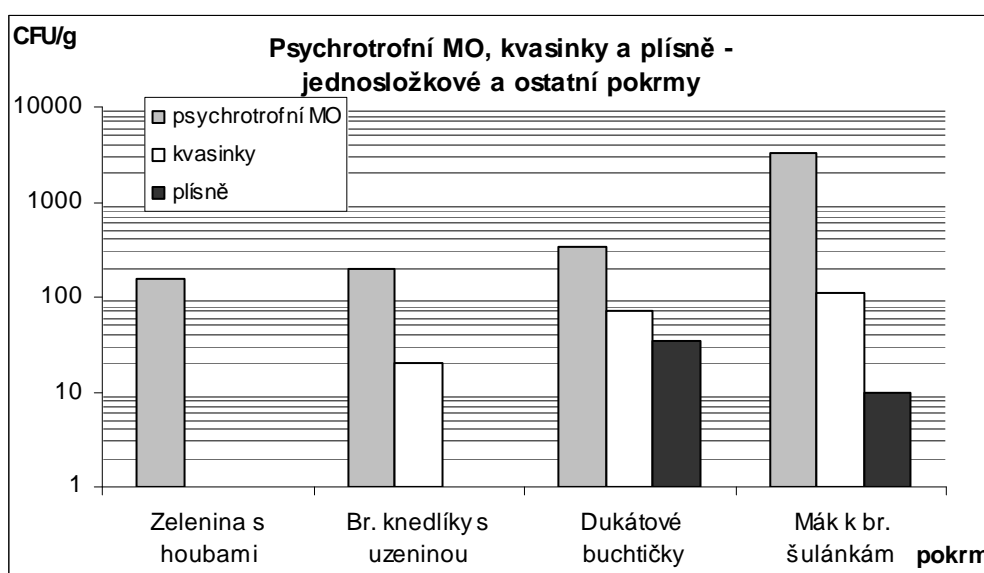
větší výskyt mikroorganismů. Tyto výsledky potvrzují i počty ostatních, námi zvolených, indikátorových mikroorganismů.

Počty salmonel (R-V médium, TSI, XLD)

U všech sledovaných pokrmů byl negativní nárůst salmonel.

Počty psychrotrofních mikroorganismů (PCA) a plísní a kvasinek (CHYGA)

Nejvyšší množství psychrotrofních mikrobů ($3,28 \cdot 10^3$ buněk/g), plísní (10 buněk/g) a kvasinek ($1,1 \cdot 10^2$ buněk/g) obsahoval vzorek máku na obr. 5 (příloha P 1.). U dukátových buchtíček byla zjištěna množství $3,55 \cdot 10^2$ buněk/g psychrotrofních mikroorganismů, 70 buněk/g kvasinek a 35 buněk/g plísní. S obsahem méně než $2 \cdot 10^2$ buněk/g psychrotrofních organismů a 20 buněk/g kvasinek byly dále vzorky zeleniny s houbami a vzorek bramborových knedlíků s uzeninou (příloha P 2.).



Obr. 5. Psychrotrofní mikroorganismy u vybraných jednosložkových a ostatních pokrmů

3.2 Podzimní období

V podzimním období byly vzorky z Menzy UTB ve Zlíně odebrány od 19. 9. 2006 do 3. 10. 2006. Analyzováno bylo 28 vzorků pokrmů. V tomto období bylo typické počasí babího léta. Teploty se pohybovaly okolo 20 – 23 °C.

V následující části jsou vzorky pokrmů děleny podle chodů, tzn. že zde budou nejdříve okomentovány polévky, následovat budou hlavní chody v pořadí – přílohy – pokrmy z masa a drůbeže – omáčky – jednosložkové a ostatní pokrmy.

V přílohách P 3. a P 4. jsou uvedeny následující počty mikroorganismů:

- a) celkové počty mikroorganismů všech vzorků pokrmů,
- b) počty stafylokoků a enterokoků všech vzorků pokrmů,
- c) počty koliformních mikroorganismů všech vzorků pokrmů,
- d) počty salmonel všech vzorků pokrmů,
- e) počty psychrotrofních mikroorganismů, plísní a kvasinek všech vzorků pokrmů.

3.2.1 Polévky

V tomto období bylo odebráno šest vzorků polévek. Byly to:

- polévka pórková,
- polévka česneková,
- polévka uzená s kroupami,
- polévka drožd'ová,
- polévka hrachová,
- polévka kmínová s vejci.

Celkové počty mikroorganismů

Celkové počty mikroorganismů byly u této skupiny pokrmů nízké. Tyto mikroorganismy pravděpodobně přežily technologickou přípravu pokrmu. Případně se může také jednat o psychrotrofní sporulující bakterie, jejichž spory mohly přežít vyšší teploty záhřevu. Nejvyšší koncentrace byla zaznamenána u polévky uzené s kroupami, kde bylo zjištěno množství $2,12 \cdot 10^2$ buněk v g vzorku, což nepřekračuje hranici 10^6 buněk/g potraviny, kterou udává vyhláška 132/2004 Sb. (příloha P 3.). To souvisí s tím, že při přípravě polévek dochází k poměrně dlouhému záhřevu, a tím ke snížení počtu mikroorganismů.

Počty stafylokoků (MSA) a enterokoků (S-B)

Množství stafylokoků a enterokoků byla nulová, s výjimkou polévky pórkové, kde bylo zjištěno 53 buněk stafylokoků v g vzorku (příloha P 3.). Po následné identifikaci byly zjištěny kaogulasa negativní *St. epidermidis* a *St. piscifermentans*, kteří pravděpodobně nejsou patogenní a mohou se vyskytovat v potravinách.

Počty koliformních mikroorganismů (VRBA)

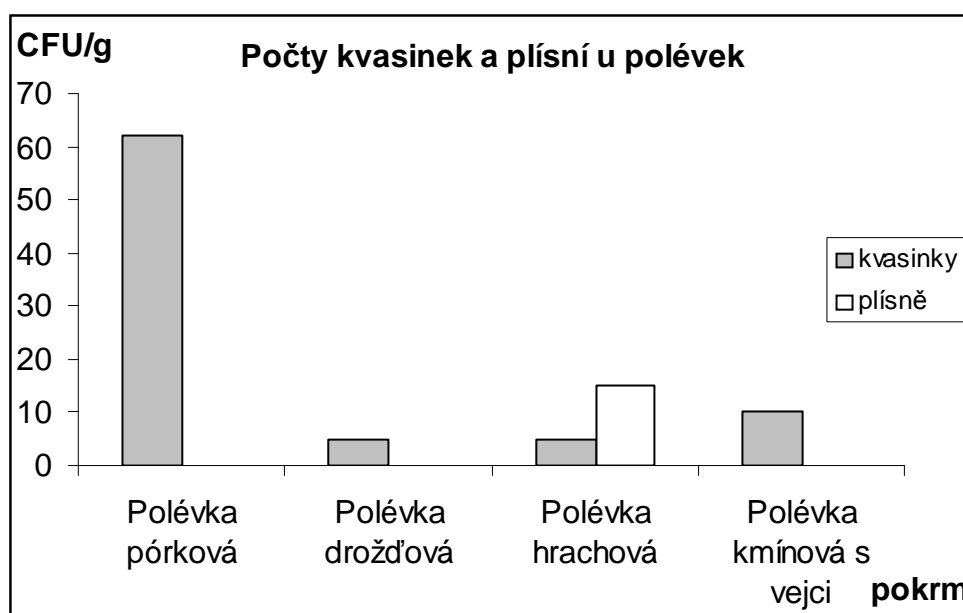
S výjimkou drožděvé polévky byly hodnoty koliformních mikroorganismů ve skupině polévek nulové (příloha P 3.). Drožděvá polévka obsahovala pouze 3 buňky v g vzorku. Toto množství nepřekračuje limit 10^5 buněk/g potravy daný vyhláškou 137/2004 Sb.

Počty salmonel (R-V médium, TSI, XLD)

U všech sledovaných pokrmů byl negativní nález salmonel.

Počty psychrotrofních mikroorganismů (PCA) a plísni a kvasinek (CHYGA)

V této skupině byla zjištěna pouze u 3 polévek přítomnost psychrotrofních mikroorganismů a to pouze do koncentrace 20 buněk/g. Nejvíce kvasinek bylo zjištěno u pórkové polévky (65 buněk/g), nejvíce plísní bylo odečteno u hrachové polévky (15 buněk/g) (příloha P 4.). Ani u psychrotrofních mikroorganismů (10^6), ani u kvasinek (10^7) nebyl překročen jejich limit daný vyhláškou 132/2004 Sb. a vyhláškou 137/2004 Sb.



Obr. 6. Kvasinky a plísně u vybraných druhů polévek

3.2.2 Přílohy

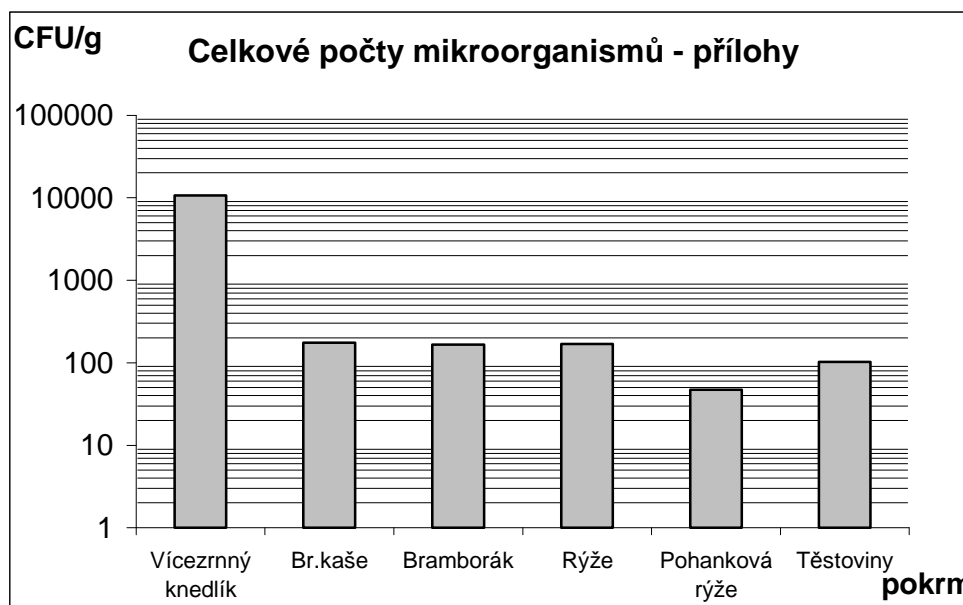
V tomto období bylo odebráno sedm příloh:

- brambory,
- bramborová kaše,
- bramborák,
- rýže,

- pohanková rýže,
- těstoviny (kolínka),
- vícezrnný knedlík.

Celkové počty mikroorganismů

Celkové počty mikroorganismů u této skupiny pokrmů byly relativně nízké (do $2 \cdot 10^2$ buněk v g vzorku), což je znázorněno v následujícím grafu. Jedinou výjimkou byl vícezrnný knedlík, kde bylo zjištěno $1,063 \cdot 10^4$ buněk v g vzorku, což bylo zřejmě nejvíce způsobeno vysokým obsahem stafylokoků a kvasinek (Příloha 3.). Pravděpodobnou příčinou kontaminace tohoto pokrmu byly již vstupní suroviny, zejména vícezrná mouka (obiloviny bývají často kontaminovány mikroorganismy) (15). Mezní hodnotu pro celkové mikroorganismy, stanovenou vyhláškou 137/2004 Sb., – 10^6 buněk v g vzorku – vzorek vícezrného knedlíku nepřekročil. Po provedení identifikace byl zjištěn u těstovin koagulasa negativní *Staphylococcus pasteurii*, který se může vyskytovat také v potravinách a zvířatech a není pravděpodobně patogenní. U rýže byl zjištěn koagulasa negativní *St. simulans*, který bývá izolován z kůže člověka a savců a není asi patogenní. Z gramnegativních tyčinek byl pomocí ENTEROtestu identifikován pravděpodobně nepatogenní *Xenorhabdus nematophilus*.



Obr. 7. Celkové počty mikroorganismů u vybraných příloh

Počty stafylokoků (MSA) a enterokoků (S-B)

Počty stafylokoků u této skupiny pokrmů se pohybovaly do $1,5 \cdot 10^2$ buněk v g (příloha P 3.), s výjimkou vícezrného knedlíku, kde bylo zjištěno $4,24 \cdot 10^3$ buněk v g vzorku

(téměř polovina množství, která je povolena vyhláškou 132/2004 Sb.). Ve vzorcích byly po identifikaci zjištěny pouze koagulasa negativní *St. gallinarum*, *St. pasteurii* a *St. piscifermentans*. Tyto nejsou považovány za patogenní a mohou se vyskytovat v potravinách nebo na zvířatech a bývají izolovány z drůbeží kůže. Množství enterokoků v přílohách bylo zanedbatelné, opět s výjimkou vícezrného knedlíku, který obsahoval $1,24 \cdot 10^3$ buněk v g vzorku.

Počty koliformních mikroorganismů (VRBA)

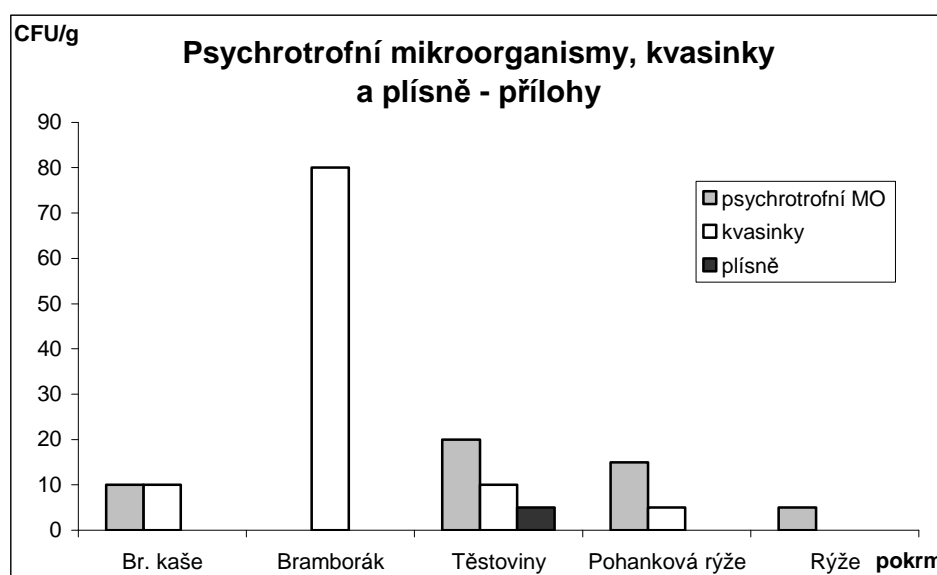
Nebylo zjištěno žádné množství koliformních mikroorganismů v přílohách (příloha P 3.).

Počty salmonel (R-V médium, TSI, XLD)

U všech sledovaných pokrmů byl negativní nález salmonel.

Počty psychrotrofních mikroorganismů (PCA) a plísňí a kvasinek (CHYGA)

Počty psychrotrofních mikroorganismů, kvasinek a plísňí vybraných příloh znázorňuje graf.



Obr. 8. Psychrotrofní mikroorganismy, kvasinky a plísně u vybraných příloh

U příloh nebyl zaznamenán zvýšený nárůst psychrotrofních mikroorganismů (do 20 buněk/g), kromě vícezrného knedlíku, u něhož v důsledku enormního nárůstu nebylo možno kolonie spočítat. Stejná situace se s vícezrným knedlíkem opakovala při odečtu kvasinek a plísňí. Obrovský počet kvasinek znemožnil odečet z Petriho misky (příloha P 4.). S nejvyšší pravděpodobností byl v tomto případě překročen limit pro obsah kvasinek v potravinách (10^7 buněk/g), který udává Vyhláška 137/2004 Sb. Tak vysoké počty

mikrobů mohly být způsobeny nevhodným skladováním suroviny nebo lidským faktorem již při výrobě. Na tento fakt by mohl poukazovat i velký nárůst kvasinek, který mohl být způsoben tím, že nedošlo k usmrcení kvasinek během technologické přípravy pokrmu (tj. nedošlo k dostatečnému prohřátí pokrmu). Z psychrotrofních mikroorganismů byly po identifikaci zjištěny u těstovin gramnegativní tyčky *Pragia fontium* a *Serratia marcescens*. Oba mikroorganismy jsou považovány za nepatogenní.

3.2.3 Pokrmy z masa, drůbeže a pokrmy s použitím sóji

V tomto období byly odebrány dva vzorky pokrmů z masa a drůbeže a dva vzorky sojových pokrmů. Byly to:

- hamburská vepřová kýta,
- hovězí cibulář,
- sojový segedínský guláš,
- sojové maso po čínsku.

Celkové počty mikroorganismů

Obdobně jako u příloh byla koncentrace mikroorganismů nízká (do $2 \cdot 10^2$ buněk v g vzorku). Pouze u hamburské vepřové kýty bylo zjištěno $1,218 \cdot 10^3$ buněk v g vzorku (příloha P 3.). Po identifikaci STAPHYtestem byly zjištěny koagulasa negativní *St. piscifermentans* a koagulasa pozitivní *St. aureus* ssp. *aureus*. Identifikací byly také zjištěny gramnegativní tyčky *Xenorhabdus nematophilus*.

Počty stafylokoků (MSA) a enterokoků (S-B)

Obsah stafylokoků a enterokoků byl u pokrmů z masa a drůbeže velmi nízký, pouze u hamburské vepřové kýty byla dosažena koncentrace stafylokoků $1,4 \cdot 10^2$ buněk v g vzorku (příloha P 3.). Po identifikaci byl zjištěn *St. piscifermentans*, který bývá běžně izolován z potravin a není pravděpodobně patogenní.

Počty koliformních mikroorganismů (VRBA)

V této skupině pokrmů vybočoval pouze jeden vzorek od nulových hodnot. Byla to hamburská vepřová kýta, která vykazovala na VRBA půdě nárůst $4,75 \cdot 10^2$ buněk/g vzorku (příloha P 3.). Tento počet nepřekročil hranici 10^5 buněk/g potravin, která je dána vyhláškou 137/2004 Sb.

Počty salmonel (R-V médium, TSI, XLD)

U všech sledovaných pokrmů byl negativní nárůst salmonel.

Počty psychrotrofních mikroorganismů (PCA) a plísní a kvasinek (CHYGA)

K nejvíce kontaminovaným pokrmům z masa a drůbeže patřila hamburská vepřová kýta. Obsah psychrotrofních mikroorganismů byl $9,25 \cdot 10^2$ buněk v g, obsah kvasinek byl spočten na hodnotu $6,5 \cdot 10^2$ buněk v g vzorku. Po identifikaci grampozitivních koků byl zjištěn *St. gallinarum*, který se může vyskytovat na drůbeží kůži a pravděpodobně není patogenní. Dále z gramnegativních fermentujících tyček byla zjištěna bakterie *Pantonea punctata*, která asi není patogenní. U ostatních mas byl výskyt psychrotrofních mikroorganismů a kvasinek do 20 buněk/g, výskyt plísní nebyl u této kategorie zaznamenán (příloha P 4.).

3.2.4 Omáčky a krémy

V tomto období byly odebrány dva vzorky omáček. Byly to:

- omáčka k hamburské kýtě,
- omáčka k hovězímu cibuláři.

Celkové počty mikroorganismů

U obou vzorků omáček byla zjištěna koncentrace do $2 \cdot 10^2$ buněk v g vzorku (příloha P 3.). Tento počet nepřesahuje hranici 10^6 buněk/g, kterou určuje vyhláška 137/2004 Sb.

Počty stafylokoků (MSA) a enterokoků (S-B)

Omáčky nevykazovaly vysoké hodnoty stafylokoků. Nejvíce jich bylo přítomno v omáčce k hamburské kýtě, kde bylo $8 \cdot 10^1$ buněk v g. Hodnoty enterokoků byly nulové (příloha P 3.). Po identifikaci byl ve vzorku omáčky k hamburské kýtě zjištěn koagulasa negativní *St. gallinarum*, který se může vyskytovat na kůži drůbeže a není pravděpodobně patogenní.

Počty koliformních mikroorganismů (VRBA)

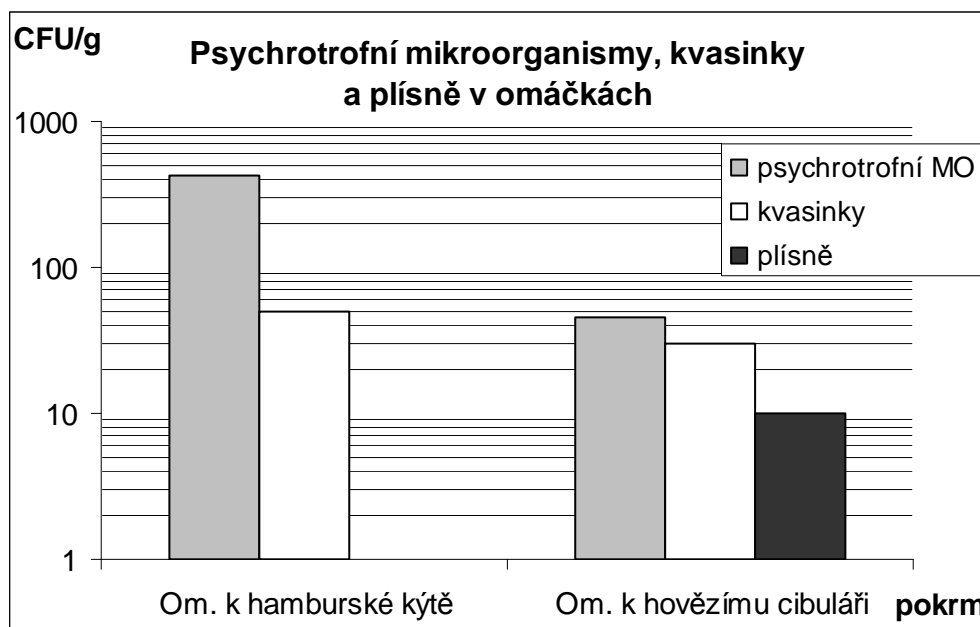
Pouze u omáčky k hamburské kýtě byl zaznamenán výskyt 15 buněk/g na půdě VRBA. Nulové počty byly zjištěny u omáčky k hovězímu cibuláři (příloha P 3.).

Počty salmonel (R-V médium, TSI, XLD)

U všech sledovaných pokrmů byl negativní nárůst salmonel.

Počty psychrotrofních mikroorganismů (PCA) a plísní a kvasinek (CHYGA)

Obsah psychrotrofních mikroorganismů u omáčky k hamburské kýtě byl $4,3 \cdot 10^3$ buněk/g, počet kvasinek činil 50 buněk v g vzorku. Plísně nebyly zjištěny. Po identifikaci bakterií byl zjištěn *Proteus penner*, který není pravděpodobně patogenní. U omáčky k hovězímu cibuláři bylo zjištěno 45 buněk/g psychrotrofních mikroorganismů, 30 buněk/g kvasinek a 10 buněk/g plísní (příloha P 4.). Podle vyhlášky 137/2004 Sb. se psychrotrofní mikroorganismy nestanovují, jsou součástí celkového počtu mikroorganismů. Jejich vysoký obsah může ukazovat na brzké kažení pokrmů, což v tomto případě není možné, protože pokrmy byly po tepelném zákroku ihned vydávány strážníkům.



Obr. 9. Psychrotrofní mikroorganismy, kvasinky a plísně u omáček

3.2.5 Jednosložkové a ostatní pokrmy

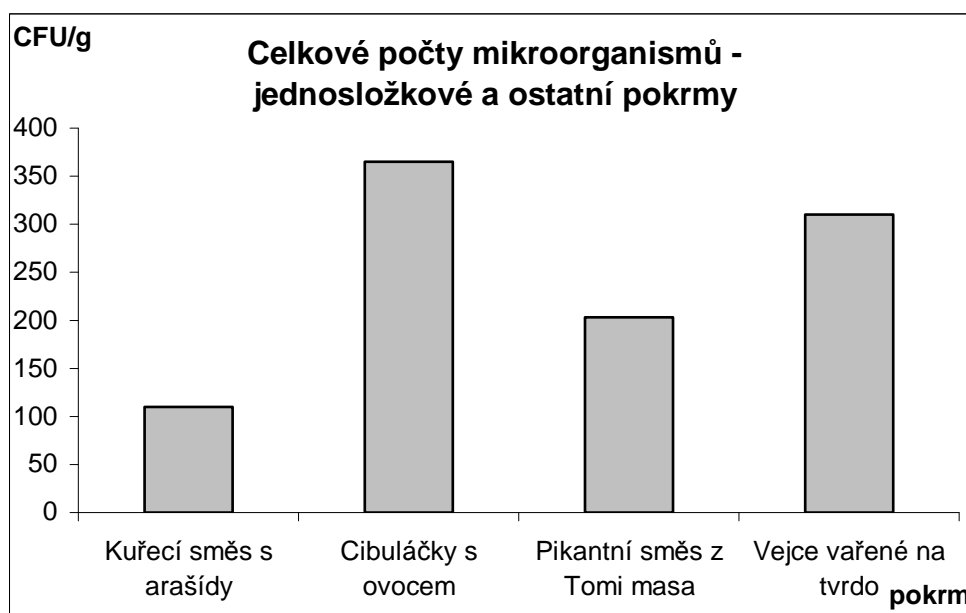
V tomto období bylo odebráno devět jednosložkových pokrmů a ostatních složek pokrmů:

- kuřecí směs s arašídy,
- drůbeží rizoto se zeleninou,
- jableková žemlovka,
- halušky se zelím,
- jáhelník,
- cibuláčky s ovocem,
- pikantní směs z Tomi masa,
- fazolové lusky na smetaně,

- vejce vařené na tvrdo.

Celkové počty mikroorganismů

Tato skupina pokrmů se vyznačovala rozmanitou koncentrací celkových počtů mikroorganismů (příloha P 3.). Nejméně mikrobů bylo zjištěno v jáhelníku (pouze 2 buňky v g vzorku), nejvíce jich bylo přítomno v jablkové žemlovce ($2,905 \cdot 10^3$ buněk v g vzorku). Tento počet nepřesahuje vyhláškou 137/2004 Sb. stanovený limit 10^6 buněk/g potravin, avšak může ukazovat na nedodržení technologického postupu, zejména nedostatečné prohřátí pokrmu (např. žemlovka). Po identifikaci byl u drůbežního rizota zjištěn koagulasa negativní *St. epidermidis*, který pravděpodobně není patogenní. U halušek se zelím byl zjištěn také koagulasa negativní *St. pasteurii*, který se může vyskytovat v potravinách a zvířatech a není asi patogenní. Z gramnegativních tyčků byl u vejce zjištěn *Xenorhabdus nematophilus*, který takéž není pravděpodobně patogenní. Ostatní pokrmy, které obsahovaly významnější celkové počty mikroorganismů, jsou uvedeny v grafu.

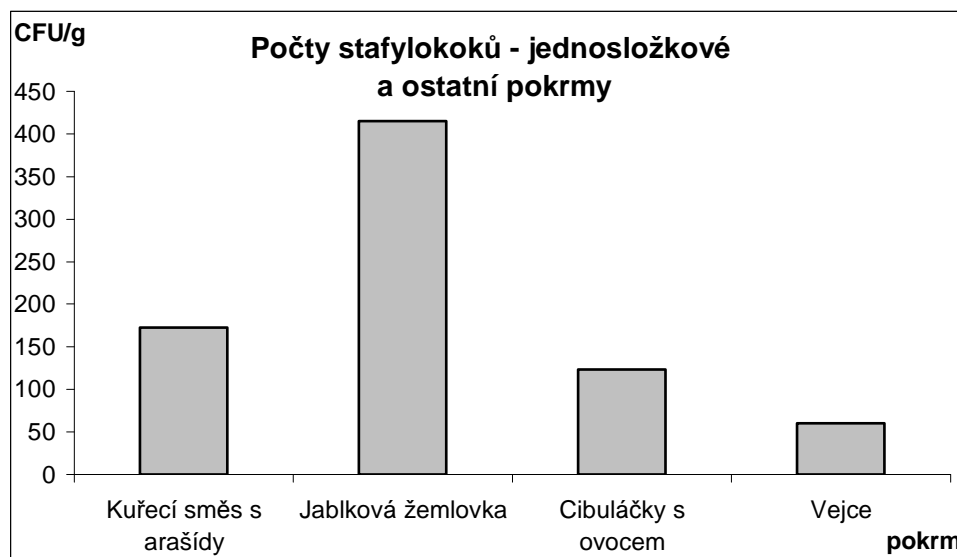


Obr. 10. Celkové počty mikroorganismů u vybraných jednosložkových a ostatních pokrmů

Počty stafylokoků (MSA) a enterokoků (S-B)

Nejvyšší koncentrace stafylokoků byla u této skupiny pokrmů zjištěna v jablkové žemlovce, kde bylo přítomno více jak $4 \cdot 10^2$ buněk/g vzorku. Po identifikaci byly zjištěny koagulasa negativní *St. gallinarum*, *St. pasteurii* a *St. piscifermentans*. Všichni zástupci nejsou pravděpodobně patogenní a mohou se vyskytovat na drůbeží kůži, v potravinách a

na zvířatech. Počty enterokoků byly nulové, s výjimkou vejce vařeného na tvrdo, které obsahovalo 10 buněk enterokoků v g vzorku (příloha P 3.).



Obr. 11. Počty stafylokoků u vybraných jednosložkových a ostatních pokrmů

Počty koliformních mikroorganismů (VRBA)

Všechny jednosložkové a ostatní pokrm, s výjimkou vařeného vejce, vykazovaly nulové množství mikrobů. U vařeného vejce bylo zjištěno 45 buněk/g ve vzorku (příloha P 3.). Výskyt koliformních mikroorganismů u vejce může být způsoben nesprávnou manipulací, protože koliformní mikroorganismy se běžně nevyskytují u skořápkatých vajec. Po identifikaci ENTEROtestem byla zjištěna gramnegativní tyčka *Xenorhabdus nematophilus*.

Počty salmonel (R-V médium, TSI, XLD)

U všech sledovaných pokrmů byl negativní nárůst salmonel.

Počty psychrotrofních mikroorganismů (PCA) a plísní a kvasinek (CHYGA)

Následující graf znázorňuje pokrm s nejvyšším počtem psychrotrofních mikroorganismů a kvasinek. Nejvíce psychrotrofních mikroorganismů bylo obsaženo v jablkové žemlovce ($2,87 \cdot 10^2$ buněk/g), kde byl po identifikaci zjištěn *Xenorhabdus nematophilus*, který je pravděpodobně nepatogenní. Stejně tak nejvyšší počet kvasinek bylo v jablkové žemlovce (téměř $4 \cdot 10^2$ buněk/g). Výskyt plísní byl zaznamenán pouze u jáhelníku (5 buněk/g

vzorku) (příloha P 4.). Limity pro kvasinky (10^7) a pro celkové mikroorganismy (10^6) dané vyhláškou 132/2004 Sb. a 137/2004 Sb. nebyly překročeny.



Obr. 12. Psychrotrofní mikroorganismy a kvasinky u vybraných jednosložkových a ostatních pokrmů

3.3 Porovnání letního a podzimního období z pohledu celkového počtu mikroorganismů v pokrmech

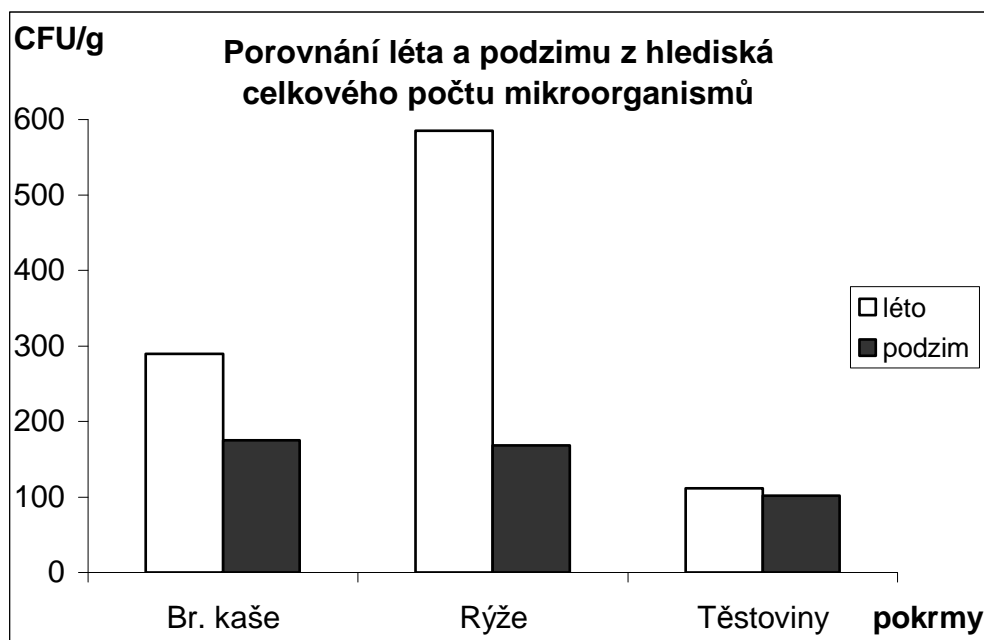
Při porovnání celkového počtu mikroorganismů za letní a podzimní období se ukázalo, že celkový průměr všech odebraných vzorků na jednu Petriho misku je za letní období 178,8 buněk/g/PM a za podzimní období je 618,7 buněk/g/PM. To, že je průměr za podzimní období téměř čtyři krát vyšší je způsobeno třemi vzorky odebranými na podzim, které vykazují abnormální počty těchto mikroorganismů. Za letní období takovéto vysoké odečty nebyly zjištěny. Nejvyšší počet buněk měl vzorek bramborových knedlíků s uzeninou s průměrem na Petriho misku a gram 853 buněk. Vzorky s vysokým počtem mikrobů za podzimní období jsou vícezrnný knedlík ($1,063 \cdot 10^4$ buněk/g), jablková žemlovka ($2,905 \cdot 10^3$ buněk/g) a hamburská vepřová kýta ($1,218 \cdot 10^3$ buněk/g). Po odečtení těchto tří vzorků a provedení průměru zbylých vzorků dojdeme k číslu 102,8 buněk/g/Petriho miska. Při hodnocení průměru za léto (178,8 buněk) a za podzim redukovaný o výše zmíněné 3 vzorky (102,8) lze dojít k závěru, že se průměrný počet celkových mikroorganismů snížil o 42,5 %.

Nejlépe lze tento rozdíl rozpoznat na přílohách, kdy v obou obdobích byly odebírány stejné přílohy. Snížení kontaminace (o 54,9 %) je ještě vyšší než průměr všech vzorků (obr. 13).

Snížení kontaminace o více než 40 % mohlo být způsobeno zejména teplotou okolního prostředí, kdy v létě byla teplota ve stínu 30 °C, v uzavřených prostorách Menzy muselo být ještě více.

V diplomové práci nebyla provedena statistická analýza, protože z Menzy byl odebírán každý den vždy jen jeden vzorek od každého pokrmu. Analýza rovněž nemohla být provedena z důvodu velké rozmanitosti odebíraných pokrmů, kdy nešlo pokrmy vzájemně porovnat.

Nejčastější snížení kontaminace příloh ukazuje graf.



Obr. 13. Srovnání obsahu mikroorganismů v přílohách za různá roční období

3.4 Stěry – letní období

V letním období byly provedeny pouze stěry z nádobí, příborů a míst, se kterými přijdou strážníci do styku. Bylo odebráno 8 stěrů. Při odběru stěrů byla vždy setřena plocha 10 cm², která byla vymezena kovovou šablonou. Byly provedeny stěry z následujících povrchů:

- stůl, k němuž si strážníci odnášejí stravu,
- ták, na kterém si strážníci odnášejí pokrmy v talířích a miskách,

- porcelánový talíř mělký,
- skleněná miska na polévku,
- sklenička na nápoj,
- lžíce,
- nůž,
- vidlička.

Při odečítání kolonií narostlých na Petriho miskách byly zjištěny tyto výsledky:

Tab. 16. Počty mikroorganismů zjištěných při stěrech – celkové počty mikroorganismů (PCA), stafylokoky (MSA), enterokoky (S-B), koliformní organismy (VRBA), psychrotrofní mikroorganismy (CHYGA)

Vzorek/půda	Počet mikroorganismů na 1 cm ²				
	PCA	MSA	S-B	VRBA	CHYGA
Stůl	1	0	0	0	0
Tác	0	0	0	0	0
Talíř	1246	0	0	0	0
Miska	1968	0	0	0	1 kv.; plísně
Sklenička	0	0	0	0	0
Lžíce	0	0	0	0	0
Nůž	0	0	0	0	1 plíseň
Vidlička	0	0	0	0	0

kv. – kvasinka

Nejvíce mikroorganismů bylo zjištěno na talíři a misce pro polévku, avšak tyto hodnoty nepřesahují hranici 10⁶ buněk/cm² danou vyhláškou 137/2004 Sb. Toto množství mohlo být způsobeno nedokonalým umytím jídelního nádobí nebo použitím nedokonalého mycího prostředku, kdy splou s mikrozbytky jídla ulpěly na nádobí i mikroorganismy.

3.5 Stěry – podzimní období

V podzimním období bylo analyzováno celkem 19 stěrů. Bylo provedeno 6 stěrů z nádobí, příborů a míst, se kterými přijdou strážníci do styku, 9 stěrů z pracovních ploch, kde se suroviny uchovávají nebo zpracovávají a 4 stěry z některých surovin pro přípravu pokrmů a hotových pokrmů.

Stěry z nádobí, příborů a ploch, se kterými přichází strážníci do styku byly provedeny ze:

- stolu, k němuž si strážníci odnášejí stravu,
- tácu, na kterém si strážníci odnášejí pokrmy v talířích a miskách,

- porcelánového talíře mělkého,
- lžíce,
- nože,
- vidličky.

Tab. 17. Počty mikroorganismů zjištěných při stěrech – celkové počty mikroorganismů (PCA), stafylokoky (MSA), enterokoky (S-B) a plísně a kvasinky (CHYGA)

Vzorek/půda	Počet mikroorganismů na 1 cm ²			
	PCA	MSA	S-B	CHYGA
Stůl	1	4	0	1 kvasinka
Tác	2	0	0	1 kvasinka
Talíř	1	0	0	1 kvasinka
Lžíce	3	0	0	1 plíseň
Nůž	0	0	0	1 plíseň
Vidlička	0	0	0	0

Při provedení stěrů z jídelního nádobí za podzimní období nebyly počty mikroorganismů velké. Nejvíce celkových mikroorganismů bylo na lžici – 3 buňky/cm². Tyto hodnoty nepřekročily povolené množství 10⁶ buněk/cm² danou vyhláškou 137/2004 Sb.

Odběr stěrů některých surovin pro přípravu pokrmů se týkal masa. Byly odebrány 3 stěry ze syrových mas a jeden stěr z tepelně opracovaného masa. Stěry surovin a pokrmů:

- syrové vepřové maso, u kterého byl proveden stěr ihned po přejímce od dodavatele,
- rozmrazené syrové kuřecí maso ihned po vyjmutí z originálního obalu,
- rozmrazené syrové kuřecí maso po naporcování na plátky,
- tepelně upravené kuřecí maso porcovaného na plátky.

Tab. 18. Počty mikroorganismů zjištěných při stěrech – celkové počty mikroorganismů (PCA), stafylokoky (MSA), enterokoky (S-B) a plísně a kvasinky (CHYGA)

Vzorek/půda	Počet mikroorganismů na 1 cm ²			
	PCA	S-B	CHYGA	Psychrot. MO
Syrové vepřové maso	253	1	170 kvasinek; 1 plíseň	120
Syrové kuřecí po vybalení	512	0	149 kvasinek	463
Syrové kuřecí po naporcování	2272	81	1128 kvasinek	852
Tepelně upravené kuřecí	6	1	3 kvasinky	7

Psychrot. MO. – psychrotrofní mikroorganismy

Z tabulky je patrné, že celkový obsah mikroorganismů u čerstvě vybaleného syrového kuřecího masa je odlišný od již naporcovaného syrového kuřecího masa. Je to nejspíše způsobeno manipulací s masem, jeho krájení a případné naklepávání, kdy se za vyšší teploty, než je teplota lednice, mikroorganismy rychleji pomnožují. Nejlépe je to vidět u kvasinek, kde počet buněk vzrostl téměř 10 krát. Avšak po tepelné úpravě jsou téměř všechny mikroorganismy působením vysoké teploty usmrceny a počty nepřekračují limity dané vyhláškou 132/2004 Sb. a 137/2004 Sb.

Odběry stěrů z míst, kde se suroviny zpracovávají, představují veškeré přípravný surovin. Dále byl odebrán stěr z lednice. Místa odběrů stěrů:

- lednice, kde se uchovává syrové maso,
- hrubá přípravná masa,
- čistá přípravná masa – naklepávání plátků mas,
- čistá přípravná masa – krájení vařených mas a knedlíků,
- čistá přípravná zeleniny,
- přípravná studené kuchyně,
- přípravná těsta – stěr z pracovního stolu,
- přípravná těsta – stěr z dřevěné krájecí desky,
- vyloukárna vajec.

Tab. 19. Počty mikroorganismů z pracovních ploch – celkové počty mikroorganismů (PCA), stafylokoky (MSA), enterokoky (S-B) a plísně a kvasinky (CHYGA)

Vzorek/půda	Počet mikroorganismů na 1 cm ²			
	PCA	S-B	CHYGA	Psychrot. MO
Lednice	26	0	5 kvasinek	27
Hrubá příp. masa	257	0	15 kvasinek	360
Čistá příp. masa – naklep.	590	92	384 kvasinek	294
Čistá příp. masa – vař. masa	5	0	0	2
Čistá příp. zeleniny	7	0	1 plíseň	6
Studená kuchyně	256	0	103 kvasinek	407
Příp. těsta – pracovní stůl	27	0	3kvasinky	16
Příp. těsta – krájecí deska	415	7	278 kvasinek; 5 plísní	99

Vzorek/půda	Počet mikroorganismů na 1 cm ²			
	PCA	S-B	CHYGA	Psychrot. MO
Vytloukárna vajec	3	0	1 kvasinka	0

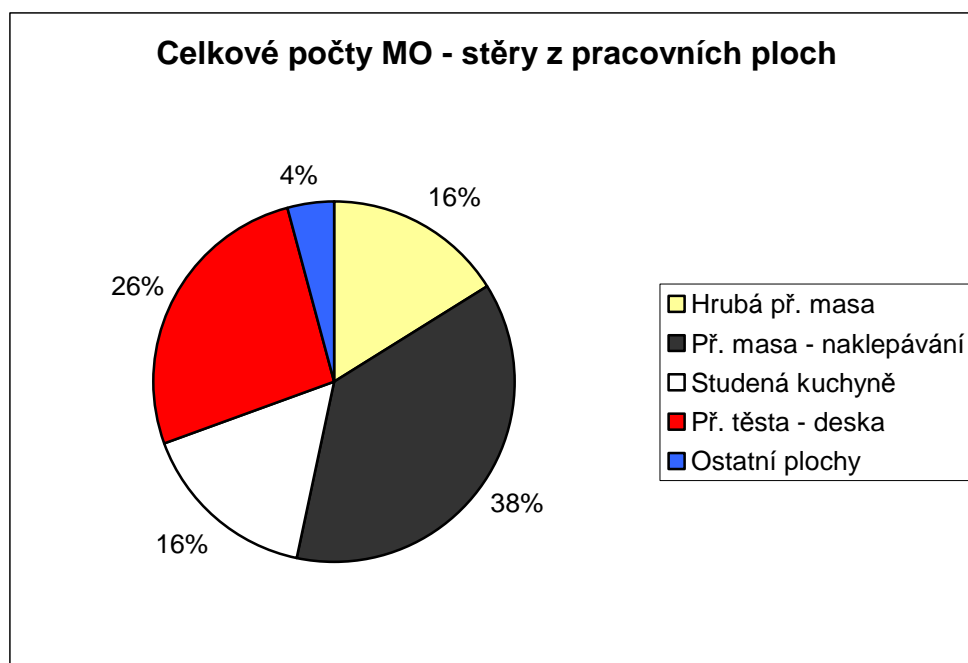
Psychrot. MO. – psychrotrofní mikroorganismy

Z tabulky je patrné, že nejvíce celkových mikroorganismů se vyskytovalo v čisté přípravně masa, kde se jednotlivé plátky naklepávaly. Způsobeno to může být jednak surovinou, kdy je na povrchu syrového masa přítomna mikroflóra už z podniku zpracovávajícího jatečná zvířata a jednak povrchem naklepávací desky, ve které vlivem úderů paličky jsou důlky a rýhy. Z těchto nerovností se hůře odstraňují nečistoty. Po izolaci byl zjištěn *Staphylococcus piscifermentans* ze stěru čisté přípravy masa, který pravděpodobně není patogenní. Další identifikovanou bakterií je *Edwardsiella ictaluri* ze stěru z čisté přípravy zeleniny. Tato bakterie rovněž není pravděpodobně patogenní. Grampozitivní tyčka, izolovaná ze stěru lednice, byla *Proteus penneri*. Tento mikrob není asi patogenní.

Druhou nejvíce kontaminovanou pracovní plochou byla přípravná těsta – krájecí deska. Tento počet mikrobů byl nejspíše způsoben taktéž nerovností desky, která se špatně čistila.

Celkové počty mikroorganismů u všech pracovních ploch nepřekročil limit 10^6 buněk/cm² daný vyhláškou 137/2004 Sb.

Následující graf ukazuje počty mikroorganismů v procentech na různých pracovních plochách.

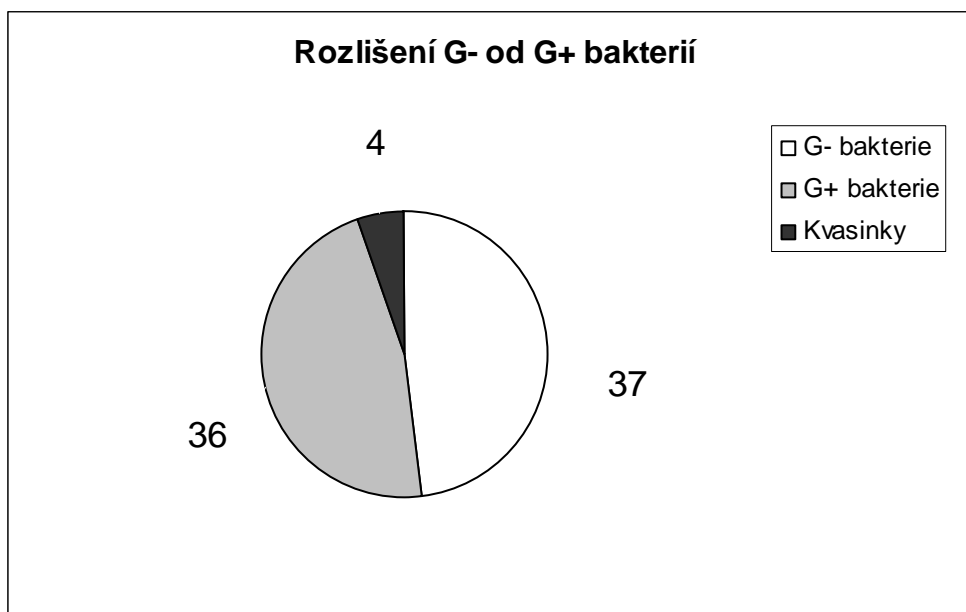


Obr. 14. Celkové počty mikroorganismů získané pomocí stěrů

3.6 Identifikace vybraných izolovaných mikroorganismů

Po kvantitativní mikrobiologické analýze vzorků pokrmů a stěrů za podzimní období následoval pokus o kvalitativní identifikaci vybraných izolovaných kolonií. Pro všechny testy, kterým byly kolonie podrobeny, bylo zapotřebí 24 hodin stará kultura mikroorganismů. Celkem bylo odebráno 85 kolonií z 20 vzorků pokrmů a 12 vzorků stěrů. První test spočíval v odlišení grampozitivních od gramnegativních bakterií. K tomu byl použit KOH test a následovalo Gramovo barvení.

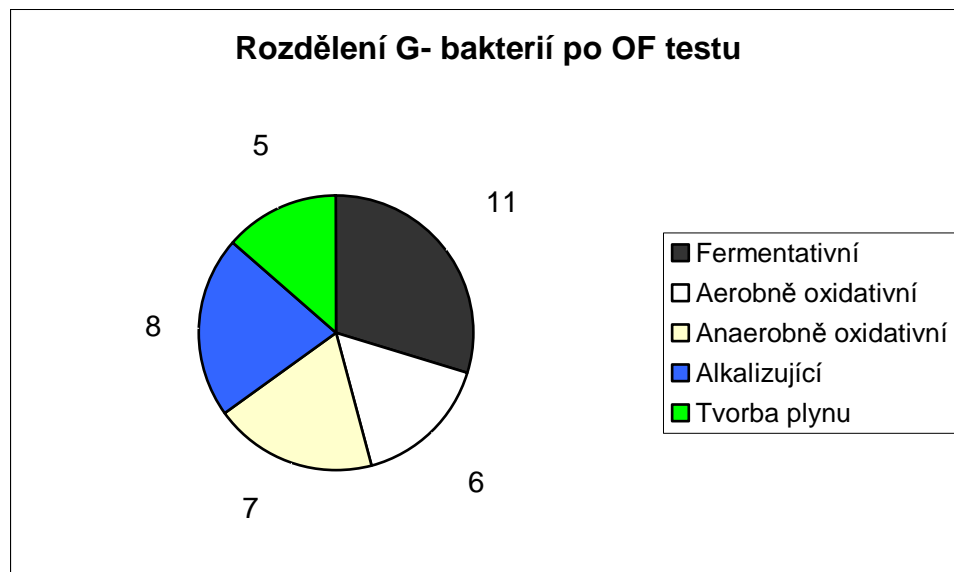
Z následujícího grafu je patrné, že grampozitivní a gramnegativní bakterie jsou mezi sebou ve vyrovnaném poměru. Rovněž byly zjištěny 4 kolonie kvasinek, které bylo možno v mikroskopu rozeznat díky své větší velikosti. Vzhled kvasinek byl od kruhových po vejčité buňky.



Obr. 15. Odlišení grampozitivních bakterií, gramnegativních bakterií a kvasinek pomocí KOH testu a Gramova barvení

3.6.1 Identifikace gramnegativních bakterií

Po provedení KOH testu a Gramově barvení bylo z izolátu zjištěno 37 gramnegativních bakterií. Deset izolátů bylo gramnegativní tyčka, sedmadvacet gramnegativní kokotyčky. U všech těchto bakterií byl proveden OF test, kdy se bakterie zaočkovaly do média pro fermentaci cukrů. Výsledky se odečítaly podle změny barvy živného agarů.



Obr. 16. Odlišení fermentujících, oxidačních a alkalizujících bakterií

Z grafu vyplývá, že nejvíce gramnegativních bakterií bylo fermentativních. Pro další identifikaci byly vybrány fermentativní a aerobně oxidativní bakterie. U nich byl proveden ENTEROtest. Po odečtení výsledků ENTEROtestu a provedení identifikace softwarovým programem TNW Pro 6.5, byly zjištěny tyto bakterie:

Tab. 20. Identifikované bakterie a pokrmy či stěry, v kterých byly nalezeny dle ENTEROtestu; jejich kvalita identifikace

Vzorek pokrmu (stěr)	Mikroorganismus	Kvalita identifikace
Rýže	<i>Xenorhabdus nematophilus</i>	Intermediární kmen
Těstoviny	<i>Serratia marcescens</i> bv. 1	Intermediární kmen
Těstoviny	<i>Pragia fontium</i>	Intermediární kmen
Těstoviny	<i>Yersinia aldovae</i>	Intermediární kmen
Hamburská vepřová kýta	<i>Pantoea punctata</i>	Rodová identifikace
Hamburská vepřová kýta	Neidentifikováno	Neidentifikováno
Hamburská vepřová kýta	<i>Xenorhabdus nematophilus</i>	Intermediární kmen
Omáčka k Hamburské kýtě	<i>Xenorhabdus nematophilus</i>	Neidentifikováno
Omáčka k Hamburské kýtě	<i>Proteus penneri</i>	Intermediární kmen
Vejsce na tvrdo	<i>Xenorhabdus nematophilus</i>	Intermediární kmen
Vejsce na tvrdo	<i>Xenorhabdus nematophilus</i>	Neidentifikováno
Stěr z naporcovaného syrového kuřecího masa	<i>Enterobacter asburiae</i>	Intermediární kmen
Stěr z naporcovaného syrového kuřecího masa	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Intermediární kmen
Stěr z vybaleného syrového kuřecího masa	<i>Xenorhabdus nematophilus</i>	Intermediární kmen
Stěr z čisté příprav. zeleniny	<i>Edwardsiella ictaluri</i>	Intermediární kmen
Stěr z lenice syrového masa	<i>Proteus penneri</i>	Intermediární kmen
Stěr z tácu na talíře	<i>Xenorhabdus nematophilus</i>	Intermediární kmen

Výše identifikované bakterie jsou všechny pravděpodobně nepatogenní. Tyto bakterie bývají běžně izolovány z prostředí, vody a potravin. Nejvíce izolátů bylo provedeno u vzorků pokrmů těstovin, hamburské vepřové kýty a její omáčky a z vejce vařeného na tvrdo. Vysoké počty bakterií mohly být způsobeny udržováním teplot pod hranicí 70 °C (38), která je nutná k tomu, aby byly přítomné mikroorganismy zničeny a nepomnožovaly se nebo nedostatečným dodržováním hygieny ať už vlastních pracovníků nebo pomůcek a zařízení pro výrobu potravin. U izolátů ze stěrů byla nejpravděpodobněji špatně provedena dezinfekce pracovních ploch nebo byl použit špatný prostředek pro jejich úklid.

3.6.2 Identifikace grampozitivních bakterií

Pomocí KOH testu a gramova barvení bylo mikroskopicky identifikováno jedna grampozitivní tyčinka, 8 grampozitivních kokotyček a dvacet sedm grampozitivních koků. K další identifikaci byly použity grampozitivní koky, které měly pozitivní nárůst na půdě pro stafylokoky (MSA) a zároveň na půdě pro celkové počty mikroorganismů spolu se 7 % NaCl. U jedenadvaceti izolovaných koků rostoucích na MSA agaru a PCA agaru s NaCl byl proveden STAPHYtest s těmito výsledky:

Tab. 21. Identifikované bakterie a pokrmy či stěry, v kterých byly nalezeny dle STAPHYtestu; jejich kvalita identifikace

Vzorek pokrmu (stěr)	Mikroorganismus	Kvalita identifikace
Pórková polévka	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Intermediární kmen
Drožděvá polévka	<i>Staphylococcus piscifermentans</i>	Velmi dobrá identifikace
Rýže	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Intermediární kmen
Rýže	<i>Staphylococcus simulans</i>	Intermediární kmen
Těstoviny	<i>Staphylococcus pasteurii</i>	Intermediární kmen
Těstoviny	<i>Staphylococcus gallinarum</i>	Intermediární kmen
Těstoviny	<i>Staphylococcus pasteurii</i>	Intermediární kmen
Vícevrnný knedlík	<i>Staphylococcus piscifermentans</i>	Intermediární kmen
Hamburská vepřová kýta	<i>Staphylococcus gallinarum</i>	Velmi dobrá identifikace
Hamburská vepřová kýta	<i>Staphylococcus aureus</i> ssp. <i>aureus</i>	Intermediární kmen
Hamburská vepřová kýta	<i>Staphylococcus piscifermentans</i>	Dobrá identifikace
Hovězí cibuláček	<i>Staphylococcus piscifermentans</i>	Výborná identifikace
Omáčka k Hamburské kýtě	<i>Staphylococcus gallinarum</i>	Intermediární kmen
Žemlovka	<i>Staphylococcus piscifermentans</i>	Intermediární kmen
Drůbeží rizoto	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Intermediární kmen
Pikantní směs z Tomi masa	<i>Staphylococcus gallinarum</i>	Intermediární kmen
Halušky se zelím	<i>Staphylococcus pasteurii</i>	Intermediární kmen
Vejce na tvrdo	<i>Staphylococcus xylosum</i>	Velmi dobrá identifikace
Stěr z hrubé přípravny masa	<i>Staphylococcus gallinarum</i>	Velmi dobrá identifikace
Stěr z čisté přípravny masa	<i>Staphylococcus piscifermentans</i>	Dobrá identifikace
Stěr syrového vepř. masa	<i>Staphylococcus xylosum</i>	Velmi dobrá identifikace

Z tabulky je patrné, že až na jeden izolát *St. aureus* z hamburské vepřové kýty byly všechny ostatní stafylokoky identifikovány jako koagulasa negativní. Tyto jsou považovány za nepatogenní. Z toho důvodu pro ně také vyhláška 132/2004 Sb. a Nařízení Komise (ES) 2073/2005 neudávají limity pro sledování bezpečnosti potravin. Tyto stafylokoky bývají běžně izolovány z prostředí, povrchů zařízení, vody, potravin nebo z povrchu kůže (*St. epidermidis*). Jak už možná místa výskytu naznačují, mohly se tyto bakterie právě odtud dostat do pokrmů.

ZÁVĚR

V letním období bylo odebráno 29 vzorků pokrmů, v podzimním období 28 vzorků. Z výsledků je patrné, že rozdíl v obsahu mikroorganismů v pokrmech v závislosti na ročním období je velký. Množství celkových mikroorganismů na jednu Petriho misku byl o 42,5 % vyšší v letním období oproti podzimnímu. To bylo nejspíš způsobeno vyšší teplotou okolního prostředí, kdy při delší prodlevě mezi dohobením pokrmů a výdejem strávníků, se mikroorganismy rychleji pomnoží než při nižší teplotě.

Z 85 izolátů bakterií se podařilo identifikovat 17 z 37 gramnegativních bakterií. Nejčastěji identifikovanou gramnegativní bakterií byl *Xenorhabdus nematophilus*, který byl izolován nejen z pokrmů, ale i ze stěrů nádobí surovin pro výrobu pokrmů. Z grampozitivních bakterií bylo identifikováno 21 koků, kdy se nejčastěji objevoval *Staphylococcus piscifermentans*, jenž byl izolován pětkrát z pokrmů a jednou ze stěru pracovních ploch. Dalším často se vyskytujícím se stafylokokem byl *Staphylococcus gallinarum* izolovaným čtyřikrát z pokrmů a jednou ze stěru pracovních ploch. Při identifikaci izolovaných kolonií z Petriho misek, byly identifikovány čtyři kvasinky.

Všechny izolované bakterie, kromě *S. aureus*, který byl identifikován pouze jedenkrát, jsou pravděpodobně nepatogenní.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- (1) BENEŠOVÁ, L., *Potravinářství*, 1. vyd., Praha, Ústav zemědělských a potravinářských informací, 1993, 200 s., ISBN 80-85120-38-0.
- (2) BLACKBURN, C., de W., McCLURE, P., J., *Foodborn Pathogens, Hazards, Risk Analysis and Kontrol*, CRC Press, USA, 2002.
- (3) BŘEZINA, P., ŠIMŮNEK, J., *Mykotoxiny*, 1. vyd., Vyškov, 1996, 37 s.
- (4) ČECHOVÁ, L., *Detekce atypických kmenů bakterií rodu Salmonella pomocí polymerázové řetězové reakce*, [Diplomová práce], Masaryková univerzita, Brno, 2002.
- (5) ČSN 56 0100 *Mikrobiologické zkoušení poživatin předmětů běžného užívání a prostředí potravinářských provozoven*, Vydavatelství úřadu pro normalizaci a měření, Praha, 1968.
- (6) DAVIES, A., BOARD, R., *The Mikrobiology of Meat and Poultry*, Blackie Academic and Professional, London, 1998.
- (7) DRDÁK, M., STUDNICKÝ, J., MÓROVÁ, E., KAROVIČOVÁ, J., *Základy potravinářských technologií*, 1. vyd., Bratislava, 1996, 512 s., ISBN 80-967064-1-1
- (8) FASSATIOVÁ, O., *Plísně a vláknité houby v technické mikrobiologii*, 1. vyd., Praha, 1979, 240 s., ISBN 04-824-79.
- (9) GÖRNER, F., VALÍK, L', *Aplikovaná mikrobiológia poživatin*, Malé centrum, 2004.
- (10) GREENWOOD, D., SLACK, R., PEUTHERER, J. F., *Lékařská mikrobiologie*, Praha, 1999, ISBN 80-7169-365-0.
- (11) GROSSMANN, M., *Mikrobiologie v hygieně speciální část*, Vyškov, 1999, ISBN 80-7231-037-2.
- (12) HALAČKA, K., *Výživové a hygienické minimum pro závodní stravování*, 1. vyd., Merkur v Praze, 1982, 193 s., ISBN 51-337-82.
- (13) HARRIGAN, W., F., *Laboratory Methods in Food Mikrobiology*, 3rd Edition, Academic Press Ltd., London, 1998.
- (14) HEJLOVÁ, Š., *Hygiena a technologie vajec a vaječných výrobků*, 1. vyd., Praha, 2001, 72 s., ISBN 80-902775-8-6.

- (15) ICMSF: *Microorganisms in Foods 6: Microbial Ecology of Food Commodities*, 2nd Edition, Springer, 2005, ISBN 0-306-48675-X.
- (16) JACOBS-REITSMA, W., *Campylobacter in the Food Supply*, Asm Press, USA, Washington, 2000.
- (17) JAY, J., M., *Modern Food Microbiology*, 6th Edition, Aspen Publishers, Maryland, 2000.
- (18) JESENSKÁ, Z., *Mikroskopické huby v požívatínách a v krmivách*, 1. vyd., Bratislava, 1987, 320 s., ISBN 063-018-87.
- (19) JIČÍNSKÁ, E., HAVLOVÁ, J., *Metody detekce patogenních mikroorganismů v potravinách*, 1. vyd., Praha, 115 s., ISBN 80-85120-49-6.
- (20) JIČÍNSKÁ, E., HAVLOVÁ, J., *Patogenní mikroorganismy v mléce a mlékárenských výrobcích*, Ústav zemědělských a potravinářských informací, Praha, 1995, 106 s., ISBN 80-85120-47-X.
- (21) KOMÁREK, L., *Antigenní formule sérovarů salmonel*, Příloha 3/1998, Státní zdravotní ústav, Praha, 1998.
- (22) KOMÁREK, L., *Metodické doporučení k mikrobiologickému zkoušení potravin a pokrmů*, Praha, 2003, 28 s., ISBN 0862-5956.
- (23) LELIEVELD, H., L., M., MOSTERT, M., A., HOLAH, J., WHITE, B., *Hygiene in Food Processing*, CRC Press, USA, 2003.
- (24) LUND, B., M., et al., *The Microbiological Safety and Duality of Food*, Aspen Publisher, Maryland, 2001.
- (25) *Mykotoxiny: Onemocnění člověka vyvolaná mykotox.* [online]. [cit. 2007-05-04]. Dostupný z WWW: <<http://www.med.muni.cz/prelek/MYKOTW/mtonem.htm>>.
- (26) Nařízení komise (ES) č. 2073/2005 o mikrobiologických kritériích pro potraviny.
- (27) OBDRŽÁLEK, V., *Kultivace bakterií*, Praktikum – vyšetřovací metody, 1. vyd., vydavatelství MU, Brno, 1992.
- (28) Potravinářská revue 1/2006 – *Plísňe a potraviny* s. 33 – 37, odborný časopis pro výživu, výrobu potravin a obchod, vychází 7x – 8x ročně
- (29) *Princip karcinogeneze a přírodní karcinogenní sloučeniny v potravinách* [online]. [cit. 2007-05-07]. Dostupný z WWW: <http://www.vscht.cz/chem_listy/docs/full/2004_07_02.pdf>.

- (30) ROSICKÝ, B., SIL, W. a kol., *Salmonelózy*, 1. vyd., Scientia medica, Praha, 1994, 208 s., ISBN 80-85526-23-9.
- (31) *Státní zdravotní ústav: Epidat* [online]. [cit. 2007-04-14]. Dostupný z WWW: <<http://www.szu.cz/cem/>>.
- (32) ŠILHÁNKOVÁ, L., *Mikrobiologické zkoumání potravin*, VŠCHT, Praha, 1987, 104 s.
- (33) ŠILHÁNKOVÁ, L., *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*, Praha, 2002, ISBN 80-200-1024-6.
- (34) TICHÁ, J., *Mikroorganismy a jiní škůdci v mlýnskopekárenském průmyslu a ochrana proti nim*, 1. vyd., Praha, 1988. ISBN 04-833-88.
- (35) *Veterinářství: výskyt termofilních druhů Campylobacter sp. u prasat a v prostředí porážek* [online]. [cit. 2005-03-10]. Dostupný z WWW: <<http://www.vetweb.cz/projekt/clanek.asp?pid=2&cid=1750>>.
- (36) VOLDŘICH, M., JECHOVÁ, M., *Bezpečnost pokrmů v gastronomii*, 1. vyd., Praha, 2004, 178 s., ISBN 80-903401-0-5.
- (37) Vyhláška Ministerstva zdravotnictví 132/2004 Sb. *o mikrobiologických požadavcích na potraviny, ztřpusobu jejich kontroly a hodnocení.*
- (38) Vyhláška Ministerstva zdravotnictví 137/2004 Sb. *o hygienických požadavcích na stravovací služby a o zásadách osobní a provozní hygieny při činnostech epidemiologicky závažných.*
- (39) Vyhláška Ministerstva zdravotnictví 305/2004 Sb., *kterou se stanoví chemické požadavky na zdravotní nezávadnost jednotlivých druhů potravin a potravinových surovin, podmínky použití látek přídatných, pomocných a potravinových doplňků.*
- (40) Vyhláška Ministerstva zdravotnictví 602/2006 Sb., *kterou se mění vyhláška Ministerstva zdravotnictví 137/2004 Sb. o hygienických požadavcích na stravovací služby a o zásadách osobní a provozní hygieny při činnostech epidemiologicky závažných.*
- (41) Zákon 258/2000 Sb. *o ochraně veřejného zdraví.*
- (42) *Zdravá rodina: Pozor na mykotoxiny* [online]. [cit. 2007-04-28]. Dostupný z WWW: <http://www.zdrava-rodina.cz/med/med999/med999_26.html>.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

CFU	Kolonie tvořící jednotky
CPM	Celkový počet mikroorganismů
ČR	Česká republika
ČSN	Československá státní norma
ES	Evropské společenství
G-	Gramnegativní bakterie
G+	Grampozitivní bakterie
HACCP	Systém kritických bodů v provozu společného stravování
CHYGA	Chloramphenicol Yeast Glucose Agar
KOH	Hydroxid draselný
MPN	Metoda nejvíce pravděpodobného počtu
MSA	Mannitol Salt Agar Base
OF	Médium pro fermentaci cukrů
PCA	Plate Count Agar
PM	Petriho miska
RFLP	Polymorfie délky restrikčních fragmentů
R-V	Modifikované médium dle Rappaporta Vassiliadis
S-B	Medium Slanetz-Bartleyové
TSI	Triple Sugar Iron Agar
UTB	Univerzita Tomáše Bati
VRBA	Violet Red Bile Agar
XLD	Xylose – Lysine Deoxycholate Agar

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1 Celkové počty mikroorganismů u skupiny polévek	55
Obr. 2 Celkové počty mikroorganismů u příloh.....	56
Obr. 3. Množství stafylokoků a enterokoků ve vybraných přílohách.....	57
Obr. 4. Celkové počty mikroorganismů vybraných jednosložkových a ostatních pokrmů.	61
Obr. 5. Psychrotrofní mikroorganismy u vybraných jednosložkových a ostatních pokrmů	62
Obr. 6. Kvasinky a plísně u vybraných druhů polévek.....	64
Obr. 7. Celkové počty mikroorganismů u vybraných příloh	65
Obr. 8. Psychrotrofní mikroorganismy, kvasinky a plísně u vybraných příloh.....	66
Obr. 9. Psychrotrofní mikroorganismy, kvasinky a plísně u omáček.....	69
Obr. 10. Celkové počty mikroorganismů u vybraných jednosložkových a ostatních pokrmů	70
Obr. 11. Počty stafylokoků u vybraných jednosložkových a ostatních pokrmů.....	71
Obr. 12. Psychrotrofní mikroorganismy a kvasinky u vybraných jednosložkových a ostatních pokrmů.....	72
Obr. 13. Srovnání obsahu mikroorganismů v přílohách za různá roční období	73
Obr. 14. Celkové počty mikroorganismů získané pomocí stěrů.....	77
Obr. 15. Odlišení grampozitivních bakterií, gramnegativních bakterií a kvasinek pomocí KOH testu a Gramova barvení.....	78
Obr. 16. Odlišení fermentujících, oxidačních a alkalizujících bakterií	79

SEZNAM TABULEK

Tab. 1. Bakteriální původci onemocnění z pokrmů dle Nařízení Komise (ES)	10
Tab. 2. Bakteriální původci onemocnění z pokrmů	11
Tab. 3. Indikátorové mikroorganismy	11
Tab. 4. Počet osob onemocněných salmonelózou v ČR v letech 1994 – 2006	18
Tab. 5. Přežívání salmonel v potravinách za chladírenské teploty	18
Tab. 6. Počet osob onemocněných kampylobakterií v ČR v letech 1994 – 2006	20
Tab. 7. Počet osob onemocněných shigelózou v ČR v letech 1994 – 2006	21
Tab. 8. Počet osob onemocněných virovou hepatitidou A v ČR v letech 1994 – 2006	25
Tab. 9. Nemocnost alimentárních onemocnění v letech 1998 – 2006 v České republice (počet případů / 100 000 obyvatel)	26
Tab. 10. Limity koncentrací mykotoxinů v potravinách ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	28
Tab. 11. Houboví a plísňoví původci onemocnění z pokrmů – mezní hodnoty	30
Tab. 12. Sledované mikroorganismy	47
Tab. 13. Teploty a délky inkubace naočkovaných Petriho misek a zkumavek (pokrmů)	49
Tab. 14. Teploty a délky inkubace naočkovaných Petriho misek (stěry)	49
Tab. 15. Hodnotící schéma pro test na fermentaci cukrů	53
Tab. 16. Počty mikroorganismů zjištěných při stěrech – celkové počty mikroorganismů (PCA), stafylokoky (MSA), enterokoky (S-B), koliformní organismy (VRBA), psychrotrofní mikroorganismy (CHYGA)	74
Tab. 17. Počty mikroorganismů zjištěných při stěrech – celkové počty mikroorg. (PCA), stafylokoky (MSA), enterokoky (S-B) a plísně a kvasinky (CHYGA)	75
Tab. 18. Počty mikroorganismů zjištěných při stěrech – celkové počty mikroorg. (PCA), stafylokoky (MSA), enterokoky (S-B) a plísně a kvasinky (CHYGA)	75
Tab. 19. Počty mikroorganismů z pracovních ploch – celkové počty mikroorg. (PCA), stafylokoky (MSA), enterokoky (S-B) a plísně a kvasinky (CHYGA)	79
Tab. 21. Identifikované bakterie a pokrmy či stěry, v kterých byly nalezeny dle ENTEROtestu; jejich kvalita identifikace	79
Tab. 22. Identifikované bakterie a pokrmy či stěry, v kterých byly nalezeny dle STAPHYtestu; jejich kvalita identifikace	80

SEZNAM PŘÍLOH

- P 1 : Celkový počet mikroorganismů (PCA), počty stafylokoků (MSA), enterokoků (S-B) a koliformních mikroorganismů (VRBA) – léto
- P 2 : Počty salmonel (R-V, TSI, XLD), psychrotrofních mikroorganismů (PCA) a kvasinek a plísní (CHYGA) – léto
- P 3 : Celkový počet mikroorganismů (PCA), počty stafylokoků (MSA), enterokoků (S-B) a koliformních mikroorganismů (VRBA) – podzim
- P 4 : Počty salmonel (R-V, TSI, XLD), psychrotrofních mikroorganismů (PCA) a kvasinek a plísní (CHYGA) – podzim

Příloha 1. Celkový počet mikroorganismů (PCA), počty stafylokoků (MSA), enterokoků (S-B) a koliformních mikroorganismů (VRBA) – léto

Vzorek/půda	Průměrný počet mikroorganismů na 1 g vzorku			
	PCA	MSA	S-B	VRBA
Polévky				
Polévka vločková	43	10	0	0
Polévka čočková	7	2675	0	0
Polévka pórková s vejci	47	0	0	0
Polévka hrstková	80	0	0	0
Přílohy				
Brambory	5	8	0	0
Bramborové šulánky	335	0	0	0
Bramborová kaše	290	$2,36 \cdot 10^4$	$3,34 \cdot 10^3$	0
Rýže	585	$1,44 \cdot 10^4$	90	0
Houskový knedlík	47	15	0	0
Těstoviny (špagety)	112	$2,38 \cdot 10^4$	$3,11 \cdot 10^3$	10
Těstoviny (kolínka)	58	$9,9 \cdot 10^3$	130	0
Pokrmy z masa a drůbeže				
Vepřové maso ala bažant	25	0	0	0
Vepřové žebírko	565	2	0	0
Moravský vrabec	213	23	0	0
Námořnické maso	18	0	0	0
Krůtí řízek	137	$2,85 \cdot 10^4$	125	0
Omáčky a krémy				
Omáčka z vepř. masa ala bažant	37	58	40	0
Omáčka z vepřového žebírka	217	28	0	0
Omáčka na námořnické maso	0	0	0	0
Rajská omáčka	0	0	0	0
Krém na dukátové buchtičky	245	120	85	0

Vzorek/půda	Průměrný počet mikroorganismů na 1 g vzorku			
	PCA	MSA	S-B	VRBA
Jednosložkové a ostatní pokrmy				
Hrachová kaše	20	20	0	0
Pikantní fazole	0	0	0	0
Vepřové rizoto	0	0	0	0
Zelenina s houbami	487	10	0	0
Bramborové knedlíky s uzeninou	853	430	175	0
Dukátové buchtičky	638	538	345	85
Vařené zelí	18	23	0	0
Mák k bramborovým šulánkám	103	78	320	480

Příloha 2. Počty salmonel (R-V, TSI, XLD), psychrotrofních mikroorganismů (PCA) a kvasinek a plísní (CHYGA) – léto

Vzorek/půda	Průměrný počet mikroorganismů na 1 g vzorku				
	R-V	TSI	XLD	PCA	CHYGA
Polévky					
Polévka vločková	negativní	negativní	negativní	10	10 kvasinek
Polévka čočková	negativní	negativní	negativní	0	0
Polévka pórková s vejci	negativní	negativní	negativní	80	0
Polévka hrstková	negativní	negativní	negativní	30	5 kvasinek
Přílohy					
Brambory	negativní	negativní	negativní	5	0
Bramborové šulánky	negativní	negativní	negativní	25	5 kvasinek
Bramborová kaše	negativní	negativní	negativní	20	0
Rýže	negativní	negativní	negativní	230	0
Houskový knedlík	negativní	negativní	negativní	0	0
Těstoviny (špagety)	negativní	negativní	negativní	120	5 plísní
Těstoviny (kolínka)	negativní	negativní	negativní	10	0
Pokrmý z masa a drůbeže					
Vepřové maso ala bažant	negativní	negativní	negativní	155	0
Vepřové žebírko	negativní	negativní	negativní	0	0
Moravský vrabec	negativní	negativní	negativní	25	15 plísní
Námořnické maso	negativní	negativní	negativní	15	5 plísní
Krůtí řízek	negativní	negativní	negativní	55	0
Omáčky a krémy					
Omáčka z vepř. masa ala bažant	negativní	negativní	negativní	80	0
Omáčka z vepřového žebírka	negativní	negativní	negativní	0	0
Omáčka na námořnické maso	negativní	negativní	negativní	105	0

Vzorek/půda	Průměrný počet mikroorganismů na 1 g vzorku				
	R-V	TSI	XLD	PCA	CHYGA
Rajská omáčka	negativní	negativní	negativní	0	10 plísni
Krém na dukátové buchtičky	negativní	negativní	negativní	55	40 kvasinek, 20 plísni
Jednosložkové a ostatní pokrmy					
Hrachová kaše	negativní	negativní	negativní	0	5 kvasinek
Pikantní fazole	negativní	negativní	negativní	5	5 kvasinek
Vepřové rizoto	negativní	negativní	negativní	0	0
Zelenina s houbami	negativní	negativní	negativní	155	0
Bramborové knedlíky s uzeninou	negativní	negativní	negativní	195	20 kvasinek
Dukátové buchtičky	negativní	negativní	negativní	335	70 kvasinek, 35 plísni
Vařené zelí	negativní	negativní	negativní	25	10 plísni
Mák k bramborovým šulánkám	negativní	negativní	negativní	$3,28 \cdot 10^3$	110 kvasinek, 10 plísni

Příloha 3. Celkový počet mikroorganismů (PCA), počty stafylokoků (MSA), enterokoků (S-B) a koliformních mikroorganismů (VRBA) – podzim

Vzorek/půda	Průměrný počet mikroorganismů na 1 g vzorku			
	PCA	MSA	S-B	VRBA
Polévky				
Polévka pórková	0	53	0	0
Polévka česneková	10	0	0	0
Polévka uzená s kroupami	112	0	0	0
Polévka drožd'ová	17	0	0	3
Polévka hrachová	37	0	0	0
Polévka kmínová s vejci	38	0	0	0
Přílohy				
Brambory	2	55	0	0
Bramborová kaše	175	120	5	0
Bramborák	165	138	0	0
Rýže	168	28	0	0
Pohanková rýže	47	0	0	0
Těstoviny (kolínka)	102	15	20	0
Vícezrnný knedlík	$1,063 \cdot 10^4$	$4,24 \cdot 10^3$	$1,24 \cdot 10^3$	0
Pokrmý z masa, drůbeže a soji				
Hamburská vepřová kýta	$1,218 \cdot 10^3$	143	0	475
Hovězí cibulář	195	8	20	0
Sojový segedínský guláš	8	3	5	0
Sojové maso po čínsku	15; 10 plísni	3	0	0
Omáčky				
Omáčka k hamburské kýtě	68	80	0	15
Omáčka k hovězímu cibuláři	178	3	0	0

Vzorek/půda	Průměrný počet mikroorganismů na 1 g vzorku			
	PCA	MSA	S-B	VRBA
Jednosložkové a ostatní pokrmy				
Kuřecí směs s arašídy	110	173	0	0
Drůbeží rizoto se zeleninou	53	0	0	0
Jablková žemlovka	2,905 · 10 ³	415	0	0
Halušky se zelím	62	0	0	0
Jáhelník	2	0	0	0
Cibuláčky s ovocem	365	123	0	0
Pikantní směs z Tomi masa	203	35	0	0
Fazolové lusky na smetaně	18	3	0	0
Vejsce na tvrdo	310	60	10	45

Příloha 4. Počty salmonel (R-V, TSI, XLD), psychrotrofních mikroorganismů (PCA) a kvasinek a plísní (CHYGA) – podzim

Vzorek/půda	Průměrný počet mikroorganismů na 1 g vzorku				
	R-V	TSI	XLD	PCA	CHYGA
Polévky					
Polévka pórková	negativní	negativní	negativní	15	65 kvasinek
Polévka česneková	negativní	negativní	negativní	5	0
Polévka uzená s kroupami	negativní	negativní	negativní	20	0
Polévka drožděová	negativní	negativní	negativní	0	5 kvasinek
Polévka hrachová	negativní	negativní	negativní	0	5 kvasinek, 15 plísní
Polévka kmínová s vejci	negativní	negativní	negativní	0	10 kvasinek
Přílohy					
Brambory	negativní	negativní	negativní	0	0
Bramborová kaše	negativní	negativní	negativní	10	10 kvasinek
Bramborák	negativní	negativní	negativní	0	80 kvasinek
Rýže	negativní	negativní	negativní	5	0
Pohanková rýže	negativní	negativní	negativní	15	5 kvasinek
Těstoviny (kolínka)	negativní	negativní	negativní	20	10 kvasinek, 5 plísní
Vícezrný knedlík	negativní	negativní	negativní	nepočítatelné množství	nepočítatelné množství
Pokrm z masa, drůbeže a soji					
Hamburská vepřová kýta	negativní	negativní	negativní	925	650 kvasinek
Hovězí cibulář	negativní	negativní	negativní	20	10 kvasinek
Sojový segedínský guláš	negativní	negativní	negativní	15	0
Sojové maso po čínsku	negativní	negativní	negativní	10	15 kvasinek
Omáčky					
Omáčka k hamburské kýtě	negativní	negativní	negativní	430	50 kvasinek
Omáčka k hovězímu cibuláři	negativní	negativní	negativní	45	30 kvasinek, 10 plísní

Vzorek/půda	Průměrný počet mikroorganismů na 1 g vzorku				
	R-V	TSI	XLD	PCA	CHYGA
Jednosložkové a ostatní pokrmy					
Kuřecí směs s arašídý	negativní	negativní	negativní	185	80 kvasinek
Drůbeží rizoto se zeleninou	negativní	negativní	negativní	0	0
Jablková žemlovka	negativní	negativní	negativní	$2,87 \cdot 10^3$	395 kvasinek
Halušky se zelím	negativní	negativní	negativní	5	35 kvasinek
Jáhelník	negativní	negativní	negativní	0	5 plísni
Cibuláčky s ovocem	negativní	negativní	negativní	305	100 kvasinek
Pikantní směs z Tomi masa	negativní	negativní	negativní	70	30 kvasinek
Fazolové lusky na smetaně	negativní	negativní	negativní	5	0
Vejce na tvrdo	negativní	negativní	negativní	430	130 kvasinek