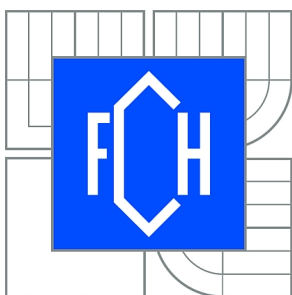




VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ
BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ
ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ
FACULTY OF CHEMISTRY
INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

DESINFEKČNÍ PROSTŘEDKY V POTRAVINÁŘSTVÍ

DISINFECTANTS IN FOOD

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE
BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE
AUTHOR

VERONIKA ROMANSKÁ

VEDOUCÍ PRÁCE
SUPERVISOR

Mgr. DANA VRÁNOVÁ, Ph.D.

BRNO 2015



Vysoké učení technické v Brně
Fakulta chemická
Purkyňova 464/118, 61200 Brno 12

Zadání bakalářské práce

Číslo bakalářské práce:	FCH-BAK0900/2014	Akademický rok: 2014/2015
Ústav:	Ústav chemie potravin a biotechnologií	
Student(ka):	Veronika Romanská	
Studijní program:	Chemie a technologie potravin (B2901)	
Studijní obor:	Biotechnologie (2810R001)	
Vedoucí práce	Mgr. Dana Vránová, Ph.D.	
Konzultanti:		

Název bakalářské práce:

Desinfekční prostředky v potravinářství

Zadání bakalářské práce:

1. Vypracování literární rešerše na zadané téma
2. Popis vhodných a používaných metod k desinfekci v potravinářských podnicích
3. Zpracování získaných výsledků z experimentů
4. Zhodnocení výsledků formou diskuse

Termín odevzdání bakalářské práce: 22.5.2015

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu bakalářské práce. Toto zadání je přílohou bakalářské práce.

Veronika Romanská
Student(ka)

Mgr. Dana Vránová, Ph.D.
Vedoucí práce

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.
Ředitel ústavu

V Brně, dne 30.1.2015

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
Děkan fakulty

ABSTRAKT

Cílem bakalářské práce je popsat chemickou desinfekci používanou v potravinářství za účelem eliminování mikrobiální kontaminace potravin a potravinářských surovin a popsání možných alimentárních nákaz z potravin při nesprávném dodržení hygienické praxe.

Experimentální část bakalářské práce obsahuje popis použité metody určené ke stanovení desinfekčního účinku a její následné praktické provedení pro dva typy desinfekčních přípravků s odlišným charakterem aktivní složky. Na základě získaných výsledků bylo provedeno jejich zhodnocení a vzájemné porovnání.

ABSTRACT

The aim the of bachelor thesis is description of chemical disinfection, which is used in food industry to eliminate microbial contaminations of food, food intermediates and foodborne diseases, which can occur if hygienic regulations are not observed correctly.

The experimental part of the bachelor thesis characterizes the method which was used to specify the disinfecting effect. This method was used to determine two types of disinfectants which contain two different active ingredients. Based on the results, two disinfectants were evaluated and compared.

KLÍČOVÁ SLOVA

mikrobiální kontaminace potravin, desinfekce, patogenní mikroorganismy, alimentární náklady a otravy z potravin, baktericidní účinek, bakteriostatický účinek

KEY WORDS

food contamination by mikroorganisms, disinfection, pathogenic mikroorganisms, foodborne diseases and poisoning, bactericidal effect, bacteriostatic effect

ROMANSKÁ, V. *Desinfekční prostředky v potravinářství*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2015. 69 s. Vedoucí bakalářské práce Mgr. Dana Vránová, Ph.D.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

.....
podpis studenta

PODĚKOVÁNÍ

Můj veliký dík patří mé vedoucí práce, Mgr. Daně Vránové Ph.D., za její odborné vedení a značnou pomoc s vytvořením bakalářské práce. Dále děkuji společnosti BOCHEMIE a.s. za poskytnutí vzorků testovaných přípravků, Ing. Lucii Drápalové z Ústavu pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv za provedení experimentální části bakalářské práce, a také za její celkovou ochotu a pomoc. Děkuji také své rodině za velikou podporu a dále za možnosti, podmínky a hmotné zajištění pro vytvoření této bakalářské práce.

OBSAH

1	ÚVOD	9
2	TEORETICKÁ ČÁST	10
2.1	Nežádoucí kontaminace potravin a potravinářských surovin.....	10
2.1.1	Typy kontaminace potravin.....	11
2.1.2	Opatření proti kontaminaci potravin.....	11
2.1.3	Hazard Analysis and Critical Control Points (HACCP).....	12
2.1.4	Požadavky na povrchy v potravinářských výroбах	12
2.1.5	Požadavky na zařízení v potravinářských výroбах.....	12
2.2	Mikrobiální kontaminace potravin	13
2.2.1	Zdroje mikrobiální kontaminace	13
2.2.2	Vlastnosti potravin ovlivňující přežívání mikroorganismů.....	14
2.2.2.1	pH potravin	14
2.2.2.2	Teplota.....	14
2.2.2.3	Voda	16
2.2.2.4	Kyslík	16
2.2.2.5	Oxidoredukční potenciál.....	17
2.2.2.6	Osmotický tlak	17
2.2.2.7	Čas	17
2.3	Ochranné prostředky proti mikrobiální kontaminaci potravin	18
2.3.1	Mechanické prostředky	18
2.3.2	Fyzikální prostředky	19
2.3.3	Chemické prostředky	20
2.4	Sterilizace	20
2.5	Desinfekce	21
2.5.1	Volba druhu a postupu desinfekce.....	21
2.5.2	Druhy desinfekce	21
2.5.3	Mechanická očista	22
2.6	Sanitace	23
2.7	Chemická desinfekce	23
2.7.1	Zásady provádění desinfekce	24
2.7.2	Způsoby provádění desinfekce	24
2.7.3	Etapy desinfekce.....	25
2.7.4	Působení desinfekčních látek	25
2.8	Druhy chemických látek s desinfekčním působením	25

2.8.1	Alkálie	25
2.8.2	Kyseliny	26
2.8.3	Oxidační činidla	26
2.8.4	Halogeny	26
2.8.4.1	Fluor	26
2.8.4.2	Chlor	27
2.8.4.3	Brom	27
2.8.4.4	Jod	28
2.8.5	Sloučeniny těžkých kovů	28
2.8.5.1	Stříbro	28
2.8.5.2	Měď	28
2.8.5.3	Cín	28
2.8.5.4	Rtuť	29
2.8.6	Alkoholy a ethery	29
2.8.6.1	Etanol	29
2.8.6.2	Propanol	29
2.8.6.3	Trietylglykol	29
2.8.6.4	Etylenoxid	29
2.8.7	Aldehydy	30
2.8.7.1	Formaldehyd	30
2.8.7.2	Glutaraldehyd	30
2.8.8	Cyklické sloučeniny	30
2.8.8.1	Fenol	30
2.8.8.2	Lysol	30
2.8.8.3	Trikresol	30
2.8.8.4	Chlorhexidin	30
2.8.9	Povrchově aktivní látky	31
2.8.10	Ostatní sloučeniny	31
2.8.11	Kombinované přípravky	31
2.9	Otravy z potravin	32
2.9.1	Otravy zapříčiněné přítomností chemických látek	32
2.9.2	Otravy zapříčiněné mikroorganismy	32
2.10	Přehled nejběžnějších alimentárních nákaz, otrav a onemocnění z potravin	33
2.10.1	Bakteriální onemocnění	33
	rod Salmonella	34

rod <i>Listeria</i>	34
rod <i>Campylobacter</i>	35
rod <i>Shigella</i>	35
rod <i>Vibrio</i>	35
<i>Yersinia enterocolitica</i>	35
<i>Staphylococcus aureus</i>	36
<i>Escherichia coli</i>	36
<i>Bacillus cereus</i>	36
<i>Clostridium botulinum</i>	37
2.10.2 Onemocnění vyvolaná houbami	37
Plísně	37
Kvasinky	38
2.10.3 Virová onemocnění	38
2.10.4 Onemocnění způsobená priony	39
2.10.5 Onemocnění způsobená prvoky	39
2.10.6 Parazitická onemocnění	39
2.11 Mikrobiologická diagnostika	40
2.11.1 Kultivace mikroorganismů	40
2.11.2 Kultivační média	41
2.11.3 Příprava kultivačních médií	41
2.11.4 Očkování mikroorganismů	42
2.11.5 Stanovení počtu mikrobiálních buněk	42
3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	43
3.1 Materiál	43
3.1.1 Pomůcky	43
3.1.2 Přístroje	43
3.1.3 Chemikálie	44
3.1.4 Živné médium	44
3.1.5 Krevní agar	44
3.1.6 Zátěž	45
3.1.7 Biologický materiál	45
3.2 Testované přípravky	45
3.2.1 DESAM EXTRA	45
3.2.2 CHIROX	47
3.3 Metoda stanovení desinfekčního účinku	49

3.3.1	Princip metody.....	49
3.3.2	Desinfekční efekt.....	49
3.4	Praktické provedení testu	49
3.4.1	Příprava suspenze testovacího kmene.....	50
3.4.2	Příprava roztoků přípravků.....	50
3.4.3	Test prováděný v malthusových zkumavkách.....	51
4	VÝSLEDKY A DISKUZE	53
4.1	Vyhodnocení přípravku DESAM EXTRA	53
4.1.1	Testování přípravku DESAM EXTRA bez zátěže	54
4.1.2	Testování přípravku DESAM EXTRA se zátěží.....	56
4.1.3	Celkové zhodnocení desinfekčního efektu přípravku DESAM EXTRA	58
4.2	Vyhodnocení přípravku CHIROX.....	59
4.2.1	Testování přípravku CHIROX bez zátěže.....	60
4.2.2	Testování přípravku CHIROX se zátěží	62
4.2.3	Celkové zhodnocení desinfekčního efektu přípravku CHIROX.....	64
4.3	Celkové shrnutí experimentu.....	65
5	ZÁVĚR	66
6	SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ	67
7	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ	69
8	PŘÍLOHY.....	70

1 ÚVOD

Při distribuci potravin a potravinářských surovin je jedním z hlavních a důležitých procesů jejich bezpečnost. Kromě fyzikální a chemické kontaminace je důležitým úkonem monitorování kontaminace mikrobiální, jelikož potraviny jsou výborným substrátem pro rozmnožování mikroorganismů, které svým růstem potravinu znehodnocují. Způsobují tak nejen ekonomické ztráty, ale i alimentární nákazy z potravin. Je důležité definovat možnosti, jak lze těmto rizikům předcházet a jak možné hrozby kontaminace eliminovat.

Aktivních desinfekčně působících látek je široké spektrum. Volba druhu desinfekce je důležitým předmětem zkoumání z hlediska ekonomického, z hlediska účinku, ale je také třeba zohlednit jeho zdravotní nezávadnost. U každé používané chemické látky se zkoumají a zohledňují otázky účinku na zdraví člověka (možná karcinogenita, látky způsobující neplodnost, alergenní látky, dráždivý efekt...). Stejně tak nesmí být opomenuty otázky týkající se ekologie, kdy hlavními předměty zkoumání je snadná odbouratelnost přípravku a ekologická náročnost na výrobu daného prostředku. Dalším předmětem zkoumání je snaha o snižování koncentrací používaných přípravků, se zachováním stejné desinfekční účinnosti pro zlepšení finanční a ekologické náročnosti výroby přípravků, což bývá realizováno použitím zcela nových účinných látek, nebo vhodnou kombinací desinfekčních látek různého charakteru. Tato kritéria poukazují na fakt, že je žádoucí činností zkoumání a srovnávání různých přípravků s různými aktivními látkami či srovnávání různých směsí pro nalezení vhodného přípravku.

Eliminace hrozby mikrobiální nákazy v potravinářství musí být prováděna dostatečně účinně. V této bakalářské práci je vysvětleno, proč je v potravinářství důležitý správný a cílený výběr desinfekčního prostředku v dané situaci, ale také proč je důležité jeho správné použití (expoziční doba, správné naředění), a jaké komplikace mohou nastat při nedostatečném nebo nesprávném dodržování hygienických norem. Aby byl zajištěn správný postup desinfekce v potravinářských provozech, je potřeba účinnost desinfekčních přípravků také kontrolovat.

Účinnost desinfekčních přípravků byla stanovena metodou modifikovanou Ústavem pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv – ÚSKVBL, která vychází z norem EN 1656, EN 1657 a EN 1276. Byla monitorována změna elektrické vodivosti živné půdy, která je ovlivněna růstem mikroorganismů. Byla sledována inhibice růstu mikroorganismů vyvolaná působením přípravku o známé koncentraci, kdy tato inhibice byla porovnána s růstem testovaných mikroorganismů bez přítomnosti desinfekční látky.

Výsledkem testování bylo stanovení minimální inhibiční koncentrace, stanovení minimální baktericidní koncentrace, ověření splnění podmínek účinnosti desinfekčních látek určených pro desinfekci povrchů a porovnání dvou testovaných desinfekčních přípravků s odlišným charakterem aktivní složky.

2 TEORETICKÁ ČÁST

Základní cíl potravinářského práva je zachování ochrany lidského života a zdraví na vysoké úrovni. Bezpečná potravina tedy neobsahuje kontaminanty a nesmí způsobit onemocnění nebo újmu na zdraví. Pravidla a postupy pro dodržování hygienických pravidel a jejich ověřování jsou nezbytným základem pro zajištění bezpečnosti potravin.

Je potřeba potravinu ochránit před nebezpečím kontaminace, včetně škodlivých bakterií, jedů a cizích předmětů. Důležité je také zabránění množení bakterií na úroveň vedoucí k onemocnění spotřebitele, nebo k předčasnému zkažení potravin. Hygienická pravidla mají za cíl udržovat a případně zvýšit úroveň veřejného zdraví spotřebitele, zachovat a splňovat provozní a hygienické požadavky na zařízení, požadavky na nezávadnost potravin a potravinářských surovin.

Hygiena potravin zahrnuje opatření a podmínky, které jsou nezbytné pro minimalizaci nebezpečí a pro zajištění vhodnosti potravin pro lidskou spotřebu, kdy je nedílnou součástí také přihlídnutí k určenému použití potravin nebo potravinářské suroviny. Nezbytným opatřením je navíc i správná likvidace nezpůsobitelných nebo kontaminovaných potravin.

Provozovatel potravinářského podniku by měl zajistit, aby v celém potravinářském řetězci nedošlo k ohrožení bezpečnosti potravin. Fáze zpracování, ale i navažování, míchání, balení, skladování a distribuce, by tedy měly splňovat stanovené hygienické požadavky [2], [9].

2.1 Nežádoucí kontaminace potravin a potravinářských surovin

Výskyt jakýchkoli nežádoucích nebo škodlivých částic v potravíně nebo v prostředí, které je určeno ke zpracování, je silně nežádoucí. Nežádoucí kontaminace potravin představuje komplikaci v podobě znehodnocení výrobku, znehodnocení výrobního procesu nebo nebezpečí v podobě zdravotních komplikací. Prevencí před kontaminací je snížení tohoto rizika na minimum [2].

Většina potravin, potravinářských surovin, meziproduktů a polotovarů je vhodnou půdou pro mikroorganismy, proto je velice důležité, aby tyto produkty byly před rozkladnými činnostmi mikroorganismů během zpracování, skladování a distribuce chráněny. Potraviny nesmí obsahovat patogenní ani toxinogenní mikroorganismy a nesmějí být jejich nositeli, pokud by mohly ohrozit zdraví konzumenta. Kontaminující mikroorganismy mohou také ohrozit průběh procesů v kvasném průmyslu a dalších potravinářských provozech, nebo mohou nepříznivě ovlivnit kvalitu výrobku a to často i v malých koncentracích [1].

Kontaminace potravin a potravinářských surovin je definována jako přítomnost nebezpečí nebo jeho vnášení. Z existence možného nebezpečí vyplývá míra pravděpodobnosti nepříznivého účinku na zdraví, která se označuje jako **riziko**. Pokud mají na zdraví nepříznivý vliv biologičtí, chemičtí nebo fyzikální činitelé v potravinách, je tento jev označován za **nebezpečí** [9].

Potraviny jsou vystaveny riziku kontaminace většinou až v průběhu zpracování (způsob, prostředí, vlhkost, hygiena pracovišť a pracovníků apod.), protože produkty, které jsou získány ze zdravého organismu, ve většině případů kontaminované téměř nejsou [11].

Potravinářské procesy patří do kategorie výrob, které podléhají zvýšené kontrole. Pro výrobce potravin platí trestní odpovědnost za kvalitu a nezávadnost potravin [4]. Primární odpovědnost za bezpečnost potravin nese provozovatel potravinářského podniku, který by měl zajistit bezpečnost potravin, surovin a potravinářských meziproduktů v celém řetězci výroby včetně prvovýroby [9].

Při dodržování hygienických standardů a při minimalizaci kontaminace nebo jejím vyloučením v potravinářských výroбах bude pozitivním efektem vyhovění legislativním požadavkům, minimalizace rizik nákazy spotřebitele a s tím spojená také vzrůstající doba minimální trvanlivosti potravin a tím pádem i menší plýtvání potravinami [2].

2.1.1 Typy kontaminace potravin

Kontaminace můžeme rozlišit na tři typy:

- **Mikrobiální kontaminace** – způsobena bakteriemi, plísněmi, viry, parazity (ze surovin, z prostředí, z pracovníků). K této kontaminaci dochází zpravidla neznalostí nebo nedodržením postupů správné hygienické praxe. Příznaky kontaminace je plesnivění, tvorba mikrobiálních povlaků, hnití, kvašení atd. Mikrobiální kontaminace nemusí být v raném stádiu rozpoznatelná. Mikroorganismus, který za určitých okolností poškozuje makroorganismus a je schopen vyvolat onemocnění (tzn., že vyvolává patogenitu), je nazýván jako **patogen**. Nárůst patogenní mikroflóry nad **infekční dávku** může vést až ke zkažení potravin, otravě či dokonce ke smrti konzumenta. Dosažení infekční dávky patogenních mikroorganismů nebo jejich toxinů je dosaženo v situaci, je-li množství mikrobů takové, že způsobí u hostitele onemocnění (viz Tabulka 12).
- **Fyzikální kontaminace** – jedná se o přítomnost cizích předmětů (papír, plasty, kovy, provázky...). Tato kontaminace může učinit potravinu kvalitativně nepřijatelnou či zdravotně závadnou.
- **Chemická kontaminace** – způsobena látkami z cizího prostředí (např. kontaminace zbytky čisticích prostředků) či chemickými reakcemi mezi složkami potravin [2], [3].

2.1.2 Opatření proti kontaminaci potravin

Proti nežádoucí činnosti mikroorganismů v potravinářském i kvasném průmyslu se využívá fyzikálních i chemických prostředků a jejich kombinací. Je potřeba také dodržovat přísné hygienické zásady a procesy správné hygienické praxe, což slouží k zabránění kontaminace mikroorganismy a jejich pomnožení v potravinách. Tato ochrana proti kontaminaci musí být dodržována ve všech fázích výroby, zpracování a distribuce [1], [3].

Obecné požadavky na prostory vyžadují udržování potravinářských prostor v čistotě a v dobrém stavu. Nezbytným prvkem je umožnění odpovídající údržby, čištění nebo desinfekci, také vyloučení a minimalizace kontaminace z ovzduší. Je potřeba zabránit fyzikální kontaminaci potravin a styk s toxickými látkami a škůdci. Čisticí a desinfekční prostředky nesmí být skladovány v přítomnosti manipulace s potravinami [3].

Nedílnou součástí ochrany před kontaminací je dodržování hygienických zásad samotných pracovníků. Pracovníci musí dbát na čistotu rukou, oděvu, dodržovat pravidla osobní hygieny, aby byli vyloučeni jako potencionální bacilonosiči. Povrchy v kontaktu s rukama, jako například vodovodní baterie, by měly být co nejvíce nahrazeny bezdotykovými apod. [1], [2].

2.1.3 Hazard Analysis and Critical Control Points (HACCP)

HACCP, neboli systém kritických bodů, je způsob analýzy potenciálních rizik v průběhu zpracování potravin určen vyhláškou č. 45/2010 Sb., v aktuálním znění, o způsobu stanovení kritických bodů v technologii výroby [27]. Hlavním úkolem je prevence fyziologických, chemických a biologických rizik všech potravinářských provozů.

Pro stanovení kritických bodů je potřeba celková řádná dokumentace a splnění následujících potřeb: vymezit výrobní činnost a odpovědnost výrobce, popsat výrobek, sestavit schéma výrobního procesu, vymezit analýzy nebezpečí, stanovit kritické body, sledovat jejich stav a stanovit nápravná opatření, monitoring škůdců a podrobný popis metod a přípravků pro jejich zneškodnění. Celková dokumentace HACCP musí umožnit dohledatelnost případných závadných výrobků, které již opustily závod [8].

2.1.4 Požadavky na povrchy v potravinářských výrobcích

V nezávadném stavu musí být udržovány podlahové povrchy, povrchy stěn, dveře, okna a stropy, které musí být vhodně řešeny a konstruovány z nezávadných materiálů, musejí být snadno čistitelné a desinfikovatelné, povrchy stěn musejí být omyvatelné až do výšky odpovídající zpracovávajícím operacím. Stropy musejí být konstruovány tak, aby se zabránilo hromadění nečistot a kondenzaci vody, což by mohlo způsobit růst plísní nebo odlupování omítky ze stropu [9].

Povrchy určené pro manipulaci s potravinami, nebo kde dochází ke styku s potravinami, včetně povrchů zařízení a předmětů, musí být snadno desinfikovatelné, což vyžaduje použití hladkých, korozivzdorných, nenasákavých, omyvatelných a netoxických materiálů [3]. Počet povrchů, kde dochází k přímému styku s potravinou, by mělo být co nejméně [2].

2.1.5 Požadavky na zařízení v potravinářských výrobcích

Zařízení je jakákoli jednotka potravinářského průmyslu, se kterou přicházejí do styku potraviny, suroviny a produkty potravinářských výrob.

Je potřeba zařízení instalovat tak, aby bylo umožněno jejich pravidelné čištění, ale také čištění jejich okolních prostor [9]. Pokud přístroj obsahuje nerovnosti jako díry, záhyby, prohlubeniny, výčnělky apod., může představovat značné riziko mikrobiální kontaminace. Zařízení by tedy mělo být konstruováno z hladkých materiálů, potrubí by měla být co nejkratší, bez slepých míst a snadno demontovatelná. Části přístroje nesmí způsobovat hromadění potravinového produktu [11].

Zařízení musí být důkladně čištěna a v případě nutnosti i desinfikována tak často, aby se vyloučilo riziko kontaminace. Mělo by být použito vhodných, neškodných a omyvatelných materiálů, které je možno snadno udržovat v pořádku, čistotě a dobrém stavu, a které nekorodují při styku s potravinami ani s desinfekčními a čisticími prostředky [9], [11].

Zařízení mohou být opatřena čištěním a desinfekcí v okruhu, tj. bez demontáže, které je řízeno různými stupni automatizace až po plně automatizované. Čištění v okruhu může mít charakter průtokového nebo objemového zařízení [11].

2.2 Mikrobiální kontaminace potravin

Mikroorganismy jsou jednobuněčné nebo vícebuněčné organismy, které nejsou schopny tvořit funkčně diferenciované tkáně nebo pletiva. Jsou to protozoa (prvoci), archaebakterie a bakterie, které jsou nejrozsáhlejší skupinou mikroorganismů, kvasinky, kvasinkovité organismy, plísně a některé řasy. Viry jsou nebuněčné povahy a jsou tvořené pouze obalem a genetickým materiálem, přesto bývají také zařazovány do předmětu zkoumání mikrobiologie, taktéž priony (infekční bílkoviny) a viroidy. Společným znakem mikroorganismů jsou jejich velmi malé rozměry – od několika desetin μm až po několik desetin mm [1].

Každá potravina je charakterizována svým *mikrobiálním profilem*, což je kvalitativní i kvantitativní skladba mikroflóry v potravíně. Ten není nikdy statický, jelikož je ovlivněn druhem produktu, jeho fyzikálními a chemickými vlastnostmi a jeho typickou mikroflórou, počáteční mikrobiální kontaminací, růstovými nároky a charakterizací mikrobů, technologickými postupy, průběhem zpracování a podmínkami vnějšího prostředí při zpracování i skladování potravin [11]. Mikrobiologická kritéria potravin jsou stanovená aplikovatelnými právními normami Evropské unie nařízením Komise (ES) č. 2073/2005, v aktuálním znění, o mikrobiologických kritériích potravin [26].

Určité skupiny mikroorganismů jsou schopny svou činností zastavit růst nežádoucích mikroorganismů v potravinách a tím prodloužit jejich skladovatelnost (např. mléčné kvašení zelí, okurek, výroba sýrů a podobně). Průmyslově se činnosti mikroorganismů využívá v tradičním kvasném, pivovarském, lihovarském a mlékárenském průmyslu.

Nejzávažnější negativní účinky způsobují svou činností patogenní mikroorganismy způsobující nemoci člověka, zvířat nebo rostlin. Další negativní účinek mikroorganismů z potravinářského hlediska je jejich nežádoucí rozklad [1]. Potraviny podporující růst patogenů, jejich rozmnožování a tvorbu toxinů svými vlastnostmi označujeme jako **vulnerabilní potraviny** (zejména nedostatečně tepelně upravené výrobky: maso, drůbež, vejce..., dále nepasterované mléko a mléčné výrobky, výrobky vyrobené za nehygienických podmínek atd.) [11].

Mikrobiální kontaminace potravin způsobuje znehodnocení až zničení potravin a potravinových produktů a může způsobit alimentární nákazy [2].

Potraviny, které jsou vyrobené při dodržování hygienických norem a splňují mikrobiologické požadavky, jsou hygienicky nezávadné [11].

2.2.1 Zdroje mikrobiální kontaminace

V potravinářských provozech mohou být častým zdrojem mikrobiální kontaminace pracovníci provozu a návštěvy. Dalším zdrojem nákazy v případě kontaminace syrové potraviny jako drůbež, vejce, mléko, ryby, voda apod. jsou splašky nebo zvířecí výkaly, hmyz, hlodavci, ptáci či vnější prostředí (znečištěná voda, půda prach).

Způsoby, kdy transfer umožní přenos nežádoucího mikroorganismu na potravinu, se nazývají **vehikula**. Jako vehikula jsou definovány ruce, oblečení a zařízení, povrchy přicházející do kontaktu s rukama a povrchy přicházející do kontaktu s potravinou nebo

potravinářským produktem. **Křížovou kontaminací** označujeme kontaminaci, kdy přenos patogenu se uskuteční způsobem z kontaminované potraviny na potraviny ostatní.

Při výskytu plísně v blízkosti potraviny nebo potravinového produktu musí být ostatní potraviny okamžitě zakryty a plesnivé potraviny okamžitě zlikvidovány z důvodu co největšího zamezení výskytu spor v ovzduší.

Znalosti zdrojů přenosů patogenních mikrobů jsou nutné k předcházení nákaz a otrav z potravin [2].

2.2.2 Vlastnosti potravin ovlivňující přežívání mikroorganismů

2.2.2.1 pH potravin

Rozmnožování mikroorganismů je závislé na hodnotě pH prostředí. V potravinářství mají potraviny různý rozsah pH (viz Tabulka 2) [11]. Růst i biochemické činnosti každého mikrobiálního druhu se mohou uskutečňovat pouze v jeho určitém rozmezí. Většině mikroorganismů se nejlépe daří při pH, které je blízké neutrálnímu (cca pH 6 až 8). Extrémní koncentrace vodíkových iontů, (nízké i vysoké) mohou způsobit úhyn mikroorganismů [1]. Za mezní hodnotu je považována hodnota pH 4,0, pod kterou už neklíčí spory sporulujících bakterií [24].

Rozmezí pH je pro většinu *plísňí* široké, jejich optimální pH hodnota je v okolí neutrálního, rozmnožovat se ale mohou v rozmezí velmi širokém (od pH 1,2 až po pH 11).

Optimum růstu patogenních *bakterií* a bakterií, které způsobují kažení potravin, je při neutrálním nebo slabě alkalickém pH. Hnilobné bakterie jsou citlivé ke kyselému pH, což se využívá při konzervaci potravin. Výjimkou jsou střevní bakterie, které jsou vůči změnám pH odolné z důvodu styku s kyselými žaludečními šťávami v žaludku a s kontaktem se žlučí, která je alkalická.

Optimum růstu *kvasinek* je při kyselém pH v rozmezí 4,2–5,5 (viz Tabulka 1) [11].

2.2.2.2 Teplota

Mikroby se množí jen v úzkém rozmezí teplot pro jejich optimální růst, teplota prostředí je tedy jedním z nejdůležitějších faktorů ovlivňujících množení i možnost existence mikroorganismů v potravinách (viz Tabulka 1).

Psychrofilní – mají optimální teplotu růstu nižší než 20 °C, intenzivně rostou ještě při 0 až 5 °C, z potravinářského hlediska jsou důležité *psychrotrofní*, které se rychle rozmnožují při teplotách 0–10 °C [5], [11].

Mezofilní – minimální teplota je 5 °C [1], optimální teplota v rozmezí 20–45 °C [11]. Pro většinu lidských patogenů je jejich optimální teplota 37 °C [18].

Termofilní – jejich optimum růstu je vyšší než 45 °C (nejčastěji 50–60 °C) [1]. *Termorezistentní* jsou odolné vůči teplotám nad 60 °C [18].

Bakterie osidlující povrchy potravin v chladničkách jsou mezofily s nízkou minimální růstovou teplotou. Nejčastěji to jsou pseudomonády a flavobakteria. Patogenní mikroorganismy, které jsou schopny množit se těsně nad nulou, jsou yersinie, listerie, salmonely (při teplotách okolo 8 °C) a zlaté stafylokoky [5].

Tabulka 1: pH prostředí a minimální teploty růstu u vybraných mikroorganismů [24], [25]

MO		Minimální pH	Maximální pH	Minimální teplota růstu [°C]
Bakterie	<i>Escherichia coli</i>	4,4	9,0	+ 7
	<i>Salmonella paratyphi</i>	4,5	7,8	+ 5
	<i>Salmonella typhi</i>	4,0–4,5	8,0–9,6	+ 5
	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	4,8	11,0	+ 5
	<i>Bacillus cereus</i>	4,9	9,3	+ 12
	<i>Bacillus subtilis</i>	4,5	8,5	+ 10
	<i>Clostridium botulinum</i>	4,7	8,5	+ 3
	<i>Lactobacillus spp.</i>	3,8–4,4	7,2	0
	<i>Staphylococcus aureus</i>	4,0	9,8	+ 6
	<i>Streptococcus lactis</i>	4,3–4,8	9,2	0
	<i>Listeria monocytogenes</i>	4,3	9,4	0
Plísňe	<i>Fusarium oxysporum</i>	1,8	11,1	– 18
	<i>Penicillium variable</i>	1,6	11,1	– 18
Kvasinky	<i>Saccharomyces spp.</i>	2,1–2,4	8,6–9,0	– 7
	<i>Candida pseudotropicalis</i>	2,3	8,8	– 7

Tabulka 2: pH vybraných potravin a osídlení patogenními mikroorganismy [24]

pH	Potraviny	Růst patogenních MO
> 7	vaječný bílek, černé olivy, sladká kukuřice	většina MO inhibována
6,5–7	mléko, drůbež, šunka, korýši	optimální pH růstu pro většinu MO
5,3–6,4	hovězí, telecí maso, zelenina	zpomalení rozmnožování MO
4,5–5,2	masové konzervy, měkké sýry, fermentovaná zelenina	množení MO ustává, dlouho trvající lag fáze
3,7–4,4	nakládané kyselé okurky, majonéza, určité druhy ovoce, jogurt, fermentovaná zelenina, džusy, sušené ovoce	toxinogenní plísňe, kvasinky
< 3,7	citrusové džusy, kvašené zelí, salátové zálivky, ocet	mnohé druhy bakterií uhynou

2.2.2.3 Voda

Voda je jedna z hlavních složek potravin, ovlivňuje charakteristické i organoleptické vlastnosti potravin. Je rozhodujícím faktorem pravděpodobnosti mikrobiálního růstu. Voda se účastní důležitých mikrobiálních biochemických reakcí a ovlivňuje stavbu bílkovin. Pokles množství vody pod optimum může prodloužit generační dobu mikroorganismu, ale může způsobit i jeho úhyn vyschnutím. Viry jsou k vysychání obecně, až na pár výjimek, citlivější než bakterie. K vyschnutí jsou ovšem odolné spory bakterií, cysty prvoků a vajíčka parazitů [5], [11].

Obsah vody v potravině je charakterizován aktivitou vody (a_w), což je míra dostupnosti volné vody v potravině, která může být využitelná mikroorganismy (viz Tabulka 4) na rozdíl od vody vázané na složky potravin. Výpočetem je to podíl tlaku páry nad roztokem a tlaku vodní páry nad čistou vodou. Různé mikroorganismy mají různé požadavky na aktivitu vody (viz Tabulka 3) [11].

2.2.2.4 Kyslík

Většina mikroorganismů způsobující kažení potravin potřebuje kyslík (viz Tabulka 3). Vakuové balení potravin proces kažení zpomaluje. Mikroorganismy se podle nároků na kyslík dělí na:

Aerobní – ke svým životním pochodům potřebují kyslík.

Anaerobní – mikroorganismy žijí za nepřítomnosti kyslíku, ve většině případů je pro ně kyslík toxický.

Fakultativně anaerobní – mikroorganismy jsou schopny růstu za přítomnosti i nepřítomnosti kyslíku.

Mikroaerofilní – mikroorganismy vyžadují kyslík v menší koncentraci, než je obsažen ve vzduchu [16].

Tabulka 3: Růstové nároky (a_w , kyslík) patogenních mikroorganismů [24]

MO	Minimální a_w	Nároky na kyslík
<i>Escherichia coli</i>	0,95	fakultativně anaerobní
<i>Salmonella spp.</i>	0,94	fakultativně anaerobní
<i>Listeria monocytogenes</i>	0,92	fakultativně anaerobní
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	0,94	fakultativně anaerobní
<i>Bacillus cereus</i>	0,95	fakultativně anaerobní
<i>Campylobacter jejuni</i>	0,99	mikroaerofilní
<i>Clostridium botulinum</i>	0,93	anaerobní
<i>Yersinia enterocolitica</i>	0,96	fakultativně anaerobní
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,83 (0,9 ^b)	fakultativně anaerobní

Hodnota aktivity vody pro tvorbu toxinu je označena „^b“.

Tabulka 4: Vodní aktivita vybraných potravin a osídlení patogenními MO [24]

a_w	Potraviny	Růst patogenních MO
0,10–0,20	cereálie, cukr, krekry, sůl, sušené mléko	MO nerostou, nerozmnožují se, přežívají, jejich počet postupně klesá
< 0,60	med, čokoláda, špagety, nudle, sušenky	MO nerostou, nerozmnožují se, přežívají po dlouhou dobu
0,60–0,85	džemy, rosoly, sušené ovoce a zelenina, parmezán, silně solené ryby, ořechy	MO přežívají, plísně tvoří mykotoxiny
0,85–0,93	fermentované salámy, slazené kondenzované mléko, sušené maso, syrová šunka, slanina	množení plísní, tvorba toxinů, množí se <i>Staphylococcus aureus</i> (netvoří toxin)
0,93–0,98	kondenzované mléko, rajský protlak, chléb, ovocné šťávy, tepelně opracované salámy, sýry	množení plísní, tvorba toxinů, množí se <i>Staphylococcus aureus</i> (tvoří toxin), kvasinky a bakterie se množí pomaleji
0,98–0,99	Mléko, čerstvé maso, ryby, konzervovaná zelenina, ovocné kompoty, vejce	všechny MO rostou a rozmnožují se

Hodnotu aktivity 1 má čistá voda.

2.2.2.5 Oxidoredukční potenciál

Oxidoredukční potenciál závisí na chemickém složení potravin a přístupu kyslíku do potravin. Tento jev určuje míru stupně oxidace v potravinách pomocí poměru mezi oxidovanými a redukovanými látkami v prostředí. Principem oxidoredukčního potenciálu je regulace funkcí některých enzymů.

Oxidované prostředí je vhodné pro aeroby, anaeroby vyžadují prostředí redukované [5], [11].

2.2.2.6 Osmotický tlak

Pro mikroorganismy je neoptimálnější hypotonické prostředí, ve kterém je nižší koncentrace rozpuštěných látek, než v samotné cytoplazmě buňky. Hypertonické prostředí způsobuje plazmolýzu, kdy buňka ztrácí vodu a smršťuje se. V tomto případě se přestává množit, což se užívá při konzervaci potravin [5].

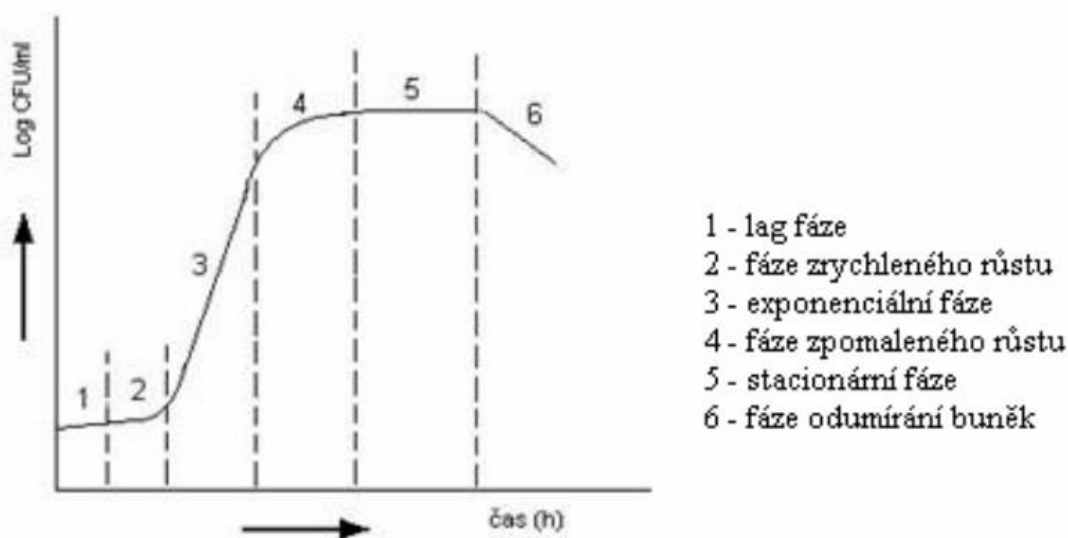
2.2.2.7 Čas

Z hlediska doby uchovávání potravin a prodlev při manipulacích s nimi je velmi důležitým faktorem čas. Čím jsou prodlevy manipulací a uchovávání kratší, tím je riziko znehodnocení potravin mikroorganismy menší. Růstové fáze mikroorganismu jsou znázorněny v grafu jako logaritmická závislost počtu živých buněk na čase (viz Obrázek 1: Růstová křivka [23]).

Jakmile dojde ke kontaminaci potravin mikroorganismem, daný mikroorganismus potřebuje čas k adaptaci, než se začne v potravine množit. Tato fáze se nazývá **lag fáze**. Tato fáze přechází ve **fázi zrychleného růstu**, kde buňky dosáhnou maximální intenzity svého

metabolismu. Fáze, ve které je rychlost rozmnožování buněk konstantní, se nazývá **exponenciální fáze**. Pokud jsou podmínky v potravíně optimální, množí se buňky velmi rychle. Za ideálních podmínek (optimální teplota, vlhkost, dostatek živin, plynné podmínky ...) se může většina mikroorganismů dělit každých 15 až 20 minut. Po snížení schopnosti rozmnožování a růstu buněk, v důsledku hromadění metabolitů a snížení obsahu živin v potravíně, nastává **fáze zpomaleného růstu**. Následuje **stacionární fáze**, ve které se buňky už téměř nemnoží, přibývá metabolitů a začínou přibývat buňky odumírající. Jakmile začne převažovat počet mrtvých buněk nad životaschopnými, nastává **fáze odumírání buněk**.

Nežádoucímú kažení potravin lze předcházet dodržováním doby použitelnosti potravin, minimálními prodlevami a manipulacemi s potravinami v teplotním rozmezí od 15 °C do 50 °C, nazývaných jako **nebezpečná zóna**, apod. [16], [23].



Obrázek 1: Růstová křivka [23]

2.3 Ochranné prostředky proti mikrobiální kontaminaci potravin

2.3.1 Mechanické prostředky

Základním principem této metody je mechanické odstraňování prachu, nečistot a zbytků organického materiálu ze strojů, zařízení, podlah i méně přístupných míst, z míst pro uložení surovin a ze všech složek skladovaných v potravinářském podniku tak, aby se zabránilo kontaminaci, a také aby došlo k zabránění procesu kažení [1], [9].

Použitím ventilace v provozních místnostech dojde k odstranění páry a zvířeného prachu. Pára by mohla kondenzovat na stěnách, stropěch a zařízeních a mohla by sloužit jako živná půda pro rozmnožení mikroorganismů, nejčastěji plísní. Vhodnou metodou je použití klimatizace, kdy dochází k odsávání znečištěného vzduchu a k přívodu mikrobiologicky čistého, o požadované vlhkosti a teplotě. Metoda mechanických prostředků je často kombinována s fyzikálními a chemickými prostředky.

Dalším principem je mechanické rozrušení buněk abrazivním materiálem, což je jemný písek, drcené sklo, velmi drobné skleněné kuličky apod., jejichž částice nesmějí být větší než velikost cílových buněk [1].

2.3.2 Fyzikální prostředky

Fyzikální metody se užívají nejčastěji v mikrobiologických laboratořích a při ostatních sterilizačních procesech, kde se chemické metody téměř neuplatňují. V provozech se nejčastěji z fyzikálních prostředků užívá účinků tepla a ultrafialového záření. [10], [11].

- **Zvýšená teplota** – po překročení maximální růstové teploty se množení mikrobů zastavuje, při delším působení dochází k usmrcení mikroorganismů, což je charakterizováno smrtící (letální) teplotou. To je nejnižší teplota, která usmrtí mikroorganismus po určité době působení za daných podmínek. Tento jev je značně odlišný u různých mikrobů z hlediska různé termorezistence, závisí tedy na druhu mikroba, jeho fyziologickém stavu, koncentraci buněk v prostředí, složení prostředí, pH prostředí apod. [1], [5].
 - *Pára pod tlakem* – proces sterilizace probíhá vlhkým teplem, tj. nasycená vodní pára pod tlakem v parních sterilizátorech, případně autoklávech. Dochází k usmrcení mikroorganismů tepelnou denaturací bílkovin, rozkladem nukleonových kyselin a porušením buněčných membrán, díky předání ohromného množství výparného tepla, ke kterému dojde po styku horké páry s chladnějším předmětem, kdy pára kondenzuje na vodu [5], [7].
 - *Proudící pára* – za normálního tlaku při teplotě 100 °C, sterilizace nejčastěji pomocí Kochova hrnce frakcionovanou sterilizací, kdy dojde i ke zničení spor po jejich vyklíčení po první sterilizaci. Vyklíčení spor probíhá inkubací při 37°C nejčastěji přes noc. Poté dojde k opětovné sterilizaci a ke zničení vegetativních forem mikrobů.
 - *Sterilizace horkým vzduchem* – sterilizace pomocí tepla přenášeného vzduchem v horkovzdušných sterilizátorech, mechanismem účinku je denaturace bílkovin.
 - *Pasterizace* – využití této metody se užívá při snaze snížení počtu mikroorganismů v potravinách a nápojích metodou kombinace výše teploty s délkou záhřevu.
 - *Tyndalizace* – užívá se u extrémně termolabilních roztoků, dochází k opakovanému zahřívání, které se opakuje až šestkrát.
 - *Sterilizace plamenem* – bleskově účinná, hojně užívaná v bakteriologii [5], [10].
- **Nízká teplota** – při zmrazování u některých druhů mikrobů dojde k okamžitému usmrcení, část jich uhyne ještě během mražení. Nejúčinnější je pomalé snižování teploty pod 0 °C v důsledku vzniku velkých ledových krystalků, které ničí buněčné membrány a tento jev způsobí usmrcení buňky [5]. U některých druhů bakterií (gramnegativní, grampozitivní sporulující, psychrofilny) dochází k chladovému šoku v případě, že se buňky nacházejí v exponenciální fázi růstu a přenesou se na teplotu blízké 0 °C. Tento jev se projevuje ztrátou životnosti a následným uhynutím většiny mikrobiální populace. Na různé druhy mikroorganismů jsou vlivy nízkých teplot odlišné, taktéž jejich intenzity, hodnoty a doby působení [1].
- **Plazmová sterilizace** – teplota procesu není vyšší jak 50 °C, užívá se pouze výjimečně.
- **Filtrace** – slouží hlavně k odstranění mikroorganismů ze vzduchu používaného pro klimatizaci nebo aeraci (u fermentačních výrob) nebo z choulavých roztoků obsahující termolabilní složky. Póry filtrů musí být tak malé, aby zachytily bakterie a spory kontaminujících mikroorganismů. Filtry se před použitím sterilizují suchým teplem.

- **Elektrostatické metody** – využívají elektrostatického srážení částic a mikroorganismů v aerosolu. Dochází k usazování elektricky nabitých částic na opačně nabitě stěny přístroje, kdy částice klesnou ke dnu přístroje po vybití stěn [1], [5], [10].
- **Záření a vlnění:**
 - *Radiační sterilizace* – účinným efektem je gama záření [5], [7].
 - *Infračervené záření* – ničení mikroorganismů způsobeno svým tepelným účinkem [5].
 - *Ultrafialové záření* – užíváno zejména při sterilizaci ploch, prostorů a ovzduší [1]. Ultrafialové záření (254 – 320 nm) způsobuje přechod bází nukleonových kyselin, cysteinu a aromatických aminokyselin obsažených v bílkovinách do excitovaného stavu, tím dojde k chemickým změnám buňky. Bakteriální buňky tímto způsobené poruchy dovedou napravovat jen do určité míry, poté jejich poškození vede k jejich smrti [5].
 - *Ultrazvuk* – tato metoda má malou účinnost, proto se nejčastěji používá k čištění dutých nástrojů před vlastní sterilizací [5].

Nejčastěji se užívá fyzikální sterilizace působením tepla, pro sterilizaci prostor se užívá metoda ultrafialového záření [6].

2.3.3 Chemické prostředky

Užití těchto prostředků nesmí ovlivňovat kvalitu potravin, výrobní prostředí, zdraví zaměstnanců nebo konzumentů, nesmí ani poškozovat výrobní plochy a zařízení [1].

Mikrobistatické látky svým působením zastavují růst, rozmnožování a činnosti mikroorganismů. Tento děj bývá vratný. *Mikrobicidní látky* způsobují úplné usmrcení mikroorganismů, což je nevratné. *Antimikrobiální látky* zahrnují oba zmiňované efekty. [5], [6].

Anorganické sloučeniny – mikrobicidní účinek mají silné kyseliny a silné zásady, jelikož svým působením poškozují buněčnou stěnu i cytoplazmatickou membránu. Z méně agresivnějších anorganických látek se používá hašené vápno, uhličitán a fosforečnan sodný, oxid siřičitý (potlačuje růst mikroorganismů), plynný chlor atd.

Organické sloučeniny – fenoly, kresoly, pentachlorfenolát, elhlylenoxid, formaldehyd, organické kyseliny, kvarterní amoniové soli [1].

Výsledek faktoru způsobující nepříznivý vliv na mikroorganismy je závislý na mnoha okolnostech. Při pozvolné stoupající intenzitě nepříznivého faktoru dochází nejprve k zastavení růstu a množení mikroorganismů, pak teprve dochází k jejich postupnému odumírání. Ke konci odumírání se děj zpomaluje, zůstávají totiž silnější jedinci. Počet usmrcených buněk závisí na druhu smrtícího činitele, jeho intenzitě, době působení (expoziční době), druhu mikroba, výchozího počtu mikrobů a v případě chemikálií také na teplotě [5].

2.4 Sterilizace

Sterilizačním procesem dochází k usmrcení všech mikroorganismů včetně spor, dochází k inaktivaci a zneškodnění virů, prionů, viroidů, k usmrcení červů a jejich vajíček. Dochází tedy k odstranění všeho živého z předmětu. Sterilní předmět je tedy dokonale zbaven všech života schopných buněk i zárodků.

Sterilizační postupy většinou bývají fyzikálního charakteru (viz kap. 2.3.2), může se také používat sterilizace chemická (formaldehydová, etylenoxidová) [5], [7]. Formaldehydová chemická sterilizace tvoří dráždivé páry, je v potravinářství zakázána. Etylenoxidová chemická sterilizace se provádí pomocí plyných par. Etylenoxid je jedovatý a mutagenní, je proto potřeba jej dokonale po sterilizaci z materiálu odstranit [1].

2.5 Desinfekce

Desinfekce neboli dekontaminace je proces, při kterém dochází ke zneškodnění původců infekce a škodlivých hygienicky a technologicky nežádoucích mikroorganismů. Desinfikovaný předmět tedy může obsahovat životaschopné nepatogenní mikroorganismy [5], [11]. Úkolem desinfekce je přerušit cestu nákazy od zdroje k vnímavé osobě [7].

2.5.1 Volba druhu a postupu desinfekce

Volba daného druhu a postupu desinfekce závisí na požadovaném účinku, kterého chceme docílit. V některých situacích potřebujeme zničit všechny zárodky, v některých situacích nám stačí pouze zničení patogenních. Je třeba si také uvědomit, jestli chceme mikroorganismy usmrtit, zredukovat jejich počet, či pouze zastavit jejich množení [5]. Musí se také vycházet ze znalostí cest přenosu a mechanismu infekce, z faktorů vnějšího prostředí, které mohou ovlivnit účinnost desinfekce (pH, teplota, vlhkost...). Nedílná součást, ke které je potřeba přihlédnout při desinfekci, je odolnost daných mikroorganismů. Je nezbytné podle konkrétního mikrobiálního znečištění prostředí a provozních podmínek vybrat desinfekční prostředek s požadovanou desinfekční účinností [7].

Ochranná desinfekce je součástí souboru hygienických opatření v období malého výskytu infekční nemoci. Směřuje k ochraně zdraví fyzických osob, k ochraně životních a pracovních podmínek před původci a přenašeči infekčních onemocnění. Je běžnou součástí potravinářských a technologických provozů.

Ohnisková desinfekce je desinfekční proces zaměřující se na likvidaci choroboplodných zárodků v ohnisku nákazy. Má sloužit také k tlumení nákaz [5], [8].

Vyšší stupeň desinfekce je postup, při kterém dochází ke zneškodnění bakterií, virů, mikroskopických hub a některých bakteriálních spor, nedochází však k usmrcení vysoce rezistentních spor, vývojových stádií zdravotně významných červů a jejich vajíček. Tato metoda desinfekce se užívá pro přístroje s optikou, kde nelze užít běžných fyzikálních ani chemických metod [7].

2.5.2 Druhy desinfekce

- **Fyzikální desinfekce** – touto metodou dochází k usmrcení mikroorganismů fyzikálními postupy (viz kap. 2.3.2). Tyto postupy jsou ekologicky výhodné [7].
- **Fyzikálně-chemická desinfekce** – při tomto druhu desinfekce dochází k usmrcení mikroorganismů kombinací fyzikálních a chemických postupů. Postup využití vodní páry při teplotě 45-75 °C s parami formaldehydu se nazývá paroformaldehydová desinfekční komora využívaná pro desinfekci textilu, matrací, kožených, kožesinových, vlněných a umělohmotných předmětů. Dalším fyzikálně-chemickým desinfekčním postupem je

užití pracích, mycích a čisticích strojů s přísadou chemických desinfekčních přípravků, kdy desinfekce probíhá při teplotě do 60 °C [7].

- **Chemická desinfekce** – v těchto desinfekčních postupech dochází k užití desinfekčních látek, nazývajících se biocidy. Některé biocidy jsou tak účinné, že mohou způsobit až sterilitu [5]. Mikroorganismy jsou ničeny roztoky nebo aerosoly chemických desinfekčních prostředků stanovené koncentrace po dobu potřebnou k dosažení dané fáze spektra desinfekční účinnosti [7].
- **Biologická desinfekce** – tento desinfekční postup se provádí pomocí bakteriofágů, prvoků, probiotik nebo rostlinných biocidů. Ty se dříve označovaly jako rostlinná antibiotika. Jsou to látky vyšších rostlin (silice, fenoly, terpeny, alkaloidy, chinony...), které mají schopnost brzdit, nebo dokonce zastavit růst některých bakterií, plísní a virů. Pro zneškodnění patogenních mikroorganismů se mohou užívat přípravky s obsahem streptokoků nebo parazitujících plísní [8].

2.5.3 Mechanická očista

Vlastní desinfekci je nutno předcházet mechanickou očištěním předmětu. Tento postup desinfekce se nazývá *dvouetapový* [5], [7]. Nečistoty usazené na površích desinfikovaných ploch jsou nežádoucí heterogenní substancí, která mění vlastnosti čištěného povrchu. Nečistoty se mohou nacházet v různých formách a konzistencích jako například ulpívající film na povrchu, nános, zaschlé nečistoty apod. [11]. Mohlo by se stát, že za podmínek výskytu mohutné mikrobiální masy na předmětu určenému k desinfekci by mikrobiální masa z prostředku vyvázala veškerou aktivní složku, tím pádem by byla desinfekční účinnost prostředku vyčerpána [5].

Nečistoty se na nerovném a nepravidelném povrchu udržují působením elektrostatických sil. Pro odstranění nečistot je potřeba dodat potřebné množství energie v podobě mechanické, chemické či tepelné, nebo jejich kombinací. V potravinářství se uplatňuje nejčastěji mechanické čištění doplněné čištěním chemickým. Tepelné čištění je omezené z důvodu rizika denaturace bílkovin.

Postup a výběr vhodného detergentního přípravku pro dokonalé odstranění nečistot by měl být určen na základě jejich chemických a fyzikálních vlastností. Nejvíce se uplatňuje rozdělení podle rozpustnosti ve vodě a podle chemického složení nečistot.

Roztoky čisticích prostředků, které mají schopnost odstraňovat nečistoty z povrchů, se nazývají *čisticími roztoky*. Ty by měly mít následující vlastnosti: dobrá rozpustnost ve vodě, dobrá smáčivost, dobrá rozpouštěcí, emulgační a disperzní schopnost, komplexotvornost, schopnost zmýdelňovat tuky, dobrá oplachovatelnost, nekorozivnost, antiredepozičnost, nesmí dráždit kůži, nesmí výrazně páchnout, stabilní při skladování, hospodárnost, biologická odbouratelnost. Čisticí prostředky mohou mít někdy i desinfekční účinnost. Čisticí prostředky rozlišujeme jako *jednoduché* (alkalické, kyselé), *detergenty* nebo *složené*.

Proces odstraňování nečistot se rozděluje do tří etap:

- uvolnění nečistot z podkladu,
- stabilizace nečistot v roztoku,

- redepozice – slouží k zabránění zpětného usazení nečistot [11].

Při mechanické očištění je potřeba dohlédnout na to, aby nedošlo ještě k větší kontaminaci okolí. Pokud by hrozilo při mechanické očištění riziko nákazy, je třeba nejprve použít desinfekčního postupu a až poté provést mechanickou očištu [5], [7].

V potravinových provozech je proces čištění důležitým, přísně kontrolovaným a pravidelně se opakujícím procesem [11]. Desinfekční proces lze provádět i v jednom kroku, např. při užití mycích automatů, nebo při použití desinfekčních přípravků s čistícími vlastnostmi. K desinfekci se nejčastěji používá chemických postupů [5], [7].

2.6 Sanitace

Sanitace je děj, ve kterém dochází k účelnému propojení čištění, desinfekce, deratizace, sterilizace a dalších činností, které slouží k zajištění čistoty pracovního prostředí. V potravinářství je sanitace souhrn ochranných opatření, která zabraňují nežádoucí kontaminaci potravin a zajišťují hygienické podmínky výroby potravin. Sanitace je základní podmínkou výroby jakostních potravin a každý potravinářský provoz má povinnost vytvořit si vlastní sanitační řád.

Sanitace se provádí z důvodu zamezení výskytu nejen nežádoucích mikroorganismů, ale i větších škůdců v závodech, v samotných potravinách a potravinových meziproduktech, kdy by jejich výskyt mohl způsobit technologické vady potravin, jejich kažení, nebo onemocnění spotřebitele. Dalším důvodem je zajištění bezpečnosti obsluhujícího personálu a splnění požadavků národní a evropské legislativy.

Sanitace by měla zahrnovat čištění a desinfekci jak pomůcek v potravinářských provozech, tak i čištění a desinfekci strojů, ploch a zařízení.

Preventivní sanitace se provádí dlouhodobě ve stanovených intervalech z důvodu zamezení výskytu možných choroboplodných zárodků, tím pádem i z důvodu zamezení případného vzniku a rozšíření nákazy.

Represivní sanitace se provádí až po zjištění výskytu a monitoringu mikroorganismů v nadměrném množství [8], [11].

2.7 Chemická desinfekce

Důležitými kritérii v používání chemických desinfekčních přípravků jsou jejich toxické a ekotoxické vlastnosti [7]. Dodávání a používání biocidních přípravků a dalších účinných látek se řídí nařízením Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 528/2012, v aktuálním znění. Chemická desinfekce dále podléhá nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1907/2006, v aktuálním znění, o registraci, hodnocení, povolování a omezování chemických látek, o zřízení Evropské agentury pro chemické látky [26].

Desinfekční prostředky vyvolávají změny nepříznivé pro trvalé přežívání mikroorganismů. Spektrum působnosti a desinfekční účinnost se na jednotlivé mikroorganismy liší (viz Tabulka 5), taktéž se liší i mechanismus účinku chemických látek. Pokud desinfekční prostředky ovlivňují metabolismus mikroorganismů a jejich enzymy, nazýváme je **protoplazmatickými jedy** [7].

Obecně platí, že se zvyšující se koncentrací desinfekčního prostředku a se zvyšující se dobou jeho působení na mikroorganismy, se zvyšuje účinnost přípravku. Existuje ovšem řada výjimek (např. alkohol) [5]. Desinfekční přípravek může nepříznivě ovlivňovat přítomnost organických i anorganických látek, prachu či léčiv [7].

2.7.1 Zásady provádění desinfekce

Je nezbytně nutné dodržovat zásady pro správný a bezpečný desinfekční proces z personálního, bezpečnostního a ekologického hlediska. Je nutné také nezanedbat ochranu majetku a dodržení technologického postupu. Osoba provádějící desinfekci je povinna řídit se klasifikací desinfekčního prostředku a stupněm jeho toxicity. Před použitím desinfekčního roztoku si uživatel musí ověřit snášenlivost látek v desinfekčním přípravku s daným materiálem, který bude desinfikován.

Při aplikaci desinfekčních přípravků je nutné dodržet přesně předepsané dávkování a koncentraci. Desinfekční roztoky je nutné připravovat těsně před provedením desinfekce přesným odměřením prostředku do odměřeného množství vody. Desinfekční prostředky se musí nechat působit po přesně stanovenou dobu.

Desinfekční roztoky se vzájemně nemíchají z důvodu možnosti vzniku dráždivých plynů a nežádoucích sloučenin. Důležité je monitorování uvolňujících se látek při desinfekci v interiéru, případně je potřeba při provádění desinfekce větrat. Po aplikaci desinfekčního prostředku je potřeba dodržet zásady a limity pro bezpečnost zdraví lidí a zvířat (např. oplach dostatečným množstvím vody všeho, co přijde do kontaktu s potravinami) [8].

Je nutné roztoky vhodně obměňovat z důvodu jejich kontaminace a zašpinění při opakovaných použitích [8]. V potravinářských provozech se doba frekvence desinfekce určuje tak, aby se mikroorganismy v období do další desinfekce nerozmnožily na nebezpečnou úroveň. Desinfekce může být aplikována i mimo pravidelnou frekvenci, například z důvodu problému, znečištění nebo kontaminace. Po opravě zařízení užívaného v potravinářském provozu je potřeba zařízení vždy důkladně vyčistit a vydesinfikovat [2].

2.7.2 Způsoby provádění desinfekce

Desinfekci lze provádět:

- *Ponořením* – předměty určené k desinfekci se ponoří po stanovenou dobu do desinfekčního roztoku, který nesmí obsahovat bubliny.
- *Otřením* – otření plochy nebo předmětu vhodným aplikátorem (tampon, hadr apod.) dostatečně namočeným v desinfekčním roztoku. Nechá se působit stanovenou dobu, případně se nechá zaschnout.
- *Postřikem* – desinfekční roztok je aplikován v podobě hrubších kapének pomocí postřikovačů, které jsou otřeny čistou utěrkou či hadrem a poté je nutné plochu znovu postříkat. Tato metoda je určena pro desinfekci malých ploch.
- *Desinfekčními aerosoly* – jsou to disperzní soustavy s plynou fází a disperzními kapénkami, které jsou desinfekčním činidlem. Aerosoly mohou odstraňovat nejen mikroorganismy na površích, ale také vznášející se volně ve vzduchu. Problém této metody spočívá v obtížné aplikaci takové koncentrace, aby už nebyla toxická, ale aby

ještě byla účinná. Další nevýhodou je nebezpečí podráždění dýchacích cest, sliznic a kůže aerosolem.

- *Plynováním* – plynování neboli fumigace je metoda, která využívá plynnou látku nebo suchý aerosol k usmrcení spor plísní v ovzduší uzavřené místnosti.
- *Odpařováním par* – tento děj spočívá v odpařování par samotných desinfekčních roztoků při dodržení vhodné teze par, která musí být ekvivalentní k velikosti desinfikovaného prostoru.
- *Pěnou* – tato metoda je prováděna pěnotvorným zařízením, je vhodná pro svislé i vodorovné plochy. Pěnové desinfekční prostředky mají vysoce čistící a odmašťovací účinky [7].

2.7.3 Etapy desinfekce

1. Přípravné práce – zahrnují přípravy na provedení desinfekce, určení cíle desinfekce, její rozsah a druh (určen podle charakteru znečištění a podle charakteru čištěné plochy).
2. Mechanická očista – odstranění jakékoliv hmoty, která by mohla být živným médiem mikroorganismů, případně odstranění masy mikroorganismů.
3. Vlastní desinfekce – realizace procesu desinfekce, správné ředění prostředku, dodržení vhodné teploty, dodržení expoziční doby určené výrobcem.
4. Odstranění stop desinfekce – provádí se z důvodu vyloučení kontaminace produktu. Provádí se vyvětráním, opláchnutím pitnou vodou, případně vysušením nebo otřením.
5. Kontrola účinnosti desinfekce – může se provádět v různých etapách desinfekce, kontrola může být mikrobiologická nebo chemická [2], [8].

2.7.4 Působení desinfekčních látek

Chemické látky mohou ovlivnit životní funkce mikroorganismů, které se projevují jako chemické změny v buňce. Jsou to:

- *Oxidace* – způsobené látkami: chlor, peroxid vodíku, ozon, peroxosloučeniny, manganistan draselný.
- *Hydrolyza* – způsobené látkami: kyseliny, alkálie, horká voda.
- *Tvorba solí s bílkovinami* – způsobené látkami a reakcemi: soli těžkých kovů, halogenace.
- *Koagulace bílkovin v buňce* – způsobené látkami: kovy, fenol, alkoholy.
- *Změny permeability buněčné membrány (porucha membrány)* – způsobené látkami: KAS.
- *Proniknutí do enzymatického systému* – způsobené látkami: fenol, formaldehyd.
- *Mechanická disrupce* – způsobené látkami: KAS [5], [7].

2.8 Druhy chemických látek s desinfekčním působením

2.8.1 Alkálie

Jsou to silné roztoky, jejichž pH je vyšší než 12. Tyto látky zneškodňují bakterie, jejich spory a viry a jejich princip spočívá ve zneškodnění buněčných struktur [5]. Účinek těchto látek závisí na koncentraci hydroxidových iontů v roztoku [7].

Ke zvýšení jejich účinku dochází při aplikaci přípravků, které přesahují teplotu 40 °C. Jejich účinnost neomezuje ani přítomnost organických látek, bílkoviny přemění na rozpustné albumináty, tuky zmýdelní. Nevýhodou těchto přípravků je velká žíravost, často se přidávají k jiným desinfekčním přípravkům ke zvýšení jejich účinnosti [5].

Alkálie užívané v potravinářství:

- užití na hrubou desinfekci – hydroxid sodný (NaOH), hydroxid draselný (KOH),
- vápenné mléko, hydroxid vápenatý ($\text{Ca}(\text{OH})_2$),
- vodní sklo, křemičitan sodný (Na_2SiO_3) – ničí salmonely na povrchu vaječných skořápek [5], [7].

2.8.2 Kyseliny

Koncentrované kyseliny působí díky vysoké koncentraci vodíkových iontů, oxidačním schopnostem, dehydratačními vlastnostmi apod. značně biocidně [7].

V přítomnosti organických látek jsou méně spolehlivé, koagulací bílkovin vzniknou kyselé albumináty, které jsou pevné a mikroby v nich mohou přežít. Nevýhodou je leptavost, dráždivost a vysoká korozivost [5]. Anorganické kyseliny se proto používají v potravinářství jen omezeně [7].

V potravinářství se používají organické kyseliny jako konzervační prostředky (kyselina octová, benzoová, mléčná, citronová...), působí také dobře proti plísním (propionová, undecylenová...) [5].

2.8.3 Oxidační činidla

Principem těchto látek je odštěpení atomárního kyslíku, který způsobí porušení molekulárních vazeb oxidačním štěpením substancí a pravděpodobně i inaktivování bakteriálních enzymů. Působí na vegetativní formy bakterií, na spory, ve vyšších dávkách působení na neobalené viry.

Jejich účinnost je omezena v přítomnosti organických látek. Mají dezodorační účinek (odstraňují zápach). Malou dávku oxidačních činidel mohou samotné mikroby, které se vyskytují ve větším množství, inaktivovat.

Příklady oxidačních činidel používaných k desinfekci: kyselina peroxooctová, ozon, peroxid vodíku, manganistan draselný apod. [5], [7].

2.8.4 Halogeny

Mechanismem účinku jsou oxidační procesy v buňce, které vedou ke vzniku atomárního kyslíku a halogenových sloučenin toxických pro buňku.

Účinnost je omezena přítomností organických látek [5], [7].

2.8.4.1 Fluor

Nevýhodou fluoru je vysoká toxicita. Jeho organické sloučeniny se používají spíše průmyslově a působí výrazně antimykoticky a virucidně. V potravinářství se užívají jeho anorganické sloučeniny (fluoridy), které se využívají při konzervárenství a jako antimykotika.

2.8.4.2 Chlor

Jeho účinek je závislý na přítomném pH, kdy největší je při pH 6, po hodnotě pH 10 účinek chloru jako desinfekční látky prudce klesá [7]. Užívá se k desinfekci pitných i odpadních vod. Účinek přípravků s chlorem se zrychluje přidáním amonných solí. Tento proces se nazývá aktivace chlorových přípravků [5].

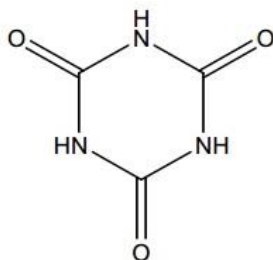
K desinfekci se užívají jeho sloučeniny v podobě:

Chlornanů:

- chlorové vápno, které tvoří směs chlornanu vápenatého ($\text{Ca}(\text{ClO})_2$), chloridu vápenatého (CaCl_2) a hydroxidu vápenatého ($\text{Ca}(\text{OH})_2$), užívá se hlavně k hrubé desinfekci,
- chlornan sodný (NaClO), užívaný nejčastěji v přípravcích SAVO.

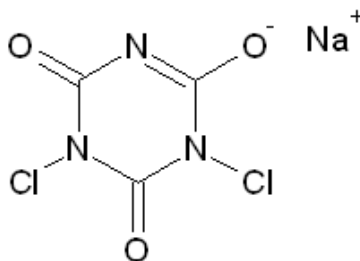
Chloraminů: organické sloučeniny, mají baktericidní, fungicidní a virucidní působení. Při vyšší koncentraci a delší době expozice likvidují i neobalené viry a spory. Mechanismem účinku je uvolňování chloru, které je ale značně pomalé. Lze ho urychlit přidáním amonných solí. Nejčastěji se používá benzenchloramin (Chloramin B) [7].

Derivátů kyseliny isokyanurové:



Obrázek 2: Kyselina isokyanurová [12]

Její sloučeniny s chlorem obsahují až 65 % aktivního chloru schopného chemické reakce. Působí účinně a rychle. Nejčastěji se k desinfekci používá její derivát dichlorisokyanurát sodný (viz Obrázek 3). Nesmí se míchat s horkou vodou ani s kyselinami z důvodu rozpadu a uvolňování dráždivého plynu [5], [7].

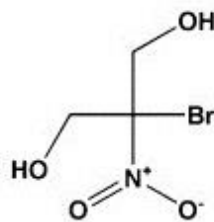


Obrázek 3: Dichlorisokyanurát sodný [14]

Oxid chloričitý: má rychlý a univerzální účinek [5].

2.8.4.3 Brom

Jeho organická sloučenina bronopol (viz Obrázek 4), která má optimální účinek při pH okolo 5,1 – 5,5, se užívá v konzervárenství [7].



2-Bromo-2-nitro-1,3-propanediol

Obrázek 4: Bronopol [13]

2.8.4.4 Jod

Jeho preparáty jsou dobrými antiseptiky. Nevýhodou je jejich toxicita, korozivost, zabarvení desinfikovaných předmětů a schopnost vyvolávat alergické reakce.

K desinfekci se užívají jeho sloučeniny v podobě jodoformu. Jod je vázán na vysokomolekulární povrchově aktivní látky, které mají mycí vlastnosti, což zvyšuje jejich desinfekční účinnost. Jejich optimální působení je v kyselém prostředí. Jsou vysoce účinné, málo toxické a nedráždivé. Mechanismem účinku je reakce jodu přímo s buněčnými proteiny [5], [7].

2.8.5 Sloučeniny těžkých kovů

Ionty těchto kovů přecházejí v malém množství do roztoků, které mají bakteriostatický až baktericidní účinek. Způsobují koagulaci bílkovin a inaktivaci enzymů díky vazbě na –SH skupiny. Jejich účinek je snižován při nižších teplotách a v prostředí organických látek. Nevýhodou těchto přípravků je jejich toxicita pro člověka.

Nejlepší účinek mají na gramnegativní bakterie. Tyto přípravky většinou nepůsobí na viry, některé plísně, spory ani mykobakteria (výjimku tvoří některé sloučeniny cínu).

2.8.5.1 Stříbro

Anorganické, organické i koloidní sloučeniny stříbra působí bakteriostaticky až baktericidně.

V praxi se používá:

dusičnan stříbrný ($\text{Ag}(\text{NO}_3)$), chlorid sodno-stříbrný (NaAgCl_2), koloidní roztoky octanů, citronanů a mléčnanů stříbra.

2.8.5.2 Měď

Její sloučeniny působí baktericidně a fungicidně. Používají se jako technická konzervancia. Ve vinohradnictví a sadařství se uplatňuje modrá skalice ($\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$).

2.8.5.3 Cín

Sloučeniny cínu mají baktericidní a fungicidní účinky, které se v kombinaci s formaldehydem a KAS užívaly k povrchové desinfekci a jako přísady do nátěrů a omítek proti vláknitým houbám. Sloučeniny ve formě tributylcínu jsou pro člověka toxické. Jejich používání není běžné, ale mohou se použít cíleně, jelikož mohou mít účinek i na mykobakteria a spory.

2.8.5.4 *Rtut'*

Sloučeniny rtuti působí pouze bakteriostaticky. Používá se chlorid rtuťnatý (HgCl_2), oxycyanát, organické sloučeniny se rtutí (např. merthiolát).

Dále se používají sloučeniny kadmia, zinku, niklu, kobaltu, hliníku a olova [5], [7].

2.8.6 *Alkoholy a ethery*

Jejich účinek je zapříčiněn koagulací a denaturací bílkovin, kterou způsobují. Tento jev se projeví jen v přítomnosti vody, jelikož koncentrované roztoky jsou neúčinné. Jejich desinfekční účinek stoupá s molekulární hmotností a s délkou řetězce

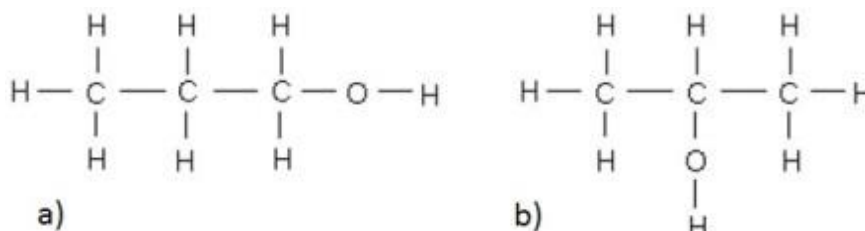
Působí baktericidně a ničí i některé viry. Proti alkoholům jsou stafylokoky, malé viry a spory poměrně odolné. Alkoholy ale mohou zesílit účinek kyseliny solné nebo formaldehydu, které spory zničí.

2.8.6.1 *Etanol*

Jeho koncentrovaná forma spíše mikroby konzervuje. Desinfekčně nejúčinnější je jeho 70% roztok. Zesiluje působení oxidačních činidel, aldehydů, kyselin a povrchově aktivních látek.

2.8.6.2 *Propanol*

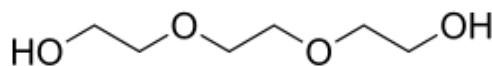
Jeho formy n-propanol a isopropanol (viz Obrázek 5) jsou o koncentraci 50 – 60 % hojně využívány ve směsích s jinými desinfekčními prostředky. Používají se často k desinfekci rukou. Jsou levnější a účinnější než etanol a méně vysušují pokožku [5], [7].



Obrázek 5: a) n-propanol, b) isopropanol [15]

2.8.6.3 *Trietylglykol*

Jeho páry jsou účinné na bakterie a viry vznášející se volně ve vzduchu. Největší účinnosti je dosaženo při 40% relativní vlhkosti vzduchu. Trietylglykol (viz Obrázek 6) je bez zápachu a netoxický pro člověka [5], [7].



Obrázek 6: Trietylglykol [7]

2.8.6.4 *Etylenoxid*

Účinkuje na všechny formy mikrobů včetně spor. Používá se ve speciálních přístrojích za zvýšeného tlaku a vlhkosti za teploty 37 až 55 °C. Nevýhodou je nutnost provětrání desinfikovaných předmětů po provedené sterilizaci [5].

2.8.7 Aldehydy

Tyto chemické látky se nejčastěji užívají v kombinaci s dalšími desinfekčními přípravky. Mechanismem jsou redukční a alkylační vlastnosti radikálů, které reagují s $-NH_2$ a $-OH$ skupinami bílkovin, což má za následek inaktivaci buněčných enzymů.

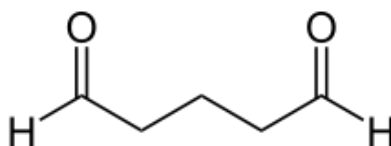
2.8.7.1 Formaldehyd

Ničí bakterie, plísně, spory, viry. Pro desinfekci je nejčastěji používán ve formě par (viz kap. 2.5.2 – *Fyzikálně-chemická desinfekce*). Páry formaldehydu jsou dráždivé a toxické. Po desinfekci je nutné páry odvětrat. Jeho 40% roztok se nazývá formalin.

2.8.7.2 Glutaraldehyd

K desinfekci se používá 2% roztok glutaraldehydu. Glutaraldehyd (viz Obrázek 7) má baktericidní, fungicidní, virucidní a sporicidní účinky. Mikroby ničí svým působením na povrchové struktury mikrobů.

Po desinfekci se musí provést důkladný proplach sterilní vodou. Je hojně užíván jako složka v desinfekčních přípravcích společně s formaldehydem, glykoly, KAS, detergenty [5], [7].



Obrázek 7: Glutaraldehyd [7]

2.8.8 Cyklické sloučeniny

Jejich účinek je baktericidní, někdy fungicidní. Gramnegativní bakterie jsou odolnější než grampozitivní. Mechanismem účinku je inaktivace enzymů a koagulace cytoplazmy za vzniku nerozpustných albuminátů po adsorpci na buněčnou stěnu, rozpouštění lipidů a proniknutí do buňky. Na viry téměř nepůsobí, na spory nepůsobí vůbec.

2.8.8.1 Fenol

Je silným protoplazmatickým jedem, nevýhodou je jeho vysoká toxicita.

2.8.8.2 Lysol

Nazývaný též cresolum saponatum, což je roztok tří izomerů kresolu v draselném mýdle. Rychle usmrcuje bakterie i mykobakteria.

2.8.8.3 Trikresol

K mytí a desinfekci podlah a velkých ploch se používají přípravky vodného roztoku s 10% obsahem všech tří kresolů s malým množstvím fenolu.

2.8.8.4 Chlorhexidin

Má baktericidní a fungicidní účinek. Napadá cytoplazmatickou membránu. Mykobakteria jsou k němu většinou rezistentní. Používá se jako hlavní složka u kombinovaných desinfekčních prostředků určených k desinfekci pokožky a povrchů.

Dalšími cyklickými látkami, které se užívají jako složky v desinfekčních prostředcích, jsou trifenylmetanová a akridinová barviva [5], [7].

2.8.9 Povrchově aktivní látky

Jsou nazývány také jako tenzidy. Mechanismem jejich účinku je snižování povrchového napětí.

Z tenzidů má desinfekční charakter skupina kvarterních amoniových sloučenin. Jsou to kationaktivní tenzidy. Porušují buněčné stěny, cytoplazmatické membrány, ruší funkce enzymů v membránách. Přítomnost mýdla jejich účinek snižuje. Působí jen na grampozitivní bakterie a na některé plísň. Rody gramnegativních bakterií *Proteus* a *Pseudomonas* jsou na tyto sloučeniny až stokrát odolnější. Nejčastěji se využívají benzalkonium chlorid a carbethopendecinium [5], [7].

2.8.10 Ostatní sloučeniny

Dithiokarbamáty, trinitriumfosfát, azid sodný aj.

2.8.11 Kombinované přípravky

Nejčastěji se využívá vhodných kombinací výše uvedených skupin sloučenin za účelem zvýšení desinfekčního působení, snížení ekonomických nákladů, omezení toxicity desinfekčního přípravku, snížení koncentrace účinné látky (bez snížení efektu desinfekce), chránění životního prostředí, ochrany desinfikovaných materiálů atd.

Některé desinfekční přípravky se mohou kombinovat s detergenty, což má za následek zvýšení čistících a mycích vlastností [7].

Tabulka 5: Shrnutí spektra účinku desinfekčních látek [5]

Účinná látka	bakterie, kvasinky	vláknité houby	obalené víry	neobalené víry	bakteriální spory
alkálie (NaOH)	+	+	+	+	+
kyselina sírová	+	+	+	+	+
kyselina benzoová	+	+	–	–	–
oxidační činidla	+	+	+	+	±
chlorované přípravky	+	+	+	+	±
těžké kovy (stříbro)	+	±	±	–	–
etanol	±	±	+	±	–
propanol	+	+	+	±	–
formaldehyd	+	+	+	+	±
lysol	+	±	+	–	–
chlorhexidin	+	+	±	–	–
tenzidy	±	±	+	–	–

+ spolehlivý účinek; ± účinek ne vždy spolehlivý; – nepůsobí vůbec, příp. prakticky nepůsobí

2.9 Otravy z potravin

Onemocnění z potravin způsobují nejčastěji mikroorganismy přítomné v potravinách a toxiny, které mikroorganismy vylučují. Otravu ovšem může způsobit i přítomnost jiných toxických látek (chemikálie, jedy rostlin, kovy apod.) [16].

2.9.1 Otravy zapříčiněné přítomností chemických látek

Tyto látky se mohou v potravinách vytvořit během skladování či zpracování, nebo se mohou do potravin dostat přímou cestou.

Při nevhodné přípravě pokrmů mohou vznikat polycyklické aromatické uhlovodíky, produkty oxidace tuků, biogenní aminy apod.

Při otravě způsobené *chemickou látkou* jsou nejčastějšími kontaminanty dusitany, kovy, zbytky pesticidů, čisticích prostředků, veterinární léčiva, prostředky na hubení hmyzu, aditivní látky v nepovolené míře nebo aditiva zaměněná, ftaláty nebo barvy z obalových materiálů, či jiné chemikálie. Tyto otravy se vyskytují vzácně a obvykle k nim dochází náhodně. Vyznačují se nevolností, zvracením nebo křečovitými bolestmi břicha krátce po požití kontaminované potraviny (cca 5 až 15 min, výjimečně až 60 min). Přítomnost dusitanů v potravine může mimo jiné vyvolat i snížení krevního tlaku, bolest hlavy, závratě, zmodrání či dechové selhávání. K otravě kovy nejčastěji dochází při kontaktu kyselých potravin (rajčata, citrusové plody) a nápojů s kovy (např. kadmium, zinek, měď...).

Mezi další otravy patří otravy způsobené *jedy rostlin, hub, ryb a dalších mořských živočichů*. Taktéž se tyto typy otrav vyskytují náhodně a vzácně příčinou použití nevhodných potravinářských surovin (např. zelené brambory obsahující solanin, jedovaté houby...) nebo špatnou úpravou potraviny (např. nedovařením).

Speciální skupinou jsou látky způsobující nebezpečí určité skupině konzumentů trpící alergií na určitou složku potraviny nebo konzumenti trpící metabolickou poruchou [16].

2.9.2 Otravy zapříčiněné mikroorganismy

Mikroorganismy ovlivňují kvalitu a zdravotní nezávadnost potravin. Většina onemocnění z potravin je způsobena škodlivými mikroorganismy, které pronikají do lidského organismu trávicím traktem fekálně-orální cestou a vylučují se zpravidla stolicí nebo močí. K onemocnění z mikrobiální kontaminace potravin dojde při dosažení infekční dávky patogenních mikroorganismů nebo jejich toxinů, tedy je-li jejich množství takové, že způsobí u člověka onemocnění (viz Tabulka 12) [16]. Vznik onemocnění záleží jak na parazitujícím mikroorganismu, tak na hostitelském makroorganismu, ale také na okolnostech, za jakých dojde k infekci. Na průběhu, formě a výsledku infekce se účastní vlastní patogenita mikroba, virulence jeho konkrétního kmene, infekční dávka („počet mikrobů“), specifická imunita napadeného hostitele a jeho vnímavost, která je ovlivněna věkem, pohlavím, genetickými vlastnostmi, prostředím, psychické faktory, zdravotním stavem apod. [5].

Alimentární nákazy jsou infekce, které jsou způsobené proniknutím mikroorganismu do makroorganismu, ve kterém dochází k množení a metabolické činnosti patogenního mikroorganismu [5], [11]. Patogenitu vykazuje mikrob, který poškozuje makroorganismus svou schopností vyvolat onemocnění, což je chorobný stav odlišující se od stavu normálního.

Tato schopnost se vyznačuje patogenitou (v rámci kmene mikroba) nebo virulencí (v rámci druhu mikroba ve vztahu k určitému hostiteli) [5].

Alimentární nákazy se nejčastěji projevují průjmy, nevolností, zvracením, bolestí břicha, doprovodným jevem bývá teplota. K těmto projevům dochází po uplynutí inkubační doby, to je doba mezi vstupem nákazy do organismu a vypuknutím nemoci. Doba onemocnění trvá od několika hodin až po dlouhotrvající závažné problémy, které mohou končit i smrtí. Alimentární onemocnění mívají často epidemický dopad [16].

Alimentární otravy jsou způsobeny *intoxikací*, což znamená že, otrava je vyvolána požitím toxinu. Otrava může být způsobena toxiny mikroorganismů ale také chemikáliemi, jedovatými houbami, živočichy, rostlinami. **Toxoinfekce** způsobují mikroorganismy, které se v trávicím traktu člověka nemnoží, ale ve střevě uvolňují endotoxiny (jedy), které působí na sliznici střeva. Mikroorganismy endotoxiny vyprodukují až v zažívacím traktu po požití kontaminované potravin [11].

Tato onemocnění mohou pocházet z různých zdrojů:

- Syrové potraviny – nezpracované, u zeleniny mohou obsahovat mikroby z hlíny, drůbeží maso a vejce často obsahuje *Salmonella*.
- Lidé – nákazu mohou lidé způsobit nedodržením technologického postupu (nedostatečné tepelné opracování), nebo sekundární kontaminací (kontaminace už hotového produktu), při kontaktu potravin s infikovaným člověkem může dojít k nákaze konzumenta různými infekcemi, kterými pracovníci trpí (zánětlivá místa na kůži – kožní bakterie, angína, chřipka, žaludeční nevolnosti apod.).
- Škůdci a domácí zvířata.
- Odpadky – jsou vhodným místem pro rychlé rozmnožování mikrobů a jsou možným zdrojem sekundární kontaminace [16].

Ke kontaminaci potravin dochází nejčastěji sekundárním přenosem, lze jim proto předejít dodržováním hygienických zásad při výrobě, uskladňování a při dalších manipulacích s potravinami. Důležitým krokem je také zvolit takové uskladnění potravin, aby se případné sekundárně zanesené mikroflóře znemožnilo její pomnožení v potravíně [11].

2.10 Přehled nejběžnějších alimentárních nákaz, otrav a onemocnění z potravin

2.10.1 Bakteriální onemocnění

Různé typy onemocnění souvisejí s typem potravin, které nežádoucí mikroorganismy osidlují. Pomnožení a silný nárůst dané nežádoucí bakterie v potravíně vede po jejím požití k otravě z potravin způsobené bakteriemi (např. *Salmonella*). Dalším typem je situace, kdy je potravina pouze přenašečem bakterie mezi potravínou a lidským organismem, kdy se v potravíně nemusí pomnožit (např. *Campylobacter*).

Otravy způsobené bakteriemi se dělí na:

- **Infekční** – projevuje se akutní gastroenteritidou, což je zánět vnitřní stěny trávicího traktu, bakterie se po požití v těle hostitele rozmnožují, po jejich rozpadu se uvolňuje endotoxin (bakterie rodu *Salmonella*),

- **Toxické** – způsobí intoxikaci toxickou látkou, kterou bakterie uvolňují do potravy ještě před jejím požitím, samotné požití bakterie nemusí způsobit projevení infekce, gastroenteritidu způsobuje až toxin (např. toxin bakterie *Staphylococcus aureus*) [17].

Nespecifická bakteriální onemocnění mohou způsobit i některé bakterie s proteolytickými účinky, které svou proteolytickou činností zapříčiní vznik toxických produktů rozložením bílkovin.

rod *Salmonella*

Alimentární infekce způsobené bakteriemi tohoto rodu patří v současnosti k nejrozšířenějším. Je známo více než 2 300 typů těchto bakterií, které jsou gramnegativní, nesporulující, fakultativně anaerobní tyčinky. Mezi nejznámější patří *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium* (způsobují salmonelózu), *Salmonella typhi* (způsobuje břišní tyfus), *Salmonella paratyphi A, B, C*.

Jejich optimální teplota růstu je cca 38 °C. Ke zničení dojde při teplotě 70 °C po dobu 12-20 minut. Při teplotách nižších než 7 °C dochází k potlačení růstu. Salmonely jsou ničeny v kyselém prostředí a běžnými desinfekčními prostředky [16].

Při nákaze je část bakterií zničena v žaludku, zbytek se pomnoží v tenkém střevě, kdy po krátké době po požití dochází ke zvracení, bolestem břicha, horečce a průjmům. Inkubační doba je cca 6 až 48 hodin. Hostitelem salmonel je zejména drůbež, prasata a produkty z nich (nejčastěji maso – uzené, mleté, měkké salámy; vejce – vaječné krémy, majonézy, zmrzlina...).

Při onemocnění břišním tyfem se část bakterií, která nebyla zničena v žaludku, pomnoží v tenkém střevě a přes sliznici proniknou do krve. Závažným důsledkem tohoto onemocnění je možné riziko proděravění střeva a následné krvácení do střeva. Tato infekce se dostává do těla nejčastěji pitnou vodou nebo potravinami.

rod *Listeria*

Tyto krátké, pohyblivé, grampozitivní, fakultativně anaerobní tyčinky bakterie *Listeria monocytogenes* způsobují velice závažné onemocnění listeriózu, která má vysokou úmrtnost (20 až 30 % případů).

Vyskytuje se běžně v přírodě a je vysoce účinná proti vnějším vlivům. Optimální teplota růstu bakterií je 35-36 °C. Bakterie *Listeria monocytogenes* ovšem roste v širokém rozmezí teplot, velmi dobře i okolo teploty 1 °C. Tento fakt způsobuje značné nebezpečí kontaminace chlazených potravin [11], [17]. Listerii lze zničit pasterací nebo tepelným opracováním, protože tato bakterie nepřežije běžný pasterační proces (záhřev na 72 °C po dobu 16 sekund). Při zmrazení potravy se docílí jen malého účinku zneškodnění bakterie *Listeria monocytogenes* [22].

Příznaky onemocnění listeriózou jsou podobné chřipce, které se projevují v rozmezí od 3 až do 70 dnů po požití kontaminované potravy. Pro rizikové jedince (staří lidé, malé děti, těhotné ženy, lidé s oslabenou imunitou) je listerióza zvláště nebezpečná.

Zdrojem nákazy může být syrová zelenina, nedostatečně tepelně upravené maso, nepasterizované mléčné výrobky a sýry, přímý kontakt s nemocnými zvířaty [11], [16], [17].

rod *Campylobacter*

Jsou to malé, tenké, zakřivené, nesporulující gramnegativní, mikroaerofilní tyčinky mající jeden nebo dva polární bičíky. Nejrozšířenější patogenní pro člověka jsou *Campylobacter jejuni* (způsobuje intoxikaci) a *Campylobacter coli*.

Tyto bakterie jsou vysoce virulentní, rostou při teplotě 42 °C, v rozmezí teplot 25–30 °C se jejich růst zastavuje.

Inkubační doba onemocnění je 2 až 10 dní. Patří k nejčastěji se vyskytujícím se infekcím. K onemocnění kampylobakteriózou stačí přítomnost malého počtu bakterií v konzumované potravíně. Příznakem onemocnění je vysoká horečka, bolest hlavy, svalů, únavnost, průjem, křeče v břiše, onemocnění probíhá jako zánět žaludku a střeva s krvácením do střeva. Infekční dávky pro zdravého jedince je už cca 500 buněk, průjem může způsobit dokonce i přítomnost pouhých deseti životných bakterií.

Zdrojem kampylobakterů je zažívací trakt teplokrevných zvířat a ptáků. K nákaze dochází konzumací nedostatečně tepelně upraveného masa nebo mléka, znečištěnou vodou fekáliemi, kontaktem se zvířaty.

rod *Shigella*

Původci toho onemocnění jsou nesporulující, nepohyblivé, gramnegativní, fakultativní anaerobní tyčinky, katalasa pozitivní, oxidasa negativní. Jsou to bakterie *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella boydii*, *Shigella sonnei*. Jejich optimum růstu je okolo teploty 37 °C, rostou také v celém rozmezí teplot 10–45 °C.

Způsobuje vysoce infekční střevní onemocnění bakteriální úplavici, projevující se horečkou, svírajícími bolestmi břicha, bolestivé a velice časté nutkání na stolicí, vodnaté průjmy s příměsí hlenu a krve. Infekční dávka je velice nízká, onemocnění může způsobit 10–100 mikrobů. Inkubační doba je obvykle 2–5 dní. Onemocnění postihuje dolní část tlustého střeva.

K nákaze může dojít při požití kontaminovaných potravin (mléko, drůbež, zelenina, voda...). Infekce může být přenášena také mouchami nebo přímým kontaktem s infikovanou osobou při nedostatečné hygieně.

rod *Vibrio*

Vibrio cholerae způsobuje onemocnění choleru produkcí enterotoxinu (choleragen), který vyvolává extrémní sekreci tekutiny do tenkého střeva následovaná silnými bolestmi břicha a průjmem. Infikace bývá nejčastěji znečištěnou vodou nebo sekundárním přenosem na potraviny.

Průjmy způsobené požitím mořských živočichů způsobuje *Vibrio parahaemolyticus* [11], [16], [17].

Yersinia enterocolitica

Má vzhled malých, gramnegativních tyčinek. Mají schopnost růstu v širokém rozmezí teplot (většina kmenů schopna růst už při teplotě –1 °C), jejich optimální teplota růstu je v rozmezí 29–33 °C.

Působí svou invazivitou, také produkují enterotoxin, který je termostabilní. Onemocnění se projevuje vysokou horečkou, průjmem, bolestmi břicha.

Staphylococcus aureus

Způsobuje bakteriální intoxikaci enterotoxikózu produkcí enterotoxinů, které snadno tvoří při pokojové teplotě, pokud je v kontaminované potravíně vysoký počet stafylokoků. Intoxikovaná potravina je senzoricky téměř nezměněná, enterotoxin je odolný vůči vyšším teplotám (ničí se až při působení teploty 100 °C po dobu 15–20 minut) i trávicím enzymům, což způsobuje značné nebezpečí.

Vyvolává po 2–5 hodinách akutní otravu z potravin projevující se zvracením, silnými bolestmi břicha a průjmem.

Staphylococcus aureus se vyskytuje ve vzduchu, v půdě, ve vodě, je součástí mikroflóry kůže a sliznic savců. Zdrojem nákazy může být člověk s hnisavým ložiskem nebo přenašeč stafylokoka, studené potraviny (majonézy, uzeniny, zmrzlina, vaječné náplně...), hotové potraviny, které se před konzumací jen ohřejí.

Escherichia coli

Je běžnou součástí střevní mikroflóry. Její přítomnost v potravíně značí fekální znečištění. Lze je zničit pasterací.

Jen malá část kmenů *E. coli* způsobuje průjmová onemocnění. Její patogenní kmeny (enterpatogenní-EPEC, enterotoxigenní-ETEC, enteroinvazivní-EIEC, enterohemoragické-EHEC či STEC-shigatoxigenní) vyvolávají střevní infekce. Se střevní sliznicí jednotlivé kmeny interagují různě, také mají odlišnou virulenci.

EPEC

Způsobuje průjmová onemocnění poškozováním buněk střevního epitelu u novorozenců a kojenců. Dospělí jedinci jsou přenašeči.

ETEC

Způsobuje průjmy, zvracení, křeče v břiše (tzv. „cestovatelský průjem“) u dospělých a starších dětí produkcí termolabilního toxinu, který je inaktivován při teplotě 60 °C po dobu 30 minut a termostabilního toxinu, který je rezistentní při teplotách do 100 °C po dobu 15 minut. Inkubační doba je přibližně 44 h. Mohou se vyskytovat v mase, mléce, vodě.

EIEC

Způsobují potíže podobající se bakteriální úplavici, mohou způsobit také zánět tlustého střeva. Vyskytují se v sýrech, mléce a mase.

EHEC (STEC)

Vyvolává průjmy poškozením buněk tlustého střeva produkcí verotoxinů [11], [17].

Bacillus cereus

Je častým kontaminantem surovin rostlinného původu s polysacharidovým substrátem, nejčastěji obilí, je součástí půdní mikroflóry. Vyskytuje se téměř ve všech potravinách. Jeho spory jsou vysoce odolné k vysokým teplotám.

Některé kmeny produkují dva druhy toxinů: se sekrecí do potravin v exponenciální fázi růstu nebo sekretují toxin až v tenkém střevě. Způsobuje průjem a střevní potíže. Jeho škodlivé účinky po požití potravin lze eliminovat skladováním potravin do teploty 10 °C, čímž se zabrání jeho pomnožení v potravine a sekreci toxinů.

Clostridium botulinum

Jsou to málo odolné bakterie žijící ve střevech zvířat a lidí. Jejich spory jsou velmi odolné. Vyvolávají bakteriální intoxikaci produkcí neurotoxinu (botulotoxinu), který je prudký jed a produkuje se za anaerobních podmínek. Je bílkovinné povahy a je proto ničen varem. Po absorpci botulotoxinu z trávicího traktu krevním oběhem do centrální nervové soustavy blokuje nervový přenos do svalových buněk a způsobuje tím obrny svalů.

Dalšími bakteriální nákazy z potravin způsobují bakterie *Clostridium perfringens* (otrava enterotoxinem nastává pouze při silné kontaminaci potravin), *Bacillus anthracis*, *Francisella tularensis*, rod *Pseudomonas*, rod *Aeromonas*, rod *Enterobacter*, hemolytické streptokoky (kontaminují potraviny hlavně díky přenosu vzduchem), fekální streptokoky, apod. [11], [16], [17].

2.10.2 Onemocnění vyvolaná houbami

Kažení potravin způsobují také mikroskopické houby (plísně, kvasinky a kvasinkovité mikroorganismy). Přítomnost kvasinek a plísní v potravine způsobují vysoká zdravotní rizika, jelikož mohou produkovat silně toxické látky (mykotoxiny) [16].

Plísně

Za vhodných podmínek rostou rychle. Způsobují nutriční a senzorické znehodnocení potravin. Při těchto činnostech mohou vznikat mykotoxiny, které mohou způsobit gastroenteritidy, ale i zhoubné nádory [16], [17]. Mykotoxiny se tvoří pouze v mycelárním stadiu [11].

Obsah mykotoxinů a jejich produkce závisí na vlhkosti, teplotě, délce skladování, přítomnosti kyslíku, přítomnosti oxidu uhličitého, obsahu vody, světla, substrátu, mikrobiálním profilu, mikrobiálních interakcí apod. [16], [17]. Důležitou prevencí kontaminace plísní je znalost o rozšíření plísní, rizikovost určitých potravin a také používání účinných chemických přípravků proti rozvoji plísní v různých stupních zemědělské a potravinářské výroby. Mykotoxiny jsou často termostabilní (nezničí se pasterací) a vstupují do lidského organismu nejčastěji cestou kontaminované potravin [11].

Rizikovými potravinami, které nejvíce podléhají kontaminaci plísněmi, jsou: pečivo, chléb, obilí, mouka, sýry, masné výrobky, džemy, mléčné výrobky, ovoce a zelenina (spory plísní se na ně hojně dostávají z okolního prostředí a snadno se uchytí na trhlinkách vzniklých při jejich poškození např. hmyzem, nevhodnou manipulací...). Rizikovost těchto potravin je silně ovlivněna zacházením a způsobem jejich uchovávání.

Nejzávažnější mykotoxiny produkují plísně rodů *Aspergillus*, *Penicillium*, *Claviceps*, *Alternaria* a *Fusarium*.

Alfatoxiny jsou nejčastější produkované mykotoxiny, mají karcinogenní a mutagenní účinky, u malých dětí mohou i v malých dávkách způsobit smrt. Produkují ho plísňe *Aspergillus flavus* a *Aspergillus parasiticus*. Ochratoxin, cyklopiazonová kyselina (především v plísňových sýrech), patulin (hlavně v ovoci a zelenině), sterigmatocystin a citrinin produkují hlavně zástupci rodů *Aspergillus* a *Penicillium*. Plísňe rodu *Fusarium* jsou častými kontaminanty obilovin při vlhkém podnebí v zemědělských oblastech [11], [17].

Mykotoxiny vyvolávají tato onemocnění:

- Ergotismus – způsoben plísněmi rodu *Claviceps* (zejména *Claviceps purpurea* – paličkovice nachová), parazituje na travinách a obilovinách, napadá zrna v klasech a jejich pletiva přeměňuje myceliem na tuhé sklerocium (námel), ve kterém vznikají námelové alkaloidy způsobující degeneraci krevních kapilár a neurologická poškození (jsou silnými halucinogeny). Pokud jsou tato napadená zpracována, dostávají se tyto metabolity do mouky a do dalších z mouky vyrobených produktů.
- Akutní kardiální beri-beri – je způsobeno citreoviridinem (produkuje jej hlavně *Penicillium citreoviride*, napadá rýži), projevuje se křečemi, poruchami srdečního rytmu a postupným ochrnutím.
- Alimentární toxická aleukie – způsobena T-2 toxinem, který produkují především plísňe rodu *Fusarium*. Příznaky onemocnění začínají zvracením, průjmy či zánětem sliznic, poté se příznaky zmírňují a dojde k rozsáhlému úbytku počtu bílých krvinek a krevních destiček a tím dojde k oslabení organismu a vysoké náchylnosti k různým onemocněním.
- Multifaktoriální onemocnění – jsou onemocnění, kdy je mykotoxin jedním z možných činitelů. Jsou to: toxická hepatitida, primární hepatom, Reyův syndrom, kwashiorkor, útlum imunity, pulmonální mykotoxikosa, hyperestrogenismus [11].

Kvasinky

Potraviny obsahující v hojné míře cukr, např. jako med, sirupy, ovocné šťávy atp., mohou být kontaminovány kvasinkami, které způsobují kažení potravin [16].

2.10.3 Virová onemocnění

Viry se v potravinách nemnoží, potravinu pouze kontaminují. K jejich množení dochází v organismu člověka a vyvolávají tím alimentární onemocnění.

Viry se do potravin dostávají nejčastěji při nedodržování pravidel osobní hygieny pracovníků (nejčastěji ze špinavých rukou, při špatném zdravotním stavu zaměstnanců) či z kontaminované vody (zalévání zeleniny vodou znečištěnou fekáliemi apod.).

Inaktivace některých virů může být způsobena krátkým záhřevem na teplotu okolo 72 °C, některé viry je možné zničit až varem. Velmi nebezpečné potraviny z hlediska virové infekce jsou: syrové maso, mořští koryši, měkkýši. V mléce a vejcích se mohou nacházet onkogenní viry [11], [16], [17].

Nejzávažnější virové nemoci z potravin:

- Průjmová onemocnění – jsou vyvolány nejčastěji skupinami rotavirů nebo Norwalk a Norwalk-like viry. Tyto viry napadají buňky střevní stěny a poškozuji je, což se pro-

jevuje nevolností, zvracením, průjmy, bolestmi břicha, hlavy, mírnou horečkou. Tyto příznaky zpravidla odezní v průběhu 12-72 hodin.

- Virové hepatitidy – hlavními typy virů jsou A, B, C, D a E. Tyto viry jsou odolné vůči běžným pasteračním teplotám, jsou také odolné vůči koncentraci chlóru používané pro úpravu pitné vody. V mražených potravinách je zachována jejich plná virulence nejméně po dobu 1,5 roku. Nejrozšířenější je hepatitida typu A, která se množí nejprve ve střevě, způsobí tím mírné střevní potíže a poté se dostane krevním řečištěm do jater, kde vyvolává akutní zánětlivé onemocnění jater.
- Dětská obrna – tato infekce se šíří kapénkově nebo fekálně-orální cestou z kontaminované vody či půdy. Patogenita viru spočívá v infikaci nervových buněk projevující se obrnami svalů.
- Infekce viry coxsackie a ECHO – hořečnaté onemocnění, které může způsobit poškození srdce, mozku a jater. Přenos je nejčastěji fekálně-orální cestou.
- Středoevropská klíšťová encefalitida – virus se množí v lymfatických tkáních a krevním řečištěm se dostává centrální nervové soustavy, kde vyvolává zánětlivé změny. Zdrojem tohoto onemocnění z potravin může být způsobeno infikovanými zvířaty, která vylučují virus v mléce, což lze vyloučit pasterizačním procesem mléka při teplotě 72–85 °C po dobu 10 sekund [11].

2.10.4 Onemocnění způsobená priony

Priony jsou infekční bílkoviny, které neobsahují žádnou nukleonovou kyselinu. Díky svému tvaru jsou rezistentní proti běžným opatřením, která ničí bakterie a viry. Nacházejí se v nervových buňkách a v buňkách imunitního systému.

Priony způsobují Creutzfeld-Jakobovu chorobu, Scrapie a Kuru [11].

2.10.5 Onemocnění způsobená prvoky

Prvoci jsou jednobuněčné organismy. Nejčastější onemocnění jsou způsobena střevními prvoky: měňavka úplavičná (způsobuje onemocnění amébozu), vakovka lidská (onemocnění balantidióza), lamblie lidská (onemocnění giardióza či lamblióza), *Cryptosporidium parvum*. Onemocnění těmito prvoky se projevuje průjmy, bolestmi břicha, někdy i zvracením a horečkami. *Toxoplasma gondii* způsobuje toxoplazmózu, což je onemocnění způsobující nervové poruchy, záněty mízních uzlin, horečku, u těhotných způsobuje závažné vady plodu až potrat. K těmto onemocněním dochází nejčastěji potravou [11].

2.10.6 Parazitická onemocnění

Ve svalovině zvířat, která je určena ke konzumaci, mohou žít parazité. K nákaze tohoto typu může dojít i fekálně-orální cestou či znečištěnou vodou, která se použila k zalévání zeleniny apod. Jsou to nákazy motolicemi, tasemnicemi, hlísticemi, svalovcem stočeným, které se do těla dostávají nejprve ve formě vajíček a larev [16].

Dalšími onemocněními z potravin (jak bakteriální tak virová) mohou být jakákoliv hnisavá, hořečnatá, infekční, průjmová onemocnění, bolesti v krku, výtoky z nosu, očí či uší, mykózy apod., kterými trpí zaměstnanec, který přichází do styku s potravinou a potra-

vinářskými produkty a způsobí nedodržením základních hygienických pravidel kontaminaci potravin či potravinářské suroviny. Zaměstnanec může být bez příznaků těchto onemocnění, ale může být jejich přenašečem.

Celkovou prevencí nezbytnou pro eliminaci nákaz z potravin je zajištění zdravotně nezávadné vody, dostatečně tepelného opracování potravin a očištění (zelenina, ovoce), udržování vysokého standardu hygieny mezi pracovníky a také zajištění vysokého hygienického standardu v celé výrobě, skladu i distribuci [2].

2.11 Mikrobiologická diagnostika

Mikrobiologická diagnostika má za úkol prokázat přítomnost mikroorganismu buď to metodou přímou, nebo nepřímou [19]. Předpokladem správné mikrobiologické diagnostiky, a jakýchkoliv dalších úkonů v mikrobiologické laboratoři, je aseptická práce a sterilizace veškerého používaného náčiní včetně kultivačních médií. V mikrobiologické laboratoři se nejčastěji využívá fyzikálních prostředků (kličky, nádoby, pipety autoklávováním; UV záření pro očkovací boxy a prostory ...) a chemických (nádoby, plochy, aparatury ...), kterým samozřejmě předchází úkony mechanické (viz kap. 2.3) [10].

Přímá metoda mikrobiologické diagnostiky

Tato metoda využívá klasických mikroskopických a kultivačních postupů, kdy je mikrob identifikován různými způsoby: vzhled buněk či kolonií, diagnostické barvení, biochemická aktivita, produkce exoproduktů, citlivost k antibiotikům (disková metoda, E-test, diluční testy), důkaz genetické informace amplifikačními metodami atd. Tyto detekce mohou být viditelné makroskopicky, mikroskopicky, náročnější metody vyžadují přístrojové vybavení (spektrofotometr, chromatograf...).

Nepřímá metoda mikrobiologické diagnostiky

Princip této metody spočívá ve stanovení specifických protilátek metodami aglutinace, neutralizace, komplement-fixační reakce, reakce se značenými složkami. Tyto důkazy se nejčastěji provádějí v séru výskytu mikroba (sérologický průkaz). Tato metoda se využívá nejčastěji ve virologii a parazitologii, kde je záchyt a kultivace mikroba obtížná nebo nemožná [19].

2.11.1 Kultivace mikroorganismů

Jako *kultivací mikroorganismů* je nazván postup, kdy dojde k jejich cílenému pomnožení na kultivačních (živných) médiích v laboratorních podmínkách. Kultivace je nejzákladnějším mikrobiologickým úkonem a je úspěšná, jestliže je živné médium co nejvíce blízké přirozenému prostředí daného mikroorganismu. Nezbytné je přihlédnutí ke vhodnému poměru zastoupení živin v médiu, což znamená zajistit vhodný poměr mezi zdroji uhlíku, dusíku, růstových faktorů, vitaminů a dalších mikro i makro elementů.

Je také nutné dodržet podmínky kultivace pro daný mikroorganismus z hlediska přístupu kyslíku (anaerobní nebo aerobní kultivace) a dalších vhodných plyných podmínek, pH, množství vlhkosti, teploty, osmotického tlaku, oxidoredukčního potenciálu apod. [18].

Kultivace mikroorganismů může být:

Statická – mikroorganismus se po naočkování inkubuje se v klidu, hromadí se metabolity a jsou postupně vyčerpány živiny.

Submerzní – probíhá v médiu, které je neustále provzdušňováno, dochází k homogennímu růstu v celém objemu média, opět dochází k postupnému vyčerpávání živin a hromadění metabolitů. Růst mikroorganismů zde probíhá rychleji.

Kontinuální – dochází k neustálému přívodu média s živinami a k odtoku média s vyrostlými mikroorganismy. Při tomto druhu kultivace lze dosáhnout rovnovážného stavu, kdy se udržuje konstantní počet buněk a konstantní podmínky [10].

2.11.2 Kultivační média

Kultivační média jsou rozdělena podle konzistence na **pevné živné půdy**, (užívané za účelem přípravy čistých kultur, získání kolonií k diagnostice, k počítání mikroorganismů apod.) nebo **tekutá média** (užití pro větší zisk biomasy, dále pro studování látkových výměn, studium zákalu a sedimentu apod.). Přechodným typem jsou média **polotekutá**.

Živná prostředí dělíme na:

Přirozená – neznáme přesně jejich složení (př. mléko, brambory, maso...).

Syntetická – jejich složení přesně známe a je přesně definovatelné, je to směs organických a anorganických sloučenin.

Polosyntetická – jsou na rozhraní mezi syntetickými a přirozenými, kromě chemicky definovaných sloučenin obsahují výluhy, extrakty apod. pocházející z přirozených maticí.

Dále lze dělit média podle účelu na:

Univerzální – na těchto živných médiích roste převážná část mikroorganismů, které jsou od sebe fyziologicky odlišné (např. masopeptonový bujón pro bakterie, sladina pro kvasinky, Mueller-Hinton agar, který se používá ke stanovení citlivosti na antibiotika a chemoterapeutika).

Selektivní – jejich složení obsahuje složky způsobující inhibici růstu nežádoucích mikroorganismů a naopak podporují růst jen určité skupiny mikroorganismů. Nejčastějšími inhibičními látkami jsou antibiotika, barviva, žlučové soli apod.

Selektivně-diagnostická – jejich složení způsobuje inhibici růstu nežádoucích mikroorganismů, růst žádoucích se projeví specifickou biochemickou reakcí, podle které je lze identifikovat (nejčastější užití pro identifikaci *E. coli*) [10], [18].

Transportní – slouží k přežití mikrobů ve stejném počtu mezi odběrem a zpracováním v laboratoři, obsahují obvykle látky brzdící metabolismus.

Pomnožovací – slouží k pomnožení bakterií, může být i selektivní [19].

2.11.3 Příprava kultivačních médií

Kultivační média jsou připravována ze základních ingrediencí nebo z dodávaných dehydratovaných komponent. Je důležité dodržovat správný postup přípravy, jinak by mohlo dojít k nežádoucímu ovlivnění kultivace (inhibice růstu citlivějších kmenů, změna vlastností mikroorganismů apod.). Při přípravě daného média je nutno přihlídnout k požadavkům

kultivovaného mikroorganismu (přístup kyslíku; pH; nutriční požadavky – uhlík, dusík, růstové faktory, minerální látky, voda; volba média podle účelu i konzistence...) [10], [18].

Kultivační média je po přípravě nutné vysterilizovat, což je uskutečňováno nejčastěji autoklávováním (viz kap. 2.3.2). Délka sterilizace závisí na objemu, viskozitě a složení média. Termolabilní složky se nejčastěji sterilizují odděleně a poté se asepticky přidají do sterilního živného média, ochlazeného na 45 °C [10].

2.11.4 Očkování mikroorganismů

Očkování (inokulace) je proces přenesení části mikrobiální kultury do sterilního živného média, které je po naočkování určeno ke kultivaci. Je to jedna ze základních mikrobiologických činností. Způsob provedení inokulace je závislý na druhu očkovaných mikroorganismů a jejich následném využití.

Při očkování je nutné postupovat asepticky. Mikroorganismy lze očkovat na pevná kultivační média ale také do médií tekutých. Očkování provádíme očkovací (bakteriologickou) kličkou, pro očkování vpichem volíme očkovací jehlu, tekuté inokulum očkujeme pipetou způsobem přelivu či roztěru. Všechny očkovací nástroje se před nabráním kultury i po naočkování sterilizují opálením v plamenu, pokud to nejsou jednorázové plastové nástroje.

Při kultivaci je žádoucí oddělit od sebe jednotlivé taxonomické druhy mikroorganismů. Takový postup se nazývá izolace mikroorganismů, která se nejčastěji provádí křížovým roztěrem (na agarové plotně pomocí očkovací kličky), nebo izolací roztěrem (rozetření naředěné suspenze na celý povrch agarové plotny). Cílem je získat jednotlivé kolonie bakterií. Principem je předpoklad, že vzniklé kolonie postupným zředěním vznikly z jedné buňky [10].

2.11.5 Stanovení počtu mikrobiálních buněk

Stanovení počtu mikrobiálních buněk se využívá ke kontrole mikrobiálního výskytu, znečištění a ke kontrole účinnosti sterilizace.

Metoda přímá (mikroskopická)

Buňky jsou počítány ve speciálních počítacích komůrkách (Bürkerova, Thomova) pod mikroskopem. Buňky jsou počítány v určitých úsecích, které mají přesně daný objem.

Metoda nepřímá (kultivační)

Principem této metody je počítání viditelných kolonií na agarových plotnách po kultivaci, kdy vycházíme z předpokladu, že z jedné životaschopné buňky vyroste jedna kolonie.

Stanovovanou suspenzi mikroorganismů je potřeba vhodně naředit (nejčastěji ředíme geometrickou řadou), hlavně při kultivační metodě, kdy je ke stanovení potřeba nárůstu jednotlivých kolonií [10], [20].

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Materiál

3.1.1 Pomůcky

Jednorázové plastové laboratorní potřeby (Petriho misky, očkovací klíčky, špičky na automatické pipety)

Erlenmayerovy baňky

Sterilní zkumavky

Stojan na zkumavky

Automatické pipety

Odměrný válec

Jednorázové laboratorní rukavice

3.1.2 Přístroje

Biologický termostát

Spektrofotometr

Parní sterilizátor

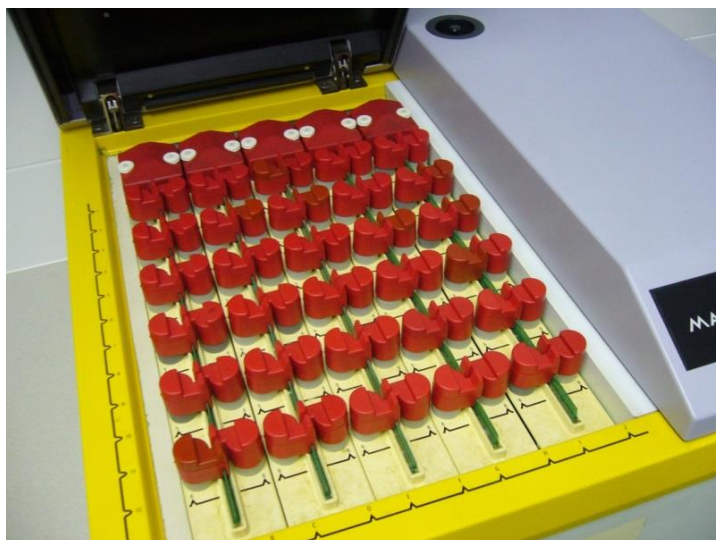
Horkovzdušný sterilizátor

Očkovací box

Přístroj Malthus AT (Obrázek 8 a Obrázek 9) s příslušenstvím (malthusové zkumavky se zátkami – Obrázek 12; počítač se softwarem)



Obrázek 8: Přístroj Malthus AT



Obrázek 9: Přístroj Malthus AT (vnitřní uspořádání)

3.1.3 Chemikálie

Sterilní destilovaná voda

Testované přípravky

Kultivační média (živné médium, krevní agar)

Zátěž (bylo použito sušené mléko)

3.1.4 Živné médium

Živné médium tekuté (bujón BC7), které je užíváno pro stanovení desinfekčního účinku na základě elektrické vodivosti, je vytvořeno speciálně pro zmíněnou metodu stanovení.

Složení bujónu BC7:

Enzymatický kaseinový hydrolyzát	2,50 g
Glukóza	0,50 g
Chlorid sodný	1,25 g
Kvasničný extrakt	2,50 g
Destilovaná voda.....	500 ml

pH média: $7,2 \pm 0,1$

Médium je sterilizováno v autoklávu při teplotě 121 °C po dobu 15 minut.

3.1.5 Krevní agar

Columbia agar s 5% defibrilovanou beraní krví je dodáván hotový na miskách.

Složení Columbia agaru uvedené výrobcem:

Pankreatický trávený kasein	12 g/l
Živočišné tkáně	5 g/l
Kvasničný extrakt	3 g/l
Hovězí extrakt.....	3 g/l

Kukuřičný škrob	1 g/l
Chlorid sodný	5 g/l
Agar.....	15 g/l
Beraní defibrilovaná krev.....	50 ml

3.1.6 Zátěž

Přidání zátěže zhoršuje podmínky působení desinfekčního přípravku a tím vytváří simulaci provozních podmínek. Jako zátěž bylo použito sušené mléko plnotučné BOHEMILK.

složení sušeného mléka BOHEMILK:

složení uvedeno na 100 g

bílkoviny.....	27 g
sacharidy.....	38 g
tuk min	26 g

3.1.7 Biologický materiál

Salmonella typhimurium CCM 4419

3.2 Testované přípravky

Pro testování byly použity přípravky společnosti BOCHEMIE a.s. určené k desinfekci ploch a prostor. Tyto přípravky jsou volně prodejně a využívány v potravinářských, zdravotnických a veterinárních zařízeních a institucích. Charakter a popis přípravků byl popsán z dostupných informací o jednotlivých přípravcích, které jsou na webových stránkách společnosti, na obalech přípravků, nebo také v tištěných materiálech společnosti týkajících se přehledu jimi poskytujících produktů.

3.2.1 DESAM EXTRA

Biocidní přípravek, doba použitelnosti 24 měsíců, láhev o objemu 1 litr.

Účinné látky	N, N-bis (3-aminopropyl) dodecylamin, kvarterní amoniové soli
Popis	Koncentrovaný kapalný desinfekční přípravek na bázi kombinovaného účinku kvarterních amoniových sloučenin a aminu. Určen pro jednofázovou desinfekci ploch a povrchů. Výborná materiálová snášenlivost. Přípravek je vhodný do prostor se zvýšeným rizikem růstu bakterií, mikroskopických vláknitých hub a plísní.
Spektrum účinnosti	baktericidní, MRSA, virucidní (<i>BVDV/Vaccinia</i> , <i>Rotavirus</i>), mykobaktericidní, tuberkulocidní, fungicidní

Účinnosti na MO

Tabulka 6: Účinnost přípravku DESAM EXTRA na mikroorganismy

Testovaný MO	Norma testování	Koncentrace	Expozice
<i>St. aureus</i> , <i>Ps. aeruginosa</i> , <i>En. hirae</i> , <i>E. coli</i>	prEN 14561 EN 13727 EN 1276	0,25%	15 min
	EN 13697	0,25%	5 min
MRSA	SOP	0,25%	2 min
<i>Lactobacillus brevis</i>	EN 13697	0,50%	5 min
<i>Candida albicans</i> , <i>Aspergillus niger</i>	EN 14562 EN 13624 EN 1650	0,25%	15 min
<i>Vaccinia</i>	DVV/ RKI	1,00%	15 min
<i>Rotavirus</i>	DVV/ RKI	1,00%	5 min
<i>M. tuberculosis</i>	SOP	1,00%	30 min

Oblast použití

Doporučuje se k denní desinfekci ve všech prostorách zdravotnických zařízení, v potravinářství, veterinární praxi i institucích. Přípravek je určen na všechny voděodolné a omyvatelné povrchy a předměty (nerezová ocel, barevné kovy a jejich slitiny, pochromované a smaltové povrchy, povrchy potažené plastem, sklo, plexisklo, akryláty, pryž, měkčené PVC, linoleum, plovoucí podlahy), kromě mechanicky poškozených povrchů. Je nevhodný na přírodní gumu. Přípravek je vhodné také do nemocničních kuchyní.

Aplikace

Desinfekce ploch a povrchů v potravinářství, zdravotnictví a obecné praxi: ředění 0,25%; expozice: 15 min.

Desinfekce při zvýšené biologické zátěži: ředění 1%; expozice: 30 min.

Desinfekce ploch a předmětů: Předem odstraňte hrubé nečistoty. Plochy a povrchy otřete textilií smočenou v pracovním roztoku. Malé voděodolné předměty lze ponořit do pracovního roztoku a po uplynutí doby expozice opláchnout vodou a usušit. Pracovní roztok lze také aplikovat postříkem.

Obrázek



Obrázek 10: DESAM EXTRA

3.2.2 CHIROX

Biocidní přípravek, doba použitelnosti 36 měsíců, balení: sáček, 50 g.

Účinné látky	monopersíran draselný
Popis	Koncentrovaný práškový desinfekční přípravek určený k desinfekci ploch, předmětů, textilií i k prostorové desinfekci (fogováním). Při použití nezapáchá, nedráždí dýchací cesty, neodbarvuje povrchy.
Spektrum účinnosti	baktericidní, virucidní (<i>Adenovirus</i> , <i>Poliovirus</i> , <i>Norovirus</i>), sporicidní, mykobaktericidní, tuberkulocidní, fungicidní
Testováno na MO	Bakterie: <i>St. aureus</i>, <i>Ps. aeruginosa</i>, <i>E. coli</i>, <i>Proteus vulgaris</i>, <i>Sceracia marcencens</i>, <i>Brachyspira hyodisenteriae</i>. <i>Lactococcus lactis</i> Viry: <i>Bakteriofág E. coli ΦX 174</i>, <i>Poliovirus</i>, <i>Adenovirus</i>, <i>Bovine enterovirus</i> Mykobakterie: <i>Mycobacterium tuberculosis</i>, <i>M. avium</i>, <i>M. kansasii</i>, <i>M. terrae</i> Fungi: <i>Candida albicans</i>, <i>Aspergillus niger</i> Spory: <i>Clostridium perfringens</i>, <i>Bacillus subtilis</i>
Oblast použití	V potravinářském průmyslu Chirox splňuje podmínky režimu HACCP. Vhodný k desinfekci ve výrobě a zpracování potravin,

jídelnách, stravovacích provozech (plochy, předměty, chladicí zařízení, nádobí, sudy a nádoby ve výrobě vína apod.). Vhodný také k desinfekci ve zdravotnictví, veterinární péči, chovu zvířat, hygieně a domácnostech.

Aplikace

Desinfekce ploch a předmětů a textilií (namočením) v potravinářství, obecné praxi a ve zdravotnických zařízeních: ředění 2%; koncentrace: 20 g/l; expozice: 30 min.

Speciální desinfekce (riziko infekce / vysoká zátěž): ředění 3%; koncentrace: 30 g/l; expozice: 60 min.

Prostorová desinfekce fogováním: ředění 0,5%; koncentrace: 5 g/l; expozice: 10 min.

Desinfekční roztok se připraví rozmícháním přípravku ve vodě o teplotě 20–30 °C. Plochy a předměty je nutno předem mechanicky očistit (omýt) od hrubých nečistot. Roztok se aplikuje postříkem nebo otěrem. Předměty a textilie lze vložit do roztoku. Aplikovaný roztok se nechá působit po stanovenou dobu expozice. Předměty a plochy, které mají přijít do kontaktu s vodou, potravinami či krmivy, omyjeme po době expozice pitnou vodou. Připravený roztok Chiroxu je účinný po dobu minimálně 48 h. Pracovní roztoky jsou nevhodné pro materiály poniklované, hliníkové, lakované a lepené.

Obrázek



Obrázek 11: CHIROX

3.3 Metoda stanovení desinfekčního účinku

Metoda pro stanovení minimální inhibiční koncentrace přípravků suspenzní metodou s využitím elektrické vodivosti u vybraných bakteriálních kmenů je modifikována Ústavem pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv – ÚSKVBL a vychází z norem EN 1656, EN 1657 a EN 1276. Této metody bylo využito pro stanovení desinfekčního účinku vybraných přípravků.

3.3.1 Princip metody

Cílem zkoušky bylo mikrobiologické stanovení desinfekční účinnosti u různých druhů antibakteriálně aktivních látek. Mikrobiologické stanovení desinfekční účinnosti bylo stanoveno porovnáním inhibice růstu odolných mikroorganismů, vyvolané známými koncentracemi zkoušené desinfekční látky, v porovnání s růstem těchto mikroorganismů bez přítomnosti zkoušené desinfekční látky.

Zkouška byla provedena měřením elektrické vodivosti tekuté živné půdy, kterou výrazně ovlivňuje růst bakterií v médiu, pro stanovení minimální inhibiční koncentrace (MIC) desinfekčního přípravku. Charakteristickým jevem je změna vodivosti, která je vyjádřena detekčním časem (DT) a je přímo úměrná počtu bakterií a délce kultivace. Z onoho detekčního času byly získány výsledky měření. Pro kontrolu vodivosti se také proměřuje samotná vodivost čisté půdy bez desinfekčního přípravku a bez bakteriální kultury.

Dále byla stanovena minimální baktericidní koncentrace (MBC) desinfekčního přípravku vizuální kontrolou, tj. vyočkováním suspenze po provedení testu na krevní agar a vyhodnocením výsledku kultivace.

3.3.2 Desinfekční efekt

Je charakterizován úplným potlačením mikroorganismů a je vyjádřen číselnou hodnotou, která vyjadřuje, o kolik log řádů KTJ byl růst testovaného kmene potlačen v porovnání s kontrolním vzorkem bez obsahu desinfekčního přípravku. Častěji se používá dostatečný desinfekční efekt, což je snížení počtu bakterií alespoň o 5 log řádů.

$$DE = \log N_o - \log N_d$$

DE – desinfekční efekt

N_o – počet kolonií tvořících jednotku (KTJ) bez desinfekce

N_d – počet kolonií tvořících jednotku (KTJ) s desinfekcí

3.4 Praktické provedení testu

Cílem zkoušky bylo otestování požadované koncentrace, kterou pro daný účel uvádí výrobce. Byly otestovány ještě dvě další koncentrace, jedna o polovinu hodnoty nižší a druhá o polovinu hodnoty vyšší, než je koncentrace požadovaná.

V rámci zkoušky byla provedena dvě stanovení. Zkouška desinfekční účinnosti přípravku bez zátěže a s přítomností zátěže. Přidání zátěže zhoršuje podmínky působení desinfekčního přípravku a simuluje provozní podmínky. Druh a výběr použité zátěže se řídí stanoveným principem a ověřeným postupem dané metody, která byla použita ke stanovení. Zátěží tedy

3.4.3 Test prováděný v malthusových zkumavkách

1. Do malthusových zkumavek (viz Obrázek 12) bylo přidáno 1,8 ml bujónové půdy (u druhého stanovení byl přidán bujón se zátěží), 0,1 ml suspenze bakteriálního kmene a 0,1 ml pracovního roztoku desinfekčního přípravku o požadované koncentraci.
2. Pro každou koncentraci bylo testováno sedm stejných roztoků z důvodu eliminace případných chyb a odchylek v měření.
3. Současně byly také naočkovány další zkumavky referenčním kmenem, které obsahovaly pouze kultivační médium bez přidavku desinfekčního prostředku. Tyto zkumavky sloužily jako kontrola a standardizace růstu mikroorganismů.
4. Dále byly připraveny vzorky pro kontrolu vodivosti, které obsahovaly pouze čistou půdu, které sloužily pro zjištění případného ovlivnění výsledků jinými činiteli.
5. Zkumavky byly zazátkovány zátkami s elektrickými kontakty pro měření vodivosti. Takto připravené zkumavky byly vloženy do zařízení Malthus AT (viz Obrázek 8 a Obrázek 9) ke stanovení celkového počtu mikroorganismů.
6. Test probíhal při stálé teplotě 37 °C ve vodní lázni po dobu 24 hodin.
7. Po ukončení testu byl obsah jednotlivých zkumavek vyočkován na Petriho misky s krevním agarem. Tento úkon sloužil k vizuální kontrole, tzn. ke zjištění, zda byl desinfekční přípravek opravdu tak účinný, jak bylo vyčteno z grafů, a také ke zjištění, zda měl desinfekční přípravek bakteriostatický nebo baktericidní účinek (viz Obrázek 13).
8. Takto naočkované Petriho misky se daly kultivovat do termostatu při 37 °C po dobu 24 hodin.
9. Po 24 hodinách byl sledován nárůst kolonií, který dokládá bakteriostatický nebo baktericidní účinek.



Obrázek 12: Malthusová zkumavka se zátkou



Obrázek 13: MBC; Vlevo bakteriostatický účinek, detekce růstu „pozitivní (+)“ / vpravo baktericidní účinek detekce růstu „negativní (-)“

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

Veličinou, ze které bylo vycházeno, je **detekční čas**. Ten byl zaznamenáván přístrojem v okamžiku změny vodivosti, která je ovlivňována růstem bakterií. Změna vodivosti je detekována díky metabolické aktivitě mikroorganismů a tím je zaznamenávána změna jejich růstu (respektive začátek jejich růstu).

Odečítání bylo prováděno z grafů růstových křivek. Pro každou koncentraci i pro každou kontrolu bylo připraveno a následně testováno sedm stejných roztoků. Výsledkem bylo sedm detekčních časů pro každý testovaný roztok.

Tyto detekční časy byly zprůměrovány a dosazeny do rovnice stanovené ÚSKVBL pro rod *Salmonella*: $y = -6,458 \cdot \ln x + 14,989$, pro přepočet detekčního času na odpovídající logaritmický počet MO, což vychází z metabolické aktivity MO, jelikož metabolická aktivita MO ovlivňuje elektrickou vodivost (mění se podle spotřeby kationtů a aniontů).

Zobrazené Grafy 1–16 jsou vybrané příklady křivek pro každou sadu roztoků. V Tabulkách 8–11 jsou shrnuty výsledky všech měření.

Testování bylo provedeno v březnu 2015.

Základní popis grafů:

Osa x značí čas v hodinách.

Osa y znázorňuje logaritmický počet mikroorganismů.

Bodem $+$ je v grafech označen detekční čas, který zaznamenává změnu vodivosti. Čím je tento detekční čas nižší, tím je větší koncentrace mikroorganismů v malthusových zkumavkách.

4.1 Vyhodnocení přípravku DESAM EXTRA

Aktivní látka: na bázi kvartérních amoniových sloučenin a aminů

Testované koncentrace: 0,25%; 0,5%; 0,75%

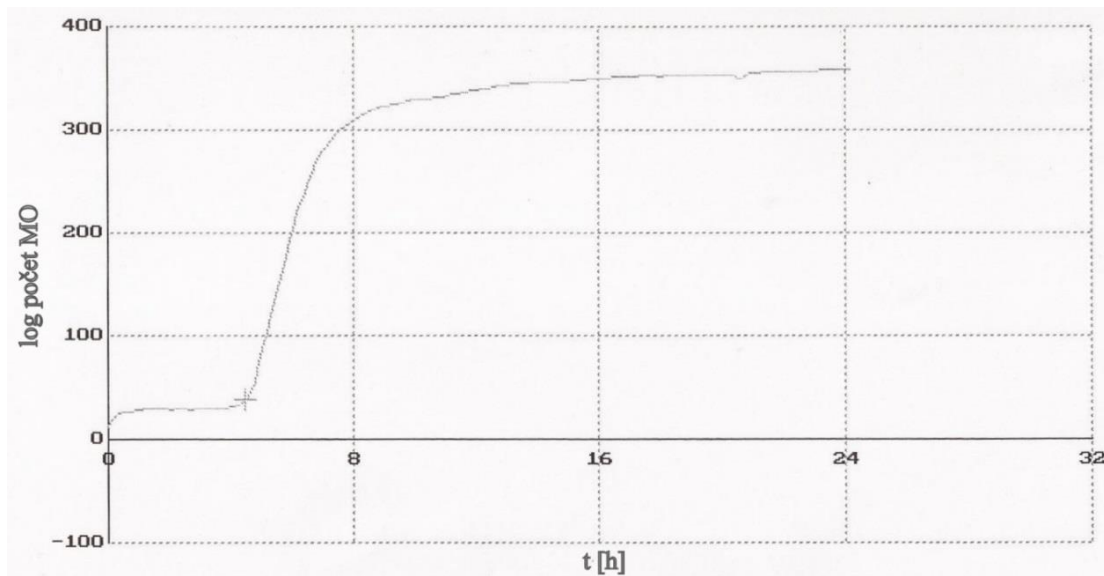
Zkouška: bez zátěže, se zátěží

Výsledky:

Výsledky měření jsou zpracovány z růstových křivek, detekčních časů a vizuální kontroly.

4.1.1 Testování přípravku DESAM EXTRA bez zátěže

Graf 1: Kontrola bez zátěže (růstová křivka)

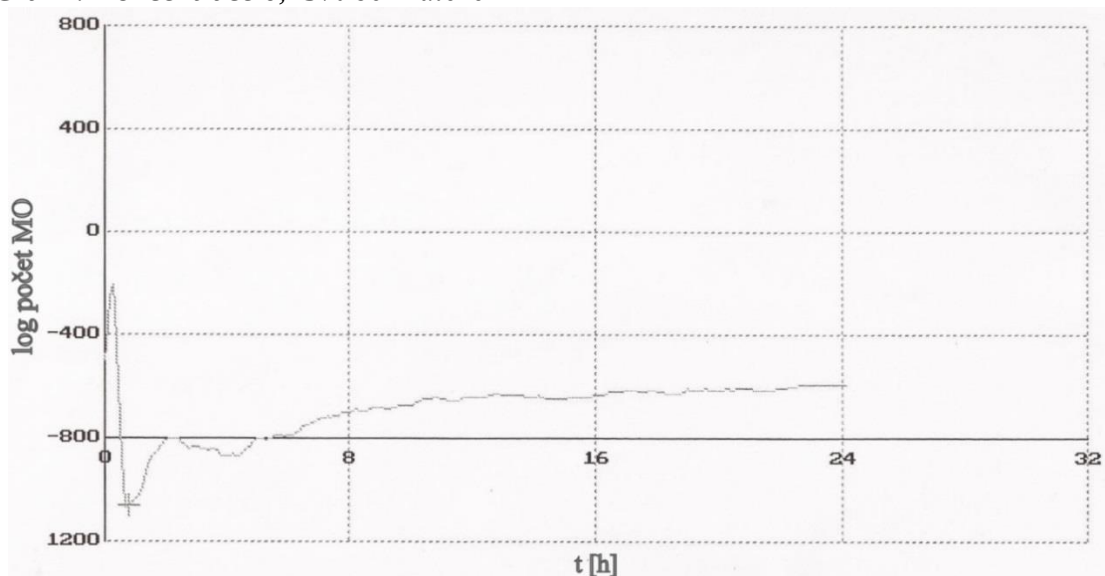


Běžnou růstovou křivku testovacího kmene *Salomonella typhimurium* CCM 4419 v bujónu BC7 znázorňuje Graf 1. Tato křivka slouží jako kontrola normálního růstu bakterií bez inhibice desinfekčním prostředkem a bez použití zátěže. Tato křivka je srovnávána s ostatními křivkami s přítomností desinfekčního přípravku o dané koncentraci.

Detekční čas byl zaznamenán 4,5 hodiny. Průměrná hodnota detekčního času (DT) kontroly je uvedena v Tabulce 8.

Grafy 2–4 znázorňují křivky testovaných koncentrací při inhibici desinfekčním prostředkem DESAM EXTRA. Výsledky stanovení jsou shrnuty v Tabulce 8.

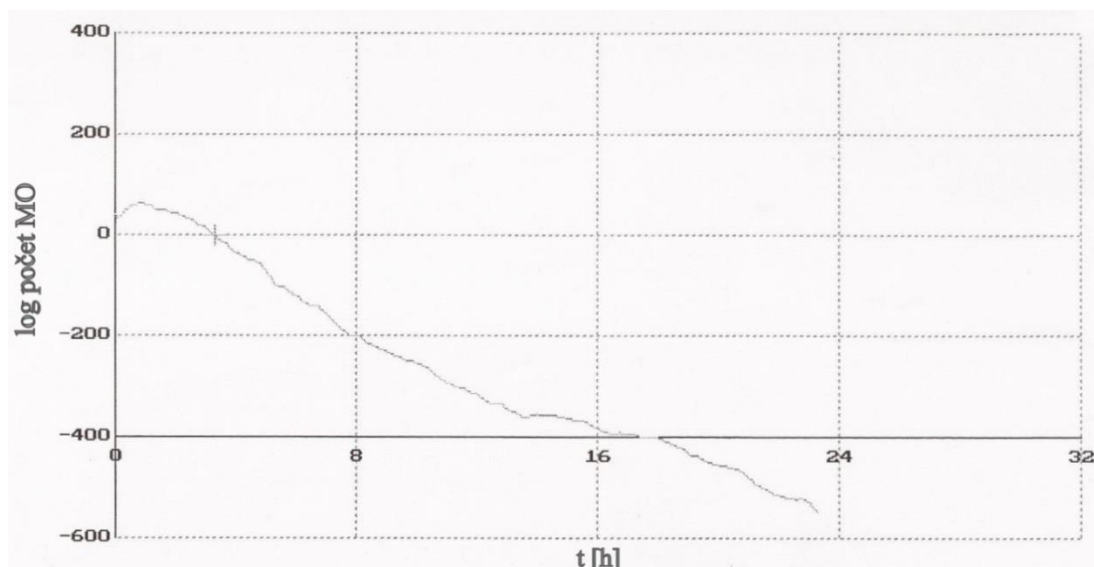
Graf 2: Koncentrace 0,25% bez zátěže



Křivka Grafu 2 nemá při srovnání s Grafem 1 charakter růstové křivky. Přístroj sice zaznamenal detekční čas, křivka se ale pohybuje v záporných hodnotách. Z křivky je zřejmé,

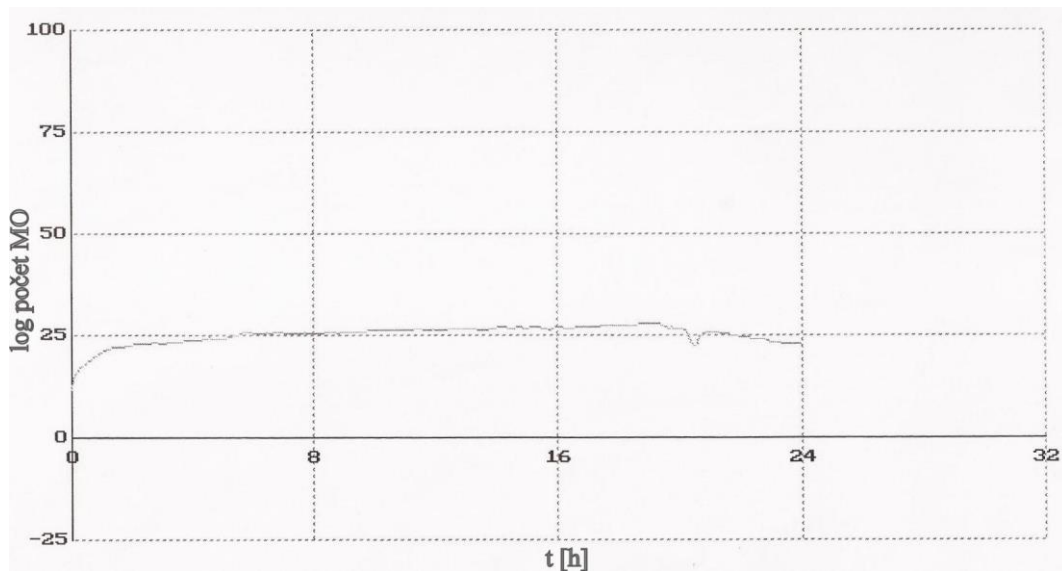
že došlo k potlačení růstu mikroorganismů, proto zde byl detekční čas určen jako nulový a detekční čas zaznamenaný přístrojem nebyl brán v úvahu.

Graf 3: Koncentrace 0,5% bez zátěže



Křivka Grafu 3 nemá při srovnání s Grafem 1 charakter růstové křivky. Křivka klesá a pohybuje se v záporných hodnotách. Z křivky je zřejmé, že došlo k potlačení růstu mikroorganismů, proto zde byl detekční čas opět určen jako nulový.

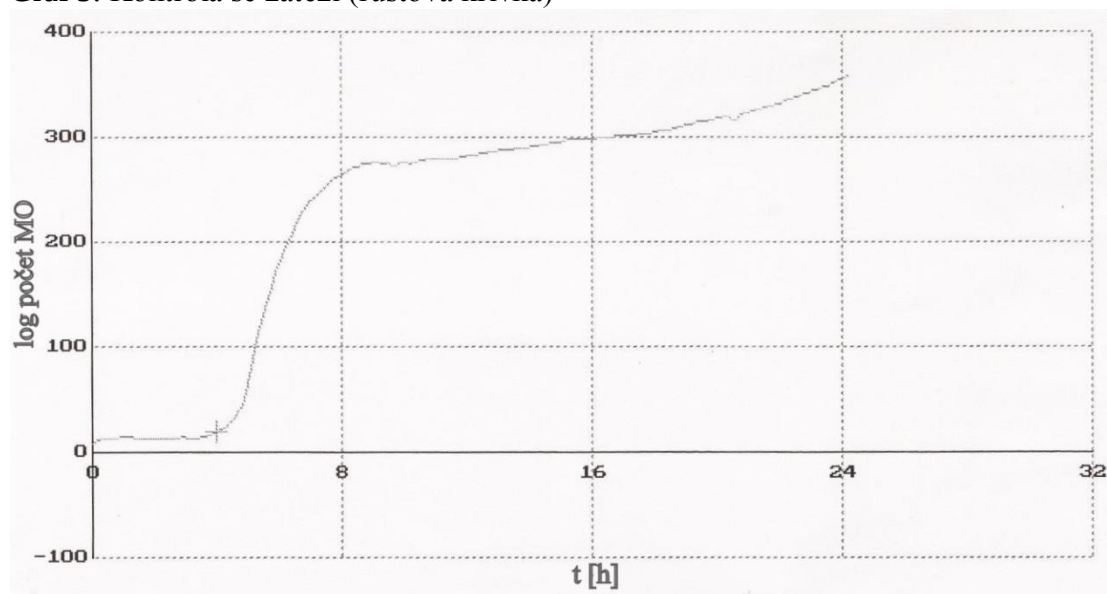
Graf 4: Koncentrace 0,75% bez zátěže



Při testování 0,75% koncentrace (Graf 4) přístroj nezaznamenal detekční čas, jelikož nedošlo k rapidní změně vodivosti. Tento fakt může poukazovat na potlačení mikroorganismů bakteriostatickým účinkem, což bylo vyvráceno vizuální kontrolou detekce růstu (viz Tabulka 8). Při srovnání růstové křivky s Grafem 1 se jejich tvar neshoduje. Došlo tedy k potlačení růstu mikroorganismů. Detekční čas byl určen jako nulový.

4.1.2 Testování přípravku DESAM EXTRA se zátěží

Graf 5: Kontrola se zátěží (růstová křivka)

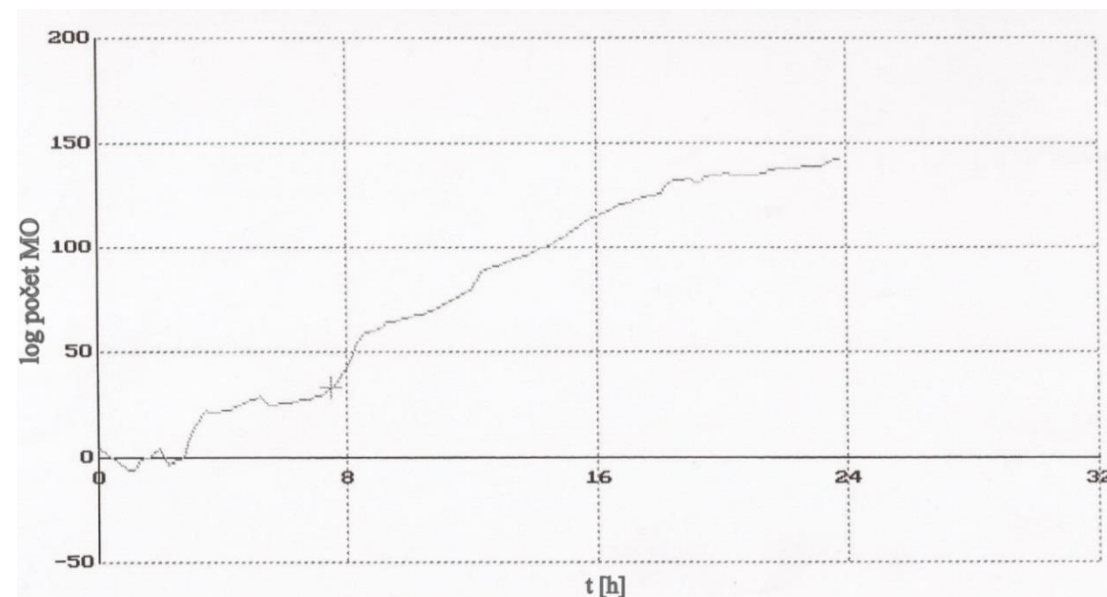


Graf 5 znázorňuje růstovou křivku testovacího kmene při přidání zátěže, kdy zátěž způsobuje simulaci provozních podmínek. Tato křivka je srovnávána s ostatními křivkami s přítomností desinfekčního přípravku o určité koncentraci v přítomnosti zátěže.

Jako detekční čas zde byly zaznamenány 4 hodiny. Průměrná hodnota detekčního času (DT) kontroly je uvedena v Tabulce 9.

Grafy 6–8 znázorňují křivky testovaných koncentrací při inhibici desinfekčním prostředkem DESAM EXTRA při použití zátěže. Výsledky stanovení jsou shrnuty v Tabulce 9.

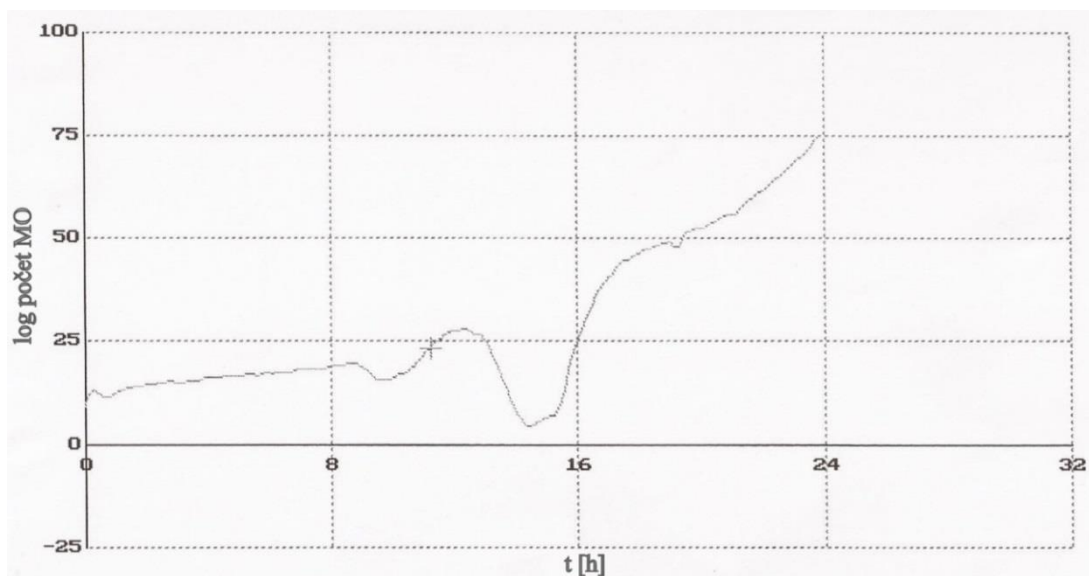
Graf 6: Koncentrace 0,25% se zátěží



Graf 6 při porovnání neodpovídá růstové křivce (viz Graf 5). Křivka na počátku zasahuje do záporných hodnot. Hodnoty na ose y dosahují pouze poloviny velikosti hodnot na

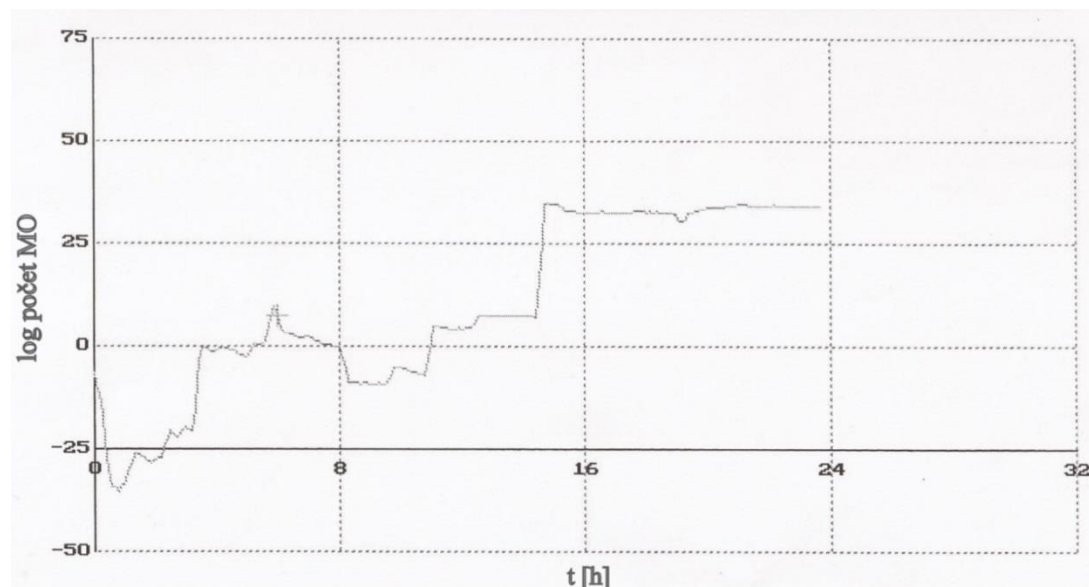
kontrolní růstové křivce. Detekční čas zaznamenaný přístrojem proto nebyl brán v úvahu a byl určen jako nulový.

Graf 7: Koncentrace 0,5% se zátěží



Tvar křivky Grafu 7 neodpovídá při srovnání růstové křivce (viz Graf 5), byly zde zaznamenány skoky. Dosažená hodnota logaritmického počtu MO na ose y (rozmezí 0–75) při porovnání s kontrolní růstovou křivkou (rozmezí 0–350) nedosahuje rozmezí jejích hodnot. Detekční čas zaznamenaný přístrojem proto nebyl zohledňován, jelikož tato změna vodivosti nesouvisí s růstem mikroorganismů. Detekční čas byl určen jako nulový.

Graf 8: Koncentrace 0,75% se zátěží



Při testování 0,75% koncentrace se zátěží (Graf 8) se křivka v určitém úseku pohybuje v záporných hodnotách a křivka má charakter skoků. Z křivky je zřejmé, že došlo k potlačení růstu mikroorganismů, křivka se neshoduje s růstovou křivkou, přístrojem zaznamenaný detekční čas nesouvisí se změnou růstu mikroorganismů, a proto zde byl detekční čas opět určen jako nulový.

4.1.3 Celkové zhodnocení desinfekčního efektu přípravku DESAM EXTRA

Poznámky k tabulkám výsledků (Tabulky 8–11):

- N_o – logaritmický počet KTJ v kontrolních vzorcích bez přítomnosti desinfekčního přípravku,
- N_d – logaritmický počet KTJ po aplikaci desinfekčního přípravku v různých koncentracích,
- DE – desinfekční efekt ($N_o - N_d$), jeho hodnota vyjadřuje, o kolik log řádů KTJ byl růst testovaného kmene potlačen v porovnání s kontrolním vzorkem bez obsahu desinfekčního přípravku,
- DT – detekční čas,
- MBC – minimální baktericidní koncentrace,
- MIC – minimální inhibiční koncentrace.

Tabulka 8: Výsledky měření přípravku DESAM EXTRA; zkouška bez zátěže

Celkový počet MO v suspenzi testovacího kmene: $2,1 \cdot 10^5$					
Koncentrace (%)	Expozice (h)	DT (h)	MBC	MIC	Desinfekční efekt ($N_o - N_d$)
			Detekce růstu: pozitivní (+), negativní (-)	Metabolická aktivita odpovídající log počtu MO	
0,25	24	0	-/+	0 (N_d)	5,32
0,5	24	0	-	0 (N_d)	5,32
1	24	0	-	0 (N_d)	5,32
Kontrola	24	4,47	+	5,32 (N_o)	–

Příklady výpočtů:

Průměrný detekční čas kontroly: 4,47 hodin.

Z rovnice $y = -6,458 \cdot \ln x + 14,989$ a detekčního času se vypočte metabolická aktivita, která je odpovídající log počtu MO (N_o).

$$y = -6,458 \cdot \ln 4,47 + 14,989 = 5,32 = N_o$$

Detekční čas byl u testovaných koncentrací definován jako nulový. Metabolická aktivita (N_d) je tedy také nulová.

Výpočet desinfekčního efektu pro koncentraci 0,25%:

$$DE = N_o - N_d = 5,32 - 0 = \underline{\underline{5,32}}$$

Růst testovaného kmene byl potlačen o 5,32 log řádů KTJ.

Tabulka 9: Výsledky měření přípravku DESAM EXTRA; zkouška se zátěží

Celkový počet MO v suspenzi testovacího kmene: $1,6 \cdot 10^6$					
Koncentrace (%)	Expozice (h)	DT (h)	MBC	MIC	Desinfekční efekt ($N_o - N_d$)
			Detekce růstu: pozitivní (+), negativní (-)	Metabolická aktivita odpovídající log počtu MO	
0,25	24	0	-	0 (N_d)	6,23
0,5	24	0	-	0 (N_d)	6,23
1	24	0	-	0 (N_d)	6,23
Kontrola	24	3,88	+	6,23 (N_o)	—

Po 24 hodinovém testování a následném vyočkování malthusových zkumavek na krevní agary se u testování 0,25% koncentrace bez zátěže objevil nárůst kolonií jen částečný, (tzn. - / +). Převažovaly koloniemi neosídlené krevní agary. U ostatních uvedených koncentrací obou zkoušek (se zátěží i bez zátěže) se již nevyskytl žádný nárůst kolonií, detekce růstu „negativní (-)“.

Přípravek tedy prokázal v obou případech vysokou baktericidní účinnost pro všechny testované koncentrace. Desinfekční efekt se projevil poklesem metabolické aktivity mikroorganismů o více jak 5 logaritmických řádů při zkoušce bez zátěže a o více jak 6 logaritmických řádů při zkoušce se zátěží. Podle výsledků je patrné, že přípravek je dostatečně účinný i za použití zátěže.

Pokles počtu přežívajících mikroorganismů by měl být při laboratorním vyšetření přípravků určených na desinfekci ploch a povrchů minimálně o 5 logaritmických řádů. Přípravek DESAM EXTRA svými dosaženými výsledky tedy vyhovuje podmínkám kladeným na účinnost desinfekčních látek.

4.2 Vyhodnocení přípravku CHIROX

Aktivní látka: bis(síran)bis(monosíran) pentadraselný 50% (500g/kg)

Testované koncentrace: 1%; 2%; 3%

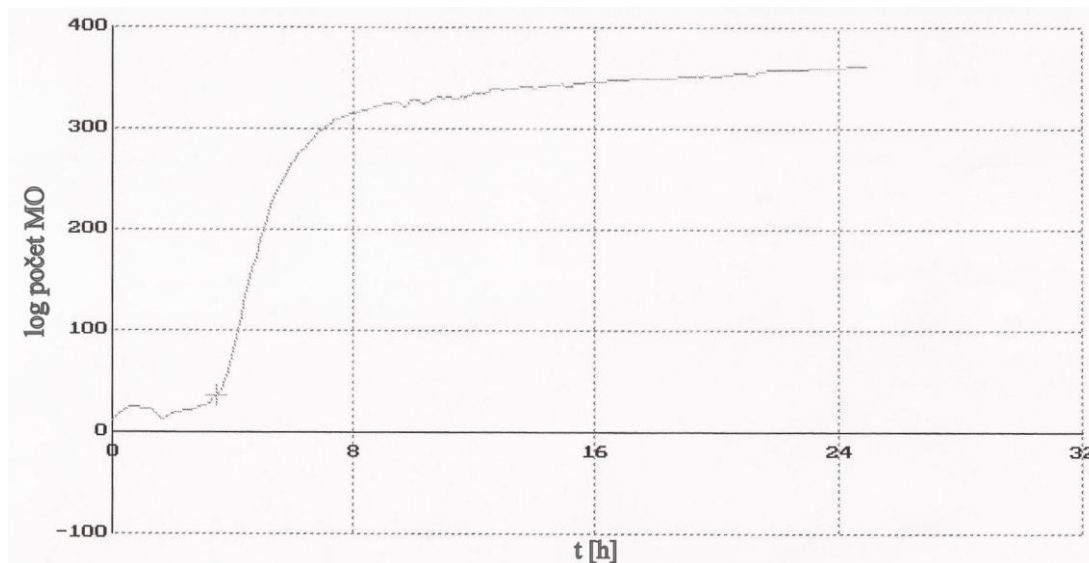
Zkouška: bez zátěže, se zátěží

Výsledky:

Výsledky měření jsou zpracovány z růstových křivek, detekčních časů a vizuální kontroly.

4.2.1 Testování přípravku CHIROX bez zátěže

Graf 9: Kontrola bez zátěže (růstová křivka)

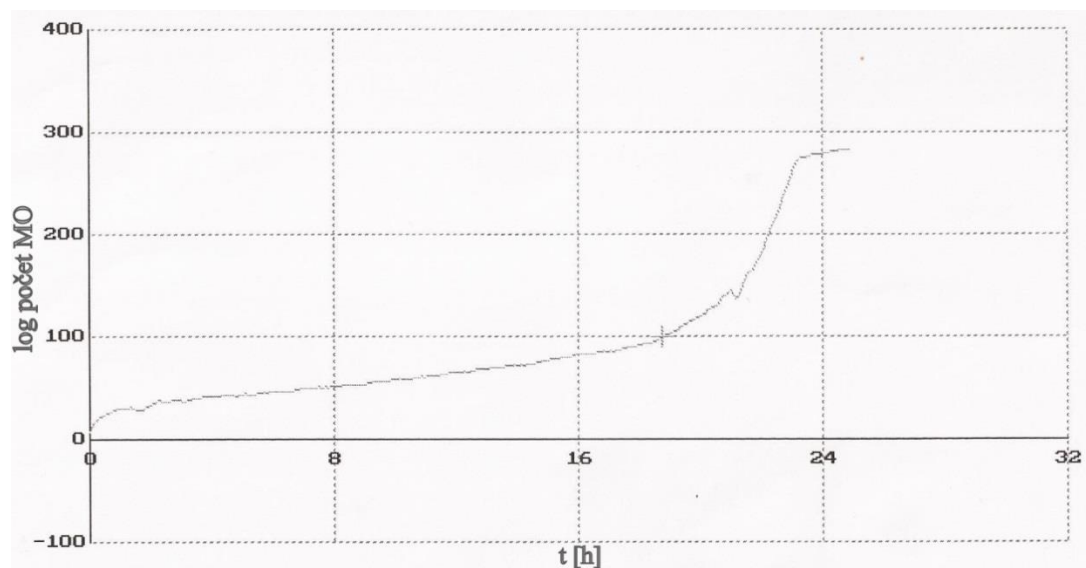


Graf 9 zobrazuje růstovou křivku testovacího kmene. Tento graf slouží jako kontrola normálního růstu bakterií bez inhibice desinfekčním prostředkem CHIROX. Stanovení bylo provedeno bez použití zátěže. Tato křivka je srovnávána s ostatními křivkami pro měření s přítomností desinfekčního přípravku o určité koncentraci.

Detekční čas byl zde zaznamenán 3,5 hodin. Průměr hodnot detekčních časů (DT) kontroly je uveden v Tabulce 10.

V Grafech 10–12 vidíme příklady křivek, kdy růst mikroorganismů inhibuje desinfekční prostředek CHIROX bez přítomnosti zátěže. Výsledky stanovení jsou shrnuty v Tabulce 10.

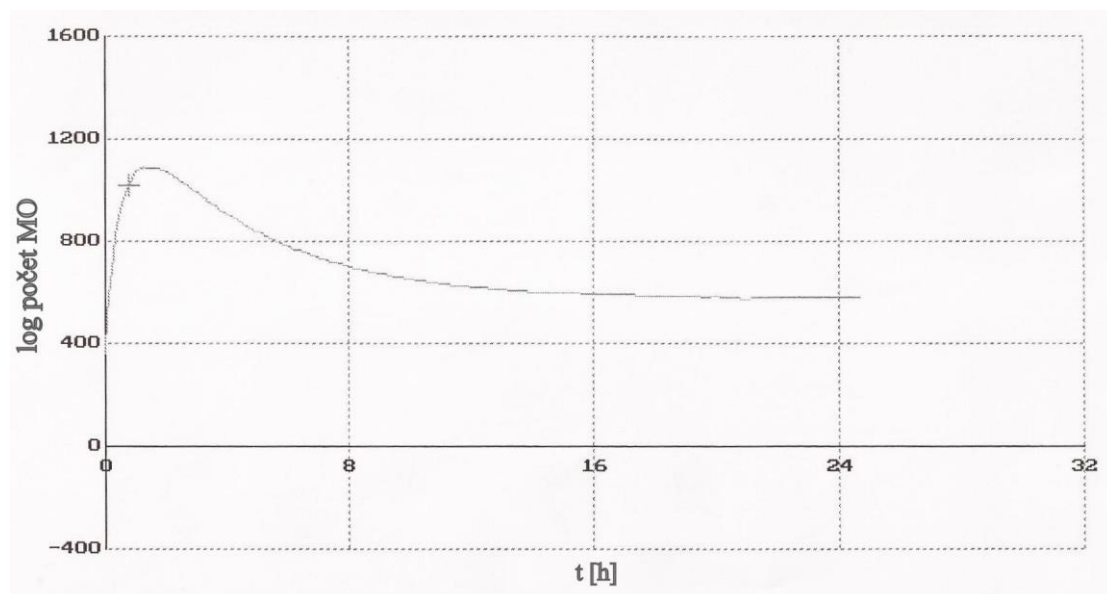
Graf 10: Koncentrace 1% bez zátěže



Při testování přípravku o 1% koncentraci (Graf 10) byl zaznamenán detekční čas v průměru 19,5 hodin. Při dosažení detekčního času do rovnice pro výpočet metabolické aktivity odpovídající log počtu mikroorganismů ($y = -6,458 \cdot \ln x + 14,989$), bylo vypočteno

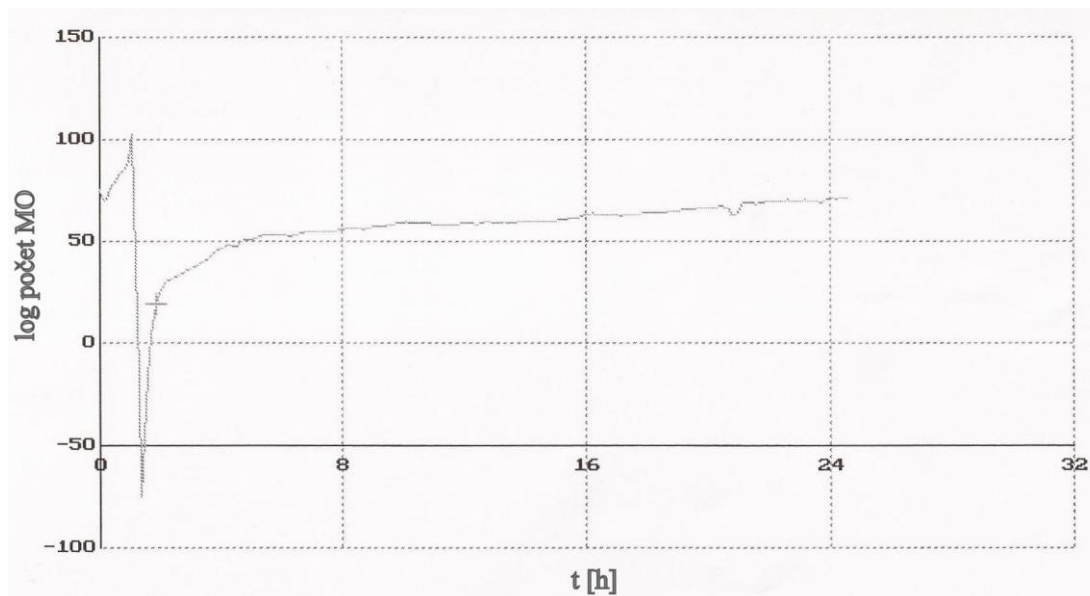
číslo záporné; -4,19. Tento detekční čas tedy neznačí změnu vodivosti v důsledku růstu bakterií, a proto definujeme detekční čas jako nulu (viz Tabulka 10).

Graf 11: Koncentrace 2% bez zátěže



Křivka Grafu 11 zaznamenala nárůst vodivosti v průběhu začátku měření. Poté křivka začala klesat. Při porovnání s kontrolní růstovou křivkou (viz Graf 9) je zřejmé, že tato vodivost nesouvisí s růstem mikroorganismů. Podobnost nevykazuje ani porovnání rozsahu dosažených hodnot na ose y. Tento detekční čas tedy nebyl zohledněn a byl definován jako nulový.

Graf 12: Koncentrace 3% bez zátěže

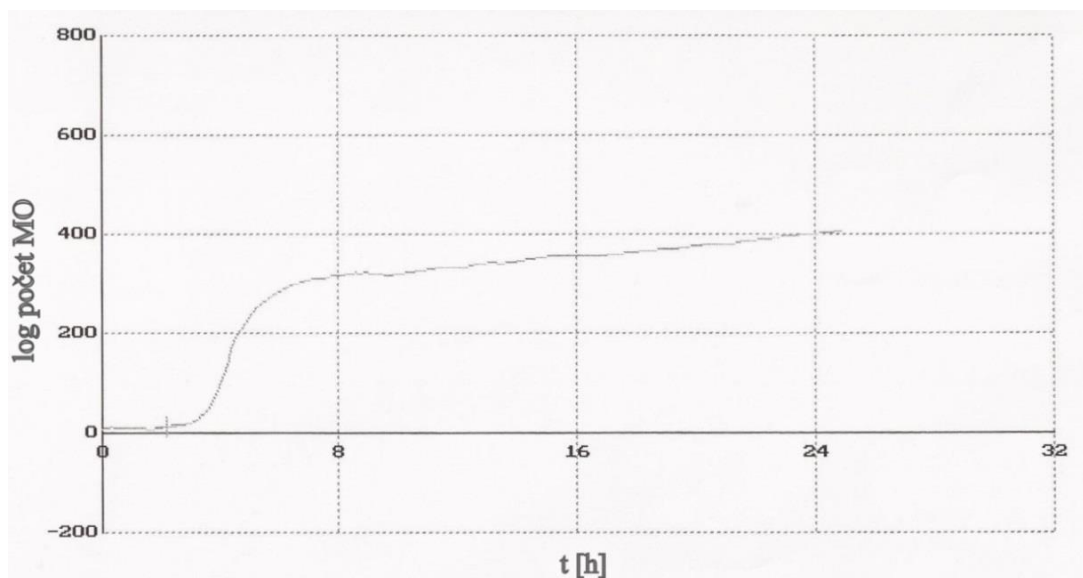


Křivka Grafu 12 zobrazuje v průběhu začátku měření prudký pokles vodivosti až do záporných hodnot. Tvar této křivky neodpovídá růstové křivce. Podobnost nevykazuje ani porovnání rozsahu dosažených hodnot na ose y. Detekční čas zaznamenaný přístrojem

nesouvisí s růstem mikroorganismů, proto nebyl zohledněn. Celkově byl detekční čas definován jako nulový.

4.2.2 Testování přípravku CHIROX se zátěží

Graf 13: Kontrola se zátěží (růstová křivka)

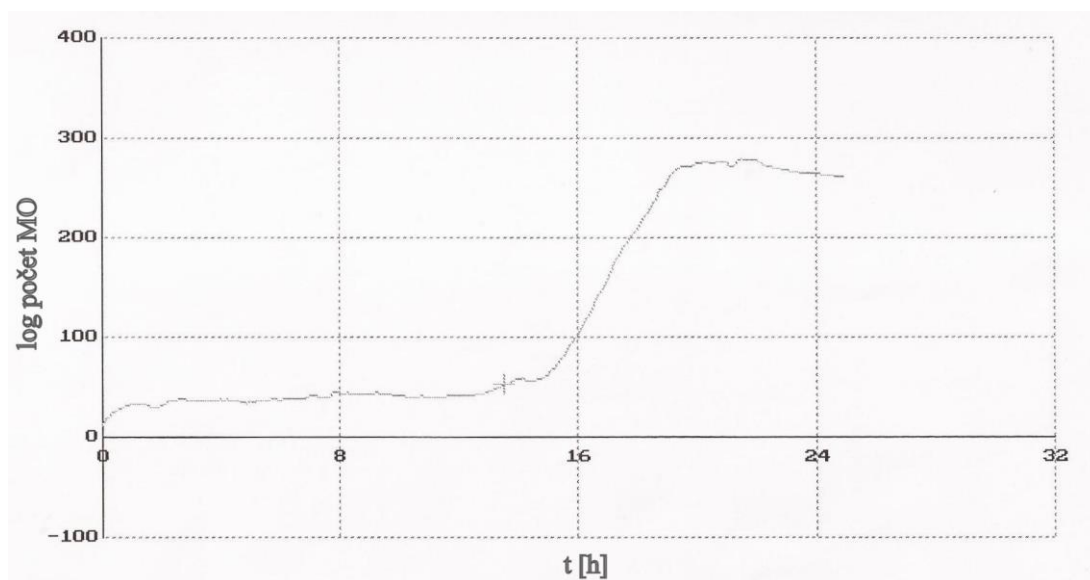


Graf 13 zobrazuje růstovou křivku testovacího kmene při použití zátěže. Tato křivka je srovnávána s ostatními křivkami s přítomností desinfekčního přípravku o určité koncentraci se zátěží.

Detekční čas byl zde zaznamenán 2,2 hodin. Průměr všech hodnot detekčních časů (DT) kontroly je uveden v Tabulce 11.

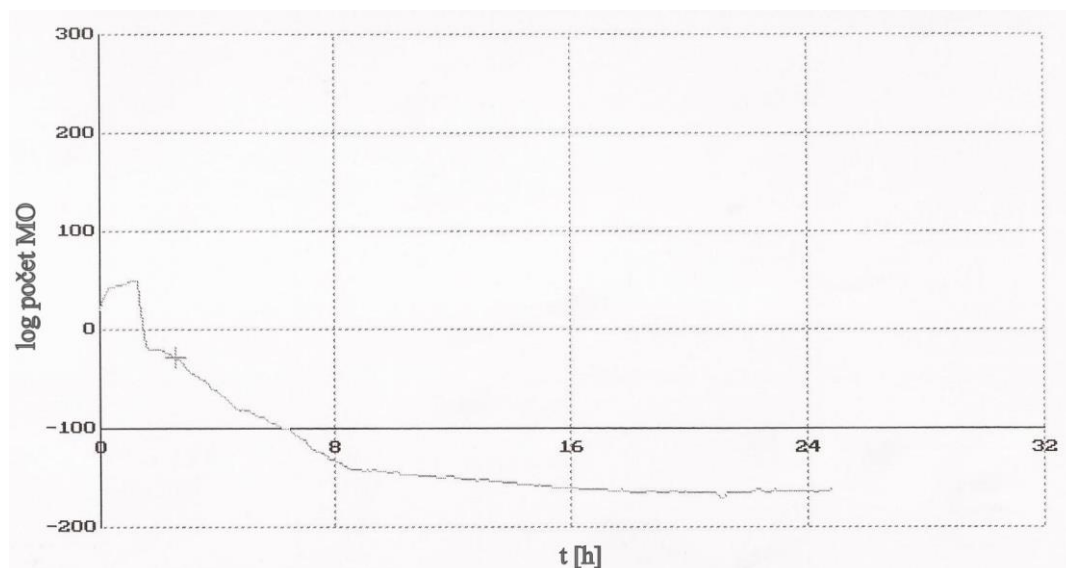
V Grafech 14–16 vidíme příklady křivek, kdy růst mikroorganismů inhibuje desinfekční prostředek CHIROX v přítomnosti zátěže. Výsledky stanovení jsou shrnuty v Tabulce 11.

Graf 14: Koncentrace 1% se zátěží



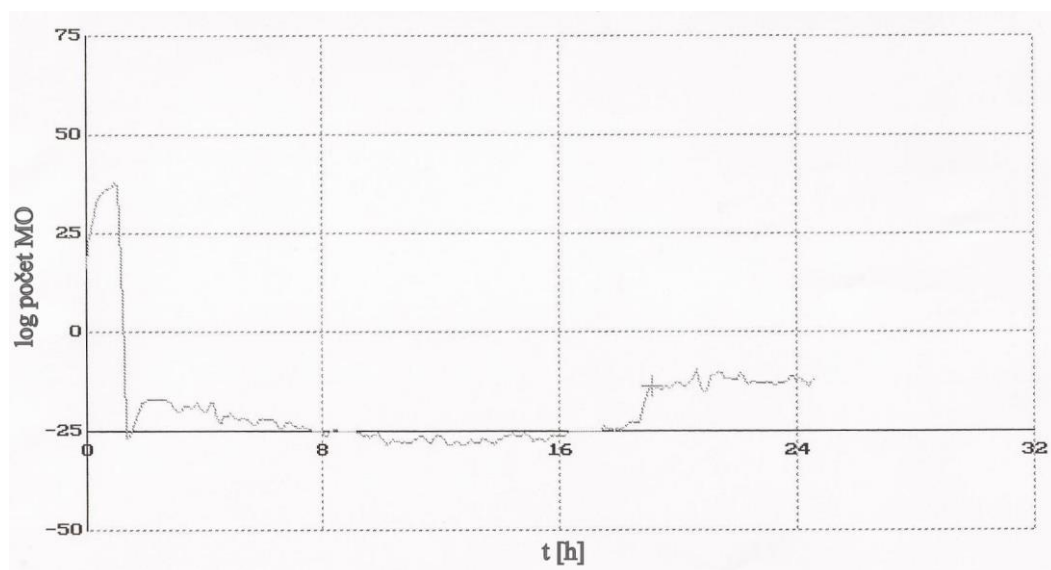
Při stanovení 1% koncentrace přípravku CHIROX s použitím zátěže (Graf 14) se křivka podobá kontrolní růstové křivce (viz Graf 13). V tomto případě došlo k zaznamenání detekčního času stejně jako v případě měření bez zátěže. Při přítomnosti zátěže se detekční čas zkrátil v celkovém průměru o 7,8 hodin oproti případu bez použití zátěže. I přesto je hodnota detekčního času příliš vysoká a po dosazení do rovnice pro výpočet metabolické aktivity odpovídající log počtu mikroorganismů, bylo vypočteno číslo záporné; $-0,9$. Detekční čas byl proto definován jako nulový a detekční čas zaznamenaný přístrojem nebyl zohledněn.

Graf 15: Koncentrace 2% se zátěží



V Grafu 15 křivka zasahuje do záporných hodnot a poté ještě dále klesá, nevykazuje žádnou podobnost s růstovou křivkou. Z křivky je tedy zřejmé, že došlo k potlačení růstu mikroorganismů a detekční čas zde byl určen jako nulový. Detekční čas zaznamenaný přístrojem nesouvisí s růstem mikroorganismů, a proto nebyl zohledňován. Výsledky stanovení jsou shrnuty v Tabulce 11.

Graf 16: Koncentrace 3% se zátěží



Křivka Grafu 16 zaznamenává mnohočetné skoky, při srovnání s růstovou křivkou nevykazuje žádnou podobnost. Detekční čas zaznamenaný přístrojem nesouvisí s růstem mikroorganismů, nebyl tedy zohledněn a byl definován jako nulový.

4.2.3 Celkové zhodnocení desinfekčního efektu přípravku CHIROX

Tabulka 10: Výsledky měření přípravku CHIROX; zkouška bez zátěže

Celkový počet MO v suspenzi testovacího kmene: $1,26 \cdot 10^8$					
Koncentrace (%)	Expozice (h)	DT (h)	MBC	MIC	Desinfekční efekt ($N_o - N_d$)
			Detekce růstu: pozitivní (+), negativní (-)	Metabolická aktivita odpovídající log počtu MO	
1	24	0 (-4,19)	+	0 (N_d)	8,1
2	24	0	+	0 (N_d)	8,1
3	24	0	+/-	0 (N_d)	8,1
Kontrola	24	2,9	+	8,1 (N_o)	–

Tabulka 11: Výsledky měření přípravku CHIROX; zkouška se zátěží

Celkový počet MO v suspenzi testovacího kmene: $7,9 \cdot 10^8$					
Koncentrace (%)	Expozice (h)	DT (h)	MBC	MIC	Desinfekční efekt ($N_o - N_d$)
			Detekce růstu: pozitivní (+), negativní (-)	Metabolická aktivita odpovídající log počtu MO	
1	24	0 (-0,9)	+	0 (N_d)	8,9
2	24	0	+	0 (N_d)	8,9
3	24	0	+/-	0 (N_d)	8,9
Kontrola	24	2,53	+	8,9 (N_o)	–

Přípravek prokázal v obou případech vysokou bakteriostatickou účinnost pro všechny testované koncentrace, což bylo zjištěno vyočkováním na krevní agary a následnou vizuální kontrolou pomocí detekce růstu, která byla pozitivní.

Baktericidnost se začala projevovat až v případech 3% koncentrace přípravku:

Při testování *bez zátěže* se baktericidnost projevila pouze ve dvou případech; detekce růstu „negativní (-)“; ve zbylých pěti případech se prokázala opět bakteriostatická účinnost; detekce růstu „pozitivní (+)“. Převažoval tedy bakteriostatický účinek.

Při testování *se zátěží* se baktericidnost projevila pouze v jednom případě, kdy byla detekce růstu negativní, a v šesti ostatních případech byl nárůst kolonií prokázán pozitivní detekcí růstu.

Desinfekční efekt se projevil poklesem metabolické aktivity mikroorganismů o více jak 8 logaritmických řádů při obou zkouškách. Podle výsledků je patrné, že přípravek je dostatečně účinný i za použití zátěže.

Pokles počtu přežívajících mikroorganismů by měl být při laboratorním vyšetření přípravků určených na desinfekci ploch a povrchů minimálně o 5 logaritmických řádů. Přípravek CHIROX svými dosaženými výsledky tedy vyhovuje podmínkám kladeným na účinnost desinfekčních látek.

4.3 Celkové shrnutí experimentu

Oba testované přípravky DESAM EXTRA a CHIROX vyhovují podmínkám kladeným na účinnost desinfekčních látek na povrchy. Testovací kmen *Salomonella typhimurium* CCM 4419 byl k oběma přípravkům citlivý.

Lepších výsledků dosáhl přípravek DESAM EXTRA, jelikož k baktericidnímu účinku docházelo již při nejnižších testovaných koncentracích, což neovlivnila ani přítomnost zátěže, která simuluje provozní podmínky, kdy může být snížena desinfekční účinnost přípravku. Baktericidní účinnost zajistí usmrcení mikroorganismů, přípravek je tedy spolehlivý.

Přípravek CHIROX prokázal vysokou bakteriostatickou účinnost, což má za následek potlačení až zastavení růstu mikroorganismů, avšak po odeznění účinku přípravku mikroorganismy začnou opět růst. Baktericidní účinnost se začala projevovat až u 3% koncentrace tohoto přípravku, a ani tak nebyla tato účinnost stoprocentní, jelikož převažoval bakteriostatický účinek. Příprava desinfekčního přípravku CHIROX byla složitá, jelikož se přípravek špatně rozpouštěl, což mohlo do jisté míry jeho účinnost ovlivnit.

5 ZÁVĚR

Bakalářská práce byla věnována tématu desinfekčních prostředků v potravinářství. V úvodu byla nastíněna řešená problematika a její důležitost.

V teoretické části bylo vysvětleno, proč je proces desinfekce v potravinářství a potravinářských výrobcích nepostradatelný a stěžejní. Dále byly popsány možné kontaminace potravin a potravinářských surovin, bylo vysvětleno základní dělení kontaminace, kde podrobněji byla popsána kontaminace mikrobiální, která je stěžejním tématem této bakalářské práce. Další část bakalářské práce byla věnována ochranným prostředkům před nežádoucí kontaminací, byla popsána desinfekce, druhy desinfekce, zásady provádění desinfekce a etapy desinfekce. Podrobněji byla rozebrána samotná chemická desinfekce a mechanismy účinků desinfekčních látek na mikroorganismy. Dále bylo pojednáváno o rizicích, která mohou nastat, dojde-li k nedodržení správné hygienické praxe. Zejména zde byly popsány nejběžnější alimentární nákazy, otravy a onemocnění z potravin. V neposlední řadě byly popsány základní mikrobiologické principy a úkony, jejichž znalost je potřebná k provedení experimentu.

Experimentální část bakalářské práce byla provedena metodou stanovení minimální inhibiční koncentrace přípravků suspenzní metodou s využitím elektrické vodivosti, kdy byl použit testovací kmen *Salmonella typhimurium* CCM 4419. Byl stanoven desinfekční účinek dvou vybraných přípravků. Dále byla stanovena minimální baktericidní koncentrace, která mimo jiné sloužila jako vizuální kontrola.

Oba testované přípravky splňují požadavky pro přípravky určené na desinfekci ploch a povrchů. Pokles počtu přežívajících mikroorganismů při laboratorním vyšetření byl ve všech případech o více jak 5 logaritmických řádů.

Celkově lepšího výsledku dosáhl přípravek DESAM EXTRA, který ve všech případech (i s použitím zátěže) měl baktericidní účinek. Tento přípravek zajistí usmrcení mikroorganismů.

Přípravek CHIROX vykazoval převážně bakteriostatický účinek. Tento přípravek způsobí potlačení až zastavení růstu mikroorganismů, avšak po odeznění jeho účinku dojde k opětovnému pomnožení a nárůstu. Příprava desinfekčního roztoku tohoto přípravku byla komplikována jeho špatnou rozpustností, což by v provozu mohlo působit komplikace právě v kombinaci s jeho bakteriostatickým účinkem.

6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] ŠILHÁNKOVÁ, Ludmila. *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*. Vyd. 3. [i.e. 4.], opr. a dopl., v nakl. Academia 1. vyd. [i.e. 2. vyd.]. Praha: Academia, 2008, 363 s. ISBN 978-80-200-1703-1.
- [2] SPRENGER, Richard A. *Hygiena potravin pro středně pokročilé: písemný materiál určený ke školení a jako příručka pro mistry a střední management*. 4th ed. Doncaster: Highfield, 2003, 128 s. ISBN 1-904544-19-3.
- [3] KADLEC, Pavel, Karel MELZUCH a Michal VOLDŘICH. *Procesy a zařízení potravinářských a biotechnologických výroby: [technologie potravin]*. Vyd. 1. Ostrava: Key Publishing, 2012, 494 s. ISBN 978-80-7418-086-6.
- [4] KADLEC, Pavel. *Technologie potravin*. Vyd. 1. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2002, 300 s. ISBN 80-7080-509-9.
- [5] VOTAVA, Miroslav. *Lékařská mikrobiologie obecná*. 2., přepr. vyd. Brno: Neptun, 2005, 351 s. ISBN 80-86850-00-5.
- [6] ŠLITROVÁ, Barbora. *Srovnání biocidní účinnosti dezinfekčních přípravků proti biofilmu: Comparison of the biocidal activity of disinfectants against biofilm*. Brno: Vysoké učení technické, Fakulta chemická, 2010. 53 s. Diplomová práce. Vedoucí práce Jiřina Omelková.
- [7] MELICHERČÍKOVÁ, Věra. *Ochranná dezinfekce*. Vyd. 1. Praha: Sdružení pracovníků dezinfekce, dezinfekce a deratizace České republiky, 2003, 118 s. ISBN 80-02-01559-2.
- [8] HORÁKOVÁ, Jana. *Základy dezinfekce, dezinfekce a deratizace v potravinářství*. Vyd. 1. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2007, 119 s. ISBN 978-80-7305-014-6.
- [9] KOMÁR, Aleš. *Technologie, zbožížnalství a hygiena potravin*. Vyd. 1. Brno: Univerzita obrany, 2008, 140 s. ISBN 978-80-7231-279-5.
- [10] VESELÁ, Mária. *Praktikum z obecné mikrobiologie*. 3. vyd. Brno: VUT FCH, 2004, 99 s. ISBN 80-214-2567-9.
- [11] VÍTOVÁ, Eva. *Hygiena potravin*. Vyd. 1. Brno: VUT FCH, 2004, 128 s. ISBN 80-214-2680-2.
- [12] POPLAWSKA, Izabela, Elwira WĘGŁOWSKA a Jacek LUBCZAK. Polyetherols from isocyanuric acid and ethylene carbonate. *Journal of Applied Polymer Science* [online]. 2004-03-05, vol. 91, issue 5, s. 2750-2755 [cit. 2014-11-29]. DOI: 10.1002/app.13484. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/app.13484>
- [13] CUI, Na, Xiaoxiang ZHANG, Qing XIE, Se WANG, Jingwen CHEN, Liping HUANG, Xianliang QIAO, Xuehua LI a Xiyun CAI. Toxicity profile of labile preservative bronopol in water: The role of more persistent and toxic transformation products. *Environmental Pollution* [online]. 2011, vol. 159, issue 2, s. 609-615 [cit. 2014-11-29]. DOI: 10.1016/j.envpol.2010.09.036. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0269749110004562>
- [14] *Halogeny* [on-line]. Nadika, viz obrázek. Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Katedra učitelství a didaktiky chemie. 25.9.2014 [cit. 1.12.2014]. Dostupné z:

<http://web.natur.cuni.cz/~kudch/main/halogeny/HALOGENY/HALOGENY/slov/n.html#Zacatek>

- [15] JANSEN, Ludger a Stefan SCHULZ. Grains, components and mixtures in biomedical ontologies. *Journal of Biomedical Semantics* [online]. 2011, vol. 2, Suppl 4, S2- [cit. 2014-11-30]. DOI: 10.1186/2041-1480-2-S4-S2. Dostupné z: <http://www.jbiomedsem.com/content/2/S4/S2>
- [16] JANOTOVÁ, Lucie. *Bezpečnost potravin ve stravovacích provozech*. 1. vyd. Plzeň: Jídelny.cz, 2014, 215 s. ISBN 978-80-905557-1-6.
- [17] KADLEC, Pavel, Karel MELZUCH a Michal VOLDŘICH. *Co byste měli vědět o výrobě potravin?: technologie potravin*. Vyd. 1. Ostrava: Key Publishing, 2009, 536 s. ISBN 978-80-7418-051-4.
- [18] MALACHOVÁ, Kateřina. *Praktikum z mikrobiologie*. Vyd. 2. Ostrava: Ostravská univerzita, 2007, 1 CD-ROM. ISBN 978-80-7368-411-2.
- [19] KOUKALOVÁ, Dagmar. *Praktická cvičení z lékařské mikrobiologie I*. 2. vyd. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2009, 94 s. ISBN 978-80-244-2266-4.
- [20] VLKOVÁ, Eva a Vojtěch RADA. *Cvičení z potravinářské mikrobiologie: pro posluchače FAPPZ*. Vyd. 1. Praha: Česká zemědělská univerzita v Praze, 2013, 47 s. ISBN 978-80-213-2402-2.
- [21] MÜLLEROVÁ, Dana a Anna AUJEZDSKÁ. *Hygiena, preventivní lékařství a veřejné zdravotnictví*. 1. vyd. Praha: Karolinum, 2014, 254 s. ISBN 978-80-246-2510-2.
- [22] BARTOŠOVÁ, Lenka a Alena HANULÍKOVÁ. Mikrobiální původci alimentárních onemocnění. In: *Státní zemědělská a potravinářská inspekce* [online]. 11. 12. 2014 [cit. 2015-04-04]. Dostupné z: <http://www.szpi.gov.cz/docDetail.aspx?docid=1000167&docType=ART&nid=11325>
- [23] JECHOVÁ, I. *Příprava vybraných mikrobiálních metabolitů z odpadních surovin*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2011. 98 s. Vedoucí diplomové práce Ing. Libor Babák, Ph.D.
- [24] VOLDŘICH, Michal. *Zavádění systému kritických bodů (HACCP): základní informace, postup zavádění, příklady dokumentů*. 1. vyd. Praha: ÚZPI-Ústav zemědělských a potravinářských informací, 2000, 96 s. ISBN 80-727-1004-4
- [25] LAWLEY, Richard. Listeria. In: *Food Safety Watch: The science of safe food* [online]. February 2, 2013 [cit. 2015-04-04]. Dostupné z: <http://www.foodsafetywatch.org/factsheets/listeria/>
- [26] Přehled právních předpisů souvisejících s ochranou veřejného zdraví a činností hygienické stanice. In: *Krajská hygienická stanice kraje Vysočina* [online]. [cit. 2015-04-04]. Dostupné z: <http://www.khsjih.cz/pravni-predpisy.php>
- [27] Legislativa. In: *Ministerstvo zemědělství 2010-2015* [online]. [cit. 2015-04-25]. Dostupné z: http://eagri.cz/public/web/mze/legislativa/pravni-predpisy-mze/tematicky-prehled/Legislativa-MZe_uplna-zneni_vyhlasaka-2010-45-rusi-147-1998.html

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

a.s.	akciová společnost
aj.	a jiné
apod.	a podobně
atd.	a tak dále
BVDV	bovinní virová diarea
cca	přibližně
DT	detekční čas
DVV/RKI	standartní laboratorní metoda dle institutu Roberta Kocha
<i>E.</i>	<i>Escherichia</i>
ECHO	Enteric Cytopatic Human Orphans virus
EHEC	enterohemoragické
EIEC	enteroinvazivní
<i>En.</i>	<i>Enterococcus</i>
EPEC	enterpatogenní
ES	Evropské společenství
ETEC	enterotoxigenní
EU	Evropská unie
HACCP	Hazard Analysis and Critical Control Point (Systém kritických bodů)
KAS	kvarterní amoniové sloučeniny
KTJ	kolonii tvořící jednotka
<i>M.</i>	<i>Mycobacterium</i>
MBC	minimální baktericidní koncentrace
MIC	minimální inhibiční koncentrace
MO	mikroorganismus
MRSA	methicilin-rezistentní <i>Staphylococcus aureus</i> (zlatý stafylokok)
např.	například
<i>Ps.</i>	<i>Pseudomonas</i>
SOP	standartní operační postup
spp.	více druhů daného rodu
<i>St.</i>	<i>Staphylococcus</i>
tj.	to je
tzv.	tak zvaně
ÚSKVBL	Ústav pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv

8 PŘÍLOHY

Tabulka 12: Charakterizace patogenity nejvýznamnějších patogenních MO [17], [21], [22]

Patogenní MO	Zdroj kontaminace	Výskyt v potravinách	Infekční dávka	Inkubační doba	Vyvolané onemocnění
rod <i>Salmonella</i>	Zažívací trakt člověka a zvířat	Maso, drůbež, vejce, nepasterované mléko	Celkové pozření $> 10^6$ bakterií*	12–72 h	Salomonelóza, břišní tyfus
<i>Listeria monocytogenes</i>	Všudypřítomný výskyt	Vepřové maso, sýry vyrobené z nepasterovaného mléka (sýry, cukrářské a lahůdkářské výrobky...)	10^8 *; pro jedince se sníženou imunitou 10^2 – 10^3 **	24 h až 3 týdny	Listerióza
<i>Campylobacter jejuni</i>	Zažívací trakt člověka a zvířat	Maso, drůbež, vejce, nepasterované mléko	500 – 10^3 zárodků**	72–120 h	Kampylobakteriíóza
rod <i>Shigella</i>^t	Zažívací trakt člověka a zvířat	Zelenina, ručně připravované pokrmy	10^2 buněk***	24–168 h	Shigelióza (bakteriální úplavice)
<i>Yersinia enterocolitica</i>^t	Zažívací trakt člověka a zvířat	Nedostatečně tepelně upravené maso a tepelně opracované masné výrobky (vepřové)	10^9 *	24–36 h	Yersinóza
<i>Staphylococcus aureus</i>^t	Přenášen lidmi (pokožka, nosní dutina, hnisající rány...)	Hotová jídla, saláty, těstoviny, mléčné, vaječné a masné výrobky, zákusky...	1 mg toxinu*	2–6 h	Enterotoxikóza
EPEC^t	Zažívací trakt člověka a zvířat	Sýry, nedostatečně umytá zelenina	10^4 – 10^8 zárodků/g*	12–72 h	„Cestovatelský průjem“
EHEC^t	Zažívací trakt člověka a zvířat	Nedostatečně tepelně upravené mleté maso	50–100 bakterií***	2–10 dny	Hemoragická kolitida až hemolyticko-uremický syndrom

Patogenní MO	Zdroj kontaminace	Výskyt v potravinách	Infekční dávka	Inkubační doba	Vyvolané onemocnění
<i>Bacillus cereus</i> ^t	Půdní bakterie	Potraviny rostlinného původu	10 ⁶ zárodků/g*	1–6 h	Enterotoxikóza
<i>Clostridium botulinum</i> ^t	Zažívací trakt člověka a zvířat	Šunka, masové a zeleninové konzervy, ryby	0,2 µg toxinu***	12–36 h	Botulismus
Toxinogenní plísně^t	Všudypřítomný výskyt	Cereálie, olejniný, ovoce atd.	Onemocnění se projeví po dlouhodobém požívání napadených potravin		Velmi různorodé: rakovina, renální toxicita...

Mikroorganismy označeny „^t“ vyvolávají alimentární onemocnění produkcí toxinu.

Za vysokou infekční dávku lze považovat hodnoty označené „*“.

Za nízkou infekční dávku lze považovat hodnoty označené „**“.

Za velmi nízkou infekční dávku lze považovat hodnoty označené „***“.

Infekční dávka vyvolávající onemocnění u rodu *Salmonella* silně závisí na infikovaném jedinci a na druhu bakterie, v některých případech proto infekční dávkou mohou být už nízké dávky (cca 15–20 buněk).