

**Hodnotenie rizika mikrobiálnej kontaminácie – čerstvé ovocné a zeleninové
šťavy, šaláty**

**Risk assessment of microbiological risk – fresh fruit and vegetable juices
and salads**

Autori: doc. Ing. Lucia Bírošová, PhD.¹, Mgr. Ing. Zuzana Sirotná, MPH, MHA²

¹*Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská technická univerzita v Bratislave,
Radlinského 9, 81237 Bratislava, lucia.birosova@stuba.sk*

²*Úrad verejného zdravotníctva SR, Trnavská cesta 52, 826 45 Bratislava,
zuzana.sirotna@uvzsr.sk*

Názov: Hodnotenie rizika mikrobiálnej kontaminácie – čerstvé ovocné a zeleninové šťavy, šaláty

Editor: Národný kontaktný bod pre vedeckú a technickú spoluprácu s Európskym úradom pre bezpečnosť potravín

Vydavateľ: Ministerstvo pôdohospodárstva a rozvoja vidieka SR

Vydanie: 1. vydanie, november 2018

Rozsah: 29 strán

Náklad: e-dokument online- pdf, Neprešlo jazykovou úpravou.

Copyright © Ministerstvo pôdohospodárstva a rozvoja vidieka SR

ISBN: 978-80-89738-17-5

ABSTRAKT

Čerstvé ovocie a zelenina predstavujú dôležitú súčasť ľudskej výživy, a to najmä pre vysoký obsah vitamínov, minerálov a vlákniny. V súčasnosti sú na trhu takisto v podobe ovocných a zeleninových šalátov, či štiav. V dnešnej uponáhľanej dobe si takéto potraviny určené na priamu spotrebu čoraz viac získavajú popularitu u konzumentov. Čerstvé ovocie a zelenina sú však aj zdrojom mikroorganizmov, ktoré môžu zapríčiniť alimentárne nákazy a epidémie. Tieto ochorenia môže spôsobovať nedostatočná hygiena, či kontaminácia pri spracovávaní potravín.

Cieľom tejto práce je poskytnúť komplexný obraz o mikrobiologickom riziku čerstvých zeleninových a ovocných šalátov a nápojov určených pre konzumentov. Práca poukazuje na mikrobiotu a kolonizáciu rastlinných matric, ako aj na ochorenia a epidémie súvisiace s ich konzumáciou. Rovnako sa zaoberá aj možnou prevenciou či elimináciou nežiaducich mikroorganizmov v potravinách rastlinného pôvodu. Taktiež obsahuje výsledky mikrobiologických analýz uskutočnených v rámci monitoringu v laboratóriách mikrobiológie životného prostredia v regionálnych úradoch verejného zdravotníctva a v laboratóriu nutričnej a environmentálnej mikrobiológie Oddelenia výživy a hodnotenia kvality potravín FCHPT STU v roku 2017. Vzorky čerstvého ovocia a zeleniny, šalátov, štiav a smoothie vyrobených z nich boli odobraté v zariadeniach spoločného stravovania a stánkoch rýchleho občerstvenia v 10 krajoch SR. Najviac pozitívnych vzoriek bolo zaznamenaných v prípade zeleninových šalátov. V prípade nápojov typu smoothie bola zaznamenaná aj prítomnosť koliformných baktérií a enterokokov rezistentných voči antibiotikám. Okrem toho boli v týchto nápojoch identifikované aj baktérie, spôsobujúce pneumónie, ktoré v podobe bioaerosolov vznikajúcich pri príprave môžu ohrozovať aj personál pripravujúci nápoje.

Kľúčové slová: zelenina, ovocie, šaláty, šťavy, smoothie, mikrobiota, bezpečnosť potravín

ABSTRACT

Fresh fruit and vegetables are an important part of human nutrition, especially for the high content of vitamins, minerals and dietary fibre. Currently, fruit and vegetable are sold also in form of salads or juices. In today's flustered times, such ready-to-eat food are increasingly gaining popularity among consumers. Fresh fruit and vegetables are also a source of microorganisms that can cause alimentary infections and epidemics. These diseases can be caused by poor hygiene or contamination during food processing and handling.

The aim of this work is to provide a comprehensive picture of the microbiological risk of ready-to-eat fresh vegetable and fruit salads and beverages. The work highlights the microbiota and colonization of plant matrices as well as diseases and epidemics related to their consumption. It also deals with possible prevention or elimination of undesirable microorganisms in food of plant origin. It contains the data of microbiological analyses carried out as part of the monitoring performed by Laboratory of microbiology and environment (Public Health Authority of the SR) and Laboratory of nutritive and environmental microbiology (Department of Nutrition and Food Quality Assessment FCHPT STU) in 2017 in Slovak Republic. Samples of fresh fruit and vegetables, salads, juices and smoothies were collected in mass caterers and fast food stalls in 10 regions of the SR. The highest number of positive samples was recorded for vegetable salads. In the case of smoothie drinks, the presence of antibiotic resistant coliform bacteria and enterococci has also been reported. In addition, bacteria causing pneumonia have also been identified in these drinks, which can also endanger the staff preparing beverages in the form of bioaerosols produced during preparation.

Keywords: vegetable, fruit, salads, juices, smoothies, microbiota, food safety

OBSAH

| | |
|---|----|
| 1. ÚVOD..... | 6 |
| 2. MANDÁT..... | 7 |
| 3. RASTLINNÉ POTRAVINOVÉ MATRICE..... | 9 |
| 3.1. CHEMICKÉ ZLOŽENIE OVOCIA A ZELENINY..... | 9 |
| 3.2. MIKROBIOTA OVOCIA A ZELENINY A ZDRAVOTNÉ RIZIKO..... | 10 |
| 3.3. ZDROJE KONTAMINÁCIE A MOŽNOSTI PREVENČIE..... | 14 |
| 4. NÁPOJE Z ČERSTVÉHO OVOCIA A ZELENINY..... | 16 |
| 4.1. ČERSTVÉ OVOCNÉ A ZELENINOVÉ ŠŤAVY..... | 16 |
| 4.2. NÁPOJE TYPU SMOOTHIE..... | 17 |
| 5. ZÁVER..... | 24 |
| 6. ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY..... | 25 |

1. ÚVOD

Natívne rastlinné potravinové matrice, teda ovocie a zelenina, predstavujú neoddeliteľnú súčasť výživového reťazca. Sú nenahraditeľným zdrojom vitamínov a minerálov, ako aj vlákniny upravujúcej peristaltiku čriev. Hoci štatistiky uvádzajú, že konzumácia ovocia a zeleniny je na Slovensku stále veľmi nízka, spotreba týchto potravín najmä v surovom stave neustále narastá v dôsledku dopytu konzumentov po zdravom životnom štýle. Surová zelenina a ovocie, či nápoje pripravené z nich sú aj súčasťou rôznych diét. Práve nápoje ako lisované nepasterizované šťavy, či nápoje typu smoothie, získavajú vďaka svojej chutnosti, ale najmä vďaka propagovaným blahodarným účinkom na ľudské zdravie, čoraz viac na popularite. Rovnako aj hotové zeleninové či ovocné šaláty predávané na priamu spotrebu sú taktiež obľúbené. Hoci sa vo veľkej miere konzumujú čerstvé, všeobecne sa považujú za mikrobiologicky bezpečnejšie potraviny ako iné priemyselne opracované potraviny ako mäso, mlieko, vajcia či hydina. Napriek tomu však analýza prípadov alimentárnych ochorení vo svete jednoznačne poukazuje na asociáciu medzi infekciou a konzumáciou kontaminovaného ovocia a zeleniny, prípadne surových zeleninových šalátov a nepasterizovaných ovocných a zeleninových štiav. Pôvodcom väčšiny epidémií sú navyše zoonotické patogény, ktoré v minulosti boli spájané primárne s konzumáciou potravín živočíšneho pôvodu..

V roku 2015 zverejnil Európsky úrad pre bezpečnosť potravín (EFSA) závery, ku ktorým sa dopracoval panel pre biologické riziká pri hodnotení mikrobiologických rizík potravín neživočíšneho pôvodu. Panel konštatoval, že najväčšie nebezpečenstvo predstavuje *Salmonella* spp. na listovej zelenine, ktorá je konzumovaná v surovom stave. Z tohto hľadiska je preto potrebné, aby sa venovala dostatočná pozornosť mikrobiologickej analýze čerstvých rastlinných potravinových matric, ako aj produktov z nich, ktoré neprešli fyzikálnym či chemickým ošetrením a sú určené na priamu konzumáciu a môžu predstavovať zdravotné riziko pre konzumenta.

2. MANDÁT

Experti národnej odbornej vedeckej skupiny (NOVS) pre biologické riziká predložili na 30. rokovaní Komisie pre bezpečnosť potravín a výživu návrh na hodnotenie rizika „Hodnotenie rizika mikrobiálnej kontaminácie – čerstvé ovocné a zeleninové šťavy, šaláty“.

Komisia pre bezpečnosť potravín a výživu jednohlasne odporúčala návrh na hodnotenie rizika prijať a ako riešiteľa navrhla doc. Ing. Luciu Bírošovou, PhD.

Odbor bezpečnosti potravín a výživy (OBPV) mandát prijíma a následne pripraví Dohodu o vykonaní práce na vypracovanie hodnotenia rizika do 71 hodín v termíne od 1. 4. 2018 do 31. 10. 2018. Osnova hodnotenia rizika je súčasťou tohto mandátu. Hodnotenie rizika bude pred jeho prebratím OBPV podrobené verejnej diskusii v rámci NOVS pre biologické riziká. Preberacie konanie bude ukončené až po zodpovedaní všetkých pripomienok.

Vypracovaním a zverejnením hodnotenia rizika na webovom sídle Ministerstva pôdohospodárstva a rozvoja vidieka Slovenskej republiky (MPRV SR) a na Extranete EFSA (Extranet-DMS) sa splní bod A prílohy I viacročnej grantovej Dohody kontaktného bodu podpísanej medzi EFSA a MPRV SR o zabezpečení výmeny vedeckých informácií o dôležitých vedeckých výstupoch, zbere dát a dôležitých vedeckých informáciách týkajúcich sa hodnotenia rizika.

ODBORNÁ ČASŤ

Čerstvá zelenina a ovocie predstavuje významný zdroj vitamínov a minerálov. Z tohto hľadiska v posledných rokoch vzrástol dopyt verejnosti po produktoch ako sú čerstvé ovocné a zeleninové šaláty a šťavy. Tieto potraviny určené na priamu konzumáciu sú predávané v rôznych malých a stredných obchodných prevádzkach. Hoci takéto potravinové matrice sú zdrojom látok prospešných pre zdravie konzumenta, môžu obsahovať aj mikrobiálnu kontamináciu zodpovednú za vznik alimentárnych ochorení s rôznym stupňom intenzity, v horších prípadoch končiacich smrťou. Príkladom môže byť epidémia v Európe spôsobená shiga-toxinogénnou *Escherichia coli* (ďalej len „*E. coli*“) O104:H4 v dôsledku konzumácie klíčkov senovky gréckej či epidémia v USA spôsobená prítomnosťou salmonely a *E. coli* O157 v špenáte a paradajkách. Mikrobiálna kontaminácia takýchto potravinových produktov je zväčša spôsobená nedostatočnou hygienou pri príprave priamo v prevádzkach. V dôsledku zmeny stravovacích návykov slovenskej populácie a rozšírenia prevádzok ponúkajúcich čerstvé ovocné a zeleninové šťavy a šaláty určené na priamu spotrebu v Slovenskej republike

(ďalej len „SR“), je vhodné vyhodnotiť riziko expozície mikrobiálnym osídlením uvedených komodít po ich konzumácii.

Fresh fruits and vegetables are rich sources of vitamins and minerals. In this regard, public demand for products such as fresh fruit and vegetable salads and juices has increased in recent years. These foods intended for direct consumption are sold in a variety of small and medium-sized foodservice establishments. Although such foodstuffs are a source of compounds beneficial for consumer's health, they may also contain microbial contamination responsible for the development of alimentary diseases, in worse cases ending with death. An example may be serious international outbreaks in Europe caused by the shiga-toxigenic *E. coli* O104:H4 due to the consumption of fenugreek seed sprouts or outbreak in the US caused by *Salmonella* sp. and *E. coli* O157 in spinach and tomatoes. Outbreak investigations often indicate that food service establishments greatly contribute to foodborne diseases involving in fresh ready-to-eat products. As a result of changes in the eating habits of the Slovak population and the expansion of establishments offering fresh fruit and vegetable juices and salads for direct consumption in the Slovak Republic, it is appropriate to assess the risk from exposure of the Slovak population to microbiota from selected foods in the Slovak Republic on the basis of the obtained data.

3. RASTLINNÉ POTRAVINOVÉ MATRICE

3.1 CHEMICKÉ ZLOŽENIE OVOCIA A ZELENINY

Hlavnou a najviac zastúpenou chemickou zložkou ovocia sú jednoduché sacharidy. Ovocie je taktiež zdrojom vitamínov skupiny A, E, B a minerálnych látok. Organické kyseliny, predovšetkým kyselina askorbová, sú obsiahnuté hlavne v citrusovom ovocí. Prítomnosť kyselín v ovocí ma za následok ich typickú kyslú chuť. Celková chuť ovocia je daná pomerom trieslovín, kyselín a cukrov. Ďalšími dôležitými chemickými látkami sú rastlinné farbivá ako antokyány a karotenoidy (Sun-Waterhouse a kol., 2013). Zelenina má podobnú chemickú skladbu, avšak zastúpenie jednotlivých zložiek sa môže líšiť na základe druhu. Obsahuje hlavne viac bielkovín a minerálnych látok (Teleszko a Wojdylo, 2014). Listová a kapustová zelenina obsahuje aj látky nazývané glukozinoláty. Sú to sírnaté zlúčeniny, ktoré sa stávajú bioaktívne až po enzymatickej hydrolýze prostredníctvom myrozináz, ktoré sa uvoľňujú počas spracovania zeleniny v ústnej dutine. Konzumácia takejto zeleniny má za následok zníženie rizika vzniku nádorových ochorení pľúc, prostaty, prsníka a hrubého čreva (Pastorek a kol., 2007). Vlákna je tiež súčasťou ovocia a zeleniny. Špecifickou vlastnosťou vlákniny je rezistencia voči hydrolýze tráviacimi šťavami človeka. Vláknu delíme na nerozpustnú, ktorá je tvorená predovšetkým lignínom a celulórou a rozpustnú, ktorá je metabolizovaná pri prechode tráviacim traktom (online zdroj 1).

Vyššie spomenuté chemické látky majú predovšetkým pozitívny dopad na organizmus človeka. V ovocí a zelenine sa však nachádzajú aj látky, ktoré v zvýšených koncentráciách môžu negatívne vplyvať na náš organizmus. Do tejto skupiny látok patria napríklad biogénne amíny ako histamín či tyramín atď. V zrelých rajčinách bol zaznamenaný výskyt histamínu 11,1 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. V jablkách sa zas vyskytuje tyramín (3,6 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) a v listovej zelenine spermidín (11 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) (Kohajdová a Karovičová, 2001). Patria sem taktiež aj alergény a sekundárne rastlinné metabolity, ktoré vznikajú pri reakcii na stres. Antinutrienty sa prirodzene vyskytujú v ovocí, ale predovšetkým v zelenine. Patria sem napríklad oxaláty, či kyselina fytová. Červená repa, zeler a špenát majú vysoké hodnoty oxalátov v surovom stave, varom sa koncentrácia oxalátov znižuje. Oxaláty v malých rozumných množstvách sú neškodné, no pri nadmernom množstve sa dokážu hromadiť v tele a podieľajú sa na vzniku obličkových kameňov (Chai a Liebman, 2005). Kyselina fytová sa nachádza v brokolici, jahodách, mrkve, ale aj v obilninách. Interakcia medzi kyselinou fytovou a minerálnymi látkami predstavuje negatívne dopady na ľudský organizmus. Výsledkom tejto interakcie je znížená schopnosť

absorpcie zinku, železa a vápnika (Kumar a kol., 2010). Túto skupinu môžeme vo všeobecnosti zadefinovať ako látky prirodzene vyskytujúce sa v rastlinách. Z toho teda vyplýva, že existuje aj skupina látok, ktorá má negatívne dopady na organizmus človeka a nie je prirodzenou súčasťou rastlín. Do tejto skupiny látok patria hlavne pesticídy, ktoré sa používajú pri pestovaní na ochranu rastlín. Táto skupina látok je veľmi riziková hlavne pre svoje široké rozpätie negatívnych účinkov na organizmus (ŠVPS SR, 2017).

3.2 MIKROBIOTA OVOCIA A ZELENINY A ZDRAVOTNÉ RIZIKO

Mikrobiota ovocia a zeleniny je tvorená baktériami, kvasinkami a vláknitými hubami. Na mikrobiálnu skladbu má vplyv doprava, pôvod, podmienky pestovania a skladovanie surovín (Valík, 2016). Najčastejšie bakteriálne komunity sú reprezentované zástupcami rodov *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes* a *Proteobacteria*, pričom ich zastúpenie sa značne líši na základe druhu rastlinnej potraviny. Skupina gram-negatívnych baktérií zahŕňa jednak neškodné symbionty, ale aj oportúnne enteropatogény. Za jednu z najrizikovejších skupín sa považuje listová zelenina ako napr. hlávkový šalát, ktorá je globálne najčastejšie konzumovaná v surovom stave (Berg a kol., 2014). Käsbohrer a kol. (2014) analyzovali vzorky hlávkového šalátu a v prípade 1,3 % vzoriek zistili prítomnosť verocytotoxín produkujúcej *E. coli* (VTEC). Jedná sa o zoonotický patogén zo skupiny enteropatogénnych *E. coli*, tiež označovaných ako shiga-toxinogénne *E. coli* (STEC). Najznámejším zástupcom je *E. coli* O157:H7 spájaný s veľkými epidémiami, ale aj sporadickými prípadmi hemoragických kolitíd či vývojom hemolyticko-uremického syndrómu (HUS). Predpokladá sa, že prirodzeným zdrojom týchto patogénov je tráviaci trakt prežúvavcov a do prostredia, či potravinového reťazca sa môže dostať vo faeces dobytka (Karmali a kol., 2010). Hoci v minulosti boli tieto zoonotické patogény spájané najmä s epidémiami spôsobenými potravinami živočíšneho pôvodu, čoraz častejšie celosvetovo pozorujeme epidémie spojené s konzumáciou rastlinných potravinových matric. Za zmienku stojí napríklad epidémia v Japonsku v roku 1996, kedy zaznamenali 9451 prípadov nákazy po konzumácii bielej reďkovky kontaminovanej *E. coli* O157:H7 (Michino a kol., 1999). V roku 2011 spôsobili klíčky senovky gréckej kontaminované *E. coli* O104:H4 epidémiu v Nemecku (Buchholz a kol., 2011). Najnovšia epidémia spôsobená VTEC bola zaznamenaná v roku 2018 v USA po konzumácii rímskeho šalátu (CDC, 2018a). Okrem produkcie toxínu sa VTEC vyznačujú aj rezistenciou voči mnohým antibiotikám, čo do značnej miery komplikuje liečbu pacientov (Karmali a kol., 2010). Aj v prípade VTEC, ktorá spôsobila v roku 2011 veľkú epidémiu

v Nemecku, bola zistená produkcia širokospektrálnych betalaktmáz (ESBL) (Buchholz a kol., 2011). Okrem enteropatogénnych *E. coli* sú pomerne časté aj epidémie spôsobené baktériami rodu *Salmonella* spp., tie najnovšie sú asociované s konzumáciou uhoriek (EFSA, 2018) a melónu (CDC, 2018b). V oboch prípadoch išlo o nakrájané potraviny v podobe šalátu určených na priamu konzumáciu.

Pestovanie a spracovanie ovocia a zeleniny ma dôležitý vplyv na zloženie mikroorganizmov v ovocí a zelenine. Veľkoprodukcia a zintenzívnenie distribúcie čerstvej zeleniny a ovocia prispelo k nárastu počtu ochorení a epidémií (Olaimat a Holley, 2013). Ďalším faktorom, ktorý ovplyvňuje zloženie mikrobioty, je typ pestovania: ekologický vs. konvenčný, pričom závisí od typu použitých hnojív a pesticídov (Schmid a kol., 2011). Skočková a kol. (2013) porovnávali prítomnosť *E. coli* vo vzorkách čerstvej zeleniny z obchodných reťazcov ktoré sa líšili v spôsobe pestovania. Zaujímavé bolo zistenie, že v porovnaní s konvenčným pestovaním zaznamenali nižšie percento pozitívnych vzoriek pochádzajúcich z biohospodárstva. Toto však mohlo byť ovplyvnené celkovo nižším počtom vzoriek zeleniny z takéhoto typu pestovania. Rovnaké výsledky však zaznamenali aj McMahon a Wilson (2001), ktorí v 86 vzorkách zeleniny pochádzajúcej z bioprodukcie nedetegovali žiadne *E. coli*. Na druhej strane tento výsledok môže byť ovplyvnený aj výberom metodiky, kedy bol použitý iba gram vzorky. Problém predstavuje aj používanie antimikrobiálnych látok v poľnohospodárstve či živočíšnej výrobe, čím dochádza k selekcii a šíreniu rezistentných kmeňov (Berg a kol., 2014). V rámci prevencie tohto problému je od roku 2006 v Európskej únii prísny zákaz používania antibiotík v poľnohospodárstve, ako aj na zvyšovanie úžitkovej hmotnosti hospodárskych zvierat. Z tohto hľadiska však môže predstavovať riziko aplikácia stabilizovaného kalu, či odpadovej vody do pôdy za účelom fertilizácie či zavlažovania, nakoľko sa zistilo, že obe komodity obsahujú subinhibičné koncentrácie antimikrobiálnych látok. Tie môžu podporovať vznik rezistentných baktérií a šírenia génov rezistencie v prostredí (Bírošová a kol., 2014). Pri mikrobiálnej kontaminácii rezistentnými baktériami sa zdravotné riziko ešte zvyšuje. Bakteriálna rezistencia je schopnosť baktérií prežiť účinok letálnej alebo inhibičnej koncentrácie daného antibiotika. Niektoré druhy baktérií majú túto schopnosť prirodzene danú, veľkým problémom je však získaná rezistencia. Vznik získanej rezistencie môže byť spôsobený mutáciami, selekciou a výmenou génov medzi kmeňmi a druhmi (Campos a kol., 2013). Prítomnosť rezistentných baktérií v surovinách môže spôsobiť vznik infekcie s následnou komplikovanou liečbou. Prítomnosť týchto baktérií môže zhoršiť liečbu infekcie, dokonca v niektorých prípadoch je

liečba antibiotikami neúčinná. Rezistentné baktérie zhoršujú klinické príznaky infekcie (Ventola, 2015).

Ako už bolo spomenuté, mnoho epidémií asociovaných s konzumáciou čerstvej zeleniny či ovocia je spôsobených druhom *E.coli*, mnohokrát enteropatogénnym sérotypom. Táto baktéria patrí medzi koliformné baktérie, pričom mnohé z nich sú prirodzene prítomné v tráviacom trakte človeka. Táto skupina mikroorganizmov je častokrát spájaná s nedostatočnou hygienickou úrovňou. Spôsobujú vznik rôznych infekčných ochorení. Pôvodom ich výskytu v surovinách môže byť kontaminovaná pôda a voda. V hotovom produkte môže byť zdrojom kontaminácie aj nedostatočná hygienická úroveň prípravy (Görner a Valík, 2004). Medzi ďalšie rizikové koliformné baktérie patrí aj *Klebsiella pneumoniae* a *Klebsiella oxytoca*, ktoré dokážu spôsobiť vznik infekcie a pneumónie. Na výskyt koliformných baktérii poukazuje aj španielska štúdia, kde z analyzovaných 116 vzoriek čerstvej zeleniny bolo viac ako 50 % pozitívnych práve na koliformné baktérie. V prípade 16 vzoriek zeleninových šalátov, určených na priamu konzumáciu, boli všetky vzorky pozitívne na prítomnosť tejto skupiny baktérií. Okrem monitoringu sa sústredili aj na stanovenie profilu antimikrobiálnej citlivosti u získaných izolátov, pričom niektoré vykazovali aj získanú rezistenciu voči antibiotikám (Falomir a kol., 2010).

Vojkovská a kol. v roku 2014 analyzovali 339 vzoriek ovocia a zeleniny (čerstvého, krájaného ale aj mrazeného) z obchodnej siete v Českej republike. Bolo preukázané, že 5 % vzoriek bolo pozitívnych na prítomnosť *Listeria monocytogenes* (ďalej len „*L. monocytogenes*“), 0,3 % obsahovalo *Salmonella* Enteritidis a 0,3 % vzoriek obsahovalo *Staphylococcus aureus* rezistentný voči meticilínu. Autori zhodnotili, že najproblematickejšími komoditami boli krájané, ale aj mrazené potraviny rastlinného pôvodu. Táto štúdia naznačuje nedostatky v hygienických postupoch počas zberu, spracovania a distribúcie týchto komodít (Vojkovská a kol., 2017).

Nariadenie Komisie (ES) č. 2073/2005 z 15 novembra 2005: o mikrobiologických kritériách pre potraviny (ďalej len „Nariadenie“) stanovuje mikrobiologické kritériá bezpečnosti potravín pre ukazovateľ *Salmonella* a mikrobiologické kritériá hygieny procesu výroby pre počet *E. coli* v nakrájanom ovocí a zelenine (na priamu spotrebu) a nepasterizovaných ovocných a zeleninových šťavách (na priamu spotrebu). Podľa tohto právneho predpisu sa vyžaduje neprítomnosť baktérií rodu *Salmonella* v 25 g potraviny. Pre ukazovateľ *E. coli* platí, že ak je počet kolóniotvorných jednotiek (ďalej len „KTJ“) v jednom grame nižší alebo rovný 100, vzorka je vyhovujúca. V prípade, že jedna alebo viac odobratých vzoriek obsahuje viac ako 1000 KTJ/g alebo sa pohybuje v rozmedzí 100 – 1000 KTJ/g u viac odobratých

vzoriek, potravina je z mikrobiologického hľadiska nevyhovujúca. Nariadenie upravuje aj limity pre naklíčené semená (na priamu spotrebu), pričom udáva iba neprítomnosť baktérií rodu *Salmonella* sp. v 25 gramoch vyšetrovanej vzorky. Nariadenie 209/2013, ktoré dopĺňa 2073/2005 pridáva do mikrobiologických kritérií pre klíčky povinne testovať Shiga toxín produkujúce *E. coli* O157, O26, O111, O103, O145 a O104:H4, pričom stanovuje – neprítomnosť v 25 gramoch. Legislatíva SR (Výnos MP SR a MZ SR z 25.júla 2007 č. 16826/2007/OL) upravuje mikrobiologické kritériá len pre spracované ovocie a zeleninu (zmrazené, sušené, presladené, marinované a konzervované).

V roku 2016 bolo na území SR vyšetrených 23 vzoriek surového ovocia a zeleniny, pričom všetky boli negatívne na prítomnosť *E. coli*. Pozitívna však bola jedna vzorka klíčkov (z 11 vyšetrených), pričom bola zaznamenaná prítomnosť VTEC. V prípade vzoriek ovocných a zeleninových šalátov a štiav bolo na prítomnosť *E. coli* pozitívnych 3,27 % vzoriek (MPSR, 2017).

V roku 2017 analyzovali laboratória verejného zdravotníctva (ÚVZ, RÚVZ v SR) 15 vzoriek čerstvého ovocia a zeleniny a 531 vzoriek šalátov z čerstvej zeleniny alebo ovocia, odobratých v zariadeniach spoločného stravovania a zo stánkov rýchleho občerstvenia v 10 krajoch SR (Tab. 1).

Tab.1 Počty vyšetrených a pozitívnych vzoriek čerstvého ovocia a zeleniny ako aj šalátov z nich určených na priamu spotrebu z hľadiska prítomnosti vybraných baktérií.

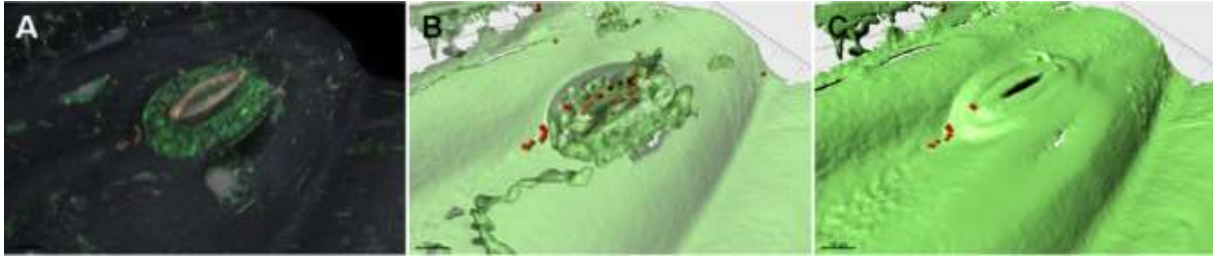
| komodita | Počet vyšetrených vzoriek | <i>L. monocytogenes</i> počet vyšetrených vzoriek/ počet pozitívnych vzoriek v 25g | <i>Salmonella</i> počet vyšetrených vzoriek/ počet pozitívnych vzoriek v 25g | <i>E. coli</i> počet vyšetrených vzoriek/ počet pozitívnych vzoriek v 1g | KFB počet vyšetrených vzoriek/ počet pozitívnych vzoriek v 1g |
|---------------------------|---------------------------|--|--|--|---|
| Čerstvé ovocie | 1 | 0/0 | 1/0 | 0/0 | 0/0 |
| Čerstvá zelenina | 14 | 3/0 | 3/0 | 14/7 | 7/3 |
| Šalát z čerstvého ovocia | 4 | 1/0 | 1/0 | 2/0 | 0/0 |
| Šalát z čerstvej zeleniny | 527 | 273/1 | 326/1 | 225/24 | 190/29 |

*KFB – koliformné baktérie

Vzorka čerstvého ovocia bola analyzovaná iba na prítomnosť rodu *Salmonella* spp., pričom prítomnosť baktérií nebola potvrdená. V prípade 14 analyzovaných vzoriek čerstvej zeleniny bola polovica vzoriek pozitívna na prítomnosť *E. coli*, pričom v 3 vzorkách boli detegované aj iné koliformné baktérie (*Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp., *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*). V prípade 4 vzoriek ovocných šalátov na priamu konzumáciu neboli zistené sledované mikroorganizmy, resp. v prípade jednej vzorky bol počet *E. coli* nižší ako 10/g, takže vzorka bola vyhovujúca. Najviac analyzovaných vzoriek bolo v prípade zeleninových šalátov určených na priamu spotrebu. Z 273 analyzovaných vzoriek bola jedna pozitívna na prítomnosť *L.monocytogenes* a v jednej vzorke bola detegovaná *Salmonella* Enteritidis. Vzhľadom na prítomnosť *E. coli* bolo v 24 vzorkách zistené množstvo KTJ/g vyššie ako 10, pričom v 29 vzorkách bola zaznamenaná aj prítomnosť iných koliformných baktérií. Okrem baktérií uvedených v Tab.1 bola v niektorých vzorkách zaznamenaná aj prítomnosť *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, kvasiniek a vláknitých húb.

3.3 ZDROJE KONTAMINÁCIE A MOŽNOSTI PREVENČIE

Ku kontaminácii ovocia a zeleniny môže dôjsť infikovaným živočíšnym hnojivom (zber popadaného ovocia a jeho následné spracovanie), prenášačom môžu byť taktiež muchy, ktoré infikujú plody priamo na stromoch (Janisiewicz a kol., 1999). Kontaminácia čerstvých potravín patogénmi môže nastať nielen počas pestovania, ale aj počas zberu, spracovávania a manipulácie. Ku krížovej kontaminácii môže dôjsť napríklad pri spracovaní plodov kontaminovanou oplachovou vodou, kedy patogény môžu preniknúť cez drobné poškodenia až priamo do plodov. Patogény v kontaminovaných plodoch prežívajú až 28-dňové uskladnenie pri t 4 °C (Janes a kol., 2002). Štúdie ukázali že, dekontaminácia najmä zeleniny nie je jednoduchá. Keskinen a Annous (2011) zistili, že oplachovanie, ako aj prídavok detergentov do sanitačných prostriedkov neboli dostatočné na dekontamináciu rastlinných produktov. Toto môže byť spôsobené endofytnou kolonizáciou baktérií (obr.1). Existuje mnoho bakteriálnych druhov (*Burkholderia*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Ralstonia*, *Serratia*, *Staphylococcus*, *Stenotrophomonas*), ktoré žijú v symbióze s rastlinou, pričom podporujú jej rast, či vykazujú vynikajúce antagonistické účinky proti rastlinným patogénom (Berg a kol., 2005). Avšak kazuistika alimentárnych ochorení spôsobených konzumáciou zeleniny a ovocia poukazuje skôr na antropogénnu činnosť a nedostatočnú hygienu.



Obr. 1 Endofytná kolonizácia listov hlávkového šalátu bunkami *E.coli* (Berg a kol., 2014)

Ako teda eliminovať riziko výskytu patogénnych mikroorganizmov na ovocí a zelenine, ktoré sa konzumujú čerstvé bez následnej tepelnej úpravy? Kumar a kol. (2001) sa zaoberali hľadaním efektívnej metódy na redukciiu patogénov na ovocí a zelenine, ktorá by sa dala implementovať v programoch HACCP v priemysle spracujúcom túto komoditu. Tu sa ukázalo účinné ošetrenie plodov (jablká, pomaranče a paradajky) oplachovou vodou s prídavkom 1,5 % kyseliny mliečnej a 1,5 % peroxidu vodíka 15 minút pri 40 °C. Takáto úprava efektívne redukuje populáciu EHEC, *L. monocytogenes* a *Salmonella sp.* o viac ako 5,0 log KTJ/gram a nespôsobuje žiadne senzorké zmeny. Taktiež nebola zistená prítomnosť žiadneho zo sledovaných patogénov v oplachovej vode. Hoci umývanie ovocia deionizovanou vodou redukuje patogény približne o 1,5 – 2,0 log KTJ/ovocie, zvyšná populácia patogénov prežíva v omývacej vode a môže späťne kontaminovať prevádzku.

Preventívne hygienické opatrenia pri výrobe potravín, a teda pravidlá správnej hygienickej praxe sa vo všeobecnosti dotýkajú nasledovných troch oblastí:

1. podmienok v potravinárskych podnikoch vzťahujúcich sa k budovám, prevádzkam a používaným technologickým zariadeniam,
2. pracovných postupov vzťahujúcim sa k hygienickej manipulácii s potravinami a ich surovinami, či medziproduktmi,
3. personálu, jeho osobnej hygieny a školenia v tejto oblasti (Valík a Prachar, 2009).

Je teda nevyhnutné dodržiavať hygienické opatrenia na každom stupni spracovania potravín. Napríklad pri príprave ovocných a zeleninových šalátov, ale aj čerstvých štiav a smoothie, je tiež veľmi dôležité, aby personál dodržiaval jednak osobnú hygienu, ale aj postupy vzťahujúce sa k manipulácii s potravinou. Napríklad predmety prichádzajúce do styku so surovým ovocím a zeleninou (nože, doska na krájanie, mixér atď.) by mali byť čisté, bez predošlého kontaktu s akýmkoľvek iným druhom potraviny (ako živočíšneho, tak aj rastlinného pôvodu), aby nedošlo ku krížovej kontaminácii.

4. NÁPOJE Z ČERSTVÉHO OVOCIA A ZELENINY

Nepasterizované nápoje z čerstvého ovocia a zeleniny sú čoraz viac obľúbenejšie medzi spotrebiteľmi. Môžeme ich rozdeliť do dvoch kategórií a to šťavy, ktoré sa získavajú lisovaním, alebo nápoje typu smoothie, kedy ide o rozmixované rastlinné suroviny, ktoré sa prípadne môžu riediť vodou, mliekom a podobne. Takéto typy potravín sú čoraz častejšie predávané v rôznych kaviarňach, bufetoch, či špecializovaných prevádzkach tzv. *fresh* baroch.

4.1 ČERSTVÉ OVOCNÉ A ZELENINOVÉ ŠŤAVY

Napriek nízkemu pH sa ovocné šťavy ukazujú byť vhodným prostredím na prežívanie patogénnych mikroorganizmov ako *E.coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp. Prítomnosť rizikových skupín mikroorganizmov popisuje štúdia z Grécka, ktorá hodnotila mikrobiologické riziká ovocných štiav. Z celkového počtu 120 vzoriek rôznych ovocných štiav bolo 3,3 % pozitívnych na prítomnosť *E. coli* a *Staphylococcus aureus* a 5 % na *Staphylococcus epidermidis* (Vantarakis a kol., 2011).

Pretože patogénne mikroorganizmy sa dokážu čiastočne adaptovať na kyslé prostredie, treba zabezpečiť ochranu ovocných štiav a džúsov iným spôsobom ako okyslením. Nové trendy v potravinárskych technologických procesoch využívajú koreniny, prírodné ochucovadlá a rastlinné extrakty pre ich silné medicínske, konzervačné a antioxidačné účinky. Zvlášť efektívne inhibuje rast mikroorganizmov škorica, ktorá viac potláča G^+ ako G^- mikroorganizmy a je účinná aj na plesne a kvasinky. Za jej inhibičný účinok sú pravdepodobne zodpovedné aldehydy prítomné v škorici. Na základe týchto zistení tím autorov z Kansaskej univerzity sledoval eliminačný účinok škorice na *L. monocytogenes* v jablkovom džúse. Komerčne vyrábaný džús s pôvodným pH 3,7 bol upravený na hodnotu pH 5,0 a inokulovaný *L. monocytogenes* o počiatočnej koncentrácii 10^4 KTJ/ml. Porovnával sa úbytok populácie *L. monocytogenes* v kontrolnom džúse a v džúse s prídavkom škorice v priebehu skladovania pri teplote 5 a 20 °C počas 7 dní. Počet *L. monocytogenes* sa stanovoval na agare s tryptózou a sójou (TSA), Oxford agare (OX), a TAL metódou (OX prevrstvený TSA – tenkovrstvová metóda na obnovu poškodených buniek). Z výsledkov sa jednoznačne potvrdil eliminačný účinok škorice na populáciu *L. monocytogenes*. Platňovou metódou sa nedetegovala *L. monocytogenes* v džúse s prídavkom škorice bez ohľadu na pH a skladovaciú teplotu už 1 hodinu po inokulácii, kým v džúse bez prídavku škorice sa zaznamenal úbytok *L. monocytogenes* až po jednom dni skladovania pri pH 3,7 a pri pH 5,0

bola *L. monocytogenes* detegovaná ešte na siedmy deň skladovania. Pri pomnožovacej metóde s použitím srdcovo-mozgovej infúzie ako pomnožovacieho média sa ukázalo, že *L. monocytogenes* je kompletne eliminovaná pri pH 3,7 a 5,0 pri teplote 20 °C v džúse s prídavkom od 0,2 % škorice do jednej hodiny po inokulácii, kým pri skladovacej teplote 5 °C bola *L. monocytogenes* eliminovaná pomalšie. Podobne má prídavok škorice vplyv aj na inaktiváciu EHEC, pričom k rýchlejšej eliminácii podľa výsledkov štúdií prišlo pri skladovaní ovocnej šťavy pri izbovej teplote oproti chladiarenskej teplote (Yuste a Fung, 2004).

V roku 2017 analyzovali laboratória verejného zdravotníctva (ÚVZ, RÚVZ v SR) 5 vzoriek ovocných a 2 vzorky zeleninových nepasterizovaných štiav. Všetky analyzované vzorky boli negatívne na prítomnosť *L. monocytogenes*, či *Salmonella* spp. V troch vzorkách ovocných a v jednej vzorke zeleninovej šťavy bola detegovaná prítomnosť koliformných baktérií, pričom prevažne išlo o *Enterobacter* spp. a *Citrobacter* spp. Ako sprievodná mikrobiota bola zaznamenaná aj prítomnosť kvasiniek, saprofytických stafylokokov či *Leuconostoc mesenteroides*.

4.2 NÁPOJE TYPU SMOOTHIE

Smoothie nápoj je definovaný ako mixovaný nápoj zo surového ovocia alebo zeleniny. Z toho vyplýva, že hlavnými zložkami mixovaného nápoja je surová zelenina alebo surové ovocie. Vedľajšími prídavnými zložkami môže byť voda, mliečne produkty, ako napríklad rôzne druhy jogurtov, kefirové mlieko a na vylepšenie chuti sa pridávajú aj sladidlá (napríklad med). Tento typ nápoja je zaradený do kategórie „RAW food“, čiže surová potravina. Táto kategória je typická tým, že suroviny, ktoré sa používajú na prípravu produktov, sú v surovom stave a neprešli tepelným opracovaním, resp. teplotou vyššou ako 45 °C. Týmto spôsobom spracovania resp. prípravy smoothie by sa mali dosiahnuť veľmi dobré nutričné hodnoty pripraveného nápoja. To znamená zachovanie vitamínov a minerálnych látok, ktoré sú obsiahnuté v surovinách (de Moura a kol., 2017).

Z historického hľadiska nie je tento nápoj novinkou. Konzumoval a pripravoval sa už v dávnej minulosti, no samozrejme najväčší zlom v jeho príprave nastal po vynájdení mixéra a chladničky, teda približne v 20. storočí. Najviac populárny sa však stal v 80. rokoch práve na území USA – Kalifornia. V týchto rokoch sa venovalo veľa pozornosti športu a zdravému životnému štýlu, aj preto sa tento nápoj stal populárnou ikonou zdravého životného štýlu. Na území USA sa začali pomaly otvárať špecializované „fresh – bary“, kde sa tento nápoj pripravoval (online zdroj 2).

V súčasnosti sa už aj v našich končinách nachádza dostatok takýchto „fresh – barov“ alebo miest, kde sa tento nápoj dá kúpiť, dokonca sa dá pripraviť aj v domácnostiach. Život v dynamicky sa vyvíjajúcej spoločnosti spôsobil aj to, že tento na pohľad jednoduchý nápoj prešiel vývojom. Spočiatku obsahoval len sezónne suroviny ako napríklad jablká, čučoriedky a iné plodiny. Dnes je na výber mnoho surovín na prípravu, dokonca veľmi populárne sa stalo miešanie ovocia a zeleniny v rámci jedného nápoja tzv. „zelené smoothie“. Názov zelené smoothie aj preto, lebo veľmi častou zložkou je práve zelená zelenina ako napríklad špenát, brokolica, ľadový šalát, zelený jačmeň, no samozrejme pojem zelené znamená vo všeobecnosti zeleninu. Na výber je aj ovocné smoothie, kde dominantnú zložku tvorí ovocie a to konkrétne jablko, hruška, pomaranč, jahody, maliny a iné. Zloženie je v prípade tohto nápoja veľmi rozmanité, nakoľko suroviny sú dostupnejšie ako v minulosti. Tento druh nápoja je hustej konzistencie, preto sa voda používa, resp. pridáva len v malom množstve alebo vôbec. V niektorých smoothie nápojoch sa môžu použiť na vylepšenie konzistencie alebo chuti aj ovocné šťavy, mlieko a mliečne výrobky (de Moura a kol., 2017).

Smoothie je nápoj s dobrým zdrojom energie. Za antioxidačné účinky sú zodpovedné fenolické látky obsiahnuté v ovocí. Ich antioxidačné aktivity z nich robia potenciálne ochranné faktory, napríklad proti rakovine. Fenolové kyseliny majú tiež protizápalové, antimikrobiálne a antivírusové účinky (Skalicka-Wozniak a kol., 2008). Medzi prospešné účinky tohto nápoja patrí aj to, že prispieva k správne fungovaniu tráviaceho traktu prostredníctvom vlákniny, ktorá je obsiahnutá v surovinách (online zdroj 1). Prítomné vitamíny v čerstvom ovocí a zelenie sa podieľajú na rôznych metabolických dejoch. Vo všeobecnosti má tento nápoj napomáhať k správne fungovaniu metabolizmu organizmu. Rôzne ovocné šťavy, ako aj smoothie nápoje poskytujú zdroj tekutín, čím sa stávajú aj súčasťou pitného režimu. Tekutiny a hlavne voda sa podieľajú na transporte dôležitých látok v tele.

Účinky smoothie priamo súvisia s obsahom jednotlivých chemických zložiek resp. veľmi dôležitá je koncentrácia látok. Nedávno sa zistilo, že zelené smoothie môžu obsahovať vysoké koncentrácie oxalátov, ktoré prispievajú k vzniku obličkových kameňov (EFSA, 2016). K vonkajším faktorom patria podmienky pestovania surovín, preprava surovín, skladovacie podmienky, hygienické kritéria. Tieto spomenuté faktory majú vplyv na rozvoj a zloženie mikrobioty surovín. Typy mikroorganizmov získané zo surového ovocia a zeleniny najčastejšie odrážajú mikrobiotu prítomnú v pôde. Preto musia byť zachované čo najlepšie podmienky pre pestovanie, skladovanie, balenie a distribúciu surovín. Taktiež medzi vonkajšie faktory patria klimatické podmienky ako napríklad história zrážok, vietor, relatívna

vlhkosť ovzdušia, ale prítomnosť hmyzu, či vtákov (Burnett a Beuchat, 2001). Mikrobiologické zloženie ovplyvňuje aj úroveň hygieny v prevádzkach (Vantarakis a kol., 2011). V roku 2016 zaznamenalo CDC 134 prípadov hepatitídy A po konzumácii smoothie, ktoré obsahovalo jahody importované z Egypta (online zdroj 3).

V roku 2017 analyzovali laboratória verejného zdravotníctva (ÚVZ, RÚVZ v SR) 11 vzoriek smoothie. Všetky analyzované vzorky boli rovnako ako šťavy negatívne na prítomnosť *L. monocytogenes*, či *Salmonella* spp. V 10 vzorkách bola prítomnosť koliformných baktérií vrátane *E.coli* pod hodnotou 10 KTJ/g. Taktiež bola detegovaná prítomnosť *Staphylococcus epidermidis*, *Leuconostoc mesenteroides*, ako aj kvasiniek a vláknitých húb.

Tab 2. Názov resp. skratka a zloženie analyzovaných vzoriek smoothie

| Prevádzka A |
|---|
| GA1 : špenát, banán, melón, limeta |
| GA2 : brokolica, ľadový šalát, uhorka, zelený jačmeň, jablková šťava |
| FA1 : melón, jablko, hruška, mäta |
| FA2 : ananás, pomaranč, kokosové mlieko |
| Prevádzka B |
| GB1 : avokádo, mango, špenát, jablko |
| GB2 : jablko, pomaranč, mrkva, zeler, d'umbier |
| FB1 : jahody, acai, pomaranč, chia semienka, jablko |
| FB2 : pomaranč, jablko, čučoriedky, jahody |
| Prevádzka C |
| GC1 : špenát, mango, banán, pomaranč |
| FC1 : jahody, mäta, limeta, jablko |
| FC2 : banán, jahody, jablko |
| FC3 : čučoriedky, maliny, jahody, ananás, jablko |
| Prevádzka D |
| GD1 : špenát, banán, hruška |
| FD1 : jahody, banána, pomaranč |

V tom istom roku bolo na Oddelení výživy a hodnotenia kvality potravín FCHPT STU v Bratislave analyzovaných 14 vzoriek ovocných a zelených nápojov typu smoothie, ktoré pochádzali zo 4 prevádzok (zloženie a pôvod je uvedený v tab. 2). Nápoje boli vyberané na základe obľúbenosti u konzumentov a taktiež podľa zloženia tak, aby boli zahrnuté zelené aj ovocné smoothie.

V rámci mikrobiologických ukazovateľov bolo sledované zastúpenie celkového počtu aeróbných baktérií (ďalej len „CPM“), vláknitých húb a kvasiniek, ako aj indikátorov fekálneho znečistenia – koliformných baktérií a enterokokov (tab. 3).

Tab. 3 Kvantitatívne zastúpenie vybraných skupín mikroorganizmov vo vzorkách smoothie

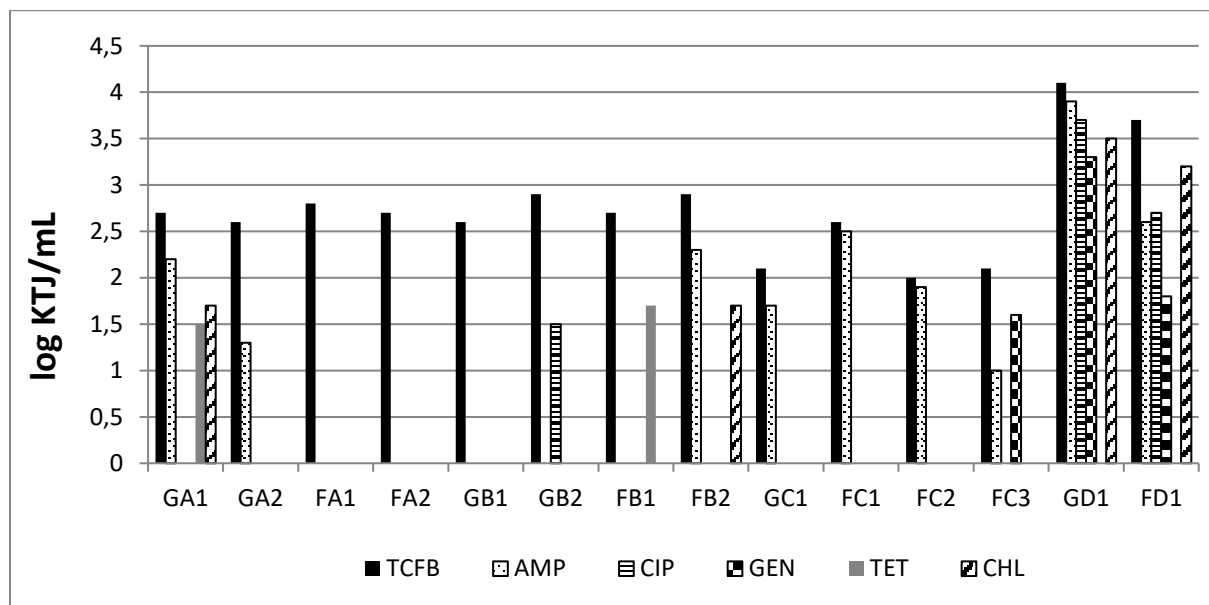
| prevádzka | smoothie | CPM | huby | koliformné baktérie | enterokoky |
|-----------|----------|-------------------|------|---------------------|------------|
| | | log KTJ/mL | | | |
| A | GA1 | 3,3 | 2,9 | 2,7 | 2,0 |
| | GA2 | 3,5 | 2,7 | 2,6 | 2,9 |
| | FA1 | 3,3 | 2,6 | 2,8 | 1,7 |
| | FA2 | 2,9 | 2,9 | 2,7 | 2,1 |
| B | GB1 | 3,1 | 2,8 | 2,6 | 1,7 |
| | GB2 | 3,1 | 1,8 | 2,9 | 2,5 |
| | FB1 | 2,9 | 2,8 | 2,7 | 2,2 |
| | FB2 | 3,0 | 2,6 | 2,9 | 1,9 |
| C | GC1 | 3,2 | 2,8 | 2,1 | 2,6 |
| | FC1 | 3,2 | 2,4 | 2,6 | 1,1 |
| | FC2 | 3,4 | 2,7 | 2,0 | ND |
| | FC3 | 3,2 | 2,9 | 2,1 | 1,5 |
| D | GD1 | 4,9 | 2,5 | 4,1 | 2,7 |
| | FD1 | 6,7 | 4,4 | 3,7 | 2,5 |

ND – nedetegované

Stanovený CPM vo vyšetrovaných vzorkách sa pohyboval v rozmedzí od 2,9 do 6,7 log KTJ/mL a počet húb (kvasinky a vláknité huby) od 1,8 do 4,4 log KTJ/mL. Najvyššie počty boli zaznamenané v ovocnom smoothie z prevádzky D. Koliformné baktérie sa vyskytovali vo všetkých vyšetrovaných vzorkách nápojov v rozsahu 2,0 – 4,1 log KTJ/mL. V jednej vzorke zeleného smoothie GA1 sa vyskytovali aj *E.coli* (150 KTJ/mL). Enterokoky sa nevyskytovali iba v ovocnom smoothie z prevádzky C, pričom v ostatných vzorkách sa ich počet pohyboval v rozmedzí 1,1 až 2,7 log KTJ/mL.

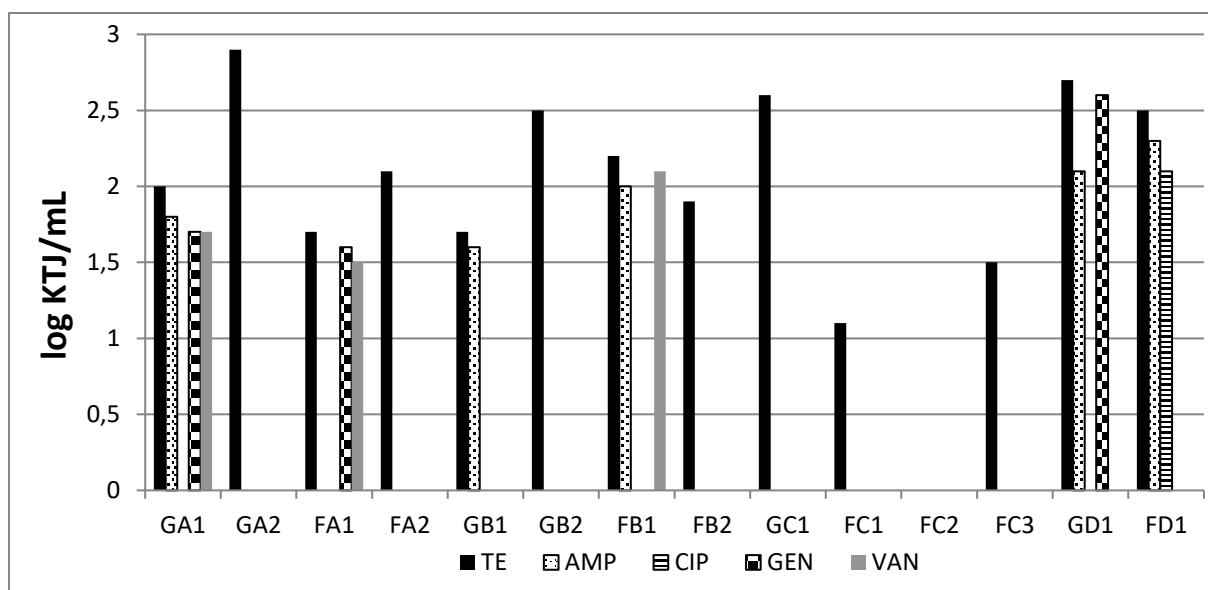
Z hľadiska bezpečnosti potravín a ochrany verejného zdravia narastajú aj obavy spojené s expozíciou človeka zoonotickým, komenzálnym a environmentálnym baktériám rezistentným voči antibiotikám ako rezervoáru génov rezistencie. Z tohto dôvodu bol vo vzorkách smoothie sledovaný aj výskyt fekálnych indikátorov rezistentných voči antibiotikám (obr. 2, 3). V prípade koliformných baktérií bola sledovaná odolnosť voči ampicilínu, gentamicínu, ciprofloxacínu, chloramfenikolu a tetracyklínu. Antibiotiká reprezentovali zástupcov rôznych antibiotických tried a koncentrácie boli zvolené na základe hraníc

rezistencie daných Európskym výborom pre testovanie citlivosti antimikrobiálnych látok (EUCAST). Rezistentné koliformné baktérie neboli detegované vo vzorkách ovocných nápojov z prevádzky A (FA1, FA) a zelených smoothie z prevádzky B (GB1). Väčšina koliformných baktérií vykazovala rezistenciu voči ampicilínu, tá je však u mnohých zástupcov prirodzená a nie získaná (Birošová a kol., 2014). Okrem toho bola zaznamenaná aj rezistencia voči chloramfenikolu, tetracyklínu a gentamicínu. Najviac rezistentov obsahovala vzorka ovocného smoothie z prevádzky D.



Obr. 2 Výskyt koliformných baktérií rezistentných voči antibiotikám vo vzorkách smoothie
AMP – ampicilín, CIP – ciprofloxacín, GEN – gentamicín, TET – tetracyklín, CHL – chloramfenikol

Rezistentné enterokoky sa vyskytovali iba v 6 vzorkách nápojov (obr. 3). Podobne ako v prípade koliformných baktérií, ako aj u enterokokov, prevažovala rezistencia voči ampicilínu. V dvoch vzorkách smoothie boli zaznamenané aj enterokoky rezistentné voči vankomycínu (VRE), ktoré sú podľa WHO v súčasnosti hodnotené ako rezistentné mikroorganizmy s vysokou prioritou. Torre a kol. (2010) identifikovali prítomnosť VRE u tretiny vyšetovaných vzoriek čerstvého ovocia a zeleniny, najmä na šaláte. V prípade zeleného smoothie, kde bola zistená prítomnosť VRE, bol zeleninovou zložkou čerstvý špenát, ktorý môže byť zdrojom týchto baktérií.



Obr. 3 Výskyt enterokokov rezistentných voči antibiotikám vo vzorkách smoothie

AMP – ampicilín, CIP – ciprofloxacín, GEN – gentamicín, VAN – vankomycín

Z vyšetovaných nápojov smoothie bolo izolovaných a identifikovaných 64 kmeňov koliformných baktérií rezistentných voči antibiotikám (tab. 4). Väčšina kmeňov bola identifikovaná ako *Enterobacter* spp. a *Klebsiella* spp. *Enterobacter* sa bežne vyskytuje v pôde a vode, ale môže byť rovnako aj súčasť črevnej mikrobioty živočíchov. Spôsobuje infekcie dýchacieho a močového systému. Rovnako ako *Klebsiella*, aj *Enterobacter* je zodpovedný aj za bakteriémie. Osemnásť kmeňov bolo identifikovaných ako *Klebsiella pneumoniae*. Toto môže predstavovať významné riziko najmä pre personál pripravujúci smoothie. Baktéria totiž môže byť inhalovaná v podobe bioaerosolu vznikajúceho počas prípravy a spôsobiť bronchitídu či bronchopneumóniu (Jagessar a Alleyne, 2011). Dva izoláty boli identifikované ako *Rahnella aquatilis*. Ide o zriedkavý ľudský patogén, ktorý je spájaný najmä s infekciami u imunokompromitovaných pacientov. Nachádza sa najmä vo vode či tráviacom trakte slimákov a chrobákov (Brenner a kol., 1998), takže jej možným zdrojom môže byť práve listová zelenina, alebo ovocie ktoré sa nelúpe (napr. jahody). Všetky izoláty boli rezistentné voči ampicilínu, 7 kmeňov aj voči ciprofloxacínu. Desiat' izolátov vykazovalo mnoholiekovú rezistenciu voči antibiotikám.

Tab.4 Rezistencia koliformných baktérií izolovaných zo smoothie voči vybraným druhom antibiotík

| Izolát | N | typ smoothie | prevádzka | Počet rezistentných izolátov | | | | | MDR |
|------------------------------|----|--------------|-----------|------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|
| | | | | AMP | CIP | GEN | TET | CHL | |
| <i>Escherichia coli</i> | 3 | Z | A | 3 | 0 | 1 | 2 | 2 | 2 |
| <i>Enterobacter cloacae</i> | 3 | Z, O | A | 3 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| <i>Enterobacter asburie</i> | 23 | Z, O | A, B, D | 23 | 1 | 7 | 1 | 2 | 3 |
| <i>Enterobacter kobei</i> | 2 | Z | C, D | 2 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 |
| <i>Kluyvera intermedia</i> | 1 | O | C | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 18 | Z, O | A, C | 18 | 1 | 5 | 1 | 1 | 0 |
| <i>Klebsiella oxytoca</i> | 9 | Z, O | A, C | 9 | 2 | 2 | 2 | 3 | 2 |
| <i>Morganella morganii</i> | 2 | Z | B | 2 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 |
| <i>Rahnella aquatilis</i> | 2 | O | C | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| <i>Serratia liquefaciens</i> | 1 | Z | C | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

N – počet izolátov, Z – zelené smoothie, F – ovocné smoothie, AMP – ampicilín, CIP – ciprofloxacín, GEN – gentamicín, TET – tetracyklín, CHL – chloramfenikol, MDR – mnoholieková rezistencia

5. ZÁVER

V súčasnosti čoraz viac silnie dopyt konzumentov po potravinách, ktoré sú spájané so zdravým životným štýlom. K takýmto druhom potravín patrí aj čerstvá zelenina a ovocie, ako aj jedlá či nápoje, ktoré sú z nich pripravované. Ide najmä o čerstvé šaláty, nepasterizované šťavy, či nápoje smoothie. Ich úloha v zachovaní zdravého životného štýlu tkvie najmä v obsahu vitamínov, minerálnych látok, či vlákniny. Na druhej strane málokto si uvedomuje riziká spojené s konzumáciou surových, tepelne neopracovaných potravín. V prípade ovocia a zeleniny ide nielen o prítomnosť antinutrientov, či rezíduí pesticídov, ale aj o mikrobiálne riziko. Na tento problém poukazuje čoraz vyššia frekvencia epidémií spojená s konzumáciou takéhoto druhu potraviny. Rovnako uvedené hodnotenie rizika potvrdilo, že čerstvé ovocie a zelenina, ale najmä šaláty a smoothie, ktoré sú k dispozícii na Slovensku pre konzumenta, predstavujú zdroj mikroorganizmov, ktoré u imunokompromitovaných jedincov môžu spôsobiť problémy. Výskyt kontaminujúcich baktérií tiež poukazuje na nedostatočnú hygienu pri spracovávaní potravín určených na priamu konzumáciu. Nemalú hrozbu tiež môžu predstavovať prítomné baktérie rezistentné voči antibiotikám, najmä z hľadiska prenosu a šírenia génov rezistencie. Táto problematika tiež poukazuje na dôležitosť ochrany personálu, ktorý narába s uvedenými kategóriami potravín v procese výroby, distribúcie a predaja. Na základe tohto hodnotenia rizika odporúčame lepšiu informovanosť verejnosti o možných rizikách súvisiacich s konzumáciou takýchto produktov, ako aj o dôležitosti dodržiavania hygieny pri ich príprave.

POĎAKOVANIE

Podakovanie patrí pracovníkom úradov verejného zdravotníctva za ich spoluprácu a poskytnutie údajov monitoringu.

6. ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY

Berg, G., Eberl, L., Hartmann, A. (2005) The rhizosphere as a reservoir for opportunistic human pathogenic bacteria. *Environ Microbiol.* 71, 4203–4213.

Berg, G., Erlacher, A., Smalla, K., Krause, R. (2014) Vegetable microbiomes: is there a connection among opportunistic infections, human health and our 'gut feeling'? *Microb biotechnol.* 7(6), 487-495.

Bírošová, L., Mackuľak, T., Bodík, I., Ryba, J., Škubák, J., Grabic, R. (2014) Pilot study of seasonal occurrence and distribution of antibiotics and drug resistant bacteria in wastewater treatment plants in Slovakia. *Sci Total Environ.* 490,440-4

Brenner, D.J., Müller, H.E., Steigerwalt, A.G., Whitney, A.M., O'Hara, C.M., Kämpfer, P. (1998) Two new *Rahnella* genomospecies that cannot be phenotypically differentiated from *Rahnella aquatilis*. *Int J Syst Bacteriol* 48, 141-149.

Buchholz, U., Bernard, H., Weber, D., Bohmer, M.M., Renschmidt, C. a kol. (2011) German Outbreak of *Escherichia coli* O104:H4 Associated with Sprouts, *N Engl J Med* 365, 1763-1770.

Burnett, S.L., Beuchat, L.R. (2001) Food-borne pathogens human pathogens associated with raw produce and unpasteurized juices, and difficulties in decontamination. *J Ind Microbiol Biotechnol.* 27, 104–110.

Campos, J., Mourão, J., Pestana, N., Peixe, L., Novais, C., Antunes, P. (2013) Microbiological quality of ready-to-eat salads: an underestimated vehicle of bacteria and clinically relevant antibiotic resistance genes. *Int J Food Microbiol* 166(3), 464-70.

CDC (2018a) Multistate Outbreak of *E. coli* O157:H7 Infections Linked to Romaine Lettuce (Final Update) <https://www.cdc.gov/ecoli/2018/o157h7-04-18/index.html> [online]. [cit. 16.7.2018]

CDC (2018b) Multistate Outbreak of *Salmonella* Adelaide Infections Linked to Pre-Cut Melon (Final Update) <https://www.cdc.gov/salmonella/adelaide-06-18/index.html> [online]. [cit. 16.7.2018]

de Moura, C.S.R., Vissotto, F.Z., Berbari, S.A.G., Souza, E.C.G., Toti, F.G.P., Alves Júnior, P. (2017) Characterization and evaluation of stability of bioactive compounds in fruit smoothies. *Food Sci. Technol, Campinas* 37(2), 216-233.

EFSA (European Food Safety Authority) and ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control) (2018) Multi-country outbreak of *Salmonella* Agona infections possibly linked to ready-to-eat food. EFSA supporting publication 2018:EN-1465. 15.

EFSA (European Food Safety Authority) (2016) Annual report of the Emerging Risks Exchange Network 2015. EFSA supporting publication 2016: EN-1067. 36.

Falomir, M.P., Gozalbo,D., Rico, H. (2010) Coliform bacteria in fresh vegetables: from cultivated lands to consumers. *Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology*, Editor: Mendez-Vilas A., Formatex Research Center, ISBN: 978-84-614-6195-0 53(8)1175-1181

Görner, F., Valík, Ľ. (2004) Aplikovaná mikrobiológia požívateľín. Malé centrum Bratislava, ISBN 80-967064-9-7.

Chai, W., Liebman, M. (2005) Effect of different cooking methods on vegetable oxalate content.. *J Agric Food Chem.*53(8), 3027-3030.

Jagessar, R.C., Alleyne, R. (2011) Antimicrobial potency of the aqueous extract of leaves of *Terminalia catappa*, *Academic Res Int.* 1(3), 362-371.

Janes, M. E., T. Cobbs, S. Kooshesh, and M. G. Johnson. (2002) Survival differences of *Escherichia coli* O157:H7 strains in apples of three varieties stored at various temperatures. *J Food Prot* 65, 1075–1080.

Janisiewicz, W.J., Conway, W.S., Brown, M.W., Sapers, G.M., Fratamico, P. and Buchanan, R.L. (1999) Fate of *Escherichia coli* O157:H7 on fresh-cut apple tissue and its potential for transmission by fruit flies. *Appl Environ Microbiol* 65, 1–5.

Karmali, M.A., Gannon, V., Sargeant, J.M. (2010) Verocytotoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC). *Vet Microbiol.* 140(3-4), 360-70.

Käsbohrer, A, Lorenz, K, Pfefferkorn, B., Sommerfeld, G., Tenhagen, B.A. (2014) Berichte zur Lebensmittelsicherheit 2012: Zoonosen-Monitoring 8, Basel, Switzerland: Springer.

Keskinen, L.A., Annous, B.A. (2011) Efficacy of adding detergents to sanitizer solutions for inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 on Romaine lettuce. *Int J Food Microbiol.* 147, 157–161.

Kohajdová, Z., Karovičová, J. (2001) Biogénne amíny – vznik, metódy stanovenia a výskyt v potravinách. *Bulletin potravinárskeho výskumu* 40(2), 75–89.

Kumar, A., Agarwal, R.K., Bhilegaonkar, K.N., Shome, B.R. and Bachhil, V.N. (2001) Occurrence of *Campylobacter jejuni* in vegetables. *Int J Food Microbiol* 67, 153–155.

Kumar, V., Sinha, A., Makkar, H., Becker, K. (2010) Dietary roles of phytate and phytase in human nutrition: A review. *Food Chem* 120(4), 945-959.

McMahon, M.A., Wilson, I.G. (2001) The occurrence of enteric pathogens and *Aeromonas* species in organic vegetables. *Int. J. Food Microbiol.* 70, 155–162.

Michino, H., Araki, K., Minami, S., Takaya, S., Sakai, N., Miyazaki, M., Ono, A., Yanagawa, H. (1999), Massive outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infection in schoolchildren in Sakai City, Japan, associated with consumption of white radish sprouts. *Am J Epidemiol.* 150(8), 787-96.

MPRV SR (2017) Správa o zoonózach, alimentárnych nákazách a nákazách z vody v Slovenskej republike za rok 2016. Ministerstvo pôdohospodárstva a rozvoja vidieka SR.

Nariadenie Komisie (ES) č. 2073/2005 z 15 novembra 2005, o mikrobiologických kritériách pre potraviny, Úradný vestník Európskej únie L 338/1.

Nariadenie Komisie (EÚ) č. 209/2013 z 11. marca 2013, ktorým sa mení a dopĺňa nariadenie (ES) č. 2073/2005, pokiaľ ide o mikrobiologické kritériá pre kľičky a pravidlá odberu vzoriek z jatočných tiel hydiny a z čerstvého hydinového mäsa Text s významom pre EHP.

Olaimat, A.N., Holley, R.A. (2013) Factors influencing the microbial safety of fresh produce: a review. *Food Microbiol.* 32, 1–19.

Pastorek, M., Jakubíková, J., Siekel, P., Sedlák, J. (2007) Ovplyvnenie vzniku nádorov zmenou stravovacích návykov – význam glukozinolátov. Regulácia vnútrobunkových signálnych dráh prírodnými izotiokyanátmi: prevencia nádorov a liečba. Bratislava: Ústav experimentálnej onkológie SAV.

- Schmid, F., Moser, G., Müller, H., Berg, G. (2011) Functional and structural microbial diversity in organic and conventional viticulture: organic farming benefits natural biocontrol agents. *Appl Environ Microbiol.* 77, 2188–2191.
- Skalicka-Wozniak, K., Głowniak, K., Ślusarczyk, S., Matkowski, A., Szypowski, J. (2008) Phenolic acids in fruits of *Peucedanum alsaticum*-Antioxidant activity. *Planta Med* 74-PB4
- Skočková, A., Karpíšková, R., Koláčková, I., Cupáková, Š. (2013) Characteristics of *Escherichia coli* from raw vegetables at a retail market in the Czech Republic. *Intl J Food Microbiol* 167(2), 196-201.
- Sun-Waterhouse, D., Bekkour, K., Wadhwa, S.S., Waterhouse, G.I.N. (2013) Rheological and Chemical Characterization of Smoothie Beverages Containing High Concentrations of Fibre and Polyphenols from Apple. *Food Bioprocess Technol.* 7(2), 409–423.
- ŠVPS (2017) Správa o kontrole reziduí pesticídov v potravinách za rok 2016. Štátna veterinárna a potravinová správa Slovenskej republiky.
- Teleszko, M., Wojdylo A. (2014) Bioactive compounds vs. organoleptic assessment of ‘smoothies’-type products prepared from selected fruit species. *Int J Food Sci Technol* 49(1), 98-106.
- Torre, I. , Penninno, F., Diana, M.V., De Marco, G., Trotta, A.M., Borriello, T., Troiano, E. (2010) Antimicrobial susceptibility and glycopeptide-resistance of enterococci in Vegetables. *Ital J Public Health* 7(1), 47-53.
- Valík, Ľ., Prachar, V. (2009) Pôvodcovia ochorení z požívatin a minimalizácia ich rizika. Slovenská technická univerzita v Bratislave. ISBN 978-80-227-3200-0.
- Vantarakis, A., Affifi, M., Kokkinos, P., Tsibouxi, M., Papapetropoulou, M. (2011) Occurrence of microorganisms of public health and spoilage significance in fruit juices sold in retail markets in Greece. *Anaerobe* 17(6), 288-291.
- Ventola, C.L. (2015) The Antibiotic Resistance Crisis Part 1: Causes and Threats. *Pharm Ther* 40(4), 277-283.
- Vojtkovská, H., Myšková, P., Gelbíčová, T., Skočková, A., Koláčková, I., Karpíšková, R. (2017) Occurrence and characterization of food-borne pathogens isolated from fruit, vegetables and sprouts retailed in the Czech Republic. *Food Microbiol* 63, 147-152.

Výnos Ministerstva pôdohospodárstva SR a Ministerstva zdravotníctva SR z 25.júla 2007 č.16826/2007-OL, ktorým sa vydáva hlava Potravinového kódexu SR upravujúca požiadavky na potraviny na osobitné výživové účely a na výživové doplnky.

Yuste, J., Fung, D.Y.C. (2004) Inactivation of *Salmonella Typhimurium* and *Escherichia coli* O157:H7 in Apple Juice by a Combination of Nisin and Cinnamon. *J Food Prot* 67(2), 371-377.

Online zdroje :

1. <http://www.vup.sk/index.php?start&mainID=1&navID=43> [online]. [cit. 5.7.2018]
2. <https://www.luxuryfresh.cz/kratka-historie-popularity-smoothies> [online]. [cit. 23.7.2018]
3. <https://www.fda.gov/food/recallsoutbreaksemergencies/outbreaks/ucm518775.htm> [online]. [cit. 18.8..2018]