

**Česká zemědělská univerzita v Praze**  
**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**  
**Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky**



**Fakulta agrobiologie,  
potravinových a přírodních zdrojů**

**Patogenní mikroorganismy v mléce**

**Bakalářská práce**

**Tomáš Krejča**

**Kvalita potravin a zpracování zemědělských produktů**

**Ing. Eva Popelářová, Ph.D.**

**© 2022 ČZU v Praze**

## **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Patogenní mikroorganismy v mléce" jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucí bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autor uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 22. 4. 2022

---

## **Poděkování**

Rád bych touto cestou poděkoval Ing. Evě Popelářové, Ph.D. za cenné rady, připomínky a ochotu při společných konzultacích ohledně této práce. Veliké poděkování rovněž patří mé rodině a blízkým přátelům, kteří mě při psaní této práce podporovali.

# Patogenní mikroorganismy v mléce

## Souhrn

Potraviny obecně představují ideální podmínky pro působení a rozvoj pestré škály mikroorganismů. Tím může být porušena zdravotní nezávadnost potravin a potravina se stává nebezpečnou. Konzumace kontaminovaných potravin může zapříčinit nepříjemná až závažná onemocnění, v některých případech i smrt.

Mléko je produkt mléčné žlázy savců vylučovaný během laktace a hraje významnou roli ve výživě člověka především z toho důvodu, že je základní potravinou a surovinou. Vzhledem k tomu, že je bohatým zdrojem živin, může obsahovat i velké množství mikroorganismů, které mohou být patogenní a je nutné takové mikroorganismy eliminovat a předcházet jejich výskytu.

Cílem této práce bylo vypracovat literární přehled těch nejvýznamnějších bakterií, které kontaminují mléko a porušují tak jeho zdravotní nezávadnost. Práce byla zaměřena na kontaminaci mléka kravského.

Mezi časté zdroje kontaminace patří výrobní prostředí závodu, kde se mléko zpracovává. Přenos může být zprostředkován pracovníky výroby a jejich špatnou osobní hygienou, prašným vzduchem nebo plochami, které jsou ve styku se surovinou. Zdrojem kontaminace může být i stáj a její prostředí nebo samotná dojnice, proto je zapotřebí provádět kontroly při příjmu mléka v mlékárnách. Pro zamezení rozvoje a kontaminace mléka patogenními mikroorganismy je zásadní dodržovat základy hygienického minima po dobu celého výrobního procesu od příjmu po zabalení a distribuci.

Mezi vybrané bakterie kontaminující mléko patří bakterie sporulující jako jsou *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum* a *Clostridium perfringens*, dále enterobakterie *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica*, a další významné potravinové patogeny jako *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp. nebo *Campylobacter jejuni*. Zmíněné mikroorganismy jsou patogenní bakterie, se kterými se provozovatelé potravinářských podniků pravidelně setkávají a způsobují problémy při zpracování mléka a při jeho konzumaci, kdy svou přítomností porušují jeho zdravotní nezávadnost. Řada studií potvrzuje hojný výskyt těchto nežádoucích bakterií v mléce a také v jeho produktech.

Lze tedy konstatovat, že přítomnost patogenních mikroorganismů v mléce je velmi nežádoucí, jelikož výrazně snižuje jeho kvalitu a porušuje jeho bezpečnost. Doporučením pro provozovatele mlékáren je nepochybně vyvarovat se kontaminaci patogenní mikrobioty a dbát na preventivní opatření, která musí být v praxi proveditelná a pravidelně dodržována. Tím bude zajištěna bezpečnost mléka, a tedy i produktů z něj.

**Klíčová slova:** *Listeria monocytogenes*; enterobakterie; sporulující bakterie; eliminace patogenů; kontaminace

# Pathogenic microorganisms in milk

## Summary

Food in general provide ideal conditions for a diverse range of microorganisms to act and grow. This can compromise the healthfulness of the food and make it unsafe. Consumption of contaminated food can cause unpleasant or even serious illnesses, in some cases even death.

Milk is a product of the mammary gland of mammals secreted during lactation and has an important role in human nutrition, primarily because it is an essential food and raw material. As it is a rich source of nutrients, it may also contain a large number of microorganisms which may be pathogenic and it is necessary to eliminate and prevent such microorganisms.

The aim of this work was to make a literature review of the most important bacteria that contaminate milk and thus violate its healthfulness. The work focused on the contamination of cow's milk.

Common sources of contamination include the production environment of the plant where the milk is processed. Transmission can be mediated by production workers and their poor personal hygiene, dusty air or surfaces in contact with the raw material. The stable and its environment or the dairy cow itself can also be a source of contamination, hence the need for controls at milk reception in dairies. To prevent the development and contamination of milk with pathogenic microorganisms, it is essential to maintain the basics of minimum hygiene throughout the production process from receipt to packaging and distribution.

Selected bacteria contaminating milk include sporulating bacteria such as *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum* and *Clostridium perfringens*, as well as enterobacteria such as *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica*, and other important foodborne pathogens such as *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp. and *Campylobacter jejuni*. These microorganisms are pathogenic bacteria that food business operators regularly encounter and cause problems in the processing and consumption of milk, where their presence compromises the healthfulness of the milk. A number of studies have confirmed the abundance of these undesirable bacteria in milk and its products.

It can therefore be concluded that the presence of pathogenic microorganisms in milk is highly undesirable as it significantly reduces its quality and compromises its safety. The recommendation for dairy operators is undoubtedly to avoid contamination by pathogenic microbiota and to take precautions which must be practicable and regularly observed. This will ensure the safety of the milk and therefore of the milk products.

**Keywords:** *Listeria monocytogenes*; enterobacteria; spore-forming bacteria; elimination of pathogens; contamination



# Obsah

<b>1 Úvod.....</b>	<b>7</b>
<b>2 Cíl práce.....</b>	<b>8</b>
<b>3 Literární rešerše .....</b>	<b>9</b>
<b>3.1 Mléko .....</b>	<b>9</b>
3.1.1 Složení mléka .....	10
3.1.2 Mikrobiologie mléka .....	10
3.1.3 Kontaminace mléka.....	11
<b>3.2 Mikroorganismy .....</b>	<b>12</b>
3.2.1 Bakterie.....	13
<b>3.3 Patogenní mikroorganismy v mléce .....</b>	<b>14</b>
3.3.1 <i>Bacillus</i> spp. ....	14
3.3.2 <i>Clostridium</i> spp. ....	15
3.3.3 <i>Listeria monocytogenes</i> .....	18
3.3.4 <i>Salmonella</i> spp. ....	20
3.3.5 <i>Staphylococcus</i> spp. ....	21
3.3.6 <i>Escherichia coli</i> .....	22
3.3.7 <i>Streptococcus</i> spp. ....	24
3.3.8 <i>Campylobacter</i> spp.....	25
3.3.9 <i>Yersinia</i> spp.....	26
3.3.10 Studie vybraných patogenů v praxi.....	27
<b>3.4 Eliminace patogenů .....</b>	<b>29</b>
3.4.1 Pasterace .....	29
3.4.2 Sterilace .....	30
3.4.3 Další metody .....	30
<b>3.5 Prevence a bezpečnost v potravinářských závodech .....</b>	<b>31</b>
3.5.1 Systém HACCP.....	32
3.5.2 Skladování.....	32
3.5.3 Sledovatelnost .....	33
3.5.4 Inspekce a kontroly ve výrobním závodě .....	33
<b>4 Závěr .....</b>	<b>35</b>
<b>5 Literatura .....</b>	<b>36</b>





# 1 Úvod

Potraviny obecně představují ideální podmínky pro působení a rozvoj pestré škály mikroorganismů. Tím může být porušena zdravotní nezávadnost potravin a potravina se stává nebezpečnou. Konzumace kontaminovaných potravin může zapříčinit nepříjemná až závažná onemocnění, v některých případech i smrt.

Mléko je základní potravinou a surovinou. Stává se tak významnou součástí našich jídelníčků, bez které by se většina z nás neobešla. Aby se ke spotřebiteli dostalo kvalitní, a především zdravotně nezávadné, je bezpodmínečně nutné ho správně ošetřit a zpracovat. Je třeba zbavit ho patogenních mikroorganismů, případně jejich nežádoucích metabolitů, které mohou být pro člověka toxické.

Mezi časté zdroje kontaminace patří právě výrobní prostředí závodu, kde se mléko zpracovává. Přenos může být zprostředkován pracovníky výroby (nedodržení hygieny, špatně nasazený nebo vůbec neoblečený pracovní oděv atd.), prašným vzduchem nebo plochami, které jsou ve styku se surovinou. Zdrojem může být i stáj a její prostředí nebo samotná dojnice (špatně očištěné vemeno, mastitidy apod.).

Patogenními mikroorganismy rozumíme takové organismy, které způsobují nemoci a infekce konzumentům kontaminovaného produktu. Tato alimentární onemocnění negativně ovlivňují zdraví konzumentů a mohou ohrozit i jejich život. Projevy takových onemocnění jsou například bolesti břicha, zažívací obtíže, horečky, zvracení a mnoho dalších.

Pro zamezení rozvoje a kontaminace mléka patogenními mikroorganismy je zásadní dodržovat základy hygienického minima po dobu celého výrobního procesu od příjmu po zabalení a distribuci.

## **2 Cíl práce**

Cílem bakalářské práce bylo vytvoření literárního přehledu nejvýznamnějších patogenních mikroorganismů kontaminujících mléko. Práce se formou literární rešerše zaměřila na stručný popis vybraných mikroorganismů, jejich výskyt v mléce a případně na onemocnění, která způsobují. Dále byly popsány možnosti eliminace těchto patogenů a prevence proti kontaminaci v potravinářských podnicích a důraz na její nezbytnost v praxi.

## 3 Literární rešerše

### 3.1 Mléko

Mléko je sekretem mléčné žlázy samic savců vylučovaný během laktace a sehrává zásadní roli v lidské výživě, jelikož je zdrojem řady důležitých živin. Podle FAO & WHO (2011) je definováno jako mléčný sekret dojných zvířat získaný z jednoho nebo více dojení bez přídavku jiných látek nebo extrakce a je určené k přímé spotřebě jako tekuté mléko nebo k dalšímu zpracování. Dle Dostálové et al. (2014) je mléko v lidské spotřebě užíváno od doby neolitu po domestikaci některých druhů zvířat. Tento výměšek primárně slouží k výživě mláďat savců po dobu jejich vývinu. Je natolik významné, že v rané fázi života dokonce představuje výhradní zdroj všech živin a dalších biologicky aktivních látek s tím, že je jeho složení přímo přizpůsobeno potřebám mláďete daného druhu.

Z mléka se pak vyrábí řada výrobků, které nachází zvyšující se oblibu mezi jejich spotřebiteli. Mléčný výrobek je takový výrobek, který byl získán jakýmkoli zpracováním mléka, které může obsahovat potravinářské přídatné látky a další složky funkčně nezbytné pro jeho zpracování (FAO & WHO 2011). Mezi mléčné výrobky patří jogurty, sýry, tvarohy nebo fermentovaná mléka jako je například kefir, ale také mražené smetanové krémy, zahuštěné slazené či neslazené mléko nebo mléko sušené (Kopáček 2014; Gražyna et al. 2017; Fardet & Rock 2018).

Nejen mléko, ale i mléčné výrobky jsou globálně u spotřebitelů natolik oblíbené, že se řadí k základním potravinám v Evropě, Severní Americe a dalších částech světa, kde jsou tradičně konzumovány (Dostálová et al. 2014; Baker et al. 2021). Mléko a výrobky z něj tvoří přibližně 25-30 % průměrné lidské stravy a jsou bohatým zdrojem látek vykazujících antioxidační vlastnosti (Stobiecka et al. 2022).

40 % celosvětově nadojeného mléka je využito k produkci konzumního mléka, okolo 32 % je spotřebováno k produkci sýra či másla. Zhruba 6 % objemu nadojeného mléka je použito k výrobě sušeného mléka a shodně 2 % nadojeného mléka pro získání zahuštěných mléčných výrobků nebo fermentovaných mléčných výrobků (Fox & Kelly 2012).

Vzhledem k tomu, že nutriční požadavky novorozence závisí na jeho rozvoji po narození, rychlosti růstu a jeho energetických nárocích, vykazuje složení mléka velké mezidruhové rozdíly (O' Mahony & Fox 2013). Mléko je tedy druhově velmi rozmanité, a to se projevuje například ve variabilitě složení mlék různého živočišného původu (Dostálová et al. 2014). Dle původu existuje řada jeho druhů. Podle Barlowské et al. (2011) a Foroutana et al. (2019) celosvětové produkci mléka dominuje pět živočišných druhů, přičemž 83 % celkové produkce mléka je mléko kravské, následuje buvolí mléko s 13 %, kozí s 2 %, ovčí s 1 %, velbloudí 0,4 %. Kravské mléko představuje více než 80 % světové produkce mléka, čímž je dominantní nad ostatními a je nejčastěji konzumováno. Druhově je nejuniverzálnější surovinou pro zpracování, což se odráží v nejširším spektru vyráběných produktů.

### 3.1.1 Složení mléka

Mléko je polydisperzní systém. Je v něm rozpuštěno mnoho složek, které ho tvoří unikátní potravinou, tudíž je zapotřebí mít na paměti, že se nejedná o nápoj, nýbrž o potravinu. Obsahuje nejen základní živiny, ale i většinu minerálních látek a vitaminů. Základní složkou mléka je voda, ve které jsou rozpuštěny tři fáze dle velikosti částic – emulzní, koloidní a molekulární. Největší částice představuje fáze emulzní, kterou tvoří mléčný tuk ve formě tukových kuliček. Jedná se o emulzi oleje (tuku) ve vodě a je označována jako mléčná plasma. Bílkoviny mléka, které jsou o něco menší, tvoří koloidní fázi. V mléce se nachází bílkoviny kaseinové a bílkoviny syrovátkové. Nejmenší částice mléka jsou laktóza a soli, mezi kterými jsou například fosforečnany, citráty nebo chloridy (Belitz et al. 2009; FAO & WHO 2011).

Laktóza, tedy mléčný cukr, je specifickou složkou mléka, tzn. nenajdeme ji v žádné jiné potravíně, ale výhradně v mléce. Jedná se o disacharid složený ze dvou jednoduchých cukrů (monosacharidů) – glukózy a galaktózy, které jsou spojeny  $\beta$ -glykosidickou vazbou (Fox & Kelly 2012). Dostálová et al. (2014) uvádí, že je laktóza v mléce základním zdrojem dostupné energie. Mléčný tuk je lehce stravitelný v mléce homogenizovaném, ale i v nehomogenizovaném. Je nositelem lipofilních vitaminů a cholesterolu a může u některých jedinců zvyšovat hladinu cholesterolu v krvi, nicméně mléko jako celek má opačný efekt. Mléčné bílkoviny jsou velice dobře stravitelné, patří k nejideálnějším zdrojům esenciálních aminokyselin a jsou nositeli velké části vápníku a fosforu, které se v mléce vyskytují jako významné minerální látky. Z nutričního pohledu je nepřehlédnutelným významem jejich dobrá využitelnost oproti ostatním zdrojům.

Na základě analýzy, kterou prováděl Foroutan et al. (2019) vyplývá, že z chemického hlediska v mléce převažují sacharidy, především laktóza a galaktóza, anorganické ionty jako draslík a vápník, organické kyseliny jako kyselina citronová a sloučeniny obsahující aminy (kreatinin, cholin a močovina). Dle analýzy dále v menším zastoupení obsahuje vitaminy, triglyceridy a další látky minoritního zastoupení, a to hlavně diglyceridy a monoglyceridy, mastné kyseliny s krátkým řetězcem, aminokyseliny a další bioaktivní látky. Kromě toho mléko obsahuje také řadu makromolekul, včetně DNA, RNA a několika dalších molekul, které se vyskytují přirozeně v potravinách – bílkoviny jako kasein,  $\beta$ -laktoglobulin a  $\alpha$ -laktalbumin.

### 3.1.2 Mikrobiologie mléka

Mikrobiologie mléka je velmi důležitý aspekt a je předmětem kontroly v mlékárnách. Na základě mikrobiologických testů lze určit řadu kritérií, podle kterých určujeme jakost vzorkovaného mléka.

U mléka se určuje jakost mikrobiologická a hygienická. Mikrobiologickou jakost charakterizuje hodnota celkového počtu mikroorganismů (CPM) a hygienickou jakost tvoří hodnoty reziduí inhibičních látek (RIL) a počet somatických buněk (PSB). Nařízení EP a rady ES č. 853/2004 uvádí limit pro hodnotu CPM syrového kravského mléka do 100 000 buněk

v 1 ml mléka při 30 °C. PSB je definován jako součet všech jaderných útvarů, které jsou v mléce obsaženy a jejich průměrná velikost se pohybuje nad 4 mikrometry (Klimešová et al. 2019). Vyšší hodnota PSB se projevuje hustou až hlenovitou strukturou mléka. Pro syrové kravské mléko je dle nařízení EP a rady ES č. 853/2004 limitní hodnota PSB do 400 000 buněk v 1 ml. Podle Fotiny et al. (2018) je prokázáno, že je počet somatických buněk v mléce ukazatelem zdraví vemene a subklinické mastitidy. Stanovení počtu somatických buněk je velmi důležitým faktorem při hodnocení kvality mléka, který se používá při stanovení parametrů chemického složení mléka. Vyšší hodnota PSB se projevuje hustou až hlenovitou strukturou mléka.

Je důležité si uvědomit, že přítomnost patogenních mikroorganismů v mléce nejen ohrožuje zdraví konzumentů, ale zároveň negativně ovlivňuje zpracovatelnost mléka. Prospěšné mlékařské kultury by neměly zabezpečeny optimální podmínky pro svůj růst a metabolismus, jelikož by byly negativní mikrobiotou inhibovány. Tímto způsobem může být výrazně zhoršena zpracovatelnost například fermentovaných mléčných výrobků.

### **3.1.3 Kontaminace mléka**

V mléce a výrobcích z mléka se může vyskytovat řada mikroorganismů a může být významným zdrojem patogenů přenášených potravinami. Přítomnost potravinových patogenů v mléce je způsobena přímým kontaktem s kontaminovanými zdroji v prostředí mléčné farmy a vylučováním z vemene infikovaného zvířete. Kromě toho mohou patogeny přežívat a prospívat v prostředí i po pasterizaci, což vede k opětovné kontaminaci mléčných výrobků. Tyto cesty představují pro spotřebitele riziko přímé expozice potravinových patogenů přítomných v nepasterizovaných mléčných výrobcích i v mléčných výrobcích, které jsou po pasterizaci znovu kontaminovány (Boor & Murphy 2002).

Kontaminace mléka může být buď primární nebo sekundární. Mezi primární kontaminaci řadíme bakterie z dutin a povrchu vemene, strukových kanálků, z těla a výkalů dojnice, z krmiv, ze všech ploch, se kterými je mléko v přímém styku nebo s oděvem či rukama dojiče. Sekundární kontaminaci představuje pomnožení mikroorganismů po jeho předchozí primární kontaminaci. Je závislá především na době, kdy se začne mléko chladit po nadojení, na teplotě chlazení a času, během kterého se mikrobiota může množit a vytvářet metabolity. Bakterie se dostávají do vemene primárně strukovým kanálkem a jejich množství ovlivňuje schopnost strukového svěrače těsnit. Během dojení pak mléko kontaminují (Görner & Valík 2004).

Mléko a výrobky z něj, jakožto životně důležité složky stravy v mnoha zemích, jsou kvůli své bohaté výživové hodnotě snadno kontaminovány patogenními bakteriemi v jakékoli fázi od výroby až po konzumaci. Přestože je mléko a mléčné výrobky důležitou součástí zdravé výživy, mohou v případě konzumace v nepasterizovaném stavu představovat zdravotní riziko kvůli možné kontaminaci patogenními bakteriemi. Tyto bakterie mohou pocházet i z klinicky zdravých zvířat, od nichž se mléko získává, nebo z kontaminace prostředí, ke které dochází při dojení a skladování mléka. Snížení četnosti přenosu některých zoonotických patogenů

skotem a zlepšení hygieny dojení významně přispívá ke snížení kontaminace mléka. Nicméně nemůže zcela eliminovat riziko onemocnění přenášených mlékem. Konzumace nepasterizovaného mléka vysoce zvyšuje riziko nákazy. Navzdory obavám o opaku pasterizace nemění výživovou hodnotu mléka (LeJeune & Rajala-Schultz 2009).

Pokud nedojde k intramamární infekci nebo zvíře netrpí onemocněním, mléko v mléčné žláze v místě produkce obvykle neobsahuje bakterie. Při vylučování mléka však může dojít k jeho kontaminaci bakteriemi, které žijí jako komenzální mikrobiota na kůži struku nebo na epitelové výstelce strukového kanálu, kterým se mléko dostává z mléčné žlázy do strukového ústí. U skotu kolonizují toto místo bakterie rodů *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Bacillus*, *Micrococcus* a *Corynebacterium*, příležitostně i koliformní bakterie. Proto i u zdravého zvířete může mléko v době, kdy zvíře opouští, obsahovat četné bakteriální kontaminanty (LeJeune & Rajala-Schultz 2009; FAO & WHO 2011).

Podle Olivera et al. (2005) výskyt patogenů také závisí na požití kontaminovaného krmiva, po němž následuje amplifikace u hostitelů skotu a šíření výkaly v prostředí farmy. Konečným výsledkem tohoto cyklu je neustále udržovaný rezervoár patogenů přenášených potravinami, které se mohou dostat k člověku přímým kontaktem, požitím syrového kontaminovaného mléka či sýra nebo kontaminací při zpracování mléčných výrobků. Izolace bakteriálních patogenů s podobnými biotypy z mléčných farem a z ohnisek lidských onemocnění tuto hypotézu potvrzuje.

### 3.2 Mikroorganismy

Mikroorganismy obecně jsou jednobuněčné nebo vícebuněčné mikroskopické organismy, kteří nedokáží tvořit funkčně diferenciované tkáně ani pletiva. Jejich velikost se pohybuje v řádech mikrometrů až do několika desetin milimetrů. Mikroorganismy můžeme rozdělit do několika skupin dle různých kritérií. Mezi ty hlavní patří rozdělení podle nároků na výživu na autotrofní a heterotrofní mikroorganismy. Autotrofům k výživě dostačují anorganické sloučeniny a řadíme mezi ně řasy a některé bakterie. Z anorganických sloučenin vytváří všechny složky své buněčné hmoty. Organické sloučeniny, které se vyskytnou v jejich životním prostředí, mohou často inhibovat jejich rozmnožování. Heterotrofové naopak organické sloučeniny vyžadují a neobejdou se bez nich. Řadíme sem plísně, kvasinky a většinu bakterií. Heterotrofní mikroorganismy lze dále rozdělit na prototrofní a auxotrofní. Prototrofové si vystačí s jednoduchými organickými sloučeninami, jako jsou například jednoduché organické kyseliny nebo sacharidy. Auxotrofové kromě těchto látek potřebují i složitější organické sloučeniny, jako jsou například vitamíny nebo aminokyseliny (Šilhánková 2002; Rai & Bai 2018).

Další časté dělení mikroorganismů je dle nároků na kyslík. Tímto způsobem je rozdělujeme na aerobní, anaerobní, mikroaerofilní a fakultativně anaerobní. Aerobové disponují pouze aerobním metabolismem a potřebují tedy k životu vzdušný kyslík. Řadíme sem plísně, některé kvasinky, bakterie octového kvašení rodu *Acetobacter* a některé hnilobné bakterie. Anaerobové kvůli svému anaerobnímu metabolismu vzdušný kyslík nejsou

schopny využít. Kyslík je dokáže inhibovat a v některých případech na ně působí toxicky. Mikroaerofilové vlastní anaerobní metabolismus, nicméně jsou schopni tolerovat nízkou koncentraci kyslíku, která jim dokonce pomáhá urychlit rozmnožování. Do této skupiny patří například bakterie mléčného kvašení rodu *Lactobacillus* nebo *Campylobacter jejuni*, významný zástupce z rodu bakterií *Campylobacter*. Fakultativně anaerobní mikroorganismy se vyznačují aerobním i anaerobním metabolismem. Díky tomu jsou schopny růst a vyvíjet se za přítomnosti vzdušného kyslíku v životním prostředí, ale i za jeho nepřítomnosti. V aerobních podmínkách se většinou rozmnožují rychleji, jelikož je jim aerobní metabolismus schopen poskytnout mnohem více energie, což je pro růst velmi důležité (Šilhánková 2002; Sprenger 2003).

### 3.2.1 Bakterie

Bakterie jsou prokaryotické organismy, které nemají jádro oddělené jadernou membránou od cytoplazmy na rozdíl od buněk eukaryotických (Görner & Valík 2004).

Některé bakterie mohou způsobit závažné otravy z potravin a mezi takové patří právě ty, které se v mléce mohou vyskytovat. Jsou to především *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum* a *Clostridium perfringens*. Tyto sporulující bakterie jsou schopny produkovat tzv. spory, což jsou klidová stádia, která jim umožní přežít nepříznivé podmínky jako jsou například vysoká teplota nebo nedostatek živin, případně i desinfekce (Sprenger 2003).

Bakterie se vyskytují v různých formách, respektive tvarech. Nejčastější tvar bakterií je tyčinkovitý, kdy se bakterie vyskytují ve formě tyčinek, které mohou být rovné či zakřivené nebo ve tvaru pravidelné či nepravidelné spirály. Tyčinkovité formy bakteriálních buněk se množí jejich příčným dělením. Některé druhy bakterií tvoří natolik krátké tyčinky, že se podobají spíše kokům a jiné druhy naopak tvoří dlouhé tyčinky, tudíž spíše připomínají vlákna. Bakterie vyskytující se ve formách tyčinek obvykle dosahují délky své buňky od 1 do 3 mikrometrů. U stejného druhu závisí na fyziologickém stavu buněk – krátké buňky jsou většinou ty, které se velice intenzivně množí, zatímco klidové buňky jsou zpravidla daleko delší. Šířka buněk ve tvaru tyčinek téhož druhu bakterií je poměrně stálá, u většiny druhů se pohybuje v rozsahu velikosti od 0,5 do 1,5 mikrometrů. U mikroorganismů jejich velikost ovlivňuje jak rychlost růstu, tak rychlost příjmu živin. Dále se bakterie mohou vyskytovat ve tvaru kulovitých buněk a tyto buňky se nazývají koky. Tyto koky dokáží vytvářet řetězky za předpokladu, že se rozmnožují dělením v jedné rovině, což je charakteristické například pro rod *Streptococcus*. Koky mohou vytvářet tetrády ve chvíli, kdy se dělí ve dvou rovinách, které jsou na sebe kolmé, čímž se vyznačuje rod *Pediococcus*. Některé rody bakterií jsou schopny tvořit nepravidelné shluky buněk, a to dělením jejich kulovitých buněk v různých rovinách, typické například pro rod *Staphylococcus* (Šilhánková 2002; Gounand et al. 2016).

Bakterie můžeme rozdělit do dvou větví, které se liší stavbou svých buněčných stěn, respektive v jejich dalších složkách. Na základě tzv. Gramova barvení je dělíme na grampozitivní a gramnegativní bakterie.

### 3.3 Patogenní mikroorganismy v mléce

Patogenní mikroorganismy kontaminují pestrou škálu potravin a mléko rozhodně není výjimkou, jelikož může být jejich častým zdrojem. Mezi takové organismy patří především klinicky významné bakterie, které jsou v daném produktu nežádoucí a jsou součástí tohoto přehledu.

#### 3.3.1 *Bacillus* spp.

Zástupci rodu *Bacillus* jsou obávanými aerobními sporulujícími bakteriemi, které jsou zdravotně i technologicky velmi rizikové a vyskytují se v různých surovinách, potravinách a na výrobním zařízení. Mléko a jeho výrobky či výrobní zařízení v mlékárnách jsou bacily ohroženy také a poměrně hojně (Šviráková et al. 2014).

Jeden z neznámějších patogenních zástupců rodu *Bacillus* je *Bacillus cereus*. *Bacillus cereus* je grampozitivní tyčinková bakterie (viz obrázek č. 1), která je fakultativně anaerobní a tvoří endospory jako ostatní bakterie rodu *Bacillus*. Přirozeným rezervoárem této sporotvorné bakterie je půda, povrchy rostlin a kontaminovaná voda. Tyčinky bacilů dosahují velikosti 0,5 - 2,5 x 1,2 - 10 µm, jsou často řazené do párů nebo řetízků a mají zakulacené konce. Endospory jsou oválné až kulovité a velmi odolné vůči mnoha nepříznivým podmínkám (McClure 2006; Šviráková et al. 2014; Berthold-Pluta et al. 2019).



Obrázek č. 1 *Bacillus cereus*

Zdroj: <https://ilvo.vlaanderen.be/en/research-projects/impact-of-bacillus-cereus-endospore-evolution-on-food-safety-and-stability>



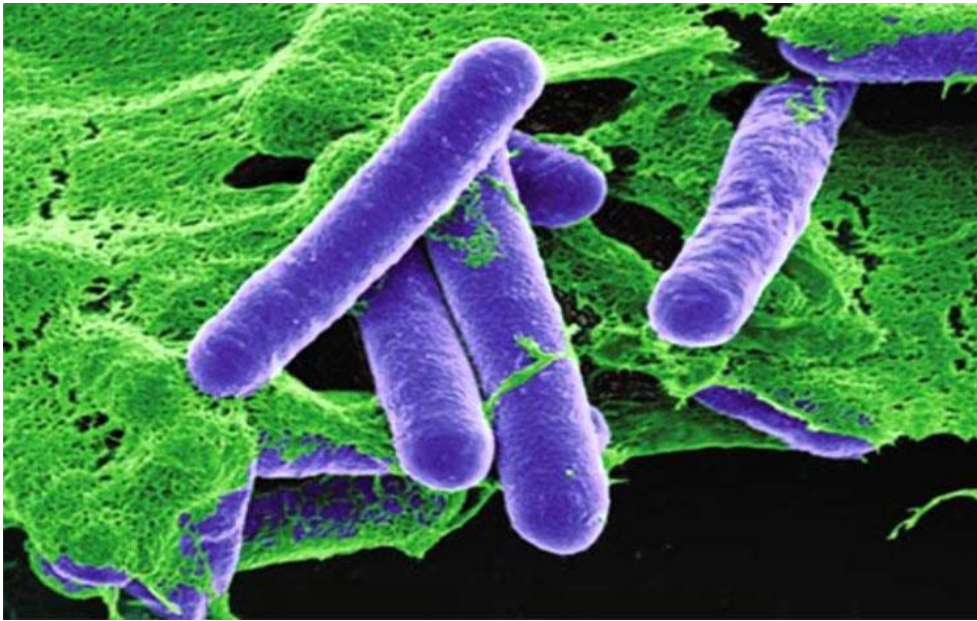
*Bacillus cereus* kontaminuje syrové i pasterované mléko nebo čerstvé i plísňové sýry a riziko kontaminace těchto komodit bývá mnohdy vysoké. (Berthold-Pluta et al. 2019). *B. cereus* v největší míře, spolu s jeho jinými psychrotrofními kmeny, kontaminuje déle skladované pasterované mléko. Ve velkém množství se nachází na vemeni a v jeho struku, tudíž je nutné provádět čištění vemene velmi pečlivě (Görner & Valík 2004). Podílí se na kažení mléka, které bylo podrobena pasteraci o nižších teplotách a následně zchlazeno, dále na kažení komerčně sterilizovaného UHT mléka a mléka ošetřeného pasterací s následným skladováním při pokojové teplotě. Syrové mléko, maso a zelenina, bývají bacily kontaminovány již v prvovýrobě a jejich endospory přežívají následně použité tepelné procesy. Z toho důvodu je pro bacily typická tepelná rezistence jejich spor, které mohou přežívat v tepelně opracovaném mléce a způsobovat tak jeho vady (Šviráková et al. 2014; McClure 2006).

Jelikož mohou některé jeho kmeny způsobit alimentární infekce a gastrointestinální onemocnění, dá se považovat za nebezpečnou bakterii v lidské výživě, nicméně některé jiné kmeny dokáží být prospěšné a u zvířat působí dokonce jako probiotika. *B. cereus* ve střevě v podstatě soutěží s jinými bakteriemi jako jsou *Salmonella* či *Campylobacter*, čímž dokáže redukovat jejich výskyt u hospodářsky významných zvířat, např. u kuřat, králíků nebo prasat. *B. cereus* je zodpovědný za infekce, které se často projeví jako zažívací potíže s nevolností, průjmem a zvracením. K těmto infekcím dochází prostřednictvím nedostatečně tepelně upravené potravy, kde přetrvávají životaschopné spory tohoto mikroorganismu. Nebezpečí infekce může být ještě významně zvýšeno, pakliže je takto nedostatečně tepelně upravená potrava nevhodně skladována. Spory bakterie časem germinují do vegetativních forem a tvoří enterotoxiny odolávající bodu varu i kyselému prostředí s pH hodnotou pohybující se mezi 2–11. Takto kontaminovaná potrava po požití vyvolává dva typy onemocnění, která se vyznačují buď diareálním (průjmovým), nebo emetickým (zvracení) syndromem (Julák et al. 2012; Porcellato et al. 2021).

### **3.3.2 *Clostridium* spp.**

Významným zástupcem rodu *Clostridium* je *Clostridium botulinum*. *Clostridium botulinum* je anaerobní grampozitivní bakterie ve tvaru tyčinky (viz obrázek č. 3). Je sporulující a dokáže tvořit oválné subterminální spory. Hojně se vyskytuje v půdě, produkuje významný neurotoxin zvaný botulotoxin, někdy známý pod jménem botulin. Ten způsobuje paralýzu svalů při onemocnění zvaném botulismus. Lidský botulismus mohou způsobit i jiní příslušníci rodu *Clostridium*, např. druh *C. butyricum* nebo *C. baratii* (Julák et al. 2012).

Je známo sedm různých typů *C. botulinum*, které vytvářejí nejméně sedm forem toxinů od A do G. A, B, E a v menší míře F jsou typy toxinů, které jsou nejčastěji zodpovědné za onemocnění botulismem u lidí. Všechny kmeny typu A jsou proteolytické a kmeny typu E jsou obvykle neproteolytické, typy B a F mohou být obojího charakteru. Existují čtyři hlavní skupiny organismů, přičemž skupiny I a II jsou ty, které jsou zodpovědné za případy botulismu (Fernandes et al. 2009).



Obrázek č. 3 *Clostridium botulinum*

Zdroj: <https://scienceinfo.net/the-danger-of-clostridium-botulinum-bacteria.html>

*C. botulinum* je považováno za striktně anaerobní bakterii, která nesnese kyslík, jelikož je pro ni jedovatý. Díky enzymu superoxiddismutasa (SOD), který působí jako velmi účinný antioxidant, je bakterie schopna tolerovat malé množství kyslíku, čímž buňku do jisté míry chrání. *C. botulinum* dokáže za nepříznivých životních podmínek vytvářet endospory, ve kterých dokáže přežít do té doby, dokud nebudou vhodné životní podmínky pro jeho růst opět vytvořeny (Julák et al. 2012). Ačkoli je *C. botulinum* obligátní anaerob žijící pouze v prostředí bez kyslíku, mnoho potravin, které nejsou anaerobní, mohou poskytovat vhodné podmínky pro jeho růst. Takto aerobně balený výrobek nemusí podporovat růst organismu na povrchu potraviny, ale vnitřek může být pro růst vhodný. Je velmi důležité si uvědomit, že zařazení kyslíku jako balícího plynu nemusí zajistit, že růstu *C. botulinum* bude zcela zabráněno (McClure 2006).

Všechny kmeny *C. botulinum* rostou poměrně dobře v teplotním rozmezí 20-45 °C. Existují dvě skupiny organismů, které se liší nároky na minimální teplotu, která je potřebná k jejich inhibici. Skupina organismů I (proteolytické) jsou nižší než teploty skupiny II (neproteolytická skupina). Organismy skupiny I nerostou při teplotách 10 °C a nižších. Kmeny skupiny II jsou psychrotrofní a jsou schopny pomalého růstu a produkce toxinů při nízkých teplotách, dokonce až při teplotách nižších než 3 °C. Vegetativní formy *C. botulinum* nejsou příliš odolné vůči vysoké teplotě, ale spory tohoto organismu jsou odolnější. Všechny typy *C. botulinum* produkují termolabilní toxiny, které mohou být inaktivovány zahřátím na 80 °C po dobu 20-30 minut, při 85 °C po dobu 5 minut nebo při 90 °C po dobu několika sekund. Minimální pH pro růst proteolytických a neproteolytických kmenů je pH 4,6 - 5,0 (Fernandes et al. 2009).

K zajištění bezpečnosti kontaminovaného mléka sporami bakterie *Clostridium botulinum* je nutné mléko podrobit minimálnímu záhřevu o teplotě 121 °C po dobu tří minut. Takovýmto způsobem by se měly ošetřovat i méně kyselé potraviny (Sprenger 2003).

*C. botulinum* lze definovat jako neškodný mikroorganismus pouze do té doby, než se setká s patogenem po infekci bakteriálním virem, tedy bakteriofágem. Bakterie je toxigenní ve chvíli, kdy integruje virová DNA do bakteriálního genomu (Julák et al. 2012).

Dalším velmi významným zástupcem rodu *Clostridium*, který může kontaminovat mléko, je *Clostridium perfringens*, někdy též *Clostridium welchii* nebo *Welchia perfringens*. Jedná se o grampozitivní anaerobní sporulující bakterii ve formě tyčinek (viz obrázek č. 4). Ubikviterní výskyt má v přírodě a nalezena může být ve hnilivé vegetaci, v mořských sedimentech, ale také v trávicím traktu člověka, jiných obratlovců a hmyzu. Při výskytu v malé koncentraci ji lze považovat za normální složku střevní mikrobioty, která nezpůsobuje žádné onemocnění (Julák et al. 2012).

*C. perfringens* je stejně jako ostatní klostridie striktní anaerob. Neroste proto na povrchu potravin, pokud nejsou vakuově nebo plynem baleny (Fernandes 2009).



Obrázek č. 4 *Clostridium perfringens*

Zdroj: <https://www.ecolab.com/expertise-and-innovation/resources/microbial-risks/clostridium-perfringens>

*C. perfringens* je příčinou nebezpečí tehdy, kdy vytvoří mimostřevní infekce, především nekrózy tkání, emfysemytozní cholecystitidy, tedy zánět žlučníku, nebo plynaté sněti (klostridiová myonekróza). Silné bolesti břicha a průjem bývají řazeny jako časté příznaky intoxikace s případným výskytem horečky nebo zvracení. Kvůli běžnému výskytu protilátek proti enterotoxinu v populaci zůstává pravděpodobně mnoho případů otrav způsobených *C.*

*perfringens* nedignostikováno nebo se projevují subklinicky. Tím pádem tuto opravu mohla prodělat většina populace (McClure 2006; Julák et al. 2012).

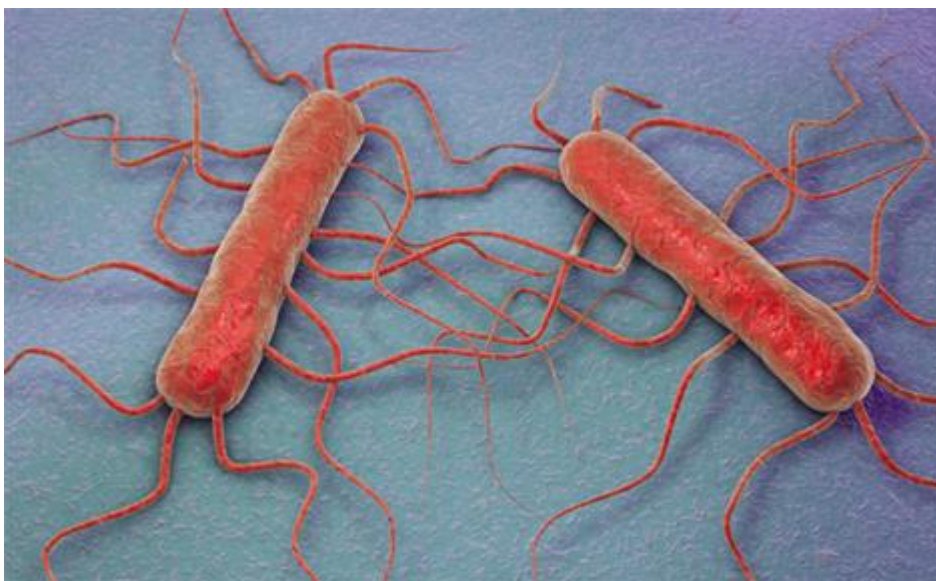
*C. perfringens* je třetí nejčastější příčinou otrav z potravin ve Velké Británii a Spojených státech amerických. Příčinou nemoci je produkce termolabilního enterotoxinu, jež je inaktivován při 74 °C. Prokázán může být v nedostatečně upravené potravě nebo ve stolici pacienta. Zdrojem onemocnění se může stát i potrava dostatečně tepelně upravená, která ale byla po dlouhou dobu skladována a obsahovala odolné spory, které mohou přežít vaření a vyklíčit do vegetativních forem během skladování, kdy začnou produkovat enterotoxin (Julák et al. 2012).

Pro oba zmíněné zástupce rodu *Clostridium* platí, že se v mléce vyskytují v poměrně malém množství. Například ve srovnání s rodem *Bacillus* až desetkrát méně. Avšak obávanými škůdci se stávají při výrobě polotvrdých a tvrdých sýrů, kdy během zrání sýru způsobují jeho nežádoucí duření. Nejzávažnějším zdrojem výskytu klostridií v mléce je krmivo siláž, tudíž záleží na její jakosti, která se velmi liší (Görner & Valík 2004).

### 3.3.3 *Listeria monocytogenes*

*Listeria monocytogenes* je grampozitivní bakterie ve tvaru tyčinky (viz obrázek č. 8), která je fakultativně intracelulární. Je schopna růstu při nízké teplotě až 0 °C za přítomnosti iontů železa. Při 30 °C je pomocí bičíků pohyblivá, při 37 °C však nikoliv (Julák et al. 2012). Obecně se jedná o psychrotrofní mikroorganismus, který roste v širokém rozmezí teplot od 1 °C až do 45 °C, kdy optimální teplotou pro růst je 30 až 37 °C. Je schopna tolerovat poměrně široké rozmezí pH 4,3 až 9,6, kdy je optimální hodnotou pH 7,0 (Brychta et al. 2018). Listerie je přirozeně přítomna v přírodě a zvířatech, odkud se dostává do potravin a pakliže dojde k jejímu přenosu ze zvířat na člověka, tak se jedná o zoonózu (Julák et al. 2012). V přírodě se běžně vyskytuje a přežívá v extrémních podmínkách nebo také za přítomnosti antimikrobiálních látek (Brychta et al. 2018). Jelikož není příliš odolná vůči teplu a netvoří spory, může být zničena již pasterizací (Fernandes 2009).

*L. monocytogenes* je charakteristická svou rozsáhlou schopností environmentální adaptace. Tato schopnost usnadňuje její přežití v potravinářských provozech či rozvoj v potravinovém řetězci jako takovém. Je schopna často perzistovat v prostředí potravinářských závodů až po několik let s rizikem kontaminace finálních produktů (Gelbíčková et al. 2020).



Obrázek č. 8 *Listeria monocytogenes*

Zdroj: <https://www.bezpecnostpotravin.cz/efsa-aktualni-informace-k-nakazam-bakterii-listeria-monocytogenes.aspx>

Listerie kontaminuje syrové mléko, sýry vyrobené ze syrového mléka a další mléčné výrobky (Kim & Bhunia 2008; Quinlan 2013; Costard et al. 2017). Jedna z nejčastěji kontaminovaných potravinářských komodit listerií je pasterizované i nepasterizované mléko a výrobky z něj, především měkké zrající sýry nebo zmrzlina. Jednou z nepříznivých vlastností *L. monocytogenes* je její schopnost odolávat nižší teplotě (Julák et al. 2012). Chladírenské teploty jsou pro listerie v zásadě příznivé a mohou dokonce přežít i mražení (Brychta et al. 2018).

*L. monocytogenes* způsobuje onemocnění zvané listerióza, jejíž projevy mohou být různé. Listeriόza patří mezi hlavní příčiny úmrtí na alimentární infekce a listerie je považována za nejvirulentnější patogen přenášený potravou (Julák et al. 2012). Listeriόza je vysoce nebezpečná u rizikových skupin spotřebitelů jako jsou gravidní ženy, lidé s poruchou imunity nebo senioři. U těchto rizikových skupin je schopna způsobit závažná onemocnění, většinou alimentárním přenosem, zahrnující septikémie, neurologické a neonatální infekce. Listeriόzou v České republice během roku onemocní kolem 30 až 40 osob s tím, že asi 20 až 35 % pacientů na následky nemoci zemře. Jedná se tak o vysokou smrtnost (Gelbíčková et al. 2020). Mezi nejčastější projevy listeriόzy dle Sprengera (2003) patří horečka, průjem, meningitida, otrava krve nebo může dojít k potratu u těhotných žen. Procento úmrtnosti je velmi vysoké (až 30 %), nicméně se na něm podílejí především lidé, kteří nějakou nemoc před ní měli. Z toho důvodu jsou upozorňovány rizikové skupiny populace, aby se vyvarovali konzumaci některých mléčných výrobků, například měkkých sýrů.

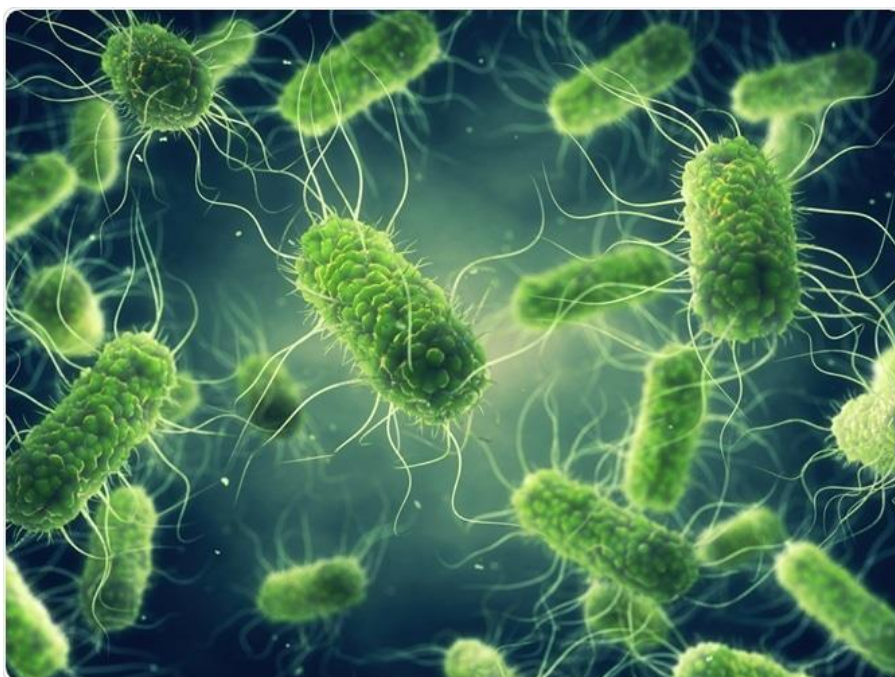
Sýry patří k nejčastějším příčinám alimentárních listeriόz z mléčných výrobků. Je dokonce známa řada případů nakažení Hispánců listeriόzou z čerstvých sýrů mexického typu, které jsou pro ně tradiční, z kontaminovaného mléka (Macdonald et al. 2005; Jackson et al.

2010; 2011). V jednom americkém závodě v roce 2009 došlo při rutinní kontrole tamním ministerstvem zemědělství k nálezů listerie v sýru s názvem Asadero, které bylo vyrobeno z pasterizovaného mléka. Z pochopitelných důvodů muselo být okamžitě staženo z trhu (Jackson at al. 2011).

### 3.3.4 *Salmonella* spp.

*Salmonella* spp. (viz obrázek č. 5) je fakultativně anaerobní gramnegativní bičíkatá bakterie (Julák et al. 2012) jenž je považována za nejčastěji se vyskytujícího potravinového patogena a podle Světové zdravotnické organizace (WHO) je jednou ze čtyř hlavních celosvětových příčin průjmových onemocnění. *Salmonella* způsobuje onemocnění zvané salmonelóza. Hlavními rezervoáry infekcí salmonelou jsou kontaminované maso, drůbež, vejce a mléko (Wei et al. 2019).

Výsledky výzkumu Quinlana (2013) obecně potvrzují trend, že menšinové populace trpí větším výskytem salmonelózy. Podle (Chang et al. 2009) Chang et al. (2009) prováděli analýzu demografických faktorů spojených se třemi nejčastěji celostátně hlášenými střevními bakteriálními onemocněními v USA, mezi nimiž je salmonelóza. Bylo zjištěno vysoké procento afroamerické a hispánské populace s výskytem salmonelózy.



Obrázek č. 5 *Salmonella* spp.

Zdroj: <https://www.news-medical.net/health/Salmonella-Sources-of-Infection.aspx>

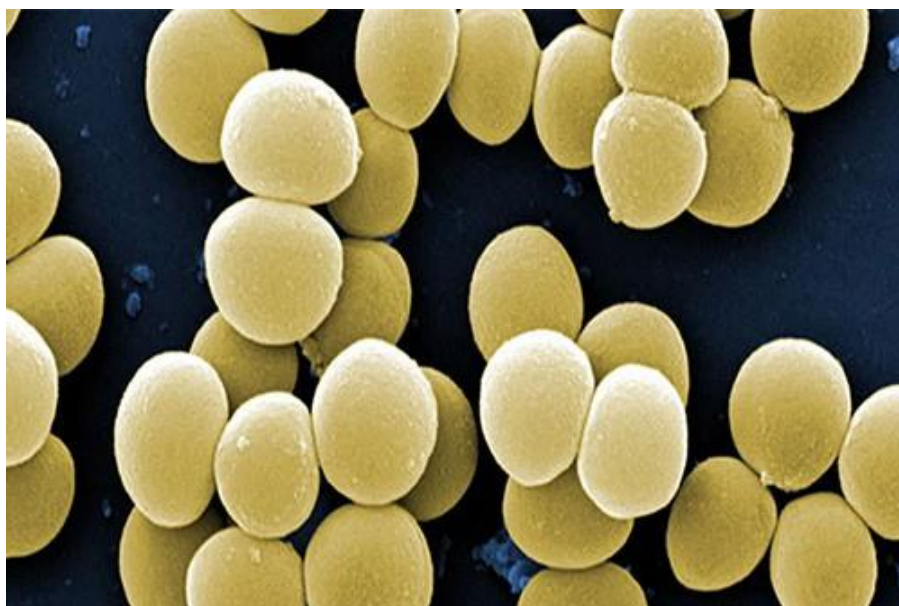
*Salmonella enterica* kontaminuje nepasterizované mléko i jeho výrobky (Kim & Bhunia 2008; Costard et al. 2017). Je vysoce pravděpodobné, že s rostoucí spotřebou nepasterizovaných mléčných výrobků se bude počet onemocnění salmonelózou neustále zvyšovat (Costard et al. 2017). Podle Sprengera (2003) je konzumace nepasterizovaného mléka jednou z nejvýznamnějších příčin onemocnění salmonelózou. Mezi dalšími rezervoáry dodává neupravené výrobky ze syrových vajec, mezi které lze zařadit majonézu, bílkovou pěnu, tiramisu a další. Příznaky salmonely jsou nejčastěji průjemy, bolesti břicha, zvracení, horečka a délka nemoci trvá kolem 7 dnů. Případy úmrtí jsou velmi ojedinělé a bývají zaznamenávány u mladých nebo strých nemocných lidí.

Dle současné klasifikace obsahuje rod *Salmonella* pouze dva druhy, *Salmonella bongori* a *Salmonella enterica*, ale existuje více než 2 500 sérotypů *S. enterica*. *S. enterica* zahrnuje široké množství sérotypů, které vyvolávají gastrointestinální průjemová onemocnění včetně břišního tyfu nebo hnisavé léze (Julák et al. 2012).

Ačkoli se již ve vyspělých zemích nevyskytují, sérotypy *Salmonella enterica* (*S. Typhi* a *Paratyphi*) jsou i nadále rozšířeny v mnoha částech rozvojového světa, zejména v Asii a severních oblastech Afriky, kde způsobují střevní horečku. Odhaduje se, že tyto původci stále způsobují přibližně 22 milionů případů onemocnění a 200 000 úmrtí ročně, především v oblastech, kde jsou špatné hygienické podmínky a nedostupná čistá voda (Crump et al. 2004; Andrews-Polymenis et al. 2010).

### **3.3.5 *Staphylococcus* spp.**

Rod *Staphylococcus* bývá často spojován s jeho nejznámějším patogenním zástupcem, kterým je *Staphylococcus aureus*. *Staphylococcus aureus* je grampozitivní kulovitá bakterie, která je také známa pod názvem zlatý stafylokok, a to kvůli své pigmentaci (viz obrázek č. 6). Je obvyklou součástí kožní mikrobioty, kterou můžeme nalézt v nose nebo méně častěji v hrdle. Dlouhodobými přenašeči stafylokoka jsou lidé, kteří často nevykazují příznaky onemocnění stafylokokem. Tito lidé tvoří více než 20 % populace. *S. aureus* je významný patogen, který způsobuje řadu onemocnění od méně závažných kožních onemocnění až po stavy ohrožující život. V případě kožního onemocnění se projevuje formou pupínků nebo v závažnějších případech v podobě impetiga, vředů zvaných furunkl a karbunkl, abscesů nebo syndromu opažené kůže, který se vyskytuje především u dětí (Julák et al. 2012). Mezi další projevy infekce stafylokokem patří nevolnost a zvracení, průjem, vyčerpání, bolesti břicha nebo teploty (Sprenger 2003).



Obrázek č. 6 *Staphylococcus aureus*

Zdroj: <https://www.sensiclinic.cz/zlaty-stafylokok-staphylococcus-aureus/>

*Staphylococcus aureus* dokáže podle (Mirzaei et al. 2011) kontaminovat syrové a pasterované mléko nebo dokonce zmrzlinu či tradiční máslo Sarabu v Íránu. Sprenger (2003) tuto informaci potvrzuje a mezi běžnými vehikuly ještě dodává mléčné výrobky jako celek, z nichž zdůrazňuje sýry, dále krémové výrobky, pudinky, šlehačku nebo maso podávané za studena. Častým zdrojem stafylokoků je syrové kravské, ale i kozí mléko od zvířat trpících mastitidou.

### 3.3.6 *Escherichia coli*

*Escherichia coli* je gramnegativní, fakultativně anaerobní, nesporulující bakterie s typicky tyčinkovitými buňkami (viz obrázek č. 7). U některých kmenů lze najít peritrichálně uložené a pohyblivé bičíky. Velmi ochotně roste na různých substrátech a v anaerobních podmínkách používá různé mechanismy anaerobní fermentace za vzniku laktátu, sukcinátu (jantaranu), acetátu (octanu), ethanolu a oxidu uhličitého (Julák et al. 2012). *E. coli* dosahuje rozměrů kolem 1  $\mu\text{m}$  (Buchanan 2014).





Obrázek č. 7 *Escherichia coli*

Zdroj: <http://www.pitnavoda.cz/bakterie-a-e-coli/>

*E. coli* se často nachází v dolní části zažívacího traktu teplokrevných organismů. Svému hostiteli dokáže *E. coli* např. dodávat vitamin K2, čímž chrání hostitelův trávicí trakt před osídlením patogenními mikroorganismy a tím jsou prospěšné. Některé kmeny jsou ale zodpovědné za řadu vážných onemocnění jako jsou průjemy či otravy z potravin. *E. coli* dokáže přežít nejen ve střevech, ale i mimo tělo v okolním prostředí. Díky této vlastnosti je dobrým indikátorem fekálního znečištění okolí, především vody (Julák et al. 2012).

*Escherichia coli* kontaminuje nepasterizované mléko i jeho výrobky (Kim & Bhunia 2008; Costard et al. 2017). Dle Klimešové et al. (2019) může způsobovat environmentální mastitidy kvůli výskytu v prostředí.

Dle (Zhou et al. 2017) je *Escherichia coli* O157:H7 vysoce patogenní kmen, který již při nízkých infekčních dávkách způsobuje závažná akutní onemocnění, jako je hemolyticko-uremický syndrom, hemoragická kolitida, krvavý průjem a dokáže způsobit i dlouhodobé následky.

Je rozlišeno mnoho poddruhů uvnitř druhu *E. coli* s tím, že se některé vlastnosti kmenů různých poddruhů mohou významně lišit. Některé rozdíly mohou být detegovány pouze na úrovni molekulární, řada jiných rozdílů však může být v odlišném životním cyklu jednotlivých kmenů (Julák et al. 2012).

*E. coli* může být dokonce důležitou součástí střevního mikrobiomu člověka a dalších savců. Obvykle spolu s jejím lidským hostitelem, v tomto případě s člověkem, koexistují se vzájemným prospěchem po celá desetiletí. Tyto komenzální kmeny *E. coli* zřídka způsobují onemocnění s výjimkou případů, kdy je hostitel imunitně oslaben. Každopádně není však jen neškodným obyvatelem střev, ale může být také často smrtícím patogenem. Několik různých kmenů *E. coli* způsobuje různá střevní a průjmová onemocnění i mimostřevní onemocnění jako infekce močových cest nebo meningitidu. Za nejzávažnější

patogenní kmen je povržována enterohemoragická *Escherichia coli* (EHEC), která produkuje shiga toxin a způsobuje vodnaté až krvavé průjmy označované jako hemoragická kolitida (Kaper et al. 2004; Ekici & Dümen 2019).

### 3.3.7 *Streptococcus* spp.

Rod *Streptococcus* zahrnuje významným zástupce z potravinářsko-technologického hlediska, jako je například *Streptococcus thermophilus*, který hraje podstatnou roli při výrobě jogurtů. Nicméně tento rod zastupují i druhy patogenních streptokoků, které mohou příležitostně kontaminovat mléko. *S. pyogenes* (viz obrázek č. 9) a *S. agalactiae* jsou původci zánětů mléčné žlázy dojníc, které mohou způsobovat zápaly vemene až infekční mastitidu. Ke kontaminaci mléka může docházet formou kapének z hrdla dojičů, kteří jsou přenašeči daného streptokoka a trpí například angínou. Kontaminace streptokoky může být zprostředkována i vzduchem z prachu nebo podestýlky. Při špatném režimu čištění vemen, nedostatečné hygienické praxi při dojení nebo nedostatečným ošetřením vemen v době zaprahování se mastitida může nekontrolovaně šířit z dojnice na dojnici. Oba streptokoky tak považujeme za patogeny, kteří jsou příčinou značných hospodářských škod. Pro *S. agalactiae* je nejdůležitějším zdrojem mléčná žláza, jelikož z vnějšího prostředí po pár dnech jeho kontaminace vymizí. Patogenní jsou ale zejména pro zvířata (Görner & Valík 2004).

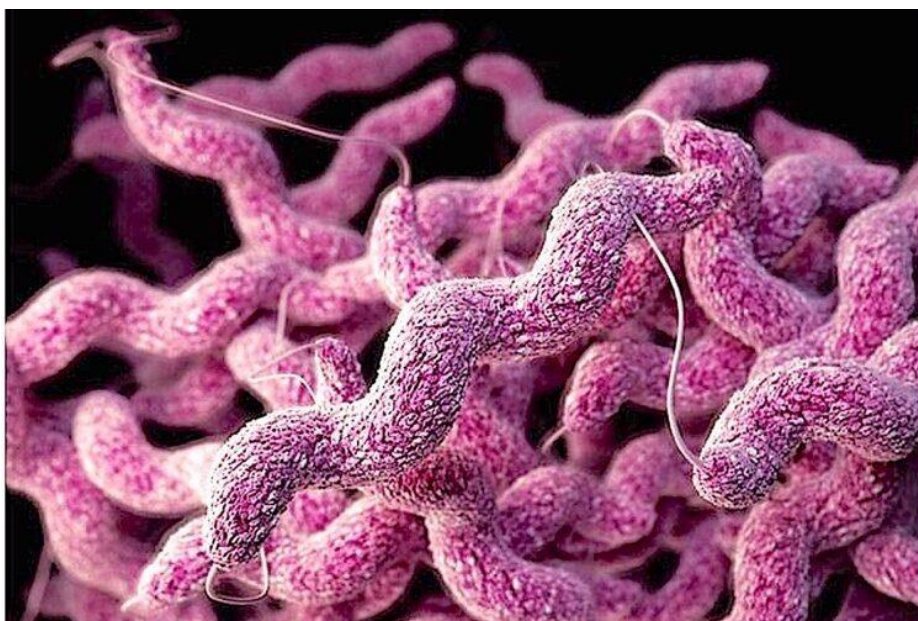


Obrázek č. 9 *Streptococcus pyogenes*

Zdroj: <https://thenativeantigencompany.com/products/streptococcus-pyogenes-cells-heat-inactivated/>

### 3.3.8 *Campylobacter* spp.

Z rodu *Campylobacter* je významným patogenním zástupcem *Campylobacter jejuni*. *Campylobacter jejuni* je gramnegativní nesporulující mikroaerofilní spirálovitá tyčinková bakterie (viz obrázek č. 2), která je jednou z nejčastějších příčin lidských gastroenteritid na světě a vyskytuje se běžně v lidské stolici. Otrava z potravin způsobená kampylobakteriemi je velmi vysilující a nepříjemná, ale jen výjimečně ohrožuje život (Julák et al. 2012).



Obrázek č. 2 *Campylobacter jejuni*

Zdroj: <https://about-campylobacter.com/>

Kontaminuje nepasterizované mléko a jeho výrobky (Costard et al. 2017) Podle (Costard et al. 2017) se bude počet onemocnění kampylobakteriózou neustále zvyšovat s rostoucí spotřebou nepasterizovaných mléčných výrobků

*C. jejuni* je původcem onemocnění zvané kampylobakterióza, která je v Evropě od roku 2005 nejčastěji hlášenou zoonózou, nicméně v drtivé většině případů nezpůsobuje smrt. (ECDC & EFSA 2021).

Projevem infekce *C. jejuni* bývá enteritida vyvolávající nevolnost, malátnost, bolesti břicha, průjem a horečku. Potíže tohoto charakteru mohou trvat 24 hodin, častěji ale týden nebo delší dobu. Průjem může být buď mírný, nebo těžký s krvavou stolicí. Není třeba podávat antibiotika, neb příznaky často spontánně vymizí, ale v dlouhodobých a vážnějších případech se podává lék známý pod názvem profloxacin, který je účinný až v 90 % případů, nebo erytromycin či další léky. V závažných případech je nutné také doplňování vody a elektrolytů (Julák et al. 2012).

### 3.3.9 *Yersinia* spp.

*Yersinie* je gramnegativní bakterie krátkých tyčinek (viz obrázek č. 10) dosahujících velikosti 0,5 - 1,0 x 1,0 - 2,0  $\mu\text{m}$  (Fernandes 2009). Je to fakultativně anaerobní bakterie, oxid uhličitý inhibuje účinek na její růst, který může být v menší míře zpomalen vakuovým balením. Je poměrně citlivá na teplo a snadno likvidována při teplotách vyšších než 60 °C. Vnitřní teplota 60 °C v mléce inaktivuje až milion buněk *yersinie* na jeden gram, zatímco při vaření při teplotě 51 °C zůstává několik přeživších buněk (Fernandes et al. 2009). Rozvíjí se v poměrně širokém rozmezí teplot, a to od -2 až do 42 °C. Optimum teplot se pohybuje kolem 28-29 °C (Bursová et al. 2015).

*Y. enterocolitica* byla izolována v mnoha zemích ze syrového mléka i mléka pasterovaného. Příčinou může být nesprávná funkce pasterizačního procesu, která vede k nedostatečnému tepelnému ošetření nebo kontaminaci po procesu, nebo kontaminace tepelně odolnými kmeny *Y. enterocolitica*. Tepelně odolné kmeny však nebyly zaznamenány (Bari et al. 2011).



Obrázek č. 10 *Yersinia enterocolitica*

Zdroj: [https://www.wikiwand.com/cs/Yersinia\\_enterocolitica](https://www.wikiwand.com/cs/Yersinia_enterocolitica)

V praxi může často růst bez problémů v plnotučném mléce při 3 °C (Bari et al. 2011). V mléce je schopna se množit při velmi nízkých teplotách blízkých se k 0 °C a ideálním živným médiem je pro ni médium bez konkurenčního vlivu doprovodné mikrobioty. Řadí se pod termolabilní mikroorganismy a pasterací bývá s jistotou devitalizována. V pasterovaném mléce bývá nejčastějším zdrojem *yersinie* sekundární kontaminace, přídavek tepelně

neošetřeného mléka, použití kontaminovaných přísad u produktů s příchutí nebo nedodržení režimu pasterace. Rod *Yersinia* bývá hojně izolována z masa a masných produktů, nicméně výskyt yersinií bývá pozorován také v syrovém či pasterovaném mléce nebo v některých mléčných produktech (Bursová et al. 2015).

*Yersinia enterocolitica* patří mezi další významné původce zoonóz, které jsou schopny vyvolat střevní onemocnění lidí a zvířat. Přesto, že jsou patogenní kmeny *Y. enterocolitica* z potravin zřídka izolovány, jsou za hlavní zdroj infekce yersinií považovány kontaminované potraviny. Z pohledu vzniku gastrointestinálních onemocnění jsou mezi vysoce rizikové řazeny potraviny živočišného původu kontaminované touto bakterií, jako je například mléko (Fredriksson-Ahomaa et al. 2006; Bursová et al. 2015). Yersinie způsobuje onemocnění zvané yersinióza, která je třetí nejčastější zoonózou po kampylobakterióze a salmonelóze (Zadernowska et al. 2014). Jak uvádí Bhaduri (2011), tento patogen způsobuje ve Spojených státech ročně 96 000 případů onemocnění lidí a 90 % těchto případů je výsledkem přenosu potravinami.

### 3.3.10 Studie vybraných patogenů v praxi

Patogenní mikrobiota v mléce je pravidelně podrobována odborným analýzám a studiím, které vychází z praxe. Mezi hlavní cíle patří zkoumat chování těchto patogenů, jejich vlastnosti, výskyt v mléce nebo alimentární nemoci, které mohou způsobovat.

Studie Hansona et al. (2005) se zaměřila na problematiku pasteračních procesů a zdali vedou ke zvýšení množství bakterií přítomných v pasterovaném mléce aktivací spor zástupců rodu *Bacillus*. Vzorky syrového mléka byly odebrány v den příchodu do mlékárny a pasterovány čtyřmi rozdílnými způsoby záhřevu, kdy se lišila použitá teplota a doba pasterace. Pasterizované vzorky byly poté skladovány při teplotách 6 a 10 °C po dobu 14 dnů. Vzorky byly analyzovány na standardní počet mikroorganismů a počet bacilů bezprostředně po pasterizaci a po 14 dnech skladování. Pasterace mléka při vyšších teplotách okolo 74 °C významně zvýšila množství aktivovaných spor *Bacillus* oproti pasterizaci při 63 °C. Ve výchozích vzorcích pasterizovaných při 82 °C po dobu 30 minut nebyl *B. cereus* zjištěn, ale ve vzorcích po 14 dnech skladování byl přítomen, což indikuje jeho regeneraci.

Abusheliabi et al. (2017) zkoumali chování patogenních bakterií přenášených potravinami v pasterizovaném velbloudím mléce a porovnávali ho s pasterizovaným kravským mlékem při různých inkubačních teplotách. Byly sledovány bakterie *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *E. coli* O157:H7 a *Salmonella* spp. Pasterované velbloudí mléko a pasterované kravské mléko byly odděleně inokulovány mikroorganismy každého již zmíněného potravinového patogenu. Naočkované vzorky mléka byly inkubovány při teplotách 10, 25 a 37 °C. U vzorků syrového mléka byl sledován celkový počet bakterií a u vzorků pasterovaného mléka celkový počet termoturických bakterií. U pasterovaného velbloudího mléka byla zjištěna vyšší míra inhibice růstu čtyř patogenů ve srovnání s pasterovaným kravským mlékem. Syrové a pasterizované velbloudí mléko mělo

bakteriostatický účinek proti všem testovaným patogenům, zejména po dobu prvních 8 hodin inkubace v mléce při různých teplotách. Pasterizované velbloudí mléko vykazovalo inhibiční aktivitu, která byla rovnocenná inhibiční aktivitě syrového velbloudího mléka.

Současné výzkumné trendy kladou důraz na vývoj multipatogenních platforem ve formátu jednoho testu. Pokračuje například vývoj multiplexních PCR testů, biosenzorů s mikročipy proteinů a protilátek či imunosorbentních testů. Přístup založený na detekci více patogenů je atraktivní a ekonomicky výhodný, protože může snížit celkovou potřebu prostoru pro zpracování velkého počtu vzorků, spotřební materiál, činidla a pracovní sílu, a tím snížit celkové náklady na testování jednoho patogenu. Kromě toho je multiplexní detekce racionálním přístupem, protože mnoho potravin, jako je mléko a mléčné výrobky, maso a drůbež a ovoce a zelenina, jsou běžnými nosiči *Salmonella enterica*, *Escherichia coli* O157:H7 a *Listeria monocytogenes*. Detekce multipatogenů může navíc zmírnit potřeby průmyslu a regulačních orgánů při testování potravin, u nichž je vysoké riziko kontaminace těmito patogeny (Kim & Bhunia 2008).

Často mohou nastat problémy, kdy jsou patogeny rezistentní vůči antibiotikům. Taková rezistence je jednou z výrazných hrozeb zejména proto, že potraviny jsou stále častěji rezervoárem genů této rezistence. Antibiotika se tak stávají neúčinnými při léčbě bakteriálních infekcí a rezistence na antibiotika je považována za jednu z největších hrozeb pro lidi na světě. Studie bylo analyzovat polské syrové kravské mléko z hlediska přítomnosti koliformních bakterií rezistentních vůči antibiotikům. U téměř poloviny izolovaných koliformních kmenů byl zjištěn gen tetM, často spojovaný s přenosem schopnosti rezistence k antibiotikům. Vzhledem k rozšířenosti rezistentních koliformních bakterií v syrovém mléce je nutné provádět metody jejich detekce (Godziszewska et al. 2018).

V současné době je konzumace syrového mléka jako přírodního a místního produktu stále populárnější. Zejména nižší riziko vzniku astmatu, senné rýmy, alergické rýmy, pylové alergie a atopické senzibilizace může souviset s konzumací nepasterizovaného kravského mléka v raném věku. Syrové mléko však může být kontaminováno patogenními bakteriemi, v důsledku čehož existuje vysoké riziko přenosu koliformních patogenů z mléka na spotřebitele (Loss et al. 2011; Claeys et al. 2013; Sozańska et al. 2013). Bylo prokázáno, že koliformní bakterie byly zjištěny v 95 % vzorků mléka odebraných v cisternách ve 21 státech USA. Rovněž bylo prokázáno, že patogenní kmen *Escherichia coli* způsobuje časté propuknutí lidské infekce po konzumaci syrového mléka (Oliver et al. 2005).

Quinlan (2013) se zabýval výzkumem onemocnění z potravin u menšin a nižších socioekonomických skupin obyvatelstva a o rizicích porušení bezpečnosti potravin. Ačkoli se onemocnění z potravin obvykle nesledují podle rasy nebo etnického původu, analýzy hlášených případů zjistily zvýšený výskyt některých onemocnění z potravin u menšinových rasových a etnických skupin. Z analýzy vyplývá zvýšený výskyt bakterií *Listeria*, *Yersinia*, *Salmonella* a *Campylobacter*, který je spojován s horšími podmínkami života této skupiny populace (nižší socioekonomický status) a špatným zacházením s potravinami (nízké nároky na hygienu). Mezi rizikové potraviny, které by mohly být těmito bakteriemi kontaminovány, lze zařadit právě mléko a výrobky z něj.

### 3.4 Eliminace patogenů

Zdravotní nezávadnost konzumního mléka je zajištěna správným provedením tepelného ošetření. Takové metody patří mezi opatření, která je potřeba vykonat pro eliminaci nežádoucího mikrobiomu, kterými jsou právě patogenní mikroorganismy.

Mléko a mléčné výrobky jsou v určité fázi výroby obvykle podrobeny řadou tepelných ošetření, které mají zajistit likvidaci patogenních mikroorganismů. Za poslední roky došlo v mlékárenském průmyslu k rozvoji těchto ošetření, mezi které patří například vysoká pasterace, UHT sterilace nebo sterilace v obalu. To umožnilo větší diferenciaci technologických postupů pro cílené zneškodnění tepelně rezistentních aerobních sporulujících bakterií (Šviráková et al. 2014).

#### 3.4.1 Pasterace

Norma IFS Food 7 pasteraci definuje tak, že se jedná o tepelné zpracování určené ke snížení počtu patogenních mikroorganismů, které je v souladu s minimálními chemickými, fyzikálními a organoleptickými změnami ve výrobku. Slouží v kombinaci s dalšími faktory, jako je pH, aktivita vody či skladování v chladnu, k zajištění bezpečnosti potravin během určené doby použitelnosti. Hanson et al. (2005) uvádí, že pasterace je zavedenou potravinářskou technologií pro komerční zpracování mléka. I přes to, že se jedná o tepelné ošetření, které nedosahuje nejvyšších teplot, dochází během ní k degradaci cenných živin v mléce a jeho senzoryckých vlastností. Kvalita a trvanlivost tekutých mléčných výrobků závisí na množství a druhu mikroorganismů přítomných po pasteraci. Nevýhodou pasterace je neschopnost eliminace spor sporetvorných bakterií.

Existuje několik druhů pasterace. Dlouhodobá pasterace (63–65 °C, 30 minut) je v praxi méně častá, v porovnání s ostatními je ekonomicky náročná a používá se například ve farmářské produkci nebo v domácí výrobě. Šetrná pasterace (71–74 °C, 15–20 sekund) má využití při ošetření mléka jako suroviny pro výrobu sýrů a tvarohů. Uvádí se minimální teplota a doba šetrné pasterace, která by měla být prováděna záhřevem na 71,7 °C po dobu alespoň 15 sekund. Vysoká pasterace (85–95 °C, několik sekund) nachází své využití především pro výrobu konzumních mlék, zakysaných mléčných výrobků a dezertů. V případě některých výrobků z mléka, jako jsou kysané mléčné výrobky, se často používají i teploty vyšší, které dosahují 90–95 °C s výdrží až několika minut. Mléko čerstvé je ošetřeno šetrnou nebo vysokou pasterací. Mléko takto ošetřené ale nemá dlouhou trvanlivost a nejsou tak likvidovány spory sporetvorných bakterií (Dostálová et al. 2014; Kopáček 2014).

### 3.4.2 Sterilace

Sterilace je normou IFS Food 7 charakterizována jako tepelné zpracování aplikované na výrobek v konečném obalu a určené k likvidaci patogenů a k výrobě komerčně sterilních výrobků s prodlouženou trvanlivostí při teplotě okolí (např. sterilizace konzerv autoklávem). Norma zároveň dodává, že hlavním cílem sterilace je inaktivace tepelně nejodolnějších patogenních spor, konkrétně spor *C. botulinum*.

Jak bylo již zmíněno, k úplné eliminaci spor je zapotřebí vystavit výrobek či surovinu teplotám přesahující 100 °C po delší dobu. K zajištění bezpečnosti potravin méně kyselých nebo kontaminovaných spory bakterie *Clostridium botulinum* je rovna hodnotě 121 °C po dobu tří minut (Sprenger 2003).

Konzumní mléko je ošetřeno UHT (Ultra High Temperature) sterilací a bývá označováno jako trvanlivé, které patří mezi nejčastěji vyráběné produkty konzumních mlék. Vysoké tepelné ošetření (kontinuální záhřev na teplotu 135–150 °C s výdrží několika sekund) inaktivuje všechny přítomné mikroorganismy včetně spor a většiny enzymů. Jedná se o sterilaci mimo obal, kdy se mléko později do obalu plní asepticky. Nicméně existuje i metoda sterilace v obalu (115–120 °C, 20–30 minut). Radikálnějším záhřevem sterilace jsou pozměněny organoleptické vlastnosti mléka, jejichž součástí je nejčastější vařivá příchut'. Údržnost těchto mlék je možná i při pokojových teplotách po dobu 4–5 měsíců. Méně používanou metodou je ultrapasterace, která se využívá při produkci ESL (Extended Shelf Life) mlék, což jsou mléka s prodlouženou trvanlivostí. Využívá se teplot nižších než při UHT a zároveň vyšších než při pasteraci, po kterých následuje aseptické balení. Údržnost se pohybuje v řádu 20–40 dnů při uchování chladu (Kopáček 2014).

### 3.4.3 Další metody

Někteří výrobci v praxi využívají princip tyndalace, což je opakované (obvykle se používá dvojnásobně) tepelné zpracování mléka na teploty pod 100 °C. Následně během skladování a distribuce takto ošetřeného mléka je nezbytný chladicí režim dosahující teplot mezi 4–6 °C (Kopáček 2014).

Jinou možností je baktofugace, mechanické odstředění bakterií, které je založeno na principu odstředivé síly. Baktofugace může být v mlékárenském průmyslu použita ke snížení počtu mikroorganismů rezistentních vůči pasteraci v kombinaci s dalšími opatřeními k zabránění kontaminace syrového mléka spory a vegetativními formami bakterií. (Ribeiro-Júnior et al. 2020; Juraga et al. 2021)

Termizace je tepelné ošetření mléka při nižších teplotách sloužící především k vyklíčení spor sporulujících bakterií. Po provedení termizace následuje pasterace, která spory zaručeně zlikviduje. Samostatně použitá pasterace spory nezničí, nicméně v kombinaci s předcházející termizací ano, proto se v praxi tato kombinace často uplatňuje (Němečková et al. 2011).



Pulzní elektrická pole a mikrofiltrace představují nové technologie zpracování potravin, které umožňují šetrnou konzervaci mléka při nižších teplotách a kratší době ošetření pro podobnou nebo lepší mikrobiální inaktivaci a trvanlivost v porovnání s pasterací. V analýze od Walkling-Ribeira et al. (2011) bylo použito inkubované syrové mléko jako inokulum pro obohacení odstředěného mléka nativními mikroorganismy před zpracováním pulzním elektrickým polem, mikrofiltrací a pasterací. Tři vzorky inokulovaného mléka byly ošetřeny jinou ze zmíněných metod. Metodou pulzního elektrického pole, mikrofiltrací a pasterací (pasterace při teplotě 75 °C po dobu 24 sekund). Porovnání těchto metod pro snížení nativního mikrobiomu v mléce vedlo k velmi podobnému snížení počtu mikroorganismů v případě pasterace a mikrofiltrace. Inaktivace mikrobioty byla v případě tepelné pasterace účinnější oproti samotnému pulznímu elektrickému poli. Kombinované zpracování mikrofiltrací a následným pulzním elektrickým polem vedlo ke snížení počtu mikroorganismů v mléce bylo srovnatelně s tepelnou pasterací.

Další metodou je nízkofrekvenční a vysokofrekvenční ultrazvuku, který se někdy v mléce a mléčných výrobcích může uplatnit. Ultrazvuk nabízí v mlékárenství potenciální výhody oproti konvenčním procesům tepelného ošetření. Po úpravě ultrazvukem si mléko může zachovávat lepší sensorické vlastnosti oproti jiným metodám (Bakkali et al. 2001; Thi Hong Bui et al. 2020; Juraga et al. 2021).

García et al. (2000) studovali inaktivaci kmenů *Escherichia coli* a *Listeria innocua* v mléce kombinovaným použitím vysokého hydrostatického tlaku a systému laktoperoxidáza-thiokyanátu peroxidu vodíku jako potenciální mírné metody konzervace potravin. Samotný systém laktoperoxidázy působil na oba druhy pouze bakteriostaticky. Při vysokotlakém ošetření v kombinaci s laktoperoxidázovým systémem však byly pozorovány výsledky jejich inaktivace. Zároveň bylo zjištěno, že mléko jako substrát má značný vliv na ochranu *E. coli* a *L. innocua* před tlakovou inaktivací a pod tlakem snižuje účinnost laktoperoxidázového systému.

### **3.5 Prevence a bezpečnost v potravinářských závodech**

Zabezpečení zdravotní nezávadnosti potravin je v potravinářských firmách velice důležitá hlavně z toho důvodu, že by při jejím nedodržení mohla ohrozit vysoký počet konzumentů. V rámci bezpečnosti potravin je povinností takovýchto podniků nastavit preventivní opatření, která budou funkční a budou zaměstnanci dodržována.

Jak již bylo řečeno, existuje kontaminace primární a sekundární. Typickým příkladem primární kontaminace je vnik bakterií do mléka při dojení z vemene a strukového kanálku. Z hlediska prevence ale můžeme několika preventivními odstřiky na počátku dojení počet mikroorganismů výrazně snížit, případně podchytit pokročilejší mastitidu. K sekundární kontaminaci dochází pozdějším pomnožením nežádoucích bakterií po kontaminaci primární (Görner & Valík 2004).

Pro zajištění bezpečnosti potravin slouží řada preventivních opatření.

### 3.5.1 Systém HACCP

Systém HACCP je charakterizován jako systém analýzy rizik a kritických kontrolních bodů a jeho zkratka je odvozena z anglického názvu Hazard Analysis and Critical Control Points. Podle Fernandese et al. (2009) se jedná o strukturovaný, preventivní přístup k zajištění bezpečnosti potravin. HACCP poskytuje prostředky k identifikaci a hodnocení potenciálních nebezpečí při výrobě potravin a stanovení preventivních opatření a kontrolních postupů pro tato nebezpečí. Kritický kontrolní bod (CCP) je identifikován pro každé významné nebezpečí, kde lze definovat účinná kontrolní opatření, aplikovat je a posléze systém monitorovat. Důraz na prevenci nebezpečí snižuje závislost na tradiční postupy kontroly a řízení kvality a na testování konečného produktu. Správně uplatňovaný systém HACCP je v současnosti mezinárodně uznáván jako účinný prostředek k zajištění bezpečnosti potravin.

HACCP je jeden z nezbytných preventivních opatření a jeho zavedení v potravinářských závodech je v dnešní době automatická záležitost. HACCP, který bude v provozu plně funkční, lze jednoznačně považovat jako jeden z účinných prvků prevence před kontaminací mléka patogeny nebo dokonce jejich eliminace.

Součástí systému je vedení správné výrobní a hygienické praxe. Ty zahrnují dodržování správných sanitačních režimů a postupů, což platí pro prvovýrobu i zpracovatelský závod. Velice důležité je mytí a dezinfekce vemen dojnic, který například snižuje obsah spor *B. cereus* v čerstvě nadojeném mléce až desetkrát. Při produkci mléka v mlékárnách nebo během distribuce nesmí být mléko ani výrobky z něj ponechány po delší dobu při pokojové teplotě, jelikož hrozí riziko pomnožení patogenů. Kontaminaci v prvovýrobě lze efektivně předejít chlazením mléka co nejdříve po nadojení na nízkou teplotu nebo zkrmováním kvalitní siláže. Dalším nezanedbatelným prvkem prevence je použití jednorázových papírových utěrek k otření či omytí vemene před dojením (FAO & WHO 2011; Rai & Bai 2018).

### 3.5.2 Skladování

Skladování potravin je důležité pro zajištění adekvátních zásob a k překonání výkyvů v dodávkách. Je zapotřebí zajistit během skladování odpovídající podmínky (teplota, vlhkost, rotace zásob, neporušenost obalů), nicméně v praxi často dochází k jejich porušení, což vede k nevyhovující kvalitě, zkažení potravin a ke snižování jejich trvanlivosti (Sprenger 2003).

Norma IFS Food verze 7 uvádí, že nejen suroviny (např. mléko) a hotové výrobky (např. mléčné výrobky), ale také obalové materiály nebo polotovary musí být skladovány tak, aby se minimalizovala rizika kontaminace nebo jakýkoli jiný negativní dopad.

Mléko a smetana by se podle Sprengera (2003) měly skladovat při teplotě pod 5 °C a měly by být co nejdříve po dodání do mlékárny umístěny do chlazených skladů. Mléko je podle Görnera & Valíka (2004) v mlékárnách a hospodářských závodech chlazeno řízeně, avšak po nadojení je pro zajištění mikrobiologické jakosti nutno zchladit bezprostředně na

teplotu 6 až 4 °C. Takto musí být uchováno před i při přepravě mléka během svozu v cisternách do mlékáren.

### **3.5.3 Sledovatelnost**

Podstatné je neopomenout tzv. sledovatelnost. Ta úzce souvisí s jakostí potravin a její správné fungování dokáže trasovat a odhalit surovinu nebo produkt kontaminovaný patogenními mikroorganismy. Jedná se o schopnost identifikovat a sledovat potraviny, suroviny, krmiva či dokonce zvířata určená k produkci potravin nebo látky, které budou zapracovány do potravin nebo krmiv. Tuto schopnost je zapotřebí zajistit ve všech fázích výroby, zpracování a distribuce potravin. V praxi to tedy znamená, že musí být zaznamenané a zjištěné informace od koho byla konkrétní šarže suroviny, přísady či produktu nakoupena, do kterých výrobků byla použita a kam byly tyto výrobky dodány (Dostálová et al. 2014; Šuška 2020; IFS Food 7).

Zavedení sledovatelnosti potravin v závodě patří k základním požadavkům evropské legislativy. Systém sledovatelnosti musí být v rámci prevence spolu se záznamem pravidelně testován, a to v obou směrech – od dodaných výrobků k surovinám a dodavatelům a od surovin po výrobky a zákazníky (Šuška 2020).

### **3.5.4 Inspekce a kontroly ve výrobním závodě**

A v neposlední řadě jsou nepochybně dalším prvkem prevence inspekce a kontrolní simulace, které by měly být prováděny ve výrobním závodě potravinářských podniků. Tyto kontroly obvykle provádí manažer či specialista kvality ve společnosti. Inspekce jsou předmětem ověřování toho, zdali pracovníci dodržují nastavená pravidla a nařízení, a tedy i správnou výrobní a hygienickou praxi.

Inspekce se podle normy IFS Food 7 provádějí v několika oblastech, jako konstrukční stav výrobních a skladovacích prostor, ale z hlediska rizika výskytu patogenů především kontrola výrobků během jejich zpracování, kontrola hygieny během zpracování a v rámci infrastruktury a osobní hygiena pracovníků.

Provozovatelé potravinářských podniků musí nezbytně provádět monitoring výrobního prostředí. Tím jsou sledovány zdroje a cesty rozvoje nežádoucí mikrobioty a dochází k omezení potencionálních rizik, které by ohrožovaly finální produkt (Gelbíčková et al. 2020).

Nezbytnou součástí těchto kontrol by mělo být například měření pH výrobku, kultivace bakterií z produktu, mezioperační kontroly nebo prostá vizuální kontrola, která může odhalit pokročilejší stádium kontaminace mikroorganismy, tedy i těmi patogenními. Těmito kontrolami se ověřují všechna již zmíněná preventivní opatření (Sprenger 2003; Rai & Bai 2018).

Ve chvíli, kdy kontrola detekuje kontaminaci mléka patogeny, je nutné takový produkt zadržet, aby se nemohl dostat ke spotřebitelům a ohrozit jejich zdraví. Infikovaná šarže musí

být oddělena od výroby na určené místo označené jako „karanténa“. O dalších postupech rozhodují příslušní pracovníci. Může být požadováno provedení senzorických testů, mikrobiologická analýza (pokud již provedena nebyla a šarže je z kontaminace pouze „podezřelá“) nebo může být produkt přepracován (provede se například UHT sterilace) a následně uvolněn do oběhu a podobně. (Šuška 2013).

Nakolik jsou inspekce účinné a efektivní záleží na znalostech osob provádějících inspekce a jejich implementace do systému. Je samozřejmé, že opatření musí dodržovat všichni pracovníci ve výrobě, musí si uvědomovat jejich význam a to, jakou roli v potravinářském prostředí plní. Podle Sprengera (2003) totiž mají pracovníci v potravinářství právní, ekonomickou a morální odpovědnost za produkci bezpečných potravin.

## 4 Závěr

Hlavním cílem této práce bylo vytvořit literární rešerši popisující nejvýznamnější patogenní mikroorganismy kontaminující mléko.

Mezi vybrané bakterie patří bakterie sporulující jako jsou *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum* a *Clostridium perfringens*, dále enterobakterie *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica*, a další významné potravinové patogeny jako *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp. nebo *Campylobacter jejuni*. Součástí práce bylo popsat jejich výskyt v mléce, způsoby jejich eliminace a prevenci proti alimentárním onemocněním, která dokáží způsobit. Zmíněné mikroorganismy jsou patogenní bakterie, se kterými se provozovatelé potravinářských podniků pravidelně setkávají a způsobují problémy při zpracování mléka a při jeho konzumaci, kdy svou přítomností porušují jeho zdravotní nezávadnost. Řada studií potvrzuje hojný výskyt těchto nežádoucích bakterií v mléce a také v jeho produktech.

Lze tedy konstatovat, že přítomnost patogenních mikroorganismů v mléce je velmi nežádoucí, jelikož výrazně snižuje jeho kvalitu a znemožňuje jeho zdravotní nezávadnost. Doporučením pro provozovatele mlékáren je nepochybně vyvarovat se kontaminaci patogenní mikrobioty a dbát na preventivní opatření, která musí být v praxi proveditelná a pravidelně dodržována. Tím bude zajištěna bezpečnost mléka, a tedy i produktů z něj.

## 5 Literatura

- Andrews-Polymenis HL, Bäumlér AJ, McCormick BA, Fang FC. 2010. Taming the elephant: Salmonella biology, pathogenesis, and prevention **6**:2356-2369.
- Baker P, Russ K, Kang M, Santos MT, Neves RAP, Smith J, Kingston G, Mialon M, Lawrence M, Wood B, Moodie R, Clark D, Sievert K, Boatwright M, McCoy D. 2021. Globalization, first-foods systems transformations and corporate power: a synthesis of literature and data on the market and political practices of the transnational baby food industry. *Globalization and Health* **17**:1-35.
- Bakkali F, Moudden A, Faiz B, Amghar A, Maze G, Montero De Espinosa F, Akhnak M. 2001. Ultrasonic measurement of milk coagulation time. *Measurement science and technology* **12**:2154-2159.
- Bari ML, Hossain MA, Isshiki K, Ukuku D. 2011. Behavior of *Yersinia enterocolitica* in Foods. *Journal of Pathogens* **2011**:1–13.
- Barłowska J, Sz wajkowska M, Litwińczuk Z, Król J. 2011. Nutritional Value and Technological Suitability of Milk from Various Animal Species Used for Dairy Production. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* **10**:291–302.
- Belitz HD, Grosch W, Schieberle P. 2009. *Food chemistry*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin.
- Bhaduri S. 2011. Effect of salt and acidic pH on the stability of virulence plasmid (pYV) in *Yersinia enterocolitica* and expression of virulence-associated characteristics. *Food Microbiology* **28**:171–173.
- Boor KJ, Murphy SC. 2002. Microbiology of market milks. *Dairy microbiology Handbook: The Microbiology of Milk and Milk Products* **3**:91-122
- Brychta J. 2018. Výskyt *Listeria monocytogenes* v potravinách a riziko onemocnění pro člověka. Potravinářská komora České republiky, Česká technologická platforma pro potraviny, Praha.
- Buchanan M. 2014. Sizing up bacteria. *Nature Physics* **10**:788–788.
- Bursová Š, Necidová L, Lněničková Z, Rojíčková K. 2013. Hodnocení růstu *Yersinia enterocolitica* v pasterovaném kravském a kozím mléce v závislosti na skladovacích podmínkách. *Mlékařské listy* **152**:12-15.
- Claeys WL, Cardoen S, Daube G, Block JD, Dewettinck K, Dierick K, De Zutter L, Huyghebaert A, Imberechts H, Thiangre P, Vandenplas Y, Herman L. 2013. Raw or heated cow milk consumption: Review of risks and benefits.
- Costard S, Espejo L, Groenendaal H, Zgmutt FJ. 2017. Outbreak-related disease burden associated with consumption of unpasteurized cow's milk and cheese. *Centers for Disease Control and Prevention (CDC)* **23**:957–964.
- Crump JA, Luby SP, Mintz ED. 2004. The global burden of typhoid fever. *Bulletin of the World Health Organization* **82**:53-346.
- Dostálová J, Kadlec P a kol. 2014. *Potravinářské zbožíznalství*. KEY Publishing, Ostrava.
- Ekici G, Dümen E. 2019. *Escherichia coli* and Food Safety. *The Universe of Escherichia coli* DOI: 10.5772/intechopen.82375.
- ECDC, EFSA. 2021. The European Union One Health 2019 Zoonoses Report. *EFSA Journal* (e06406) DOI: 10.2903/j.efsa.2021.6406.
- Evropský parlament a Rada (ES) 2004. NAŘÍZENÍ EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY (ES) č. 853/2004 ze dne 29. dubna 2004, kterým se stanoví zvláštní hygienická pravidla pro potraviny živočišného původu.

- Fardet A, Rock E. 2018. In vitro and in vivo antioxidant potential of milks, yoghurts, fermented milks and cheeses: A narrative review of evidence. *Nutrition Research Reviews* **31**:52–70.
- Fernandes R. 2009. *Microbiology handbook meat products*. Leatherhead Publishing, Leatherhead.
- Foroutan A, Guo CHA, Vazquez-Fresno R, Lipfert M, Zhang L, Zheng J, Badran H, Budinski Z, Mandal R, Ametaj BN, Wishart DS. 2019. Chemical Composition of Commercial Cow's Milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **67**:4897–4914.
- Fotina TI, Fotina HA, Ladyka VI, Ladyka LM, Zazharska NM, Zazharska N. 2018. Monitoring research of somatic cells count in goat milk in the eastern region of Ukraine. Sumy National Agrarian University, Ukraine.
- Fox PF, Kelly AL. 2012. Chemistry and Biochemistry of Milk Constituents. Pages 442-464 in Simpson BK, editor. *Food Biochemistry and Food Processing*. Wiley-Blackwell, Oxford UK.
- Fredriksson-Ahomaa M, Stolle A, Korkeala H. 2006. Molecular epidemiology of *Yersinia enterocolitica* infections.
- García C, García-Graells G, Valckx C, Michiels CW. 2000. Inactivation of *Escherichia coli* and *Listeria innocua* in Milk by Combined Treatment with High Hydrostatic Pressure and the Lactoperoxidase System. *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY*. Available from <https://journals.asm.org/journal/aem>.
- Gelbíčová T, Hlucháňová L, Kalová A, Karpíšková R. 2020. Dlouhé přežívání *Listeria monocytogenes* v mlékárenských provozech. *Mlékařské listy* **6**:13-16.
- Godziszewska J, Pogorzelska-Nowicka E, Brodowska M, Jagura-Burdzy G, Wierzbicka A. 2018. Detection in raw cow's milk of coliform bacteria - reservoir of antibiotic resistance *LWT* **93**:634–640.
- Gounand I, Daufresne T, Gravel D, Bouvier C, Bouvier T, Combe M, Gougat-Barbera C, Poly F, Torres-Barceló C, Mouquet N. 2016. Size evolution in microorganisms masks trade-offs predicted by the growth rate hypothesis. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **283**:20162272.
- Görner F, Valík L. 2004. *Aplikovaná mikrobiológia požívateľín*. Malé centrum, Bratislava.
- Grażyna C, Hanna C, Adam A, Magdalena BM. 2017. Natural antioxidants in milk and dairy products. Blackwell Publishing Ltd **70**:165-178.
- Hanson ML, Wendorff WL, Houck KB. 2005. Effect of Heat Treatment of Milk on Activation of *Bacillus* Spores. *Journal of Food Protection* **7**:1484–1486.
- Chang M, Groseclose SL, Zaidi AA, Braden CR. 2009. An ecological analysis of sociodemographic factors associated with the incidence of salmonellosis, shigellosis, and *E. coli* O157:H7 infections in US counties. *Epidemiology and Infection* **137**:810–820.
- IFS Food 7. 2020. Standard for assessing product and process compliance in relation to food safety and quality. IFS Management GmbH, Germany.
- Jackson KA, Biggerstaff M, Sweat D, Klos R, Nosari J, Garrison O, Fagan RP. 2011. Multistate outbreak of *Listeria monocytogenes* associated with Mexican-style cheese made from pasteurized milk among pregnant, Hispanic women. *Journal of Food Protection* **74**:949–953.
- Jackson KA, Iwamoto M, Swerdlow D. 2010. Pregnancy-associated listeriosis. *Epidemiology and Infection* **138**:1503–1509.
- Julák J. 2012. *Klinicky významné bakterie*. Triton, Praha.

- Juraga E, Stulić V, Vukušić Pavičić T, Gajdoš Kljusurić J, Brnčić M, Herceg Z. 2021. The Influence of High-Power Ultrasound and Bactofugation on Microbiological Quality of Milk. *Food Technology and Biotechnology* **59**:454–462.
- Juraga E, Vukušić Pavičić T, Gajdoš Kljusurić J, Brnčić M, Juraga T, Herceg Z. 2021. Properties of milk treated with high-power ultrasound and bactofugation. *Food Technology and Biotechnology* **59**:92–102.
- Kaper JB, Nataro JP, Mobley HLT. 2004. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology* **2**:123–140.
- Kim H, Bhunia AK. 2008. SEL, a selective enrichment broth for simultaneous growth of *Salmonella enterica*, *Escherichia coli* O157:H7, and *Listeria monocytogenes*. *Applied and Environmental Microbiology* **74**:4853–4866.
- Klimešová M, Skřivánek M, Hanuš O, Nejeschlebová L. 2019. Streptokoková mastitida a počet somatických buněk. *Mlékařské listy* **2**:1-4.
- Kopáček J. 2014. Mléko a mléčné výrobky: jak poznáme kvalitu? Sdružení českých spotřebitelů a Potravinářská komora ČR **1**:1-31.
- LeJeune JT, Rajala-Schultz PJ. 2009. Unpasteurized milk: A continued public health threat **48**:93-100.
- Loss G, Apprigh S, Waser M, Kneifel W, Genuneit J, Weber J, Sozanska B, GABRIELA study group. 2011. The protective effect of farm milk consumption on childhood asthma and atopy: The GABRIELA study. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* **128**:766–773.
- Macdonald PDM, Whitwam RE, Boggs JD, McCormack JN, Anderson KL, Reardon JW, Saah JR, Graves LM, Hunter SB, Sobel J. 2005. Listeriosis Due to Mexican-Style Cheese. Available from <https://academic.oup.com/cid/article/40/5/677/364363>.
- Mirzaei H, Tofighi A, Sarabi HK, Farajli M. 2011. Prevalence of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Raw Milk and Dairy Products in Sarab by Culture and PCR Techniques. *Journal of Animal and Veterinary Advances* **10**:3107–3111.
- Němečková I, Schmidtová M, Rohacká H, Roubal P, Drbohlav J. 2011. Metody stanovení a charakterizace termorezistentních mikroorganismů v mléce. *Mlékařské listy* **125**:1-4.
- Oliver SP, Jayarao BM, Almeida RA. 2005. Foodborne Pathogens in Milk and the Dairy Farm Environment: Food Safety and Public Health Implications. *Foodborne Pathogens and Disease* **2**:115-129.
- O' Mahony JA, Fox PF. 2013. Milk proteins: Introduction and historical aspects. *Advanced Dairy Chemistry: Proteins: Basic Aspects*. Springer US. **1**:43-85.
- Porcellato D, Skeie SB, Mellegård H, Monshaugen M, Göransson Aanrud S, Lindstedt BA, Aspholm M. 2021. Characterization of *Bacillus cereus* sensu lato isolates from milk for consumption; phylogenetic identity, potential for spoilage and disease. *Food Microbiology* **266**:21-30.
- Quinlan J. 2013. Foodborne Illness Incidence Rates and Food Safety Risks for Populations of Low Socioeconomic Status and Minority Race/Ethnicity: A Review of the Literature. *International Journal of Environmental Research and Public Health* **10**:3634-3652.
- Rai VR, Bai JA. 2018. *Food Safety and Protection*. CRC Press, Boca Raton.
- Ribeiro-Júnior JC, Tamanini R, Alfieri AA, Beloti V. 2020. Effect of milk bactofugation on the counts and diversity of thermotolerant bacteria. *Journal of Dairy Science* **103**:8782–8790.



- Sozańska B, Pearce N, Dudek K, Cullinan P. 2013. Consumption of unpasteurized milk and its effects on atopy and asthma in children and adult inhabitants in rural Poland. *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology* **68**:644–650.
- Sprenger A. R. 2003. *Hygiena potravin pro středně pokročilé*. Highfield, Doncaster.
- Stobiecka M, Król J, Brodziak A. 2022, February 1. Antioxidant Activity of Milk and Dairy Products. MDPI.
- Šilhánková L. 2002. *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*. Academia, Praha.
- Šuška M. 2013. *IFS Food: How To Successfully Pass The Audit*. QUALIFOOD, Šumperk.
- Šuška M. 2020. *IFS Food 7: How To Successfully Pass The Assessment*. QUALIFOOD, Šumperk.
- Šviráková E, Hanušová J, Múhlhansová A, Jebavá I, Purkrťová S. 2014. Identifikace *Bacillus* sp. izolovaných z mlékárenských výrobků a výrobního zařízení pomocí PCR a MALDI TOF MS. *Mlékařské listy* **146**:25-28.
- Walkling-Ribeiro M, Rodríguez-González O, Jayaram S, Griffiths MW. 2011. Microbial inactivation and shelf life comparison of “cold” hurdle processing with pulsed electric fields and microfiltration, and conventional thermal pasteurisation in skim milk. *International Journal of Food Microbiology* **144**:379–386.
- Wei S, Chelliah R, Rubab M, Oh DH, Uddin MJ, Ahn J. 2019. Bacteriophages as potential tools for detection and control of salmonella spp. in food systems. MDPI **17**:1-22.
- WHO, FAO. 2011. *Milk and milk products*. World Health Organization **2**:1-269.
- Zadernowska A, Chajeka-Wierzchowska W, Łaniewska-Trokenheim Ł. 2014. *Yersinia enterocolitica*: A Dangerous, But Often Ignored, Foodborne Pathogen. *Food Reviews International* **30**:53–70.
- Zhou B, Liang T, Zhan Z, Liu R, Li F, Xu H. 2017. Rapid and simultaneous quantification of viable *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* spp. in milk through multiplex real-time PCR. *Journal of Dairy Science* **100**:8804–8813.