

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA

Katedra potravinářských biotechnologií a kvality zemědělských produktů

Studijní program: **Z17194 Zootechnika**

Studijní obor: **Zootechnika**

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Posouzení účinnosti sanitace chladicích zařízení v různých provozech

Autor: Aneta Drozdová

Vedoucí práce: doc. MVDr. Lucie Hasoňová, Ph.D.

České Budějovice 2020

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně pod vedením doc. MVDr. Lucie Hasoňové, Ph.D. s použitím literatury uvedené v seznamu citované literatury. Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě (v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných Zemědělskou fakultou JU) elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách i se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

České Budějovice 2020

.....

Poděkování:

Tímto bych chtěla velmi poděkovat vedoucí své bakalářské práce doc. MVDr. Lucii Hasoňové, Ph.D za poskytnutí cenných rad a odbornou literaturu. Především ji děkuji za čas, který mi věnovala během konzultací.

Abstrakt

Adekvátní úroveň hygieny chladicích zařízení je jedním z důležitých faktorů, jenž ovlivňuje udržení kvality a zdravotní nezávadnosti uskladněných potravin. Cílem bakalářské práce bylo posoudit účinnost sanitace vybraných chladicích zařízení v domácnostech (n=3) a v gastronomických provozovnách (n=3). Mikrobiologická analýza zahrnovala stanovení: celkových počtů mezofilních, koliformních a psychrotrofních mikroorganismů, a dále kvasinek a plísní. Nejvyšší mikrobiální kontaminace byla zjištěna u jedné z chladniček v gastronomické provozovně. Počty mikroorganismů se u chladniček v gastronomických provozovnách pohybovaly od 0 do $1,1 \cdot 10^4$ KTJ/10 cm². V případě chladniček běžných uživatelů se hodnoty pohybovaly od 0 do $2,8 \cdot 10^2$ KTJ/10 cm². Za nejvhodnější způsob sanitace lze považovat postup, při kterém byly použity zcela nové sanitační pomůcky jako čisticí utěrky, které nezpůsobovaly křížovou kontaminaci.

Klíčová slova: mikroorganismy, chladicí zařízení, sanitace

Abstract

The adequate level of hygiene of refrigeration equipment is one of important factors that affects the maintenance of quality and safety of stored food. The aim of this bachelor thesis was to assess the efficiency of sanitation of selected refrigeration equipment in the household (n=3) and in gastronomic establishments (n=3). Microbiological analysis enabled the determination: total number of mesophilic, coliform and psychrotrophic microorganisms, and also yeasts and fungi. The highest microbial contamination was found in one of the refrigerators in the gastronomic establishment. The numbers of microorganisms in refrigerators in gastronomic establishments ranged from 0 to 1.1×10^4 CFU / 10 cm². In the case of ordinary users' refrigerators, the values ranged from 0 to 2.8×10^2 CFU / 10 cm². The most suitable method of sanitation could be considered a procedure where it is possible to use new sanitation aids, for example cleaning dishtowel which did not cause cross-contamination.

Key words: microorganisms, refrigerating equipment, sanitation

Seznam použitých zkratk

AO – alimentární onemocnění

CPM – celkový počet mikroorganismů

HACCP - Systém analýzy rizika a stanovení kritických kontrolních bodů (angl. *Hazard Analysis and Critical Control Points*)

CHZ – chladicí zařízení

KTJ – kolonie tvořící jednotka

MO – mikroorganismy

PPP - provozovatelé potravinářských podniků

OBSAH

1. ÚVOD	8
2. LITERÁRNÍ PŘEHLED	9
2.1 Chladicí zařízení	9
2.1.1 Historie chladicích zařízení	9
2.1.2 Rozdělení chladicích zařízení	11
2.2 Vztah mikroorganismů k teplotě	11
2.3 Kažení potravin	13
2.4 Vybraná alimentární onemocnění	15
2.4.1 Kampylobakterióza	15
2.4.2 Salmonelóza	16
2.4.3 Listeriόza	18
2.4.4 Intoxikace vyvolané <i>Bacillus cereus</i>	19
2.4.5 Infekce vyvolané <i>Escherichia coli</i>	20
2.4.6 Stafylokoková enterotoxikóza	21
2.4 Hygienická opatření	22
2.4.1 Systém analýzy rizika a stanovení kritických kontrolních bodů	24
3. MATERIÁL A METODIKA	26
3.1 Cíl práce	26
3.2 Metodika analytické části	26
3.2.1 Odběr vzorků	26
3.2.2 Laboratorní zpracování	27
4. VÝSLEDKY A DISKUSE	28
4.1 Zhodnocení účinnosti sanitace chladicí zařízení běžných uživatelů	28
4.2 Zhodnocení účinnosti sanitace chladicích zařízení gastronomických provozoven	32
5. ZÁVĚR	37
8. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	38

1. ÚVOD

Chladicí technika je v dnešní době prakticky nepostradatelná. Její využití zasahuje do mnoha oblastí, jako je například strojírenství, zdravotnictví. Největší uplatnění je však v potravinářství, kde slouží k uchovávání potravin, které by bez vhodné teploty mohly rychle podlehnout kažení. Jedním z rozhodujících faktorů, jak minimalizovat zátěž potravin je dodržování chladírenského řetězce. Důležitým faktorem je také adekvátní sanitace prostorů chladicích zařízení, a to jak v domácnostech, tak zejména v gastronomických provozovnách, kde je dodržování zásad kontrolováno systémem kritických kontrolních bodů. Tento systém poskytuje preventivní a systematický přístup k identifikaci nebezpečí zdravotní závadnosti a k zamezení jeho vzniku. Jeho dodržování výrazně snižuje zdravotní rizika. Snižování mikrobiální kontaminace potravin vede k prodloužení délky jejich trvanlivosti. Jednotlivé skupiny mikroorganismů jsou však různě citlivé na životní podmínky. Mezi mikroorganismy, které se mohou nacházet v chladicích zařízeních, patří zejména psychrotrofní mikroorganismy. Jedná se především o původce kažení surovin a potravin, avšak někteří mohou vyvolávat rovněž alimentární onemocnění.

2. LITERÁRNÍ PŘEHLED

2.1 Chladicí zařízení

Chladicí zařízení (CHZ) je technické zařízení určené ke snižování teploty v uzavřeném prostoru. Patří sem chladničky, konzervátory zmrazených potravin, mrazničky na potraviny a jejich kombinace určené pro domácnost, napájené z elektrické energie (**Fukátko, 2006**). Chladírenský řetězec, současně s dalšími faktory jako je nízké pH, proudění a vlhkost vzduchu vede k inhibici nežádoucího rozvoje kontaminující mikroflóry a mírně zpomaluje enzymové, chemické a fyzikální změny probíhající v potravinách. Obvykle se udává, že snížením teploty o 10 °C klesne rychlost růstu mikroorganismů (MO) přibližně na polovinu. Chlazení je proto již od pradávna účinně používáno k ochraně potravin (**Voldřich a kol., 2013**). Optimální teplota v chladničkách by se měla pohybovat od 4 °C do 8 °C při vlhkosti vzduchu asi 90 %, v mrazničkách nejméně – 18 °C (**Lehari 2011**). Způsoby ochlazování v CHZ jsou založeny na fyzikálních principech, odnímání tepla lze docílit např. absorpčním chlazením, kompresorovým chlazením (využití chladiva) anebo za pomoci Peltierova (termoelektrického) jevu (**Fukátko, 2006**). Technické požadavky na CHZ stanovuje nařízení vlády č. 179/2001 Sb. (**Nařízení vlády č. 179/2001 Sb.**).

2.1.1 Historie chladících zařízení

Mezi nejstarší metody úchovy potravin patří konzervace sníženou teplotou – zmrazování a zchlazování (**Voldřich a kol., 2013**). Ve středověku se sníh a úlomky ledu uchovávaly v kamenných stavbách poblíž měst a hradů. Sníh se postupně stlačoval, a tak se měnil v led, který se pak řezal na velké bloky (**Bergamino, 2019**). V závislosti na klimatu a okolní přírodě tu byly i další možnosti, jak potraviny skladovat, například sklepy a kamenné jeskyně (**Kasík, 2007**). První, kdo později udělal průlom v umělém chlazení, byl Skot William Cullen, který v roce 1755 navrhl chladicí přístroj, avšak ten nebyl v dané době příliš praktický kvůli jeho velikosti (**Historical Facts, 2019**). V roce 1805 Oliver Evans popsal uzavřený systém chlazení stlačenou párou (**Bergamino, 2019**). Přestože Evans je obvykle označován za vynálezce chladničky, sám žádnou funkční nesestrojil. Jeho návrh o 30 let později vylepšil Jacob Perkins. Během 19. století byl koncept ledničky vylepšen mnoha vynálezci (**Kasík, 2007**). Německý profesor Carl von Linde si v roce 1876 patentoval proces zkapalňování plynu, který se stal součástí základní chladicí technologie. Jeho

poznatky vedly k vynálezu první spolehlivé a účinné chladničky se stlačeným amoniakem (**Sandvik Materials Technology, 2017**). Později byla započata výroba a první chladnička pro domácnost byla prodána v roce 1913 (**Bergamino, 2019**). Až do roku 1920 existovalo v USA pouhých 200 chladniček. V domácnostech byly umístěny chladicí skříně, zatímco ve sklepě se nalézal hlučný motor a kompresor (**Kasík, 2007**). O pouhých sedm let později již v USA mělo chladničku přibližně milion domácností, zatímco Evropa poznala její výhody teprve po skončení druhé světové války. **Obrázek 1** znázorňuje původní lednici společnosti General Electric, jejíž cena byla 520 dolarů (**Bergamino, 2019**). Až do roku 1929 se v chladničkách běžně používaly jedovaté plyny, např. oxid siřičitý. Ve 30. letech je nahradily freony, jejichž použití bylo, z důvodu negativního vlivu na ozonovou vrstvu, omezeno relativně nedávno (**Kasík, 2007**). Postupně některé země vyvinuly úsilí k postupnému vyřazení používání skleníkových plynů, které unikají do ovzduší z CHZ. Moderní chladničky nyní používají nejnovější alternativní chladiva jako jsou HFO-1234yf, které nejsou tak škodlivá pro atmosféru. Existují dokonce i chladničky, které pracují s využitím sluneční, magnetické a akustické energie (**Bellis, 2019**).

Obrázek 1 Jedna z prvních prodávaných chladniček pro domácnost od firmy General Electrics, známá pod názvem „Monitor-Top“



zdroj: **Jacobson, 2013**

2.1.2 Rozdělení chladicích zařízení

Chladicí zařízení jsou podle principu chlazení rozdělována na dva hlavní typy:

Kompresorové chlazení je jedno z nejvíce využívaných a skládá se ze čtyř částí: výparníku, kompresoru, kondenzátoru a expanzního ventilu. Tyto díly jsou nejčastěji konstruovány z mědi, která umožňuje rychlý transport tepla, a tím je celý systém vysoce účinný (**Voldřich a kol., 2013**). Kompresor nasává páry chladiva z výparníku, které následně stlačuje a vhání do kondenzátoru, kde zkapalní (**Augusta a Vávra, 1988**). Zkapalněné chladivo přechází expanzním ventilem do výparníku, kde dochází k přeměně kapalného na plynné skupenství (**Voldřich a kol., 2013**). Při tomto procesu vzniká chlad a z výparníku se nasávají páry chladiva opět do kompresoru a celý cyklus se neustále opakuje (**Hoch, 1992**).

Absorpční chlazení je založeno na principu pohlcování jedné látky druhou doprovázené tepelnými změnami. Hlavní části absorpčního CHZ jsou výparník, absorbér, vypuzovač a kondenzátor. Nejčastějším chladivem je čpavek, přičemž páry z něj pohlcuje voda. Ve vypuzovači se zahřívá čpavková voda, z které se vypuzují páry chladiva. Ty proudí do kondenzátoru, kde zkapalní. Odtud je kapalné chladivo vedeno do výparníku, ve kterém se odpařuje a odebírá tím teplo ze svého okolí. Z výparníku jsou páry čpavku odsávány do absorbéru, kde je voda opět pohlcuje. Čpavková voda opět proudí do vypuzovače a celý děj se opakuje (**Augusta a Vávra, 1988**).

2.2 Vztah mikroorganismů k teplotě

Teplota má významný vliv na životní děje MO, jedná se o důležitý fyzikální faktor, který působí na chemické a enzymatické reakce v buněčných procesech. Vysoké teploty působí na MO destruktivně, naopak nižší teplota zpomaluje jejich množení, ale nemusí jej zcela zastavovat. Při dosažení tzv. teplotního optima se MO množí s největší intenzitou (**Madigan a kol., 2017**). Teplotu lze tudíž velmi účinně použít k eliminaci nebo kontrole růstu MO, což je významné zejména v potravinářském průmyslu (**Wareing a Stuart, 2011**). Domácí mrazničky jsou nastavovány na teplotu pod -18°C , protože některé MO jsou schopny růstu právě do této nízké teploty, v chladničkách se doporučuje teplota v rozpětí od 4 do 7°C . Nízkou teplotou nelze zastavit kažení potravin, protože potraviny obsahují vodu s obsahem rozpuštěných solí, které ji udržují v kapalném stavu. Důsledkem toho mohou některé

MO růst v prostředí s vysokým obsahem solí i při $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ a pravděpodobně i nižší (Schaechter, 2005). Teploty vyšší, než je optimální růstový rozsah, obvykle působí na buňky destruktivně (Wareing a Stuart, 2011). Při $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ hynou po 2–3 minutách kromě spor všechny vegetativní formy běžných bakterií. Na spory bezpečně působí teplota $120\text{ }^{\circ}\text{C}$ v kombinaci s tlakem 2 atmosfér po dobu 20 minut (Schindler, 2014). Mikroorganismy lze v závislosti na optimální růstové teplotě rozdělit do čtyř skupin (Tabulka 1) (Wareing a Stuart, 2011).

Tabulka 1: Skupiny mikroorganismů v závislosti na teplotě

Skupiny mikroorganismů	Teplotní rozmezí ($^{\circ}\text{C}$)		
	Minimální	Optimální	Maximální
Termofilní	+40 - +45	+55 - +75	+60 - +90
Mezofilní	+5 - +15	+30 - +45	+37 - +47
Psychrotrofní	-5 - +5	+25 - +30	+30 - +35
Psychrofilní	-5 - +5	+12 - +15	+15 - +20

Zdroj: Brychta, 2018

V potravinářském průmyslu z hlediska konzervace potravin chlazením, jsou důležité zejména psychrotrofní a psychrofilní skupiny MO. Široké rozpětí růstových teplot zapříčiňuje, že především skupina psychrotrofní je blízká mezofilní skupině MO, do níž se řadí mnoho původců alimentárních nákaz. U některých druhů není zcela jasné, do které skupiny se řadí (Brychta, 2018).

Psychrotrofní a psychrofilní mikroorganismy

Psychrotrofní a psychrofilní MO jsou schopny pomalého růstu i při chladírenských teplotách, a právě tím jsou významné v potravinářském průmyslu (Görner a Valík, 2004). Do těchto skupin se řadí různé MO s proteolytickými a lipolytickými vlastnostmi (Cappucino a Sherman, 2007). Oproti mezofilním MO mají kratší lag fázi, což znamená, že se rychleji přizpůsobují okolnímu prostředí. Některé tyto MO mají schopnost podílet se na tvorbě biofilmů uvnitř CHZ a současně je známo, že biofilmy jsou také významným zdrojem sekundárních kontaminací surovin a potravin a případně i infekcí (Brychta a kol, 2014).

Princip přizpůsobení nízkým teplotám je pro psychrofilní i psychrotrofní MO prakticky stejný (**Görner a Valík, 2004**). Pro udržení metabolismu a aktivity v chladném prostředí došlo k obrovskému množství buněčných změn. Tyto zahrnují různé adaptační úpravy, např. změny ve struktuře proteinů a změny ve složení lipidů tvořících buněčné membrány (**Madigan a kol., 2017**). Především kvůli vyššímu množství nenasycených mastných kyselin v cytoplazmatické membráně, je metabolismus aktivní i při nízkých teplotách (**Görner a Valík, 2004**). Membrány těchto MO obsahují lipidovou dvojvrstvu, která musí mít jistou míru fluidity, pro podporu většiny biologických funkcí – u všech MO musí mít cytoplazmatická membrána fluidní charakter (**Hoyoux a kol., 2004**). Při úpravě membránové fluidity se změni složení membránových mastných kyselin a akumulace osmolytů z prostředí (**Chaturongakul a kol., 2008**). Při poklesu teploty je syntetizováno velké množství specifických proteinů tzv. cold-shock protein, které umožňují pokračování všech činností i za snížené teploty (**Deming, 2002**). Strukturní změny proteinů mají pouze charakter genotypový, ovšem lipidové mají genotypový i fenotypový charakter (**Madigan a kol., 2017**).

Mezofilní mikroorganismy

Mezofilní MO jsou přizpůsobeny k mírným teplotám, přičemž optimální růstové teploty se pohybují od 20 °C do 45 °C (**Göpfertová, 2002**). Zástupci této skupiny se mohou vyskytovat i v potravinách uložených uvnitř CHZ, kde již nejsou schopny růstu (**Jay a kol., 2005**). Jedná se o nejpočetnější skupinu, do které náleží většina MO saprofytických i parazitických (**Němec a Matoulková, 2015**). Velmi důležitou skutečností z hlediska bezpečnosti potravin je, že se v této skupině nachází většina patogenních MO vyvolávajících alimentární onemocnění (**Görner a Valík, 2004**). Jmenovat lze zejména skupinu koliformních MO, které jsou využívány jako hlavní indikátor fekálního znečištění, vypovídající o sekundární kontaminaci surovin, potravin i vody (**Baudišová, 2017**).

2.3 Kažení potravin

Kažení potravin lze definovat jako jakoukoli smyslovou změnu - hmatovou, vizuální, čichovou nebo chuťovou, kterou spotřebitel považuje za nepřijatelnou (**Rawat, 2015**). Z mikrobiologického hlediska jsou potraviny používány pro výživu

jen zřídka sterilní, většinou obsahují četná mikrobiální společenstva, jejichž složení je dáno původem potraviny a jejím zpracováním. Většina těchto MO pochází z přirozené mikroflóry potravinářských surovin a z mikroflóry vnesené do ní během zpracování, skladování a distribuce (**Demnerová, 2012**). Samotný proces kažení umožňují chemické reakce zprostředkované MO, jako jsou bakterie, kvasinky a plísňe, pro které jsou potraviny zdrojem uhlíku a energie (**Gram a kol., 2002**).

Plísňe jsou přizpůsobeny pro růst na pevných substrátech a prorůstání skrze ně. Rozmanitým sekundárním metabolismem vzniká řada toxických a karcinogenních mykotoxinů. Pro své metabolické procesy vyžadují kyslík, přičemž uvolňují vyprodukované spory do vzduchu. Většina plísní je schopna růstu při pH 3 až 8. Různé druhy plísní vyžadují odlišné optimální teploty, obecně je rozpětí teplotního optima velmi široké. (**Rawat, 2015**). Mezi psychrofilní kmeny patří rody *Aspergillus*, *Cladosporium* a *Thamnidium*, které jsou běžně schopny růstu i v CHZ kde mohou napadat různé potraviny (**Jay a kol., 2005**).

Kvasinky jsou jednobuněčné fakultativně aerobní organismy, které narozdíl od plísní neprodukují toxické sekundární metabolity (**Gerald a kol., 2019**). Psychrofilní kvasinky rostou v rozmezí od 5 °C do 15 °C, některé se dokonce adaptovaly na nižší teploty a způsobují kažení mražených potravin. Kvasinkami vyvolané kažení při optimálních teplotách probíhá za produkce plynu, ovšem při teplotách nízkých tuto schopnost potlačují. K nejznámějším psychrofilním kvasinkám patří rody *Rhodotorula* a *Cryptococcus* (**Schreck, 2006**). Prakticky všudypřítomné kvasinky rodu *Rhodotorula* (**Forés a kol., 2012**). Zahrnují 46 druhů kvasinek, přičemž tři z nich mohou vyvolávat infekční onemocnění lidí (**Duboc de Almeida a kol., 2008**). V rodu *Cryptococcus* je popsáno 37 druhů s nejznámějším zástupcem, *Cryptococcus neoformans*, jenž může způsobit onemocnění zvané kryptokokální meningitida (**Li a Mody, 2010**). K infekci dochází jako důsledek vdechnutí těchto kvasinek či jejich spór (**Ballou a Johnston, 2017**). Jedním z nejčastějších rodů vyvolávajících kažení potravin, např. medu, sušeného ovoce a džemů, patří *Zygosaccharomyces* (**Gerald a kol., 2019**).

Nejnebezpečnější kontaminací je kontaminace bakteriálního původu. Potraviny nejeví žádné sensoricky rozpoznatelné známky bakteriální přítomnosti. Ta je často detekována až po vypuknutí vnějších příznaků a laboratorním vyšetření (**Rawat, 2015**). Mezi hlavní psychrofilní MO, kteří se podílejí na kažení potravin a mohou se nacházet v CHZ patří *Alteromonas* a *Flavobacterium*. Jedná se o gram

negativní tyčinky, které nejčastěji napadají čerstvé chlazené potraviny, s minimální růstovou teplotou od 0 °C do 3 °C s optimální teplotu 7 °C (Anonym 1, 2018). Zastoupení jednotlivých bakteriálních rodů se mění od počáteční kontaminace až do nástupu kažení (Brychta a kol., 2013).

2.4 Vybraná alimentární onemocnění

Alimentární onemocnění (AO) jsou onemocnění, u kterých zdrojem nakažení jsou suroviny nebo potraviny. Název vychází z latinského názvu *alimentum*, což znamená potrava, výživa a odpovídá tedy českému ekvivalentu „onemocnění z potravin“. Tato onemocnění představují celosvětově významnou zdravotnickou, ale také ekonomickou zátěž (Špačková, 2018). Jejich výskyt souvisí s hygienickým standardem populace a v prevenci má velký význam vzdělávání osob, které přicházejí profesionálně do styku s potravinami. V případě CHZ mají tyto osoby zajistit především adekvátní hygienu těchto zařízení (Podstatová, 2009). Z hlediska přenosu je významná křížová kontaminace, kdy dochází k přesunu patogenních MO z povrchů uvnitř CHZ na potraviny, které nejsou v ochranném obalu (Epralima, 2018). Ke kontaminaci povrchů v CHZ dochází nejčastěji z kontaminované potraviny, a nebo takové potraviny, která je v procesu kažení. Množení MO ovlivňují zejména teplota, dostupnost živin, aktivita vody (a_w), pH a čas, resp. délka skladování. Právě odborná znalost těchto faktorů, jako je např. správná regulace teploty v CHZ napomáhá k potlačení množení MO a předchází tak vzniku AO (Škopek a Voldřich 2009). Mezi nejčastější původce AO patří především skupina mezofilních MO, která zahrnuje většinu patogenních druhů, mezi které patří např. některé druhy a sérovary rodu *Salmonella*, *Campylobacter*, *Staphylococcus* nebo *Escherichia* (Görner a Valík, 2004). Do skupiny psychrotrofních MO, které jsou schopny vyvolat AO patří *Listeria monocytogenes* a *Bacillus cereus* (Hamplová, 2015).

2.4.1 Kampylobakteriíza

Kampylobakteriíza patří mezi nejčastěji hlášené AO vůbec (Osimani a Clementi 2016). Počty hlášených případů mají stoupající tendenci, což je nejspíše způsobeno zvýšenou konzumací drůbeže a dále moderními diagnostickými možnostmi (Ambrožová, 2011). Jednotlivé případy kampylobakteriízy podléhají v ČR povinnému hlášení od roku 1984 (Špačková, 2018). Celosvětově postihuje přibližně 96 milionů lidí ročně (Kirk a kol., 2015). V období 1997-2017 bylo v naší

republiky hlášeno celkem 411 699 případů, z nichž bylo 12,7 % hospitalizováno (Špačková, 2019). Mortalita v případě kampylobakterií je velmi nízká, a to 0,02 - 1 % (Brychta a kol., 2011).

V současné době má rod *Campylobacter* 32 druhů a dalších 13 poddruhů (Frasao a kol., 2017). Buňky většiny druhů jsou spirálovité, nebo zakřivené gram negativní tyčinky, o rozměrech 0,2 - 0,8 x 0,5-5 µm. Tento rod patří mezi jedny z nejrychleji se pohybujících bakterií (Hochel, 2009). Nalézá se u nich polární bičík na jednom nebo obou koncích buňky (Nachamkin a kol., 2008)). Mezi hlavní původce AO patří *Campylobacter jejuni*, vyskytující se u drůbeže a *Campylobacter coli* vyskytující se u prasat (Hansson a kol., 2018).

Teplotní rozpětí růstu pro oba zmíněné původce kampylobakterií je od 42 °C do 45 °C. Nižší teploty jim sice neumožňují růst, ale jsou schopny přežít i několik týdnů uvnitř CHZ (Voldřich, 2000).

Nejčastějšími zdroji nákazy pro člověka jsou nedostatečně tepelně upravené drůbeží maso, nepasterizované mléko, povrchová voda nebo kontakt s infikovanými zvířaty a člověkem (Branšovská a kol., 2016). Uvádí se, že v tržní síti je velká část drůbežního masa kontaminována kampylobaktery, jejich množství je však obvykle nižší než je infekční dávka (Ambrožová, 2011), která je uváděna přibližně 10² buněk (Komprda, 2004).

V ČR má onemocnění charakter spíše sporadických případů. Mezi rizikové skupiny patří děti do pěti let a osoby starší 80 let, jimž hrozí rovněž horší průběh nemoci (Špačková, 2019). Inkubační doba se pohybuje v rozmezí 2 až 7 dní (Komprda, 2004). Patogen vyvolává u člověka akutní průjemová onemocnění, jak v průmyslově rozvinutých, tak rozvojových zemích. Postižení mohou vykazovat příznaky, jako jsou bolesti břicha, horečka, bolest hlavy, závrať nebo zvracení. Po 1 až 2 dnech onemocnění se u 15 % pacientů objevuje ve stolici krev a u dětí se onemocnění projevuje zvracením (Hochel, 2009).

2.4.2 Salmonelóza

Celosvětový výskyt salmonelóz spojených s kontaminovanými potravinami je odhadován ročně na 80 milionů případů salmonelóz (Kašílková a kol., 2019). V ČR nastal vzestup onemocnění po roce 1989 v souvislosti s liberalizací výroby, avšak v posledních letech díky veterinárním opatřením v chovech drůbeže došlo

k několikanásobnému snížení počtů nakažených (**Graf 1**). Ročně je v ČR hlášeno přibližně 8000 případů salmonelóz (**Hamplová, 2015**).

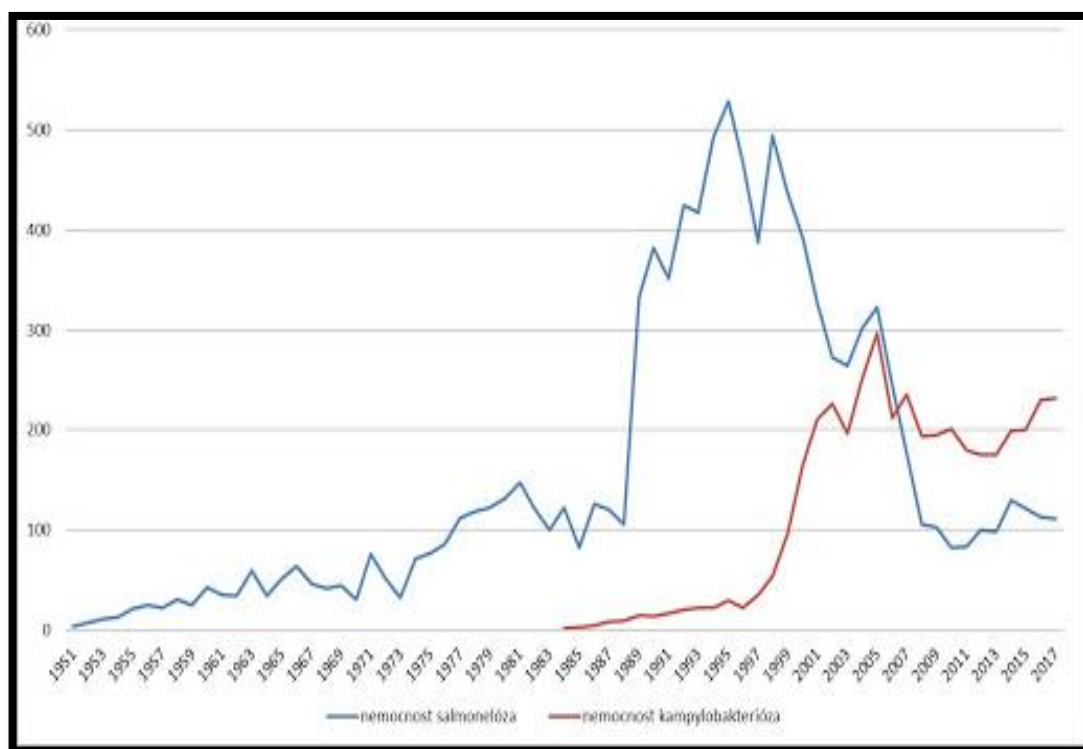
Salmonely jsou gramnegativní, fakultativně anaerobní bakterie o velikosti 0,7-1,5 x 2,0-5,0 μm (**Špačková, 2018**). Nejpodstatnější je poddruh *Salmonella* (*S.*) *enterica* subsp. *enterica* (**Votava, 2003**), která zahrnuje více než 1500 sérotypů (**Lamas a kol., 2018**). Za většinu infekcí u lidí jsou odpovědné sérotypy *S.* Typhimurium a *S.* Enteritidis (**Pardo-Roa a kol., 2019**), které způsobují více než 99 % případů salmonelóz (**EFSA, 2017**).

Salmonely jsou poměrně citlivé vůči chladírenským a mrazírenským teplotám (**Görner a Valík, 2004**). Růst je umožněn v rozmezí teplot od 5 do 47 °C, při pH 4 až 9 (**Burdychová a kol., 2007**). Optimální teplota pro růst je 37 °C a spolehlivě destruktivní je působení teploty 60 °C po dobu 20 minut (**Vlková a kol., 2006**).

Salmonely se běžně vyskytují ve střevech lidí a zvířat (**Kašlíková a kol., 2019**), případně v kontaminované vodě, půdě, vzduchu, na rostlinách a též různí živočišné např. hadi, myši či želvy mohou být primárním zdrojem infekce (**EFSA, 2010**). V poslední době jsou časté případy přenosu onemocnění od exotických zvířat (**Kašlíková a kol., 2019**). Lidé se nakazí nejčastěji z potravin živočišného původu např. z vepřového a drůbežího masa nebo vajec (**EFSA, 2010**). Onemocnění má v našich podmínkách výrazně sezónní charakter s maximem případů v teplých letních měsících (**Hamplová, 2015**). Infekční dávka se pohybuje v rozmezí od 10^6 do 10^9 MO, u vnímavých osob však může být nižší (**Beneš, 2011**).

Klinické příznaky se týkají zejména gastrointestinálního traktu (**Kašlíková a kol., 2019**). Onemocnění začíná náhle z plného zdraví nechutenstvím a zvracením, horečkou, bolestmi hlavy a malátností. Následují křečovitě bolesti břicha, průjem probíhající několik hodin až dnů. Výjimečně se nakažený jedinec stává nosičem onemocnění, a to po dobu až tří týdnů. Mezi komplikace patří dehydratace, selhání ledvin, apendicitida, septikemie a mnoho dalších (**Hamplová, 2015**). U oslabených jedinců a vyšších věkových skupin onemocnění salmonelózou může způsobit salmonelovou sepsi, která vzniká většinou v důsledku jiného základního onemocnění. V ČR je salmonelová sepsi považována za příčinu nejvyššího počtu úmrtí způsobených alimentárně (**Špačková, 2018**).

Graf 1 Vývoj salmonelóz a kampylobakterióz v počtech případů v České republice za období 1951-2017



Zdroj: EpiDat, 2017

2.4.3 Listeriόza

Listeriόza je infekční onemocnění způsobené konzumací potravin obsahujících bakterie *Listeria monocytogenes* (LM) (Warriner a Namvar, 2009). Odhaduje se, že listeriόza je příčinou 0,5 až 1 % všech hromadných AO (Blažková a kol., 2005). I přes takto nízký procentuální podíl v AO, je listeriόza považována za velmi významnou kvůli velmi vysoké mortalitě, dosahující až 30 % (Brychta, 2014). V posledních letech je v Evropě pozorován nárůst počtu případů onemocnění listeriόzou, přesná příčina tohoto jevu však není objasněna (EFSA, 2017). Jedním z možných vysvětlení může být zvýšený počet osob patřících do tzv. rizikových skupin – diabetici, pacienti s rakovinou nebo onemocnění AIDS či leukémií. U těchto skupin je prevalence listeriόzy velmi vysoká (Hof, 2003).

Jedná se o grampozitivní, nesporeující bakterie (Foltýnová, 2014) velmi malých rozměrů 1 až 2 μm , vyskytující se jednotlivě nebo ve dvojicích, příležitostně mohou tvořit i řetězky. Patří mezi pohyblivé bakterie s 1 až 4 bičíky, které jim umožňují aktivní průnik do tkání. Roste běžně aerobně, ale i fakultativně anaerobně. V případě

růstu v nepříznivých podmínkách mění svůj tvar a zkracuje se až do tzv. kokoidní formy (**Brychta, 2018**).

Listerie vynikají růstem v extrémních podmínkách, jsou přizpůsobeny širokému rozmezí pH od 4,3 do 9,6 a rostou v rozmezí teplot 1 až 45 °C (**Brychta, 2018**). Uvádějí se však různé nejnižší teploty, za kterých byly listerie schopny růst. Z hlediska životaschopnosti jsou listerie schopny přežít v některých vzorcích potravin při teplotách méně než 0 °C (**Beaufort, 2011**) a podle nynějších poznatků přežívají i mražení (**Brychta, 2018**). Studie zaměřené na izolaci *LM* z CHZ potvrdily přítomnost této patogenní bakterie ve 20 % CHZ v USA a Evropě (**Warriner a Namvar, 2009**).

Listerie jsou velmi odolné bakterie se širokým spektrem výskytu (**Brychta, 2018**). Při alimentárním přenosu mezi nejrizikovější potraviny patří mléčné výrobky z nepasterizovaného mléka, masné výrobky, ryby, syrová vejce, a především měkké zrající sýry s plísňovými kulturami. Údaje o velikosti infekční dávky nejsou doposud přesně známé, předpokládá se přibližně 10^8 buněk u zdravých jedinců, avšak u lidí s oslabeným imunitním systémem bude pravděpodobně velmi nízká (**Meloni, 2015**).

V případě vstupu infekce gastrointestinálním traktem, *LM* kolonizuje trávicí trakt (**Foltýnová, 2014**). Předpokládá se, že přibližně 5 % lidí je listeriem kolonizováno, avšak s latentním průběhem onemocnění. Pouze u jedinců s oslabenou imunitou, novorozenců a starších osob může vypuknout závažná bakteriemie či meningitida (**EFSA, 2017**). Nakažení v časném stadiu těhotenství často vede k úmrtí plodu, potratu a v pozdějším stadiu k předčasnému porodu (**Lamont a kol., 2011**). Novorozenecká listerióza se vyskytuje přibližně u 8 jedinců na každých 100 000 živě narozených (**De Luca a kol., 2015**). K přenosu infekce na plod může dojít transplacentárně nebo při porodu v porodních cestách (**Goulet a kol., 2013**). Inkubační doba je v průměru 3 týdny (**Hamplová, 2015**), ovšem může být různě dlouhá, u těhotných je o něco delší v rozmezí 17 až 67 dní (**Goulet a kol., 2013**). Včasná diagnóza je spíše výjimkou a na možné ohnisko nákazy upozorní teprve typické příznaky u rizikových skupin (**EFSA, 2017**).

2.4.4 Intoxikace vyvolané *Bacillus cereus*

V posledních letech bývají v ČR hlášeny ojedinělé případy onemocnění způsobené *Bacillus cereus*. Předpokládá se, že AO způsobená tímto patogenem, zůstávají často nehlášená kvůli rychlému klinickému průběhu (**SZÚ, 2019**). Nakažení

jedinci tudíž obvykle nevyhledávají lékařskou pomoc, a tak je toto onemocnění v ČR diagnostikováno jen zřídka (**Müllerová a kol., 2014**).

Bacillus cereus jsou grampozitivní fakultativně anaerobní, sporotvorné, tyčinky o velikosti 1 x 3 – 7 µm s peritrichálně umístěnými bičíky. Jejichž buňky se vyskytují samostatně nebo v řetízích (**Melter a Castelhana, 2019**).

Vůči vnějším faktorům jsou tyto MO velmi odolné (**Pexara, 2018**). Mají schopnost růstu v rozsahu pH 4,5 až 9,3 a při teplotě od 4 °C do 50 °C (**Tewari a Abdullah, 2015**), čímž se řadí mezi psychrotrofní MO (**Pexara, 2018**).

Bacillus cereus je běžnou součástí střevní mikroflóry, ale také se hojně vyskytuje v zevním prostředí, např. ve vodě, půdě, na rostlinách a často kontaminuje potraviny s obsahem škrobu. Typickým příkladem je vařená rýže či vařené těstoviny (**SZÚ, 2019**), dále se může vyskytovat v zelenině, mléce a mase (**Klaban, 2018**). Infekční dávka je 10¹⁰ MO (**Greenwood a kol., 1999**).

Patogenní kmeny *Bacillus cereus* produkují dva základní toxiny, a to emetický toxin a diarhogenní enterotoxin, jenž způsobují dva typy onemocnění (**SZÚ, 2019**). První typ onemocnění, známý jako enterotoxikóza je vyvolán produkcí diarhogenního enterotoxinu a charakterizují jej vodnaté průjmy a křeče v břiše. Inkubační doba se pohybuje od 8 do 16 hodin a příznaky enterotoxikózy většinou netrvalí déle než 24 hodin (**Nguyen a Tallent, 2019**). Druhý typ onemocnění se nazývá emetický syndrom. Jeho příčinou je otrava emetickým toxinem, který byl vyprodukován bakteriemi v potravine s vysokým obsahem škrobu, např. ve vařené rýži. K typickým příznakům této otravy patří nevolnost a zvracení. Inkubační doba se pohybuje kolem tří hodin a klinické příznaky ustupují obvykle do 12 hodin (**Ulrich a kol., 2019**).

2.4.5 Infekce vyvolané *Escherichia coli*

Infekce vyvolané patogenními kmeny *Escherichia (E) coli* je velmi vzácný (**Marejková a kol., 2013**). Tento MO je známý především v genetických výzkumech, kde pomáhá k objasnění antibiotické rezistence. Patří mezi indikátorové MO a většinou vysoké počty *E. coli* signalizují fekální znečištění vody (**Mccrickard a kol., 2018**).

Escherichia coli jsou gramnegativní, fakultativně anaerobní a nesporulující tyčinky o délce cca 2 µm a tloušťce 0,5 µm. Některé kmeny jsou pohyblivé s peritrichálně uloženými bičíky (**Julák, 2012**).

Optimální teplota růstu *E. coli* je 37 °C (Sedláček, 2007), řadí se tedy k mezofilní skupině MO. Buňky těchto bakterií tolerují i teploty od 7 °C až do 50 °C. K růstu *E. coli* je vhodné neutrální pH, ovšem přežívají i v kyselých oblastech kolem 4,4 (Šilhánková, 2008).

Escherichia coli se přirozeně vyskytuje ve střevní mikroflóře lidí i zvířat (McCrickard a kol., 2018). Některé kmeny lze použít jako probiotika, díky schopnosti se prospěšně podílet na trávení a tvorbě některých vitamínů jako B₁₂, K₁ a K₂ (Julák, 2012). Rezervoárem patogenních kmenů jsou prasata, koně, drůbež, přežvýkavci, a především hovězí dobytek, který vylučuje bakterie stolicí (Ferens a Hovde, 2011). Infekční dávka je velmi nízká, přibližně jen 10 bakterií (Pennington, 2010).

Pouze malá část kmenů *E. coli* jsou původci vážných střevních onemocnění (Julák, 2012). Tyto kmeny se podle mechanismu účinku rozdělují do pěti skupin, a to na: enterotoxigenní *E. coli* (ETEC), které jsou nejčastější příčinou cestovatelských průjmů, enteroinvazivní *E. coli* (EIEC) vyvolávající onemocnění podobné bacilární úplavici, enteropatogenní *E. coli* (EPEC) způsobující v minulosti rozsáhlé epidemie průjmů u kojenců, dále enteroagregativní kmeny (EAEC) způsobující průjmy cestovatelů a chronické průjmy malých dětí v rozvojových zemích (Ambrožová a Majerková, 2012). Poslední podskupinou je enterohemoragická *E. coli* (EHEC), někdy označované jako (STEC) (Karch a kol., 2006), kdy *E. coli* při vhodných podmínkách produkuje velmi aktivní Shiga toxin (Vacek, 2002). Ten způsobuje narušení střevní sliznice, což vede k velmi těžkým krvavým průjmům (Kawano a kol., 2012).

2.4.6 Stafylokoková enterotoxikóza

Stafylokoková enterotoxikóza je považována za jedno z nejčastějších AO (Hennekinne, 2010). Vyvolávají je enterotoxigenní kmeny *Staphylococcus aureus*, produkující stafylokokové enterotoxiny, které jsou řazeny mezi superantigeny. Doposud je známo 24 antigenických typů enterotoxinů, z čehož A a B jsou nejčastější (Fisher a kol., 2018). Hlavním zdrojem kontaminace surovin a potravin enterotoxigenními kmeny *Staphylococcus aureus* je primární onemocnění této etiologie tj. stafylokoková mastitida a dále drobná hnisavá onemocnění kůže pracovníků s potravinami (Jackson a kol., 2013).

Staphylococcus aureus jsou grampozitivní bakterie ve tvaru koků, jež jsou uspořádány v charakteristických hroznovitých útvarech. Kolonie jsou často zbarveny

do zlaté nebo žluté barvy (Tracey, 2019), a proto se často užívá termín „zlatý stafylokok“, i když nemá žádnou taxonomickou platnost (Votava, 2015). Jedná se o fakultativní bakterii o velikosti 0,7 – 0,9 µm (Chaibenjawong a Foster 2011).

Teplotní rozmezí růstu stafylokoků se pohybuje od 7 °C do 48 °C, s optimumem 37 °C. Řadí se do skupiny mezofilních MO, ovšem přežívá zmrazení a v uskladněných potravinách toleruje teploty až - 20 °C. Odolný *S. aureus* přežívá široké rozmezí pH 4 až 10, ovšem optimum pH je 6 až 7 (Chaibenjawong a Foster 2011). Odolnost vůči pH, tomuto MO umožňuje být aktivním i v gastrointestinálním traktu, kde je rezistentní vůči enzymům jako je pepsin nebo trypsin (Scallan a kol., 2011).

Výskyt stafylokoků je velmi rozmanitý, např. ve vzduchu, vodě, prachu, potravinách a surovinách (SZÚ, 2004). U kolonizovaných jedinců je *Staphylococcus aureus* považován za nežádoucí součást mikroflóry, vyskytuje se na kůži, v drobných poraněních, infikovaných vřídcích, nosních sliznicích a v ústních dutinách zdravých lidí i zvířat (Tracey, 2019). Tito jedinci, bývají přenašeči onemocnění (Argudín a kol., 2010).

Významnou schopností patogenních stafylokoků je produkce řady toxických exoproteinů, faktorů virulence a především enterotoxinů. Právě produkce enterotoxinů z nich činí jedny z nejvýznamnějších původců alimentárních intoxikací (Šťávková a kol., 2012). Onemocnění způsobené těmito enterotoxiny (nejčastěji enterotoxin A a B) způsobuje tzv. stafylokokové enterotoxikózy (SZÚ, 2004). Ty jsou charakteristické silným zvracením, průjmy, bolestmi v břišní dutině, závratěmi, třesem, celkovou slabostí a zřídka i horečkami (Karamonová a kol., 2019). Inkubační doba trvá 1 až 6 hodin a příznaky AO odezní do 24 hodin (Lukáš a Hoch, 2018). Podle některých teorií jsou stafylokokové toxiny zodpovědné i za vznik určitých autoimunitních chorob a rovněž se podílejí na rozvoji, šíření a reaktivaci střevních zánětlivých onemocnění, jako jsou Crohnova choroba či ulcerózní kolitida, které měly doposud nejasné příčiny (Karamonová a kol., 2019).

2.4 Hygienická opatření

K zabezpečení potravin před kontaminací je zapotřebí rozsáhlý systém preventivních opatření, který začíná v prvovýrobě, probíhá přes výrobu a distribuční síť až do podniků společného stravování a domácností spotřebitele (Jičínská a Havlová, 1996). Chladicí zařízení, se kterými přicházejí potraviny do styku, musí být

udržovaná v hygienické čistotě. Pravidelná sanitace je základním předpokladem k zajištění nezávadnosti potravin, které jsou uvnitř uskladněny. Čištění a dezinfekce chladicího prostoru se provádí vhodnými sanitačními prostředky v přiměřených koncentracích, a v takových časových rozestupech, aby se vyloučilo riziko kontaminace (**Voldřich a kol., 2013**). Z hlediska efektivnosti úchovy potravin v CHZ, a tím zajištění vhodných podmínek pro skladování potravin, je velmi důležité vhodné rozmístění potravin z důvodu rozdílných teplot v jednotlivých patrech (**Tabulka 2**).

Tabulka 2 Adekvátní rozmístění potravin v chladicím zařízení

Místo uložení	Pořadí patra	Potraviny
Hlavní prostor chladničky	1.	Tepelně zpracované pokrmy
	2.	Vařené maso, masné výrobky, mléčné produkty
	3.	Máslo, margarín, sýry
	4.	Syrové maso
	5.	Oddělené boxy na ovoce a zeleninu
Dveře chladničky	1.	Plastové boxy na vejce
	2.	Kečup, hořčice, dressingy
	3.	Nápoje – pivo, víno, džus, mléko
Zásuvky mrazničky	1.	Zamrazené pokrmy
	2.	Mražená syrová zelenina, ovoce
	3.	Mražené maso

Zdroj: **Ostrý, 2004**

Pro správné fungování CHZ je nezbytné splnit některé podmínky např. umístění v dostatečné vzdálenosti od zdrojů tepla, jako sporáku, myčky, trouby, slunečního záření a nejlépe ve větraném prostoru. V chladničce musí být udržována stálá teplota, ideálně 4 °C a její sanitace by se měla provádět jednou za týden. V mrazicích boxech se teplota pohybuje kolem -18 °C, rozmrazují se a provádí se sanitace jedenkrát měsíčně. Pokud se zvýší teplota nad -10 °C, většinou dochází k aktivaci některých plísní a kvasinek, které způsobí pomalé kažení uskladněných surovin (**Komprda, 2004**). Chladničky ani mrazničky se nesmějí přepřínovat, poněvadž musí být zajištěna rovnoměrnost chlazení. Zařízení se otevírají pokud možno co nejméně a vždy jen po nezbytně nutnou dobu. Do CHZ se vkládají pouze potraviny vychlazené, nikoli horké (**Svrčinová, 2017**), uskladněné ve vhodných

obalech. Potraviny se neuchovávají déle, než je stanoveno datem minimální trvanlivosti a rovněž je třeba zkrátit na minimum uskladnění otevřených konzervovaných produktů v plechových obalech či v poškozených obalech (**Podušel, 2016**).

Vhodný způsob, jak předcházet kontaminaci potravin udává systém popsany v následující kapitole.

2.4.1 Systém analýzy rizika a stanovení kritických kontrolních bodů

Systém analýzy rizika a stanovení kritických kontrolních bodů, známý pod zkratkou HACCP (angl. *Hazard Analysis and Critical Control Points*) je zavedený systém ve výrobnách potravin určující, jak účinně předcházet rizikům ohrožující bezpečnost potravin (**Osimani a Clementi 2016**). Pro potraviny jsou za rizikové považovány činitelé biologického, chemického a fyzikálního charakteru (**Paster, 2007**). Systém HACCP zahrnuje soubor preventivních opatření, které zajišťují zdravotní nezávadnost potravin a pokrmů během celého výrobního řetězce, tj. včetně skladování, zpracování, přeprava, manipulace až prodej konečnému spotřebiteli (**Osimani a Clementi 2016**). Provozovatelé potravinářských podniků (PPP) jsou povinni určit ve všech fázích výroby a uvádění do oběhu technologické úseky tzv.-kritické body, v nichž je největší riziko porušení zdravotní nezávadnosti, provádět jejich kontrolu a vést evidenci (=zavedení systému HACCP). Tato povinnost se vztahuje na všechny PPP (**HACCP, 2009**). V praxi to znamená, že provozovatel porozumí možným problémům, které mohou vzniknout v podmínkách konkrétního provozu, a tak účinně těmto problémům předcházet. Pro zavádění tzv. „tradičního“ systému HACCP byl formulován postup, který zahrnuje sedm základních principů (**Tabulka 3**) (**Voldřich, a kol. 2006**).

Tabulka 3 Sedm základních principů systému analýzy rizika a stanovení kritických kontrolních bodů

1	Provedení analýzy nebezpečí
2	Stanovení kritických bodů
3	Stanovení znaků a kritických mezí v kritických bodech
4	Vymezení systému sledování v kritických bodech
5	Stanovení nápravných opatření
6	Zavedení ověřovacích postupů
7	Zavedení dokumentace

Zdroj: **Voldřich a kol., 2006**

Správné zavedení a fungování systému kritických bodů snižuje riziko ohrožení otravy z potravin a chrání výrobce nebo prodejce v případě sankcí za případné poškození zdraví. Provozovatel si zavedením systému HACCP zajišťuje minimalizaci výrobních ztrát a úsporu nákladů, zachování kvality a zdravotní nezávadnosti potravinářských výrobků, přehledný a jasně definovaný kontrolní systém, důvěru zákazníka a splnění zákonné povinnosti (**Kolektiv autorů, 2006**).

3. MATERIÁL A METODIKA

3.1 Cíl práce

Cílem této bakalářské práce bylo posoudit účinnost prováděné sanitace chladicích zařízení v gastronomických provozovnách i v domácnostech běžných uživatelů. Součástí bakalářské práce bylo krátké dotazníkové šetření zaměřené na sanační postupy uživatelů hodnocených chladicích zařízení.

3.2 Metodika analytické části

Pro posouzení účinnosti sanitace CHZ v různých gastronomických provozovnách a u běžných uživatelů byly hodnoceny tyto skupiny MO: celkový počet mikroorganismů (CPM), koliformní a psychrotrofní MO, kvasinky a plísňe. V rámci odběrů byl uživatelům CHZ předkládán dotazník týkající se různých vlivů, které mohly ovlivnit úroveň mikrobiální kontaminace uvnitř CHZ.

3.2.1 Odběr vzorků

Odběr vzorků byl uskutečněn celkem v šesti CHZ - tři v domácnostech běžných uživatelů (CHZ č. 1 – 3), tři v provozovnách veřejného stravování (CHZ č. 4 – 6). Odběr byl v každém z CHZ proveden vždy ze stejného místa – skleněné police nad boxem na zeleninu.

Odběr byl v každém CHZ uskutečněn jako odběr vzorků po provedené sanitaci a bez provedené sanitace. Před prvním odběrem byli uživatelé CHZ požádáni, aby provedli sanitaci běžným způsobem. První odběr vzorků CHZ č. 1 - 3 (po sanitaci) byl proveden v termínu 6. 11. 2019 a druhý odběr těchto vzorků (bez sanitace) byl proveden 27. 1. 2020. Vzorky CHZ č. 4 - 6 byly odebrány (po sanitaci) v termínu - 20. 11. 2019 a druhý odběr (bez sanitace) 10. 12. 2019.

Odběr vzorků byl proveden za pomoci sterilní hliníkové šablony (10 x 10 cm) a sterilních odběrových tampónů. Stěr byl veden v několika tazích různými směry tak, aby došlo k důkladnému setření dané plochy. Odběrový tampón byl uložen do zkumavky se sterilním fyziologickým roztokem, uzavřen zátkou a v chlazeném stavu přepraven do laboratoře, kde byl ihned zpracován.

3.2.2 Laboratorní zpracování

V laboratoři Katedry potravinářských biotechnologií a kvality zemědělských produktů byly jednotlivé vzorky zpracovány.

Použité kultivační půdy:

- PLATE COUNT AGAR (PCA) – pro psychrotrofní a mezofilní MO. Agarová živná půda s glukózou, tryptonem a kvasničným extraktem.
- VIOLET RED BILE AGAR (VRBA) – pro koliformní MO. Agarová živná půda s krystalovou violetí, neutrální červení, žlučovými solemi a laktózou.
- SABOURAUD DEXTROSE AGAR (SDA) – pro plísňe a kvasinky. Agarová živná půda s dextrózou a peptonem.

Zpracování vzorků

Vzorky byly nejprve důkladně promíchány pomocí vortexu. Pro vlastní vyšetření bylo použito ředění 10^{-1} a 10^{-2} . Z každého ředění bylo 1 ml vzorku odebráno automatickou pipetou vždy paralelně do dvou Petriho misek a následně zalito příslušnou kultivační půdou pro danou skupinu mikroorganismů.

Vyhodnocení

Po stanovené délce inkubace byly spočítány narostlé kolonie. Pro výpočet byly použity kultivační plotny, na nichž bylo normou stanovené rozpětí 10 – 300 kolonií pro mezofilní MO a 10 – 150 kolonií pro psychrofilní a koliformní MO a kvasinky a plísňe. Výsledek byl zaokrouhlen do formy čísla 1,0 – 9,9. Jako měrná jednotka byla využita KTJ/cm². K výpočtu byl použit následující vzorec:

$$N = \sum C (n_1 + 0,1 n_2) d$$

$\sum C$ - součet všech kolonií spočítaných na vybraných plotnách

n_1 - počet ploten použitých pro výpočet z prvního ředění

n_2 - počet ploten používaných pro výpočet z druhého ředění

d - faktor prvního pro výpočet použitého ředění

4. VÝSLEDKY A DISKUSE

Efektivní sanitace CHZ nejen v gastronomických provozech je jedním z nejdůležitějších faktorů pro zabezpečení hygienické a zdravotní nezávadnosti potravin, čímž lze předcházet možnosti rizika alimentárních nákaz (**Marádová, 2007**).

Mikrobiologickou analýzou byla sledována úroveň mikrobiální kontaminace CHZ v odlišných podmínkách, a to v domácnostech a v gastronomických provozovnách. Naším předpokladem bylo zjištění odpovídající úrovně hygieny CHZ v gastronomických provozovnách, jelikož jsou povinny řídit se sanitačním řádem, a tak zajistit adekvátní hygienu CHZ. Posuzována byla dále účinnost sanitace, a to analyzováním vzorků před sanitací a po sanitaci CHZ.

4.1 Zhodnocení účinnosti sanitace chladicích zařízení běžných uživatelů

Sanitace je souhrn opatření, která mají odstranit MO z prostředí. V užším slova smyslu zahrnuje sanitace dva na sebe navazující postupy – důkladnou mechanickou očistu (odstranění nečistot a zbytků organického materiálu) a následnou dezinfekci očištěného povrchu (odstranění mikroorganismů) (**Bursová, 2015**). Dezinfekce musí být dostatečně účinná a neměla by poškozovat dezinfikovaný materiál. Konečný efekt dezinfekce závisí na vhodných pomůckách, dezinfekčním prostředku, jeho správném použití podle instrukcí výrobce (koncentrace, doba působení, teplota roztoku), dále také na charakteru MO a na jejich rezistenci (**Melicherčíková, 2007**).

Mikrobiologickou analýzou CHZ č. 1-3 před sanitací byly zjištěny poměrně nízké počty MO, pohybující se např. v případě mezofilních MO v rozpětí od 0 KTJ/10 cm² do 8.10¹ KTJ/10 cm², přičemž nejvyšší hodnota byla zaznamenána u vzorku č. 2. Vyhláška č. 289/2007 Sb. stanovuje, že stěry z povrchu výrobního zařízení, odebrané z plochy 10 cm² po skončení čištění a dezinfekce, nesmí obsahovat více než 10² aerobních a fakultativně anaerobních MO. Všechny vzorky odebrané z CHZ běžných uživatelů před sanitací tomuto limitu odpovídaly. Překvapivě po sanitaci jeden vzorek (č. 3) daný limit přesahoval - 1,3.10² KTJ/10 cm² (**Tabulka 4**).

Tabulka 4 Zhodnocení mikrobiologického vyšetření chladicích zařízení běžných uživatelů (v KTJ/10 cm²)

Skupiny MO	Chladicí zařízení					
	PŘED sanitací			PO sanitaci		
	č. 1	č. 2	č. 3	č. 1	č. 2	č. 3
Mezofilní MO	6,4.10 ¹	8.10 ¹	1,8.10 ¹	0	0	1,3.10 ²
Koliformní MO	0	0	0	0	0	0
Psychrotrofní MO	2.10 ¹	0	0	0	0	0
Kvasinky a plísňe	7,3.10 ¹	1.10 ¹	2.10 ¹	0	2,8.10 ²	1.10 ¹

Vysvětlivky: MO - mikroorganismy

Chladicí zařízení č. 1

Před sanitací

Vzorek z CHZ č. 1 před sanitací vykazoval pouze mírné mikrobiální znečištění. Hodnoty se pohybovaly: 6,4.10¹ KTJ/10 cm² (mezofilní MO), 2.10¹ KTJ/10 cm² (psychrotrofní MO) a 7,3.10¹ KTJ/10 cm² (kvasinky a plísňe). V případě koliformních MO byly zjištěny nulové hodnoty. V rámci dotazníkového šetření bylo zjištěno poněkud nevhodné rozmístění potravin v CHZ č. 1. Vzhledem k tomu, že se jedná o CHZ ve studentském bytě, je toto společné celkem pro osm uživatelů, přičemž jedna police CHZ připadá vždy jedné dvojici uživatelů. Z těchto důvodů tedy každá police obsahuje všechny druhy potravin (maso, mléčné výrobky, i ovoce a zelenina). Lze usuzovat, že v takto uspořádaném CHZ může snadněji docházet ke kontaminaci povrchu CHZ. Navíc bylo zjištěno, že se potraviny často nenacházejí v ochranných obalech.

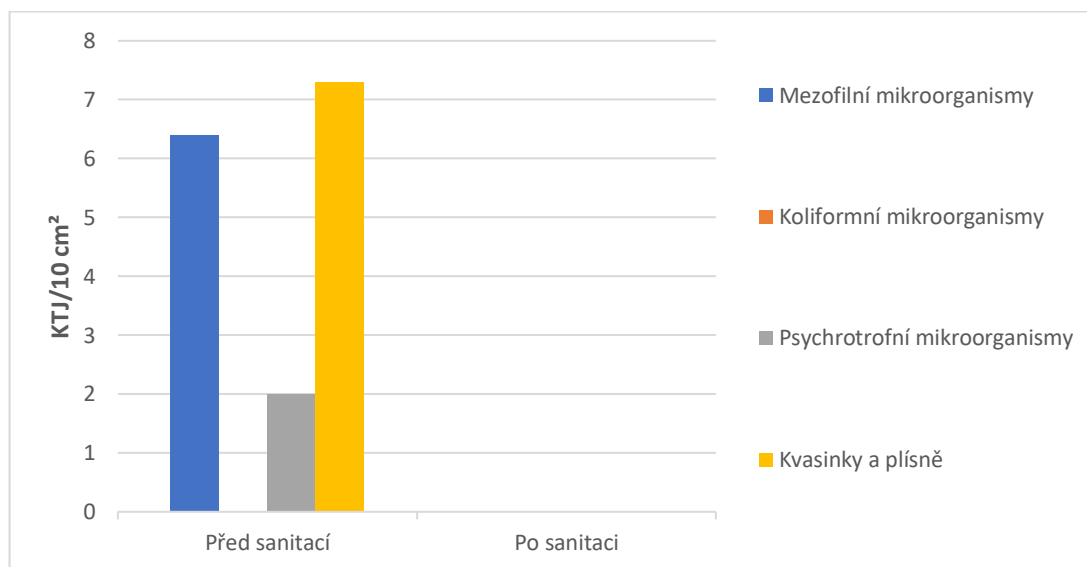
Pokud jsou potraviny v CHZ rozmístěny nesystematicky, tak efektivita jejich uskladnění klesá, a to z důvodu rozdílných teplot v jednotlivých patrech (**Ostrý, 2004**). Dále bylo zjištěno, že sanitace CHZ byla naposledy provedena před více než dvěma měsíci. Doporučeno je přitom provádět sanitaci CHZ jednou za týden (**Komprda, 2004**).

Po sanitaci

Dotazníkovým šetřením bylo zjištěno, že sanitace byla provedena přímo v den odběru vzorku, a to s využitím dezinfekčního prostředku Sanytol a nové čisticí utěrky. Sanitace CHZ č.1 byla stoprocentně účinná (**Graf 1**). U všech posuzovaných skupin MO byly zjištěny nulové hodnoty. Lze tedy usuzovat, že sanitace provedená tímto

postupem je pro CHZ zcela vhodná. Na obalu přípravku Sanytol je uvedena účinnost proti bakteriím, plísním a virům. Výrobce rovněž přímo uvádí vhodnost použití tohoto prostředku pro chladničky. Zajímavou informací o výrobku je i to, že odstraňuje konkrétní MO, jako jsou *Herpes virus*, *Salmonella*, *Listeria*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Aspergillus niger*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus hirae*, *Lactobacillus brevis*.

Graf 1 Zhodnocení účinnosti sanitace chladicího zařízení č. 1



Chladicí zařízení č. 2

Před sanitací

V případě vzorku z CHZ č. 2 byl prokázán nárůst pouze u skupiny mezofilních MO ($8 \cdot 10^1$ KTJ/10 cm²) a kvasinek a plísní ($1 \cdot 10^1$ KTJ/10 cm²). Vzorek byl odebrán měsíc po provedené sanitaci.

Po sanitaci

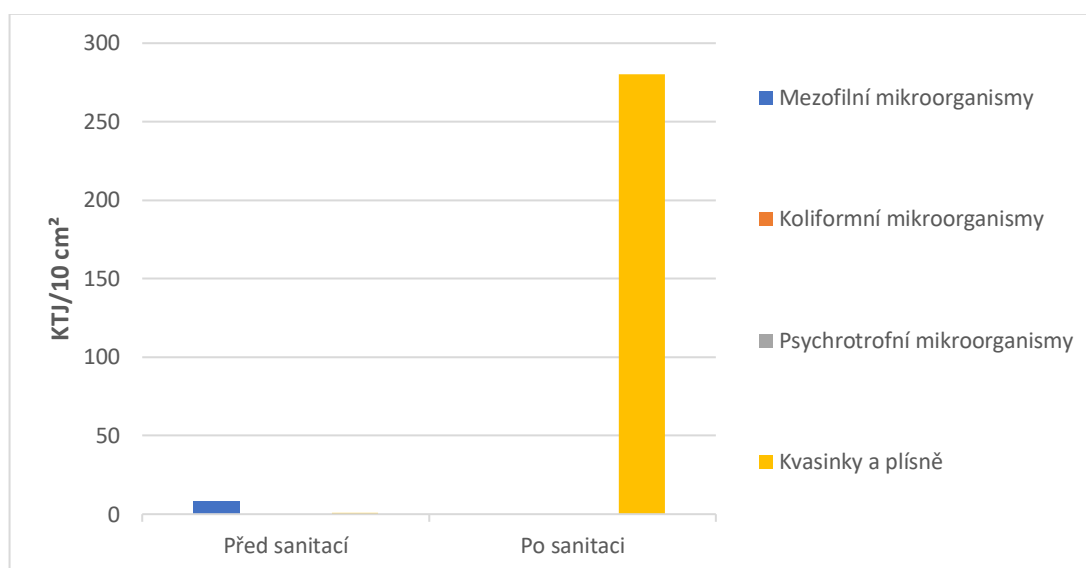
Sanitace daného CHZ byla provedena v den odběru vzorku s pomocí přípravku JAR a opakovaně používané čisticí utěrky, která sloužila k omývání i dalších prostorů kuchyně.

Po provedené sanitaci byl v hodnoceném vzorku prokázán pouze nárůst kvasinek a plísní - $2,8 \cdot 10^2$ KTJ/10 cm² (**Graf 2**). Kvasinky a plísně často způsobují kažení potravin a mění tak jejich sensorické vlastnosti, proto je dodržování hygieny nutné především při skladování a chlazení potravin (**Hajime a kol, 2015**). Nebezpečí představuje také produkce mykotoxinů, jež je většina plísní schopna tvořit. Některé z mykotoxinů způsobují nevolnosti, svalové křeče či halucinace a jejich dlouhodobé

působení na lidský organismus negativně působí na imunitní systém a vede k poškození ledvin a jater (Doyle a kol., 2001).

Lze předpokládat, že sanitace nebyla dostatečně účinná právě kvůli přenosu MO z opakovaně používané čisticí utěrky. Jednalo se zřejmě o křížovou kontaminaci, kterou ve své podobně koncipované práci popisovala Budíková (2011).

Graf 2 Zhodnocení účinnosti sanitace chladicího zařízení č. 2



Chladicí zařízení č. 3

Před sanitací

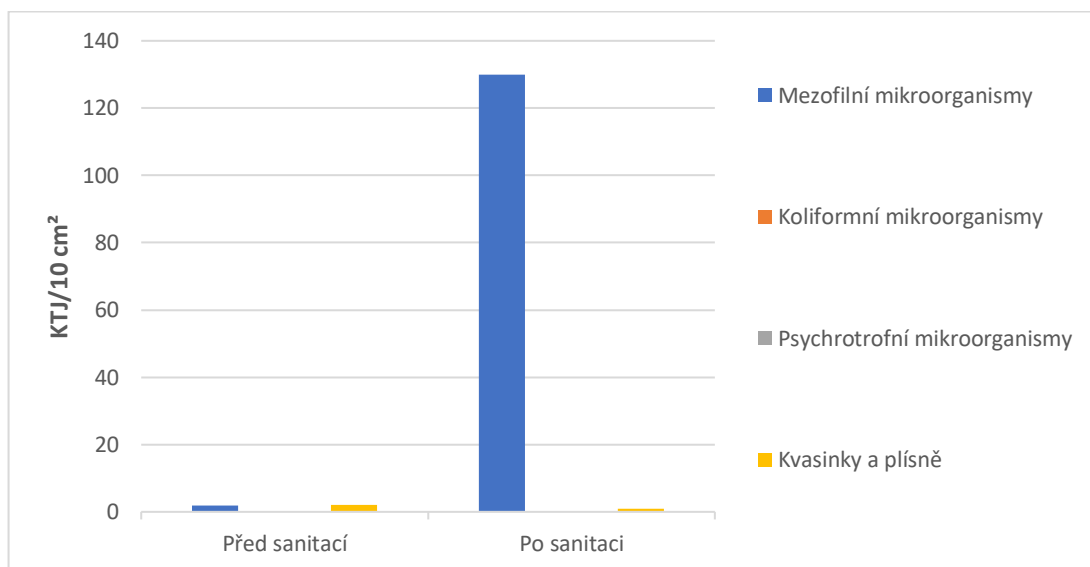
U CHZ č. 3 byla sanitace provedena přibližně dva měsíce před odběrem vzorku, v němž byl prokázán nárůst pouze skupiny mezofilních MO ($1,8 \cdot 10^1$ KTJ/10 cm²).

Po sanitaci

Sanitace byla provedena den před odběrem vzorku opakovaně použitou čisticí utěrkou, jež byla užívána na omývání povrchů celé domácnosti a přípravkem JAR. Hlavní složky přípravku JAR jsou methylisothiazolinone, jež zabraňuje růstu bakterií a phenoxyethanol, který zpomaluje růst bakterií (Petružálková, 2018). Po sanitaci CHZ č. 3, vzorek vykazoval přítomnost kvasinek a plísní v zanedbatelném počtu ($1 \cdot 10^1$ KTJ/10 cm²), ovšem kontaminace mezofilními MO byla zaznamenána ve vyšším počtu ($1,3 \cdot 10^2$ KTJ/10 cm²). Do skupiny mezofilních MO se řadí většina patogenních MO vyvolávajících alimentární onemocnění, tudíž je především jejich přítomnost v CHZ nežádoucí (Görner a Valík, 2004). Přípravek JAR je vhodným prostředkem na mytí nádobí, ovšem o vhodnosti na povrchy CHZ lze spekulovat, na

jeho obalu není zmínka o vhodnosti takového využití. Uživatel tohoto sanitačního přípravku tedy nemá stanovenou koncentraci, čímž není zajištěna účinnost desinfekce. Pravděpodobně opět došlo ke křížové kontaminaci z čisticí utěrky a čisticí přípravek nejspíše nebyl dostatečně účinný k likvidaci všech MO (**Graf 3**). Mezi nejčastější chyby při dezinfekci patří: nedodržení návodu použití od výrobce, ředění „od oka“, není dodržen cíl určení, prošlá expirace, používání pouze jednoho dezinfekčního přípravku či špatná volba dezinfekčního přípravku na nevhodný materiál (**Melicherčíková, 2007**).

Graf 3 Zhodnocení účinnosti sanitace chladicího zařízení č. 3



4.2 Zhodnocení účinnosti sanitace chladicích zařízení gastronomických provozoven

Každý potravinářský podnik je povinen si vytvořit svůj tzv. sanitační řád jako součást provozního řádu a jednou týdně provádět hygienicko-sanitační prohlídku pracovišť (**Vítová, 2014**). Sanitační řád musí obsahovat několik základních údajů, jako jsou - čištěné místo (CHZ), použité prostředky s jejich aplikační koncentrací, četnost sanitace (min. 1x týdně), dále kdo provádí a kdo kontroluje sanitaci. Sanitační postupy jsou pravidelně monitorovány a o výsledcích vede písemné záznamy pověřená osoba. Veškeré informace týkající se hygieny a sanitace by měly být shromážděny v tzv. hygienické příručce a měl by je mít k dispozici pracovník zodpovědný za hygienu v provozovně (**Šlapal, 2004**).

Počty mezofilních MO před sanitací byly ve všech vzorcích z CHZ z gastronomických provozoven nad povolený limit 10^2 KTJ/10 cm². Nejvyšší MO kontaminace byla zjištěna u CHZ č. 6 ($6,3 \cdot 10^2$ KTJ/10 cm²). U tohoto CHZ ani po sanitaci neodpovídal výsledek hygienickému limitu (**Tabulka 5**).

Tabulka 5 Zhodnocení mikrobiologického vyšetření chladicích zařízení gastronomických provozoven (v KTJ/10 cm²)

Skupiny MO	Chladicí zařízení					
	PŘED sanitací			PO sanitací		
	č. 4	č. 5	č. 6	č. 4	č. 5	č. 6
Mezofilní MO	$3 \cdot 10^3$	$2,9 \cdot 10^2$	$6,3 \cdot 10^2$	0	0	N
Koliformní MO	$2,2 \cdot 10^2$	0	0	0	0	$8,5 \cdot 10^3$
Psychrotrofní MO	0	0	0	0	0	N
Kvasinky a plísně	$5,2 \cdot 10^2$	0	$4,3 \cdot 10^2$	0	0	$1,1 \cdot 10^4$

Vysvětlivky: MO-mikroorganismy, N-nepočítatelné

Chladicí zařízení č. 4

Před sanitací

Z dotazníkového šetření vyplynulo, že naposledy byla sanitace provedena tři dny před odběrem vzorku. Mikrobiologickou analýzou byla zjištěna kontaminace v nejvyšším podílu skupinou mezofilních MO ($3 \cdot 10^3$ KTJ/10 cm²), dále kvasinkami a plísněmi ($5,2 \cdot 10^2$ KTJ/10 cm²) a koliformními MO ($2,2 \cdot 10^2$ KTJ/10 cm²). Uživatelé uvedli, že CHZ slouží ke krátkodobému uchovávání potravin, které byly již otevřené a v původním obalu. Tento fakt mohl způsobit křížovou kontaminaci.

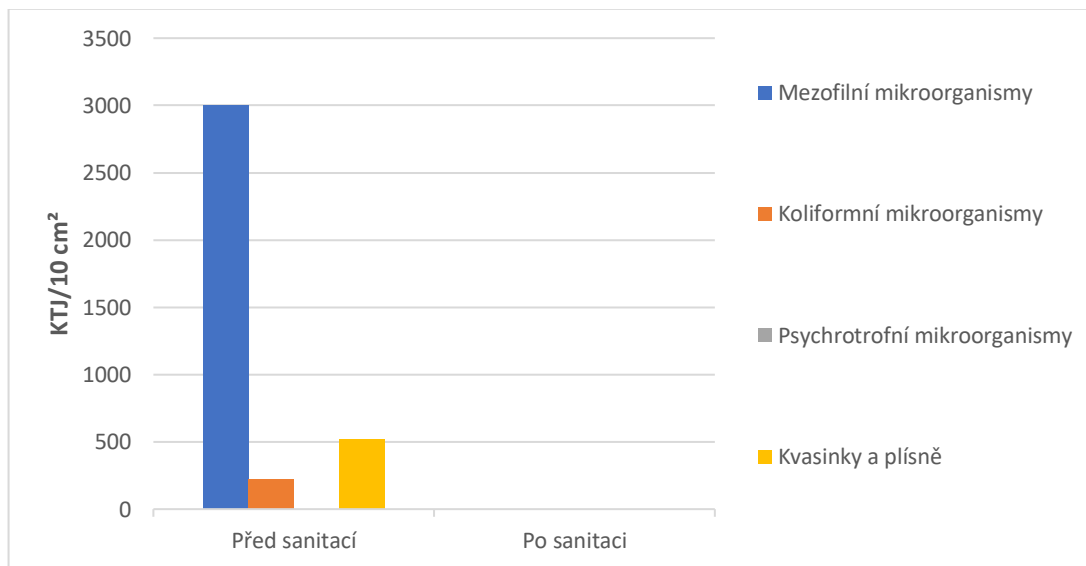
Křížovou kontaminaci lze definovat jako přenos bakterií z místa jejich přirozeného výskytu (maso, vejce, zelenina) na nekontaminované povrchy. Mikroorganismy mohou být přeneseny při křížové kontaminaci přímo, nebo nepřímo. Přímý přenos např. šťáva ze syrového masa odkapává na povrchy v CHZ nebo kořenová zelenina není v nákupní tašce řádně zabalena a hlína ze zeleniny kontaminuje povrchy. Nepřímý přenos např. kontaminovanými rukama (**Dostálová a Kadlec, 2014**).

Po sanitaci

Sanitace proběhla v den odběru vzorku pomocí opakovaně používané čisticí utěrky a teplé vody s kvasným lihovým octem v poměru tří dílů vody a jednoho dílu octa. Osoba zodpovědná za hygienu CHZ č. 4 uvedla, že roztok působil po dobu 5 minut a následně se povrchy otřely do sucha.

Některé studie poukázaly na to, že ocet je jeden z nejbezpečnějších a nejúčinnějších přírodních sanitačních prostředků. Na rozdíl od mnoha komerčních sanitačních prostředků je netoxický a ekologicky nezávadný, tudíž je bezpečný pro čištění povrchů v potravinářství. Svoji kyselostí likviduje většinu MO (**Daňková a kol., 2009**). Ocet však není stanoven jako dezinfekční prostředek, nemá tedy stanovené dávkování ani dobu působení, proto by bylo vhodnější pro důkladnou dezinfekci použít schválené čisticí prostředky. Mikrobiologická analýza CHZ č. 4 nevykazovala přítomnost žádného z vyšetřovaných MO (**Graf 4**), poukázala tak na dostatečnou účinnost používaného sanitačního postupu, a to i přes skutečnost, že byla čisticí utěrka používána opakovaně. Lze usuzovat, že správná koncentrace sanitačního prostředku a použití dostatečné teploty roztoku zabránilo případné křížové kontaminaci.

Graf 4 Zhodnocení účinnosti sanitace chladicího zařízení č. 4



Chladicí zařízení č. 5

Před sanitací

Poslední provedená sanitace tohoto CHZ proběhla pět dní před odběrem vzorku. Uživatelé CHZ č. 4 chladničku užívali ke krátkodobé úchově rozmrazeného masa, které bylo uloženo v uzavíratelných nádobách nebo v nádobách krytých fólií.

Mikrobiologickou analýzou byla zjištěna přítomnost mezofilních MO ($2,9 \cdot 10^2$ KTJ/10 cm^2). Kontaminaci pravděpodobně způsobilo nedostatečné těsnění fólie na nádobách s uskladněnými potravinami, která mohla vést ke křížové kontaminaci (odkapávání šťávy z masa).

Po sanitaci

Z dotazníku, jenž byl pověřeným osobám předkládán vyplynulo, že u CHZ č. 5 byla k sanitaci použita zcela nová čistící utěrka a roztok vody s octem v poměru dvou dílů vody a jednoho dílu octa. U všech z posuzovaných skupin MO byly zjištěny nulové hodnoty (**Graf 5**).

Graf 5 Zhodnocení účinnosti sanitace chladicího zařízení č. 5



Chladicí zařízení č. 6

Před sanitací

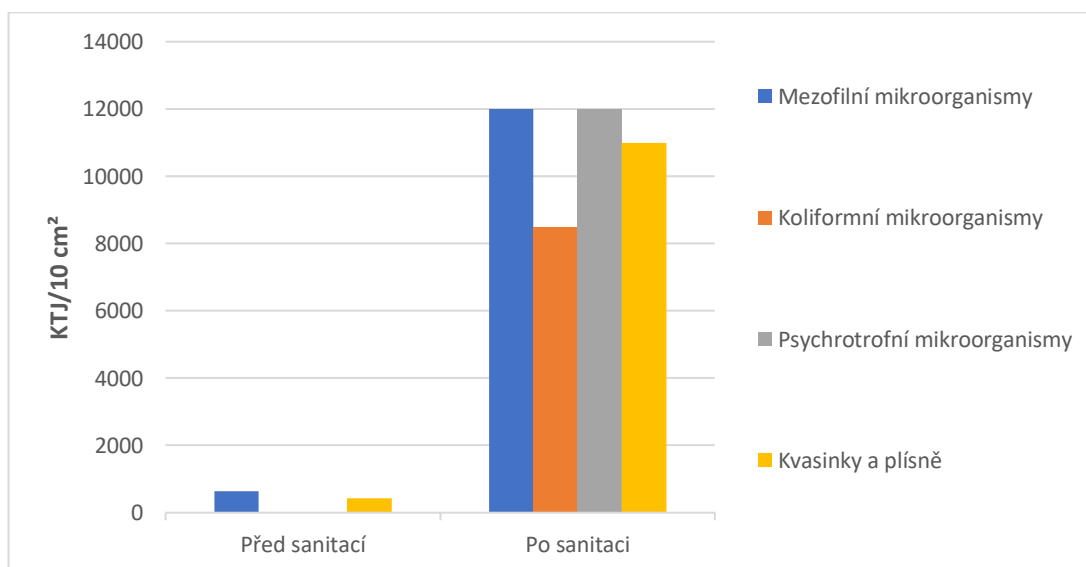
Chladicí zařízení č. 6 bylo užíváno k uskladnění připravených potravin (krájená zelenina, houby, strouhaný sýr, tekutá těsta), jenž byly následně použity k přípravě pokrmů, tudíž se CHZ často otevíralo a teplota uvnitř kolísala. Uskladněné potraviny sice byly v ochranných obalech, ale ty nebyly vždy řádně uzavřeny. Jelikož se zaměstnanci při provozu často dotýkali povrchů CHZ, docházelo k nepřímé křížové kontaminaci. Z mikrobiologické analýzy byla zjištěna přítomnost mezofilních MO ($6,3 \cdot 10^2$ KTJ/10 cm^2) společně s kvasinkami a plísněmi ($4,3 \cdot 10^2$ KTJ/10 cm^2).

Po sanitaci

Pověřená osoba provedla sanitaci používanou houbičkou na nádobí a velmi slabým roztokem vody a octa v poměru deseti dílů vody na jeden díl octa. Chladicí zařízení č. 6 po sanitaci bylo vyhodnoceno jako nejvíce kontaminované všemi skupinami MO ze všech vyšetřovaných CHZ. Zjištěné hodnoty mezofilních a psychrotrofních MO byly dokonce vyhodnoceny jako nepočitatelné. K psychrotrofním MO se řadí především rody *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Aeromonas*, *Vibrio*, *Serratia*, *Bacillus* a mnohé další s proteolytickými a lipolytickými vlastnostmi. Celkový počet psychrotrofních mikroorganismů poskytuje základní informace o stupni mikrobiální kontaminaci prostředí provozoven (**Cappucino a Sherman, 2007**). Koliformní MO byly stanoveny na nejvyšší hodnoty ze všech vyšetřovaných vzorků ($8,5 \cdot 10^3$ KTJ/10 cm²). Koliformní MO mají v potravinářské mikrobiologii význam jako indikátorové mikroorganismy. Jedná se o indikátory správně provedené sanitace technologických zařízení (**Burdychová a Sádková, 2007**). Rovněž byla v CHZ č. 6 zjištěna kontaminace kvasinkami a plísněmi ($1,1 \cdot 10^4$ KTJ/10 cm²).

Výsledky mikrobiologické analýzy CHZ č. 6 poukazují na naprostou neúčinnost zvoleného sanitačního postupu (**Graf 6**). Lze předpokládat, že jedním z hlavních problémů byla nesprávně zvolená (příliš slabá) koncentrace sanitačního roztoku a dále opakované a dlouhodobé používání jedné čisticí houbičky.

Graf 6 Zhodnocení účinnosti sanitace chladicího zařízení č. 6



5. ZÁVĚR

V této bakalářské práci byla posuzována mikrobiální kontaminace vybraných chladicích zařízení v domácnostech a v gastronomických provozovnách a byla hodnocena účinnost prováděné sanitace těchto zařízení.

Šetřením na místě a mikrobiologickou analýzou vzorků bylo zjištěno, že:

- chladicí zařízení běžných uživatelů před sanitací vyhovovala hygienickému limitu (tj. 10^2 KTJ/10 cm²) – počty mezofilních mikroorganismů dosahovaly maximálně $8 \cdot 10^1$ KTJ/10 cm². Po sanitaci neodpovídal limitu jeden vzorek, který dosahoval hodnoty mezofilních mikroorganismů $1,3 \cdot 10^2$ KTJ/10 cm²
- chladicí zařízení z gastronomických provozoven před sanitací neodpovídala hygienickému limitu – v některých případech byly počty mezofilních MO dokonce vysoko nad povolený limit. Po sanitaci neodpovídal limitu jeden vzorek, jehož hodnoty byly označeny za nepočitatelné
- opakované používání sanitačních pomůcek, jako jsou čisticí utěrky nebo houbičky, zvyšuje pravděpodobnost mikrobiální kontaminace povrchů chladicích zařízení
- účinnost provedení sanitace byla výrazně ovlivňována těmito faktory: výběrem sanitačního prostředku, koncentrací a teplotou používaného roztoku a délkou jeho působení na povrchy zařízení
- nevhodné rozmístění potravin v chladicím zařízení a uchovávání potravin bez ochranných obalů, opakované vstupy do chladicího zařízení a častá manipulace s potravinami jsou další významné faktory zvyšující riziko kontaminace povrchů.

Dodržování hygienických postupů a používání vhodných čisticích a dezinfekčních prostředků je u chladicích zařízení velmi důležité především z hlediska zachování zdravotní nezávadnosti uskladněných potravin, neboť některé z možných kontaminujících mikroorganismů mohou představovat riziko alimentárních onemocnění.

8. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- Ambrožová, H., Majerková M.: Enterohemoragické kmeny *Escherichia coli* – nebezpečné novější patogeny. *Časopis lékařů českých*, 2012, 151 (11): 514-518.
- Ambrožová, H.: Akutní infekce trávicího traktu. *Interní medicína pro praxi*, 2011, 13 (7): 288-291.
- Argudín, M. Á., Mendoza M. C., Rodicio M. R.: Food poisoning and *Staphylococcus aureus* enterotoxins. *Toxins*, 2010, 2 (7): 1751-1773.
- Augusta, P., Vávra, T.: *Vynálezy na všední den*. Praha: Albatros, 1988. 110 s. ISBN 13-785-88.
- Ballou, E. R. a Johnston S. A.: The cause and effect of *Cryptococcus* interactions with the host. *Current Opinion in Microbiology*. 2017, 40, 88-94.
- Baudišová, D.: Mikrobiologický rozbor podle novely vyhlášky o pitné vodě *Výzkumný ústav vodohospodářský T.G.Masaryka*. Praha, 2017, s. 20-23.
- Beaufort, A.: The determination of ready-to-eat foods into *Listeria monocytogenes* growth and no growth categories by challenge tests. *Food Control*, 2011, 22 (9): 1498-1502.
- Bergamino, G.: *Encyklopedie věda a technika*. Praha: Sun, 2019. 192 s. ISBN 978-80-7567-284-1.
- Blažková, M. a kol.: *Listeria monocytogenes* – nebezpečný patogen a jeho detekce v potravinách. *Chem. Listy*. 2005, 99 (4): 467-473.
- Branšovská, E. a kol.: Neobvyklá perinatální infekce – kampylobakterová enteritida. *Pediatric pro praxi*. 2016, 17(4): 256–258.
- Brychta, J. a kol. Mikrobiální kontaminace JUT a pohyb bakterií ve výrobním prostředí. *Veterinářství*. 2014, 14 (64): 875-883.
- Brychta, J. a kol.: Frekvence výskytu *Listeria monocytogenes* v potravinách. *Hygiena potravin. Veterinářství*. 2014, 6 (61): 458-461.
- Brychta, J.: *Výskyt Listeria monocytogenes v potravinách a riziko onemocnění pro člověka*. 1. vyd. Praha: Potravinářská komora České republiky, Česká technologická platforma pro potraviny, 2018. 79 s. ISBN 978-80-88019-31-2.
- Burdychová, R., Sládková, R.: Mikrobiologická analýza potravin. 1. vyd., Mendelova zemědělská a lesnická univerzita: Brno, 2007, s. 127. ISBN 978-80-7375-116-6.
- Bursová, Š.: Desinfekční prostředky a jejich účinek na mikroorganismy v potravinách, časopis Maso, 2015 (1): 43-46.
- Cappucino, J., Sherman, N.: *Microbiology* 8. vyd., New York, Stane University, 2007, 544 s. ISBN 0-321-48820-2.
- Daňková, L., Kulich J., Toušková B.: *Škola pro život II: jak na ekologickou / environmentální výchovu po zavedení Rámcových vzdělávacích programů*. Praha: Sdružení středisek ekologické výchovy Pavučina, 2009. ISBN 978-80-903345-9-5.
- De Luca a kol.: *Listeria* Infection in Pregnancy: A Review of Literature. *The Open Infectious Diseases Journal*, 2015, 9, 20-25.

- DeLeo, F.R., Diep B.A., Otto M.: Host defense and pathogenesis in *Staphylococcus aureus* infections. *Infect. Dis. Clin. North Am.* 2009, 23(1):17-34.
- Deming J. W.: Psychrophiles and polar regions. *Current Opinion in Microbiology* 2002, 5 (3): 301–309.
- Demnerová, K. Mikrobiologická bezpečnost potravin: Současné strategie pro efektivní kontrolu. *Chem. Listy.* 2012, 106, 920-925.
- Dostálová, J., Kadlec P.: *Potravinářské zbožíznalství - technologie potravin.* Ostrava: Key Publishing, 2014. ISBN 978-80-7418-208-2.
- Doyle, M. P., Beuchat L. R., Montville T. J.: *Food microbiology: fundamentals and frontiers.* ASM Press - Washington DC., 872 s., 2001. ISBN 1-55581-208-2.
- Duboc De Almeida, G. M., Figueiredo C. S., Melhem M. a kol.: *Rhodotorula spp. isolated from blood cultures: clinical and microbiological aspects.* *Medical Mycology.* 2008, 46(6), 547-556.
- EFSA: The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2016. *EFSA Journal*, 2017; 15 (12): 5077.
- EFSA: The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2016. *EFSA* 2017, 15 (12): 13-227.
- Ferens W., Hovde C.: *Escherichia coli* O157:H7: animal reservoir and sources of human infection. *Foodborne Pathog Diseases* 2011 8 (4): 465–487.
- Fisher, E. L., Otto M., Cheung G. Y. C.: Basis of Virulence in Enterotoxin - Mediated Staphylococcal Food Poisoning. *Front. Microbiol.* 2018; 9: 436
- Foltýnová, S.: Listeriόza. *Pediatric pro praxi.* 2014, 2 (15), 74-75.
- Forés, R., a kol.: *Rhodotorula* species fungaemia causes low mortality in haematopoietic stem-cell transplantation. A case report and review. *Mycoses.* 2012, 55(3): 158-162.
- Frasao, B. a kol.: Molecular Detection, Typing, and Quantification of *Campylobacter* spp. in Foods of Animal Origin. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2017, 16 (4): 721-734.
- Fukátko, T.: *Teplota a chlazení v elektronice II.* vyd. Praha: BEN - technická literatura, 2006. ISBN 8073001993.
- Gerald, M. S., James R. Gorny, Ahmed E. Yousef *Microbiology of fresh fruits and vegetables.* New York: PRC Press, 2019, 648 s. ISBN 9780367392215.
- Göpfertová, D.: *Mikrobiologie, imunologie, epidemiologie, hygiena: pro střední a vyšší odborné zdravotnické školy* 3. vyd. Praha: Triton, 2002, 148 s. ISBN 80-7254-223-0.
- Görner, F., Valík, L.: *Aplikovaná mikrobiologie požívatin.* 1. vydání. Bratislava: Malé centrum, 2004, 528 s. ISBN 8096706497.
- Goulet, V. a kol.: “What is the incubation period for listeriosis?” *BMC Infectious Diseases*, 2013, 13 (11).
- Gram, L., Ravn, M., Rasch, J. B., Bruhn A .B., Ch. and M. Givskov. *Int. J. Food Microbiol.* 2002, 78: 79–97..

Greenwood, D., Richard C. B. Slack, Peutherer J. F. a kol.: *Lékařská mikrobiologie: přehled infekčních onemocnění: patogeneze, imunita, laboratorní diagnostika a epidemiologie*. 1. vyd. Praha: Grada, 1999. 686 s. ISBN 80-7169-365-0.

Hajime T., Masahi U., Hirokazu O.: Evaluation of a novel dry sheet culture method (Sanita-kunR) for rapid enumeration of yeasts and molds in foods, *Journal of Microbiological Methods*, 2015, 19 (4): 16-19.

Hamplová, L.: *Mikrobiologie, imunologie, epidemiologie, hygiena pro bakalářské studium a všechny typy zdravotnických škol*. Praha: Stanislav Juhaňák - Triton, 2015. 263 s. ISBN 978-80-7387-934-1.

Hansson, I. a kol.: Knowledge gaps in control of *Campylobacter* for prevention of campylobacteriosis. *Transbound Emerg Dis*, 2018, 65 (1): 30–48.

Hennekinne, J. A., Ostyn A., Guillier F., a kol. How Should Staphylococcal Food Poisoning Outbreaks Be Characterized? *Toxins*. 2010; 2 (8): 2106–2116.

Hof, H., History and epidemiology of listeriosis, *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 2003, 35: 199-202, Online ISSN 1574-695X.

Hoch, V.: *Chladicí technika*. 1. vyd. Brno: VUT, 1992. 183 s. ISBN 80-214-0412-4.

Hochel, I.: Metody detekce a charakterizace *Campylobacter* sp. *Chem. Listy*. 2009, 10 (103): 814-822.

Hoyoux A., Blaire V., Collins T., D'amico S., Gratis E., Houston A. L., Marx J. C., Sonan G., Zeng Y., Feller G., Gerday Ch.: Extreme catalysts from low temperature environments. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2004, 98 (5): 317–330.

Chaibenjawong P, Foster S.J.: Desiccation tolerance in *Staphylococcus aureus*. *Archives of Microbiology*. 2011, 193 (2):125–135.

Chaturongakul, S. a kol.: Modulation of stress and virulence in *Listeria monocytogenes*. *Trends in Microbiology*, 2008 16 (8): 388-396.

chemická, 2014. 126 s., ISBN 80-214-2680-2.

Jackson, C. R., Davis J.A., Barrett J. B.: Prevalence and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from retail meat and humans in Georgia. *Journal of Clinical Microbiology*. 2013, 51:1199–1207.

Jay J. M. a kol.: *Modern food microbiology*. New York: Springer USA, 2005, 790 s. ISBN 0-387-23180-3.

Jičínská, E., Havlová J.: *Metody detekce patogenních mikroorganismů v potravinách*. 1. vyd. Praha: Ústav zemědělských a potravinářských informací, 1996, 115 s. ISBN 80-85120-49-6.

Julák, J.: *Klinicky významné bakterie*. 1. vyd. Praha: Triton, 2012. 123 s. ISBN 978-80-7387-588-6.

Kadlec, P., Melzoch K., Voldřich M. *Procesy a zařízení v potravinářství a biotechnologiích*. 1. vyd. Ostrava: Key Publishing, 2013, 497 s. ISBN 978-80-7418-163-4.

Karamonová, L., Holubová B., Jelínková A., Novotný J., Svobodová B.: Stafylokokové enterotoxiny – superantigeny schopné ošálit imunitní systém. *Chem. Listy*. 2019, 19 (113): 668–674.

- Karch, H., a kol.: New aspects in the pathogenesis of enteropathic uremic syndrome. *Semin. Thromb Hemost*, 2006, 32, 105-112.
- Kašlíková, K. a kol.: Exotické salmonely diagnostikované u chladnokrevných živočichů v Slovenskej republike v rokoch 2013–2017. *Zdravotnícke listy*. 2019, 7(4), 50-59.
- Kawano, K. a kol.: Stx genotype and molecular epidemiological analyses of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7/H- in human and cattle isolates. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2012, 31: 119–27.
- Kirk M. D. a kol.: World Health Organization estimates of the global and regional disease burden of 22 foodborne bacterial, protozoal, and viral diseases, 2010: a data synthesis. *PLoS medicine* 2015, 12(12): e1001921.
- Klaban, V.: *Obecná a environmentální mikrobiologie: fascinující, neuvěřitelný a tajemný svět mikrobů v přírodním prostředí*. 1. vyd., Hradec Králové: Gaudeamus, 2018. 488 s. ISBN 978-80-7435-673-5.
- Kolektiv autorů: *Nové předpisy pro hygienu veřejného stravování*. 3. vyd. Beroun: Newsletter, 2006. ISBN 80-7350-050-7.
- Komprda, T.: *Obecná hygiena potravin*. 1. vyd., Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2004, 148 s. ISBN 978-80-7157-757-7.
- Lamont, R. F., Sobel J. a kol.: “Listeriosis in human pregnancy: a systematic review,” *Journal of Perinatal Medicine*, 2011, 39 (3): 227–236.
- Lehari, G.: *Jak uchovávat potraviny: zavařujeme, zmrazujeme, sušíme, nakládáme*. Brno: Computer Press, 2011. 127 s. ISBN 978-80-251-3262-3.
- Li, S. S. a C. H. Mody: *Cryptococcus*. Proceedings of the American Thoracic Society. 2010, 7(3): 186-196.
- Lukáš, K. a Hoch J.: *Nemoci střev*. Praha: Grada Publishing, 2018. 736 s. ISBN 978-80-271-0353-9.
- Madigan, T. M., a kol.: *Biology of Microorganisms*. San Francisco: Pearson, 2017. 1105 s. ISBN-9781292235196.
- Marádová, E.: *Výživa a hygiena ve stravovacích službách*. Vyd. 2. Praha: Vysoká škola hotelová v Praze 8, 2007. 196 s. ISBN 80-86578-69-9.
- McCrickard, L.S., Crim, S.M., Kim, S. a kol.: Disparities in severe shigellosis among adults — Foodborne diseases active surveillance network 2002–2014. *BMC Public Health* 2018 18, 221.
- Melicherčíková, V.: *Sterilizace a dezinfekce v prevenci nozokomiálních nákaz*. Praha: Galén, 2007, 57 s. ISBN 978-80-7262-468-3.
- Melicherčíková, V.: *Sterilizace a dezinfekce v prevenci nozokomiálních nákaz*. Praha: Galén, 2007, 57 s. ISBN 978-80-7262-468-3.
- Meloni, D.: Presence of *Listeria monocytogenes* in Mediterranean-Style Dry Fermented Sausages – review. *Foods* 2015, 4 (1): 34-50.
- Melter, O., Castelhana R.: *The MicroBook: clinical microbiology for medical students*. Prague: Univerzita Karlova, Karolinum, 2019. 326 s. ISBN 978-80-246-3871-3.

- Nachamkin, I. a kol.: *Campylobacter* 3. vyd. Washington, DC: ASM Press, 2008, 695 s. ISBN 978-1-55581-437-3.
- Němec, M., Matoulková D.: *Základy obecné mikrobiologie*. Brno: Masarykova univerzita, 2015. ISBN 978-80-210-7923-6.
- Nguyen, A. T., Tallent S. M.: Screening food for *Bacillus cereus* toxins using whole genome sequencing. *Food Microbiology*. 2019, 78: 164-170
- Osimani, A., Clementi, F.: The catering industry as a source of campylobacteriosis in Europe – a review. *International Journal of Hospitality Management*, 2016, 54 (72): 68-74.
- Paster, T.: *The HACCP food safety employee manual*. Canada: John Wiley, 2007. 68 s. ISBN 978-047-0073-476.
- Pennington, H.: *Escherichia coli* O157. *Lancet*. 2010, 376 (23): 1428–1435.
- Pexara, A.: *Bacillus cereus*: an important foodborne pathogen. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*. 2018, 2 (61): 127.
- Podstatová, H. *Základy epidemiologie a hygieny*. Praha: Galén, 2009. 158 s. ISBN 978-80-7262-597-0.
- Rawat, S.: Food Spoilage: Microorganisms and their prevention. *Pelagia Research Library Asian Journal of Plant Science and Research*. 2015, 4 (5), 47-56.
- Scallan, E., Hoekstra R. M., Angulo F. J. a kol.: Foodborne illness acquired in the United States - major pathogens. *Emerging Infectious Diseases*. 2011, 17 (1):7–15.
- Schaechter, M. a kol.: *Microbe*. Washington, D.C.: ASM PRESS, 2005. 534 s. ISBN 1-55581-320-8.
- Schindler, J.: *Mikrobiologie: pro studenty zdravotnických oborů*. 2., doplněné a přepracované vyd. Praha: Grada, 2014. 209 s. ISBN 978-80-247-4771-2.
- Schreck S.: *Yeasts in food and beverages*. Berlín: Springer-Verlag 2006. 453 s. ISBN 987-3540-28388-1
- Škopek, B., Voldřich M.: *Výroba potravin a jejich uvádění do oběhu*. Praha: Dashöfer, 2004. ISBN 80-86229-85-8.
- Šlapal, P.: *Zásady hygieny a sanitace jako základ správné hygienické praxe*. Sborník přednášek – Kroměřížské mlékařské dny, 2004.
- Špačková, M. a kol.: Analýza výskytu nejběžnějších alimentárních onemocnění v České republice v letech 2007–2017. *Praktický lékař*. 2018, 98 (6): 260–265.
- Špačková, M. a kol.: Výskyt a analýza případů onemocnění kampylobakteriózou v České republice v letech 1997–2017. *Epidemiologie, mikrobiologie, imunologie*. 2019, 3: 122-130.
- Tewari, A., Abdullah S.: *Bacillus cereus* food poisoning: international and Indian perspective. *Journal of Food Science and Technology*. 2015, 52 (5): 2500–2511.
- Tracey A. T.: *Staphylococcus Aureus*. Oakland University, The University of the West Indies 2019.
- Tůma, I. *Mikrobiologie (pro zahradnické obory)*. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 2015. 168 s. ISBN 978-80-7509-228-1.

Ulrich, S., Gottschalk CH., Dietrich R., Märtlbauer E., Gareis M.: Identification of cereulide producing *Bacillus cereus* by MALDI-TOF MS. *Food Microbiology*. 2019, 82: 75-81.

Vacek, V.: *Alimentární infekce*. 1.vyd. Praha: Galén, 2002. 163 s. ISBN: 978-80-7262-166-1

Vítová E.: *Hygiena potravin*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta

Voldřich, M. a kol.: *Zásady správné výrobní a hygienické praxe ve stravovacích službách*, 1. vyd. Praha: Národní informační středisko pro podporu jakosti, 2006. ISBN 80-02-01822-2

Votava, M.: *Lékařská mikrobiologie speciální*. Brno: Neptun, 2003. 495 s. ISBN 8090289665.

Warriner, K., Namvar, A.: What is the hysteria with Listeria? *Trends in Food Science & Technology*, 2009, 20 (6): 245–254.

Seznam legislativních předpisů

ČSN EN ISO 4833 - 1, 2 (560083), Mikrobiologie. Všeobecné pokyny pro stanovení celkového počtu mikroorganismů. Technika počítání kolonií vykultivovaných při 30 °C.

Nařízení vlády č. 179/2001 Sb., kterým se stanoví technické požadavky na chladicí zařízení.

Nařízení vlády č. 179/2001 Sb., kterým se stanoví technické požadavky na chladicí zařízení.

Vyhláška č. 289/2007 Sb., Vyhláška o veterinárních a hygienických požadavcích na živočišné produkty, které nejsou upraveny přímo použitelnými předpisy Evropských společenství.

Seznam internetových zdrojů

Anonym 1: Kazící mikroflóra. *Potravinářská biochemie* [online]. 2018 [cit. 2020-02-24]. Dostupné z: http://old-biomikro.vscht.cz/vyuka/mzp/2018-03-02_KAZICI_MIKROFLORA+BIOGENNI_AMINY.pdf

Podušel, P.: Bezpečnost potravin, nejen v restauraci. *Potravinář X* [online]. 2016 [cit. 2020-03-09]. Dostupné z: <http://potravinyx.cz/index.php/2016/04/11/bezpecnost-potravin-nejen-v-restauraci/>

Špačková, M.: Stručný komentář k výskytu onemocnění salmonelami a kampylobaktery v ČR. *Státní zdravotní ústav* [online]. 2018 [cit. 2020-02-12]. Dostupné z: <http://www.szu.cz/tema/prevence/strucny-komentar-k-vyskytu-onemocneni-salmonelami-a>

Epralima: Microorganism and food [online] 2019 [cit. 2020-01-17]. Dostupné z: http://www.epralima.com/infoodquality/English_materials/Manuais/3.Microorganism.pdf

SZÚ: Infekce vyvolané *Bacillus cereus*: Oddělení epidemiologie infekčních nemocí *Státní zdravotní ústav* [online] 2019 [cit. 2019-11-12]. Dostupné z: <http://www.szu.cz/tema/prevence/intoxikace-vyvolane-bacillus-cereus-zakladni-informace>

Ostrý, V.: Správné uchovávání potravin a pokrmů v chladničce -prevence vzniku onemocnění z potravin *Státní zdravotní ústav*. [online] 2004 [cit. 2020-01-20]., Dostupné z: http://www.szu.cz/uploads/documents/czsp/edice/plne_znani/plakaty/lednicka3.pdf

Petružálková, E.: *Prostředky na mytí nádobí – složení a toxicita* [online]. 2018 [cit. 2020-04-07]. Dostupné z: <http://www.evapetruzalkova.cz/2018/04/15/prostredky-myti-nadobi-slozeni-toxicita/>

Svrčinová, P.: Správná praxe ve stravovacích službách: Bezpečné zacházení s potravinami. *Potravinový info* [online]. 2017 [cit. 2020-03-09]. Dostupné z: <https://www.potravinovyinfo.cz/33/spravna-praxe-ve-stravovacich-sluzbach-bezpecne-zachazeni-s-potravinami-uniqueidmRRWSbk196FNf8-jVUh4EtI668NLI3LvX4v3NI7rPs9PpA5B5rrwHw/?query=lednice&serp=1>

Bellis, Mary. "Historie chladničky." ThoughtCo. [online]. 2017 [cit. 2019-11-09]. <https://www.thoughtco.com/history-of-refrigerator-and-freezers-4072564>

Carly Jacobson. Fridges from 1950's 1960's 1970's to now - a history of the fridge. [online]. 2013 Copyright © REA Group Ltd. [cit. 30.12.2019]. Dostupné z: <https://www.realestate.com.au/news/a-household-history-of-the-fridge-2/>

Kasík, P.: Zima na přání byla drahá - první lednička stála jako dvě auta *Technet.cz* [online]. 2007 [cit. 2019-11-03]. Dostupné z: http://technet.idnes.cz/zima-na-prani-byla-draha-prvni-lednicka-stala-jako-dveauta-p3i-tec-technika.aspx?c=A071130_164512_tec-technika_pka

Historical Facts. History of Refrigeration and Refrigerators - [online]. Copyright © 2019 [cit. 04.11.2019]. Dostupné z: <http://www.historyofrefrigeration.com/>

Sandvik Materials Technology. The history of the refrigerator. *Document Moved* [online]. Copyright © Sandvik AB [cit. 12.11.2019]. Dostupné z: <https://www.materials.sandvik.cz/campaigns/fridge-of-the-future/the-history-of-the-refrigerator/>

HACCP. Všeobecné požadavky na systém HACCP [online]. Copyright © 2009 Všechna práva vyhrazena. [cit. 29.01.2020]. Dostupné z: <https://haccp.webnode.cz/postup-zavadeni-haccp/>

Zdroje obrázků

Obr. 1 - „Monitor-Top“ [online]. Copyright © [cit. 12.11.2019]. Dostupné z: <https://www.realestate.com.au/blog/images/800x509-fit,progressive/2013/04/1927fridge1.jpg>

EpiDat: Státní zdravotní ústav [online]. 2018 [cit. 2020-02-12]. Dostupné z: <http://www.szu.cz/tema/prevence/strucny-komentar-k-vyskytu-onemocneni-salmonelami-a>

Příloha 1 Dotazník

Potřebné informace ohledně sanitace chladniček byly získány krátkým dotazníkovým šetřením v den, kdy se prováděly odběry vzorků. Tyto informace byly poskytnuty od jejich běžných uživatelů, nebo v případě gastronomických provozoven od osob, které jsou v podniku zodpovědné za jejich provoz. Dotazníkové šetření bylo složeno z následujících otázek:

1. Jakou sanitační pomůcku jste naposled použili k omývání prostoru chladničky?
2. Kdy jste naposledy prováděli sanitaci chladničky?
3. Jaký čistící prostředek jste použili k sanitaci chladničky a v jakém poměru?
4. Jak často provádíte sanitaci chladničky?
5. Skladujete v chladničce potraviny, které nejsou v ochranném obalu, popřípadě rozbalené?
6. Máte chladničku rozdělenou podle potravin (maso, vejce, zelenina)?