



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Aktivita	KA 2350/4-10up
Název inovace	KONTROLA HYGIENY VÝROBNÍHO PROCESU
Inovace předmětu	H1DKZ - Hygiena a technologie drůbeže, králíků a zvěřiny
Registrační číslo projektu	CZ.1.07/2.2.00/15.0063
Název projektu	Inovace výuky veterinárních studijních programů v oblasti bezpečnosti potravin
Název příjemce podpory	Veterinární a farmaceutická univerzita Brno
Termín realizace inovace	LS 2013

1. **Legislativní podklady pro kontrolu hygieny výrobního procesu**
2. **Metodika odběru vzorků z jatečně upravených těl (JUT)**
3. **Provedení laboratorního vyšetření vzorků**
4. **Vyhodnocení výsledků vyšetření**



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost

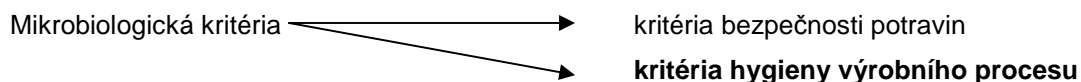


INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Aktivita	KA 2350/4-10up
Projekt	CZ.1.07/2.2.00/15.0063 Inovace výuky veterinárních studijních programů v oblasti bezpečnosti potravin
Výukový materiál	Legislativní podklady pro kontrolu hygieny výrobního procesu

Nařízení Komise (ES) č. 2073/2005, o mikrobiologických kritériích pro potraviny, ve znění Nařízení Komise (ES) č. 1441/2007 a ve znění Nařízení Komise (ES) č. 1086/2011

- o Provozovatelé potravinářských podniků musí zajistit, aby potraviny splňovaly příslušná mikrobiologická kritéria podle přílohy I. nařízení.



Kritérium bezpečnosti potravin = kritérium vymezující přijatelnost produktu nebo partie potravin, které se vztahuje na produkty uváděné na trh.

Kritérium hygieny výrobního procesu = kritérium udávající přijatelné fungování výrobního procesu. Stanoví orientační hodnotu kontaminace, při jejímž překročení jsou vyžadována nápravná opatření s cílem udržet hygienu procesu v souladu s potravinovým právem. **Toto kritérium se nevztahuje na produkty uváděné na trh.**

Příloha I.

Kapitola 1. Kritéria bezpečnosti potravin

Kapitola 2. Kritéria hygieny výrobního procesu

2.1. Maso a výrobky z něj

Kapitola 3. Pravidla pro odběr vzorků a přípravu zkušebních vzorků

Metodický návod SVS ČR č. 2 / 2006, stanovující postupy pro pravidelné kontroly všeobecné hygieny u jatečně upravených těl podle nařízení Komise (ES) č. 2073/2005, o mikrobiologických kritériích pro potraviny.

- o podrobně popisuje odběr vzorků a hodnocení výsledků stanovení



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Kapitola 2. Kritéria hygieny výrobního procesu

2.1. Maso a výrobky z něj

Kategorie potravin	Mikroorganismy	Plán odběru vzorků ⁽¹⁾		Limity ⁽²⁾		Analytická referenční metoda ⁽³⁾	Fáze, na niž se kritérium vztahuje	Opatření v případě nevyhovujících výsledků
		n	c	m	M			
2.1.1 Jatečně upravená těla skotu, ovci, koz a koňovitých ⁽⁴⁾	počet kolonií aerobních mikroorganismů			3,5 log KTJ/cm ² denní průměrná logaritmická hodnota	5,0 log KTJ/cm ² denní průměrná logaritmická hodnota	ISO 4833	jatečně upravená těla po úpravě, ale před chlazením	zlepšení hygieny a přezkoumání procesních kontrol
	Enterobacteriaceae			1,5 log KTJ/cm ² denní průměrná logaritmická hodnota	2,5 log KTJ/cm ² denní průměrná logaritmická hodnota	ISO 21528-2	jatečně upravená těla po úpravě, ale před chlazením	zlepšení hygieny a přezkoumání procesních kontrol
2.1.2 Jatečně upravená těla prasat ⁽⁴⁾	počet kolonií aerobních mikroorganismů			4,0 log KTJ/cm ² denní průměrná logaritmická hodnota	5,0 log KTJ/cm ² denní průměrná logaritmická hodnota	ISO 4833	jatečně upravená těla po úpravě, ale před chlazením	zlepšení hygieny a přezkoumání procesních kontrol
	Enterobacteriaceae			2,0 log KTJ/cm ² denní průměrná logaritmická hodnota	3,0 log KTJ/cm ² denní průměrná logaritmická hodnota	ISO 21528-2	jatečně upravená těla po úpravě, ale před chlazením	zlepšení hygieny a přezkoumání procesních kontrol

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Kategorie potravin	Mikroorganismy	Plán odběru vzorků ⁽¹⁾		Limity ⁽²⁾		Analytická referenční metoda ⁽³⁾	Fáze, na niž se kritérium vztahuje	Opatření v případě nevyhovujících výsledků
		n	c	m	M			
2.1.3 Jatečně upravená těla skotu, ovcí, koz a koňovitých	<i>Salmonella</i>	50 ⁽⁵⁾	2 ⁽⁶⁾	nepřítomnost na vyšetřovaném místě jatečně upraveného těla		EN/ISO 6579	jatečně upravená těla po úpravě, ale před chlazením	zlepšení hygieny porážky, přezkoumání procesních kontrol a původu zvířat
2.1.4 Jatečně upravená těla prasat	<i>Salmonella</i>	50 ⁽⁵⁾	5 ⁽⁶⁾	nepřítomnost na vyšetřovaném místě jatečně upraveného těla		EN/ISO 6579	jatečně upravená těla po úpravě, ale před chlazením	zlepšení hygieny porážky a přezkoumání procesních kontrol, původu zvířat a opatření biologické bezpečnosti v hospodářstvích původu
2.1.5 Jatečně upravená těla drůbeže: brojleři a krůty	<i>Salmonella</i> spp. ⁽¹⁰⁾	50 ⁽⁵⁾	7 ⁽⁶⁾ Od 1.1. 2012 c = 5 pro brojleři Od 1.1. 2013 c = 5 pro krůty	nepřítomnost ve 25 g směsného vzorku kůže z krku		EN/ISO 6579 (pro zjišťování)	jatečně upravená těla po chlazení	zlepšení hygieny porážky a přezkoumání procesních kontrol, původu zvířat a opatření biologické bezpečnosti v hospodářstvích původu

(1) n = počet jednotek tvořících vzorek; c = počet jednotek vzorku, jejichž hodnoty leží mezi m a M.

(2) U bodů 2.1.3–2.1.5 se m rovná M.

(3) Použije se nejnovější vydání příslušné normy.

(4) Limity (m a M) se vztahují pouze na vzorky odebrané destruktivní metodou. Denní průměrná logaritmická hodnota se vypočítá tak, že se nejprve zjistí logaritmická hodnota každého jednotlivého výsledku vyšetření, a poté se vypočítá průměr těchto těchto logaritmických hodnot.

(5) Stanovených 50 vzorků se získá z 10 po sobě jdoucích vzorkování podle pravidel pro odběr vzorků a četnosti odběru vzorků, které jsou stanoveny v tomto nařízení.

(6) Počet vzorků, v nichž je určena přítomnost salmonely. Hodnota c může být přezkoumána za účelem zohlednění pokroku dosaženého při snižování rozšíření salmonel. I před tímto přezkoumáním mohou členské státy nebo regiony s nízkým rozšířením salmonel používat nižší hodnoty c.

(7) Toto kritérium se nevztahuje na mleté maso vyrobené na úrovni maloobchodu, pokud je udržováno v chladu po dobu 24 hodin.

(8) *E. coli* zde slouží jako indikátor fekální kontaminace.

(9) Tato kritéria se vztahují na strojně oddělené maso (SOM) vyrobené technikami podle přílohy III oddílu V kapitoly III bodu 3 nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004.

(10) Při zjištění přítomnosti *Salmonella* spp. se izoláty podrobí další sérotypizaci na *Salmonella typhimurium* a *Salmonella enteritidis* s cílem ověřit, že je splněno mikrobiologické kritérium stanovené v rádku 1.28 kapitoly 1.



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Aktivita	KA 2350/4-10up
Projekt	CZ.1.07/2.2.00/15.0063 Inovace výuky veterinárních studijních programů v oblasti bezpečnosti potravin
Výukový materiál	Metodika odběru vzorků z jatečně upravených těl (JUT)

Četnost odběru:

- provozovatelé jatek musí odebírat vzorky z JUT nejméně jednou týdně. Den odběru vzorků se každý týden mění, aby se zajistilo pokrytí každého dne v týdnu. Vzorky se doporučuje odebírat nejlépe v polovině porážecího dne.
- četnost odběru vzorků pro účely vyšetření na *Enterobacteriaceae* a na počet kolonií aerobních mikroorganismů lze snížit na jednou za 14 dní, pokud jsou po 6 po sobě jdoucích týdnů získávány vyhovující výsledky.
- četnost odběru vzorků pro účely vyšetření na salmonely lze snížit na jednou za 14 dní, pokud jsou po 30 po sobě jdoucích týdnů získávány vyhovující výsledky.
- četnost odběru vzorků u salmonel může být také snížena v určitých případech v rámci uplatňování programů na tlumení salmonel.
- malá jatka (podnik s malým objemem výroby) mohou být na základě analýzy rizik vyňata ze stanovených požadavků na četnost odběru vzorků, pokud to schválí příslušný orgán veterinární správy.

Jatečně upravená těla skotu, prasat, ovcí, koz a koňovitých (odběr po konečné úpravě před začátkem chlazení)

stanovované mikroorganismy: počet kolonií aerobních mikroorganismů, čeleď *Enterobacteriaceae*, *Salmonella* spp.

počet vzorků: během každého vzorkování namátkové vzorky z pěti JUT (5 JUT prasat, 5 JUT skotu (ovcí, koz, koňovitých))

odběrová místa: 4 místa na každém JUT

prasata: hřbet, lalok nebo spodní čelist, vnitřní strana kýty, břicho

skot: krk, hrud', slabiny, kýta

ovce, kozy: slabiny, boční a přední strana hrudníku

koně: slabiny, hrud', hřbet a kýta

Po konzultaci s úředním veterinárním lékařem mohou být pro odběr vzorků použita i jiná místa, pokud se prokáže, že u nich vzhledem k používané technologii porážky hrozí vyšší riziko kontaminace.



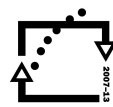
evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

1. Vzorky pro stanovení počtu aerobních mikroorganismů a *Enterobacteriaceae*

Destruktivní metoda odběru vzorků:

Z každého odběrového místa se odebere sterilním korkovrtem nebo se odřízne sterilním nástrojem kousek tkáně o velikosti cca 5 cm² a tloušťce max. 5 mm (tj. 5 cm² × 4 odběr. místa = celková plocha 20 cm²). Vzorky z jednoho JUT se vloží do sterilního ředicího sáčku nebo vzorkovnice a přepraví do laboratoře. Vzorky se uchovávají při teplotě 2 – 4°C.

Nedestruktivní metoda odběru vzorků (alternativa k destruktivní metodě):

Z každého odběrového místa se pomocí sterilní šablony a tamponu setře plocha o velikosti 100 cm² (u jatečně upravených těl drobných přežvýkavců se stírá plocha 50 cm²). K vlastnímu odběru se použije celkem 8 tampónů (4 navlhčené ředicím roztokem a 4 suché). Každé odběrové místo je nejdříve setřeno navlhčeným tampónem a poté suchým. Každé místo se stírá nejprve svisle, pak vodorovně a nakonec úhlopříčně, a to po dobu nejméně 20 sekund, po celém šablonou vymezeném povrchu masa, za použití co největšího tlaku. Na jeden jatečný kus lze použít jednu sterilní šablonu. Všechny popsané stěry z jednoho JUT (8 kusů) se vloží do jednoho sterilního obalu.

2. Vzorky pro stanovení salmonel

Odběr vzorků abrazivní houbičkou:

Z každého odběrového místa se s použitím sterilní šablony a rukavic setře navlhčenou abrazivní houbičkou plocha o velikosti 100 cm² (u jatečně upravených těl drobných přežvýkavců se stírá plocha 50 cm²). Stěr se provádí v blízkosti místa vzorkovaného nedestruktivní nebo destruktivní metodou. Stěr se provádí stejně jako u nedestruktivní metody třemi směry za použití co největší tlaku. Na jedno JUT se použije jedna abrazivní houbička, vždy jedna pomyslná půlka houbičky na jedno místo, využívají se obě strany houbičky (rub/líc). Po odběru se houbička vloží do sterilního sáčku a musí být uchovávána při teplotě 2 – 4 °C až do doby dalšího zpracování v laboratoři.

Jatečně upravená těla drůbeže: brojeři a krůty (odběr z JUT po chlazení)

stanovované mikroorganismy: *Salmonella* spp.

počet vzorků: během každého vzorkování namátkové vzorky z nejméně 15 jatečně upravených těl

charakteristika vzorku: kůže z krku o přibližné hmotnosti 10 g

příprava směsného vzorku: ze vzorků ze tří JUT původem z téhož hejna se pokaždé před vyšetřením vytvoří směsný vzorek tak, aby se získalo 5 × 25 g konečných vzorků. Vzorky se uchovávají při teplotě 2 – 4 °C.



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Aktivita	KA 2350/4-10up
Projekt	CZ.1.07/2.2.00/15.0063 Inovace výuky veterinárních studijních programů v oblasti bezpečnosti potravin
Výukový materiál	Provedení laboratorního vyšetření vzorků

- stanovení počtu kolonií aerobních mikroorganismů: ČSN ISO 4833
- *Enterobacteriaceae*: ČSN ISO 21528-2
- bakterie rodu *Salmonella*: ČSN EN ISO 6579

Stanovení počtu kolonií aerobních mikroorganismů (CPM)

- Do sáčku se vzorky tkáně přidáme asepticky pomocí odměrného válce 100 ml ředícího roztoku a směs homogenizujeme ve Stomacheru po dobu 1-2 minut (= ředění 10^0).
- Připravíme desetinásobná ředění 10^{-1} , 10^{-2} a 10^{-3} tak, že 1 ml z nižšího ředění přeneseme pipetou do zkumavky s 9 ml ředícího roztoku a směs řádně promícháme.
- Do dvou Petriho misek napipetujeme po 1 ml ředění 10^{-2} a do dalších dvou misek po 1 ml ředění 10^{-3} .
- Inokulum v miskách zalijeme cca 10-15 ml rozehřátého agarů vytemperovaného na cca 45 °C, opatrně promícháme a necháme ztuhnout (výška agarů v misce by měla být cca 5 mm).
- K zalití použijeme agar s glukózou, tryptonem a kvasničným extraktem (GTK, „Plate count agar“), případně masopeptonový agar (MPA).
- Po utužení agarů plotny inkubujeme dnem vzhůru v termostatu při 30 °C po dobu přibližně 72 hodin.

Stanovení počtu bakterií čeledi *Enterobacteriaceae*

- Do dvou Petriho misek napipetujeme po 1 ml ředění 10^0 (ze sáčku) a do dalších dvou misek po 1 ml ředění 10^{-1} .
- Inokulum v miskách zalijeme cca 10-15 ml rozehřátého agarů vytemperovaného na cca 45 °C, opatrně promícháme a necháme ztuhnout (výška agarů v misce by měla být cca 5 mm).
- K zalití použijeme agar s krystalovou violetí, neutrální červení, žlučovými solemi a glukózou (VČŽG agar, angl. zkratka VRBG agar).
- Po utužení agarů plotny inkubujeme dnem vzhůru v termostatu při 37 °C po dobu přibližně 24 hodin.



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Průkaz bakterií rodu *Salmonella* – abrazivní houbička

1. Předpomnožení

- Do sáčku s abrazivní houbičkou asepticky přidáme 10 ml pufrované peptonové vody (PPV) a houbičku v ní důkladně vymačkáme (lze použít i Stomacher).
- Pipetou přeneseme 1 ml tekutiny ze sáčku do zkumavky s 10 ml PPV a směs promícháme.
- Inkubace při 37 °C po dobu přibližně 18 hodin.

2. Selektivní pomnožení

- Po inkubaci pipetou přeneseme 1 ml tekutiny z předpomnožení do zkumavky s 10 ml půdy podle Mullera a Kauffmanna s tetrathionanem a novobiocinem (MKTTn).
- Půdu MKTTn inkubujeme při 37 °C přibližně 24 hodin.
- Zároveň přeneseme 0,1 ml tekutiny z předpomnožení do zkumavky s 10 ml půdy podle Rappaporta a Vassiliadise se sójou (RVS).
- Půdu RVS inkubujeme při 41,5 °C přibližně 24 hodin.

3. Vyočkování

- Po inkubaci provedeme z půdy MKTTn i z půdy RVS vyočkování tamponem nebo bakteriologickou kličkou na povrch dvou pevných selektivních půd:
 - agar s xylózou, lyzinem a deoxycholanem (XLD)
 - půda komplementární k XLD agaru – agar s brilantovou zelení (BZ agar), případně jiná půda (např. chromogenní)
- Inkubace při 37 °C přibližně 24 hodin.

Průkaz bakterií rodu *Salmonella* – kůže z krku

1. Předpomnožení

- Do sáčku s 25 gramy směšného vzorku asepticky přidáme 225 ml pufrované peptonové vody (PPV) a směs homogenizujeme po dobu 1-2 minut ve Stomacheru.
- Inkubace při 37 °C po dobu přibližně 18 hodin.

2. Selektivní pomnožení

- Viz odběr abrazivní houbičkou.

3. Vyočkování

- Viz odběr abrazivní houbičkou.



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Aktivita	KA 2350/4-10up
Projekt	CZ.1.07/2.2.00/15.0063 Inovace výuky veterinárních studijních programů v oblasti bezpečnosti potravin
Výukový materiál	Vyhodnocení výsledků vyšetření

Vyhodnocení počtu kolonií aerobních mikroorganismů

Po inkubaci spočítáme kolonie všech tvarů, barev a velikostí. K výpočtu použijeme misky, na kterých narostlo 15 - 300 kolonií. Množství kolonií na 1 cm² spočítáme podle vzorce:

$$N = \frac{\text{součet kolonií na všech miskách}}{V \times (n_1 + 0,1 \times n_2) \times d \times 0,2}$$

- V objem inokula na misce (1 ml)
 n₁ počet misek z nižšího ředění
 n₂ počet misek z vyššího ředění
 d faktor ředění (nižší použité ředění)

Výsledky zlogaritmujeme a z jejich aritmetického průměru spočítáme **denní průměr logaritmických hodnot**.

Vyhodnocení počtu bakterií čeledi *Enterobacteriaceae*

Po inkubaci spočítáme typické kolonie (růžové, růžovofialové až červené barvy). K výpočtu použijeme misky, na kterých narostlo 15 - 150 kolonií. Množství kolonií na 1 cm² spočítáme podle výše uvedeného vzorce.

Výsledky zlogaritmujeme a z jejich aritmetického průměru spočítáme **denní průměr logaritmických hodnot**.

Tabulka denních průměrných logaritmických hodnot:

Mikroorganismus	Kategorie	Vyhovující hodnoty	Přijatelné hodnoty	Nevyhovující hodnoty
Počet kolonií aerobních mikroorganismů	skot/ovce/kozy/koně	< 3,5 log KTJ/cm ²	3,5 log – 5,0 log	> 5,0 log KTJ/cm ²
	prasata	< 4,0 log KTJ/cm ²	4,0 log – 5,0 log	> 5,0 log KTJ/cm ²
<i>Enterobacteriaceae</i>	skot/ovce/kozy/koně	< 1,5 log KTJ/cm ²	1,5 log – 2,5 log	> 2,5 log KTJ/cm ²
	prasata	< 2,0 log KTJ/cm ²	2,0 log – 3,0 log	> 3,0 log KTJ/cm ²



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Vyhodnocení průkazu rodu *Salmonella*

Po inkubaci zjišťujeme přítomnost suspektních kolonií salmonel: typické kolonie vyrostlé na XLD agaru mají černý střed a jsou téměř průsvitné; zároveň dochází ke změně barvy média na sytě růžovou. Typické kolonie salmonel vyrostlé na BZ agaru jsou růžové a barva média v jejich okolí je změněná na sytě růžovou.

Suspektní kolonie se potvrzují pomocí biochemických testů a sérologicky. U kmenů salmonel izolovaných z JUT drůbeže se musí provést sérotypizace pro určení, zda se nejedná o u drůbeže sledované sérotypy Enteritidis nebo Typhimurium.

Tabulka hodnocení přítomnosti salmonel:

Kategorie	Vyhovující	Nevyhovující
skot/ovce/kozy/koně	pozitivní max. 2 vzorky z 50	více než 2 pozitivní vzorky z 50
prasata	pozitivních max. 5 vzorků z 50	více než 5 pozitivních vzorků z 50
drůbež (brojeři a krůty)	pozitivních max. 5 směsných vzorků z 50	více než 5 pozitivních směsných vzorků z 50

Pozn. Stanovených 50 vzorků se získá z 10 po sobě jdoucích vzorkování.

Zpětná vazba

Výsledky vyšetření slouží k udržení a zlepšení úrovně hygieny porážky. V případě nevyhovujících výsledků je třeba přijmout nápravná opatření, jako je zlepšení hygieny porážky a přezkoumání procesních kontrol. V případě nevyhovujících výsledků z hlediska přítomnosti salmonel sem navíc patří i přezkoumání původu zvířat a opatření biologické bezpečnosti v hospodářstvích původu.

Příčiny nevyhovujících výsledků by měly být řešeny s provozovatelem porážky, přičemž by měly být vzaty v úvahu následující faktory:

1. špatné pracovní postupy,
2. žádné nebo nedostatečné proškolení a/nebo pokyny,
3. používání nevhodných čisticích a/nebo dezinfekčních prostředků a pomůcek,
4. používání nedostatečně čištěných a dezinfikovaných nástrojů a pomůcek,
5. nedostatečná osobní hygiena pracovníků,
6. nedostatečný dozor.

Provozovatelé by si měli také vést analýzu trendů za delší časové období. Již vývoj směřující k nepříjemným výsledkům nebo k neuspokojivým hraničním výsledkům by měl vést k prověře ovládnutí výrobního procesu, případně ke zjištění příčiny a ke snaze o návrat do vyhovujícího stavu.