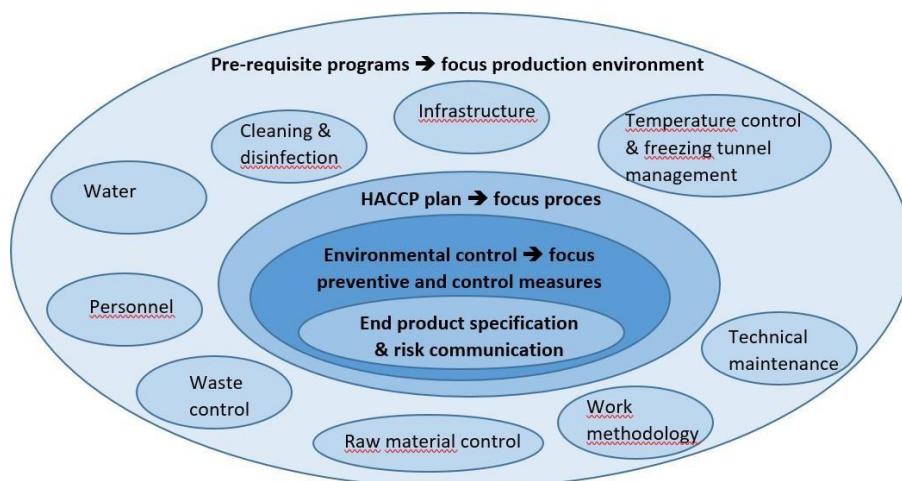


## Hygienické pokyny pro kontrolu *Listeria monocytogenes* při výrobě hluboce zmrazené zeleniny

### Shrnutí:

Při kontrole environmentálního patogenu *Listeria monocytogenes* během výroby hluboce zmrazené zeleniny se doporučuje multidisciplinární přístup. Systém řízení bezpečnosti potravin, založený na programech nezbytných předpokladů (PNP, které jsou zaměřeny na hygienu a organizaci výrobního prostředí), se spolu s plánem HACCP (zaměřeným na kontrolu procesů) musí plně zaměřit na *Listerii monocytogenes* s cílem zabránit tomuto organismu v kolonizaci a zamezit jeho přežívání ve složitých formacích v podobě biofilmu, případně zabránit kontaminaci tímto organismem po (teplém) zpracování při další manipulaci před balením. Obrázek 1 znázorňuje jednotlivé programy PNP a plán HACCP relevantní pro prevenci a kontrolu *Listeria monocytogenes*. Je třeba zavést kontrolu prostředí s cílem ověřit účinnost zavedených programů PNP a plánu HACCP a vyhodnotit potenciální akumulaci *Listeria monocytogenes* ve výrobním prostředí v širším smyslu. A konečně specifikace konečných produktů musí provozovatelům potravinářských podniků stanovit průměrnou úroveň *L. monocytogenes* dosažitelnou u konečných výrobků, pokud je zaveden řádný systém řízení bezpečnosti potravin. Oznamování rizik a sdělování informací o těchto rizicích uživatelům hluboce zmrazené zeleniny musí jednoznačně uvádět správné používání zmrazených produktů s cílem zabránit možnému zneužití. Vedle těchto technicko-manažerských činností je rovněž nezbytné, aby každý provozovatel potravinářského podniku zavedl kulturu bezpečnosti a aby v rámci celé organizace výroby a ve všech jejích aspektech vytvářel povědomí o prevenci a kontrole rizik v oblasti bezpečnosti potravin a o narušování hygieny. Tyto pokyny se týkají blanšírované a neblanšírované zmrazené zeleniny, která je považována za potravinu, jež není určena k přímé spotřebě. Dodržování těchto pokynů může být prospěšné i pro provozovatele potravinářských podniků, jejichž záměrem je prodávat zmrazenou zeleninu jako potravinu určenou k přímé spotřebě. Tito provozovatelé potravinářských podniků by však měli dodržovat i další preventivní a kontrolní opatření zajišťující bezpečnost produktů určených k přímé spotřebě, která však nejsou součástí těchto pokynů.



Obrázek č. 1. Koncepce programů PNP (se zaměřením na širší výrobní prostředí), plánu HACCP (se zaměřením na výrobní proces a jednotlivé kroky zpracování), kontroly prostředí (v podobě ověření provedených preventivních a kontrolních opatření) a konečně specifikace konečného produktu a sdělování informací o rizicích uživatelům (B2B a B2C) s cílem předcházet a omezovat potenciální kontaminaci *L. monocytogenes* při výrobě hluboce zmrazené zeleniny.

## Rozsah:

Předložené hygienické pokyny včetně příkladu plánu HACCP se týkají komerční výroby hluboce zmrazené (blanšírované a neblanšírované) zeleniny v souladu s platnými právními předpisy Evropské unie. Jejich cílem je stanovit evropské pokyny pro řízení výroby a bezpečnosti potravin týkající se hluboce zmrazené zeleniny, počínaje přijímáním surovin a konče balenými konečnými produkty připravenými k použití v dalším kroku v rámci potravinového řetězce, ať již typu B2B nebo B2C. Provozovatelé potravinářských podniků, kteří se zabývají výrobou hluboce zmrazené zeleniny a/nebo obchodováním s ní, mohou tento dokument použít jako východisko pro svůj vlastní systém řízení bezpečnosti potravin či k vypracování osvědčených postupů, programů PNP a zásad HACCP. Tento dokument je zaměřen na omezování rizika spojeného s *L. monocytogenes*. Nebude se zabývat jinými relevantními mikrobiologickými riziky těchto činností ani jinými riziky (např. chemickými nebo fyzikálními riziky či alergeny). Někteří provozovatelé potravinářských podniků vyrábějí kromě zmrazené zeleniny také zmrazené bylinky a/nebo ovoce, avšak tyto produkty nespadají do působnosti těchto pokynů. Tyto pokyny se týkají blanšírované nebo neblanšírované zmrazené zeleniny považované za potravinu, která není určena k přímé spotrebě. Dodržování těchto pokynů může být prospěšné i pro provozovatele potravinářských podniků, jejichž záměrem je prodávat zmrazenou zeleninu jako potravinu určenou k přímé spotrebě. Tito provozovatelé potravinářských podniků by však měli dodržovat i další preventivní a kontrolní opatření zajišťující bezpečnost produktů určených k přímé spotrebě, která však nejsou součástí těchto pokynů.

## Právní předpisy EU vztahující se na výrobu hluboce zmrazené zeleniny

Obecné požadavky na bezpečnost potravin včetně povinnosti uvádět na trh pouze bezpečné potraviny jsou stanoveny v nařízení (ES) č. 178/2002. Na hygienickou výrobu potravin v EU se vztahuje nařízení (ES) č. 852/2004, zejména jeho příloha II. Tyto pokyny uvádějí praktické příklady, které tato obecná ustanovení doplňují. Tato příručka se řídí článkem 9 nařízení (ES) č. 852/2004 o pokynech Společenství. Jako základ pro správnou praxi, programy PNP a zásady HACCP se použije sdělení Komise o řízení bezpečnosti potravin – C278/2016. Mikrobiologická kritéria pro potraviny jsou upravena nařízením (ES) č. 2073/2005. Všechny příslušné právní dokumenty jsou uvedeny v příloze I.

## Další dokumenty nad rámec těchto pokynů

Další pokyny jsou k dispozici v příslušných vydáních kodexu *Codex Alimentarius*, ve stanoviscích Evropského úřadu pro bezpečnost potravin (EFSA), v obecných hygienických postupech vytvořených jednotlivými vnitrostátními orgány a ve vědeckých dokumentech a publikacích (uvedených v příloze II).

## Konzultace příslušných zúčastněných stran

Při vytváření těchto pokynů byla uspořádána konzultace s následujícími skupinami zúčastněných stran: a) Copa Cogeca (prvovýroba), b) Hotrec (restaurační činnosti) a FoodServiceEurope (činnosti v oblasti veřejného stravování), c) ChilledFOODAssociation (zpracovatelé potravin určených k přímé spotrebě), FoodDrinkEurope (zpracovatelský průmysl), FRUCOM (dovozci ovoce a zeleniny), CULINARIA (omáčky, koření a bylinky), FRESHFEL (čerstvé ovoce a zelenina včetně čerstvě sklizené úrody „4eme gamme“), d) EuroCommerce (maloobchodní organizace) a e) BEUC (spotřebitelská organizace).

## UPOZORNĚNÍ

Tyto pokyny jsou pouze doporučením a nejsou právně závazné. Byly vypracovány pouze pro informační účely. Sdružení PROFEL nezaručuje přesnost poskytnutých informací, ani nepřijímá odpovědnost za jakékoli jejich případné použití. Uživatelé proto musí před použitím těchto informací, které používají zcela na vlastní nebezpečí, přijmout veškerá nezbytná opatření. Povinnost prosazovat evropské právní předpisy v oblasti bezpečnosti potravin přísluší Evropské komisi a příslušným orgánům členských států EU. Provozovatelům potravinářských podniků v oblasti výroby hluboce zmrazené zeleniny a/nebo obchodu s ní, kteří chtějí získat úplné informace o právních požadavcích v členském státě, v němž jsou usazeni, doporučujeme obrátit se na příslušný orgán.

## **Obsah**

### **1. Úvod**

#### **1.1. Profil daného odvětví**

V Evropě vyrábí hluboce zmrazenou zeleninu +/-145 společností, a to jak velkých nadnárodních společností, které působí ve více členských státech, tak celá řada malých a středních podniků. Jedinými organizacemi, které zastupují odvětví hluboce zmrazené zeleniny, jsou PROFEL (Evropské sdružení odvětví zpracujících ovoce a zeleninu) a do určité míry i AETMD (Evropské sdružení zpracovatelů kukuřice cukrové). Členskou základnu tvoří jak malé a střední podniky, tak nadnárodní společnosti, které zaměstnávají více než 80 000 osob. Celkový roční obrat členů sdružení PROFEL činí zhruba 22 miliard EUR, přičemž jejich produkce jen v odvětví zeleniny (jak konzervované, tak hluboce zmrazené) dosahuje téměř 5,5 milionu tun. Jen samotná produkce hluboce zmrazené zeleniny\* v EU se odhaduje na 4 miliony tun ročně. V 18 členských státech EU se nachází přibližně 180 výrobních závodů. Členství ve sdružení PROFEL je zajišťováno především prostřednictvím vnitrostátních sdružení. Ne ve všech zemích fungují vnitrostátní sdružení pro hluboce zmrazenou zeleninu, a některé společnosti jsou tak členy sdružení přímo. I když nejsou k dispozici žádné oficiální údaje, vnitrostátní sdružení odhadují, že členská základna PROFEL představuje 80 % produkce hluboce zmrazené zeleniny v EU.

\*s výjimkou brambor a rajčat, ale včetně hluboce zmrazené kukuřice cukrové

#### **1.2. Produktový profil**

Mezi posuzované skupiny produktů patří hluboce zmrazená zelenina včetně kořenové a hlíznaté zeleniny, cibulové zeleniny, plodové zeleniny, koštálové zeleniny, listové zeleniny, jedlých květů, luskové zeleniny a řapíkaté a stonkové zeleniny. Tyto pokyny se nevtahují na ovoce a bylinky.

Hluboce zmrazená zelenina, na kterou se tyto pokyny vztahují, může být blanšírovaná nebo neblanšírovaná. Hluboce zmrazená zelenina může být buď jednotlivě hluboce zmrazená (technologií IQF), kdy je produkt volný / vzájemně oddělený, případně blokově hluboce zmrazená. Je balena do velkoobjemových balení pro trhy B2B a pro následné další zpracování v potravinovém řetězci (např. veřejné stravování, výroba jídel určených k přímé spotřebě) nebo do malých spotřebitelských balení pro trhy B2C. Produkty mohou být uváděny na trh buď jako produkt z jednoho druhu zeleniny, nebo jako produkt smíšený s jinou hluboce zmrazenou zeleninou, případně v kombinaci s jinými potravinářskými výrobky, jako je rýže, těstoviny, omáčka, hluboce zmrazené ryby nebo maso.

#### **1.3. *Listeria monocytogenes***

I když je *L. monocytogenes* stále považována za původce zoonóz, je značně rozšířena jak v přírodě, tak v prostředích, v nichž se zpracovávají potraviny. Byla izolována z půdy, rostlin, kanalizace, vody, krmiva pro zvířata i z výkalů zdravých zvířat včetně lidí. Může proniknout do prostředí, kde se zpracovávají potraviny, prostřednictvím vstupních surovin a v důsledku přesunu personálu a vybavení. *L. monocytogenes* může vytvářet kultury v podobě biofilmů na zařízení na zpracování potravin a na površích, které (ne)přicházejí do styku s potravinami. Nedostatečné postupy čištění a dezinfekce mohou vést k dlouhodobé perzistenci této bakterie v prostředích, kde se zpracovávají potraviny. *L. monocytogenes* byla izolována z různých potravin, například z čerstvého a hluboce zmrazeného masa, vařených masných výrobků, uzených ryb, syrového mléka, (měkkých) sýrů, zmrzliny, lahůdkových salátů, čerstvé nebo jen minimálně zpracované zeleniny apod. (Uyttendaele a kol., 2018; EFSA a ECDC 2018). *L. monocytogenes* je grampozitivní nesporulující bakterie ve tvaru tyčinky (0,5 µm široká a 1–2 µm dlouhá), fakultativně anaerobní. Ideální teplotní rozsah pro její růst je 30 až 37 °C, je však schopna se množit v širokém rozmezí teplot od 1 do 45 °C. Jako psychrotolerantní bakterie může přežít a dokonce se množit i při teplotách pod bodem mrazu. Jedná se o organismus mimořádně odolný vůči environmentálnímu stresu, který je schopen přežít nebo se množit v širokém rozmezí nepříznivých podmínek pH (4,6–9,4, optimální hodnota 7,0) a vodní aktivity ( $a_w$ , minimálně 0,92), ačkoli pasterizací (2' při 70°C) nebo jiným ekvivalentním tepelným zpracováním lze dosáhnout snížení o 6 log. (Uyttendaele a kol. 2018).

Druh *L. monocytogenes* se dělí na 13 sérovarů na bázi somatických a bičíkových antigenů. Od roku 2005 byly tyto sérovary nahrazeny pěti séroskupinami na bázi genů detekovanými metodou PCR: IIa (sérovary 1/2a a 3a), IIb (sérovary 1/2b a 3b), IIc (sérovary 1/2c a 3c), IVb (sérovary 4b, 4d a 4e) a L (ostatní sérovary). Z těchto genových séroskupin

se na nákaze člověka nejčastěji podílí skupina IVb, po níž následují skupiny IIa a IIb (EUR-L. *monocytogenes*, 2019). V uplynulých letech bylo prokázáno, že subtypy založené na celogenomové sekvenci (WGS) mohou poskytnout značnou další diskriminační sílu, a v důsledku toho mohou být přínosem pro vyšetření zdroje nákazy. Listerioza je v rámci EU jednou z prioritních chorob, u nichž byl v roce 2018 zahájen nadnárodní dohled s posíleným celogenomovým sekvenováním (Van Walle a kol., 2018).

*L. monocytogenes* je jediným druhem rodu *Listeria*, který je patogenní pro člověka a je původcem listeriózy (McLauchlin a kol., 2004). Infekce *L. monocytogenes* může mít u člověka za následek dva typy onemocnění: neinvazivní formu listeriózy, která postihuje trávicí trakt a mezi její příznaky patří horečka, bolest svalů a někdy i gastrointestinální příznaky (nevolnost nebo průjem), a závažnější invazivní listeriózu, kterou provázejí klinické projevy infekce centrální nervové soustavy, sepse a bakteriemie. Vzhledem k invazitě *L. monocytogenes* se úmrtí na listeriózu týkají zejména vysoce rizikových populací, tj. osob se sníženou imunitou, jako jsou například osoby s hematologickými malignitami (např. leukemií), osoby trpící rakovinou jater, starší dospělí (> 74 let), těhotné ženy a novorozenci (Buchanan a kol., 2017; McLauchlin a kol., 2004).

V období od roku 2015 do června 2018 bylo v pěti členských státech EU (Rakousko, Dánsko, Finsko, Švédsko a Spojené království) nahlášeno vypuknutí infekcí invazivní formou *L. monocytogenes* potvrzených celogenomovým sekvenováním jako séroskupina IVb, ST6 (sekvenční typ 6), které souvisely s hluboce zmrazenou kukuřicí a potenciálně i s jinou hluboce zmrazenou zeleninou: bylo nahlášeno 47 případů a devět pacientů na tuto infekci nebo s ní zemřelo (úmrtnost 19 %). *L. monocytogenes* ST6 je hypervirulentní klon *L. monocytogenes* související s neurologickými formami listeriózy (EFSA, 2018a). Avšak i přes i přes pozorovanou variabilitu potenciálu virulence může též každý kmen *L. monocytogenes* vést k listerióze u člověka v důsledku komplexní interakce mezi tímto patogenem, potravinami a hostitelem. Jednalo se o první případ, kdy epidemie listeriózy v EU souvisela s hluboce zmrazenou zeleninou (EFSA, 2018a), a v jeho důsledku byla zahájena práce na těchto pokynech.

#### 1.4. Definice

**Měření ATF:** Zařízení pro detekci ATF (adenosintrifosfát) využívají bioluminescence ke zjištění hladiny zbytkového ATF nacházejícího se na površích, z nichž se provádějí stěry (Turner, 2010).

**B2B:** vztahy mezi podniky (**business to business**), které se týkají hluboce zmrazené zeleniny balené pro účely dalšího zpracování v potravinářském průmyslu nebo ve veřejném stravování

**B2C:** vztahy mezi podnikem a spotřebiteli (**business to consumers**), které se týkají hluboce zmrazené zeleniny balené pro konečného spotřebitele (a distribuované prostřednictvím maloobchodníků v malých baleních)

**Biofilm:** trojrozměrná struktura, která se nachází na površích a obsahuje velký počet mikroorganismů, které na tomto povrchu ulpívají pomocí organel a vylučovaných látek (např. extracelulární polymerní látky, jako jsou například glykoproteiny) (Devlieghere a kol., 2013).

**Blanširování:** Tepelný proces, který se používá zpravidla u potravin za účelem inaktivace enzymů a/nebo fixace barvy produktu (CAC, 1976)

**Kritické kontrolní body:** fáze, ve které lze provádět kontroly a která je klíčová pro předcházení nebezpečím, jež ohrožují bezpečnost potravin, nebo pro jejich vyloučení či omezení na přijatelnou úroveň (1). Nejběžnějšími kritickými kontrolními body pro omezování mikrobiologických nebezpečí jsou požadavky na teplotu, jako je např. skladovací nebo přepravní teplota nebo kombinace doby a teploty nutná ke snížení nebo vyloučení nebezpečí (např. pasterizace). Mezi další příklady kritických kontrolních bodů může patřit například kontrola čistých a neporušených balení, odhalování fyzikálních nebezpečí pomocí sít nebo zařízení pro detekci kovů nebo kontrola doby a teploty pro smažení na oleji s cílem zabránit vzniku kontaminujících látek při chemických procesech (sdělení Komise C278/2016).

**Čistá voda:** „voda, která za daných okolností používání neohrožuje bezpečnost potravin“. Jedná se o čistou mořskou vodu (přírodní,

umělou nebo přečištěnou mořskou nebo brackou vodu, která neobsahuje mikroorganismy, škodlivé látky ani toxický mořský

plankton v množství, jež by mohlo přímo nebo nepřímo ovlivnit hygienickou jakost potravin) a o sladkou vodu v podobné jakosti (nařízení (ES) č. 852/2004; sdělení Komise C163/2017).

**Detergent:** (chemický) výrobek používaný k čištění povrchů (odstraňování organických materiálů z povrchů) (Devlieghere a kol., 2013).

**RL EU:** Referenční laboratoř Evropské unie

**Provozovatel potravinářského podniku:** Provozovatel potravinářského podniku: fyzická nebo právnická osoba odpovědná za plnění požadavků potravinového práva v potravinářském podniku, který řídí; (nařízení (ES) č. 178/2002).

**Systém řízení bezpečnosti potravin:** Systém řízení (nebo kontroly) bezpečnosti potravin: soubor preventivních kontrolních opatření v podobě programů PNP, připravenost zajištěná sledovatelností, sdělováním a zpětným přebíráním a plán HACCP definující kontrolní opatření související s výrobním procesem v podobě kritických kontrolních bodů nebo programů PPNP. V systému řízení bezpečnosti potravin se dále spojují kontrolní opatření a prověřování. Cílem prověřování je poskytnout důkazy o správné funkčnosti kontrolních opatření, například při potvrzování a ověřování nebo z dokladů a vedení záznamů (sdělení Komise C278/2016).

**Správná hygienická praxe (GHP) a správná výrobní praxe (GMP):** balíček preventivních činností a podmínek k zajištění bezpečnosti vyráběných potravin. Správná hygienická praxe klade větší důraz na nutnost dodržovat hygienu, zatímco správná výrobní praxe staví do popředí pracovní postupy (sdělení Komise C278/2016).

**Postupy založené na zásadách HACCP nebo také „systém HACCP“:** postupy založené na zásadách analýzy rizik a kritických kontrolních bodů (HACCP)

tj. systém vlastních kontrol, který v souladu se zásadami HACCP identifikuje, hodnotí a kontroluje závažná nebezpečí pro bezpečnost potravin (sdělení Komise C278/2016).

**Plán HACCP:** dokument, který kompletně popisuje příslušné postupy založené na zásadách HACCP, přičemž lze použít elektronický formát. Původní plán HACCP se aktualizuje, pokud dojde ke změnám výrobního procesu, a musí být doplňován o záznamy o výsledcích monitorování a ověřování a o přijatých nápravných opatřeních (sdělení Komise C278/2016).

**Nebezpečí:** biologické, chemické nebo fyzikální činitele v potravinách či krmivech nebo stav potravin či krmiv, které mohou mít nepříznivý účinek na zdraví (nařízení (ES) č. 178/2002) (sdělení Komise C278/2016).

**Topení, ventilace a klimatizace.** systém vytápění, ventilace a klimatizace

**Technologie IQF** (= rychlozmrazování jednotlivých částí): hluboce zmrazené potraviny, kde se produkt nachází volně /odděleně od ostatních (CAC, 1976).

**Nika:** nika popisuje ekologii určitého druhu, což může znamenat jeho stanoviště, jeho úlohu v ekosystému atd. (Pocheville, 2015).

**NRL:** národní referenční laboratoř

**PPNP (Provozní programy nezbytných předpokladů):** jsou body ve výrobním procesu, ve kterých existuje menší riziko ohrožení bezpečnosti potravin nebo pro něž nejsou stanoveny měřitelné limity. Tyto body lze kontrolovat prostřednictvím propracovanějších obecných kontrolních opatření, která se řadí mezi PNP, například častějších kontrol, zaznamenávání apod. Na základě pravidelných kontrol a přizpůsobení požadavků na proces či produkt lze usoudit, že jsou rizika zvládána. Není zapotřebí okamžitě přijímat nápravná opatření pro produkt (sdělení Komise C278/2016).

**Program(y) nezbytných předpokladů (PNP):** preventivní činnosti a podmínky, které je třeba zavést před vytvořením systému HACCP a dodržovat během jeho provádění a které jsou nezbytné pro zajištění bezpečnosti potravin. To, jaké programy PNP jsou vyžadovány, závisí na úseku potravinového řetězce, do nějž odvětví patří, a na typu odvětví. Programy PNP jsou také někdy označovány jako správná zemědělská praxe (GAP), správná veterinární praxe (GVP), správná výrobní praxe (GMP), správná hygienická praxe (GHP), správná produkční praxe (GPP), správná distribuční praxe (GDP) a správná obchodní praxe (GTP) (oznámení Komise C278/2016).

**Recyklovaná voda:** voda, která se znovu používá ve výrobním procesu, a to po úpravě (např. filtrace, dezinfekce) nebo bezní.

**Potravina určená k přímé spotřebě:** potravina určená k přímé spotřebě (nařízení (ES) č. 2073/2005): „potravinou určenou k přímé spotřebě“ se rozumí potravina, která je producentem nebo výrobcem určena k přímé lidské spotřebě, aniž by bylo nutné ji tepelně upravovat či jinak zpracovávat za účelem účinného odstranění dotčených mikroorganismů či jejich snížení na přijatelnou úroveň.

**Potravina, která není určena k přímé spotřebě:** potravinami, které nejsou určeny k přímé spotřebě: se rozumí potraviny, které jsou na rozdíl od potravin určených k přímé spotřebě producentem nebo výrobcem určeny k tepelné úpravě nebo jinému zpracování za účelem odstranění dotčených mikroorganismů či jejich snížení na přijatelnou úroveň.

**Dezinfekční přípravek:** produkt používaný na dezinfekci povrchů po čištění. Biocidní přípravek by měl být definován v souladu s nařízením (ES) č. 528/2012.

**Hluboce zmrazené:** hluboce zmrazenými potravinami se rozumí potraviny (směrnice (ES) 89/108 a CAC, 1976):

- které byly podrobeny vhodnému procesu zmrazení, tzv. „rychlému zmrazení“, při němž je v závislosti na typu výrobku co nejrychleji překročena zóna maximální krystalizace a výsledná teplota výrobku (po tepelné stabilizaci) je ve všech jeho místech trvale udržována na úrovni  $-18^{\circ}\text{C}$  nebo nižší, a
- které jsou uváděny na trhu s uvedením, že tuto vlastnost splňují.

## 2. Správná praxe a programy nezbytných předpokladů (PNP)

Programy PNP jsou důležitými základními předpoklady v oblasti prevence a kontroly hygieny a bezpečnosti potravin v rámci systému řízení bezpečnosti potravin zavedeného u provozovatelů potravinářských podniků. Programy PNP zahrnují postupy správné hygienické praxe a správné výrobní praxe a veškerá opatření přijatá s cílem předejít kontaminaci mikroorganismy nebo jejich přemnožení. Tyto pokyny se řídí strukturou sdělení Komise o řízení bezpečnosti potravin (C278/2016). Je popsána úloha jednotlivých programů PNP v oblasti prevence/kontroly *L. monocytogenes*. Avšak vzhledem k tomu, že ne všech 12 programů PNP uvedených na seznamu hraje úlohu při prevenci/kontrole *Listeria monocytogenes*, tři z nich jsou vyloučeny: PNP týkající se ochrany proti škůdcům, PNP týkající se alergenů a PNP týkající se fyzikální a chemické kontaminace z výrobního prostředí.

### 2.1. Čištění a dezinfekce

Cištění a dezinfekce představují důležitý program PNP v oblasti prevence a kontroly *Listeria monocytogenes*. Provozovatelé potravinářských podniků musí mít **plán čištění a dezinfekce** s cílem zajistit, že všechny příslušné prostory, stroje a vybavení, které přicházejí do přímého nebo nepřímého styku s potravinami, budou pravidelně čištěny/dezinfikovány.

**Plán čištění** zahrnuje příslušné prostory, strojní zařízení / příslušenství / vybavení (takové, které přichází do styku s potravinami, i takové, u něhož tomu tak není), které má být vyčištěno, demontáž zařízení, způsob čištění (např. čištění pěnou, čištění mimo místo instalace, čištění na místě, druhy a koncentraci čisticích prostředků, čas/teplotu (je-li to relevantní) čisticích roztoků, průtok (rychlosť) nebo tlak čisticího roztoku (je-li to relevantní) a frekvenci, s jakou čištění probíhá). Tento plán zahrnuje rovněž označení prostoru, kde se pravděpodobně bude usazovat vlhkost, kondenzace, plísně, nečistoty nebo bakterie, a popisuje, jak tomu zabránit. V případě čištění mimo místo instalace, například u mycích nádrží nebo potrubí, je třeba dbát na to, aby po demontáži jednotlivých částí zařízení nedošlo ke křížové kontaminaci (např. nepokládejte zařízení přímo na podlahu nebo na jiné znečištěné povrchy). Je třeba se vyhnout rozstřikování vody z podlahy nebo ze znečištěného zařízení na čisté zařízení. Proto se doporučuje nepoužívat při čištění a dezinfekci vysokotlaké hadice.

Mikrobiologické akumulaci a tvorbě biofilmů lze předcházet a likvidovat je jednak čištěním, jednak pomocí vhodné **dezinfekce**. Doporučuje se mít vypracovaný plán dezinfekce podobný plánu čištění. K dezinfekci se používají pouze povolené biocidy podle technických specifikací dodavatelů (např. koncentrace, pH vody, tvrdost vody, účinnost proti cílovým organismům, potřeba oplachování, povolení k použití v rozstřikovacím systému atd.). Bylo zjištěno, že rotace při aplikaci dezinfekčních prostředků zajišťuje delší účinnost a prevenci tvoření nik a biofilmů *L. monocytogenes*. K dezinfekci obtížně dostupných regálů nebo zařízení, které je obtížné čistit,

včetně potenciálních míst uchycování *L. monocytogenes*, lze použít horkou vodu nebo páru.

V případě **podezření na přítomnost biofilmu** bude k jeho odstranění nutno provést zvláštní čištění a dezinfekci, protože standardní čištění a dezinfekce nejsou vzhledem k odolnosti biofilmu vhodným řešením. Důležitější však je tvorbě biofilmů předcházet a provádět monitorování okolního prostředí (viz část 4) s cílem objevit každé znečištění v okolního prostředí již v počátečním stadiu.

Je třeba zavést **potvrzování plánů čištění a dezinfekce** (= s cílem zjistit, zda jsou vhodné k odstraňování zbytků produktů, organických materiálů a k dostatečnému odstranění bakterií). Proto je třeba provádět intenzivní odebírání vzorků z okolního prostředí u vyčištěných oblastí (například měření obsahu ATF s cílem vyhodnotit odstraňování organických materiálů) a prostory je třeba dezinfikovat se zaměřením na různé cílové skupiny bakterií (např. odstraňování gramnegativních a grampozitivních bakterií, kvasinek a/nebo plísní) s cílem vyhodnotit účinnost použitých dezinfekčních prostředků, jejich koncentraci, doby kontaktu atd. V rámci plánu čištění a dezinfekce musí provozovatelé potravinářských podniků zvážit dodržování **klasifikace materiálů určených pro styk s potravinami** a související četnost čištění a dezinfekce (tabulka 1).

**Tabulka 1 Příklad klasifikace zařízení a vybavení v rámci četnosti čištění a dezinfekce**

Druh	Popis	Příklady prostor
1	Povrchy, které přicházejí do přímého styku s potravinami	Vnitřky nádrží, obaly a dopravníky, násypky, vnitřky trubek
2	Povrchy, které nepřicházejí do styku s potravinami, ale nacházejí se v těsné blízkosti povrchů, které do styku s potravinami přicházejí	Skříně zařízení, podlahy nebo odtoky v přímém okolí povrchů, které přicházejí do styku s potravinami
3	Vzdálenější povrchy, které nepřicházejí do styku s potravinami a které by případně mohly vést ke kontaminaci	Vysokozdvížné vozíky, kola odpadkových košů / zařízení, brodítka pro personál, stěny, podlahy a odtoky, jež nejsou v přímém kontaktu s povrhy, které přicházejí do styku s potravinami.
4	Povrchy, které nepřicházejí do styku s potravinami, a prostory vzdálené od zpracovatelského prostředí	Chodby mimo výrobní prostory, prostory, kde jsou skladovány suroviny nebo hotové výrobky. Skříně zařízení, stěny, podlahy nebo odtoky, které NEJSOU v přímém okolí povrhů, které přicházejí do styku s potravinami

V zásadě platí, že prostory typu 1 jsou v porovnání s typem 2, 3 a 4 čištěny a dezinfikovány častěji (typ 1 > 2 > 3 a 4), a tuto četnost lze stanovit rovněž úměrně hygienickému režimu prostor, ve kterých se dané zařízení a vybavení nachází / kam je přiděleno (viz část 2.5 o rozdělení na zóny). V zásadě platí, že „bezpečné prostory“ vyžadují vyšší frekvenci čištění/dezinfekce v porovnání s režimem s přísnou hygienu a s režimem s méně přísnou hygienu. Pro každou oblast musí být vypracován seznam všech povrhů, které mohou potenciálně přijít do styku s potravinami, a měla by být definována potřeba čištění a dezinfekce (četnost).

#### **Zařízení a povrchy v PŘÍMÉM styku s potravinami (typ 1, tabulka 1)**

Zařízení a povrchy v přímém styku s potravinami (např. mrazicí tunely, dopravní pásy, mycí nádrže, hlavy kombinačních zařízení pro vážení a dávkování, balicí stroje, vnitřky nádrží, násypky, vnitřky trubek) je třeba pečlivě čistit a dezinfikovat, aby se zabránilo křížové kontaminaci a tvorbě biofilmu. U kontinuálních výrobních linek by měly být zorganizovány odstávky pro účely čištění a dezinfekce (např. mycí/blanšírovací zařízení a mrazicí tunel, který je v provozu po x po sobě jdoucích dnů).

#### **Zařízení a povrchy BEZ PŘÍMÉHO styku s potravinami (typ 2 a 3, tabulka 1)**

Zařízení a povrchy, které nejsou přímo ve styku s potravinami, mohou obsahovat bakterii *Listeria monocytogenes* a mohou být zdrojem křížové kontaminace prostřednictvím stříkající vody, vzduchu, aerosolu a jiných materiálů. Proto je třeba se vyhnout kumulaci bakterie *Listeria monocytogenes* v celém širším továrním prostředí. Mezi typické vybavení a povrchy bez přímého kontaktu s potravinami patří: vzduchové ventilační systémy, soustava vodovodního potrubí, odtokové systémy odpadních vod, zařízení s koly atd. Jejich citlivost na akumulaci bakterie *Listeria monocytogenes* je dána vysokým obsahem vlhkosti a teplotám výrobního prostředí,

které často není chlazené. Je třeba stanovit četnost čištění a dezinfekce na základě informací konkrétní společnosti ohledně míry potenciální akumulace zbytků produktů, organických materiálů, prachu a vlhkosti a potenciální křížové kontaminace potravin nebo povrchů, které přicházejí do přímého styku

s potravinami a rozdelení na zóny, kam dané zařízení/vybavení náleží (viz část 2.5); obvykle se doporučuje x krát za měsíc.

#### **Pravidelné čištění a dezinfekce (typ 4, tabulka 1)**

U větší infrastruktury, jako jsou plošiny, schody, stropy, potrubí atd., které nepřicházejí do přímého styku s potravinami nebo s jinými materiály určenými pro styk s potravinami, je nutno provádět pravidelné čištění a dezinfekci, aby se zabránilo hromadění prachu, zbytků produktů a organických materiálů a aby bylo výrobní a skladovací prostředí stále udržováno v dobrém stavu. Zvláštní pozornost při kontrole *Listeria monocytogenes* je třeba věnovat podlahovým odtokům s cílem zabránit přenosu kontaminace z tohoto odtoku na jiné povrchy v místnosti. Při čištění proto nesmí být používány vysokotlaké hadice, aby se zabránilo tvorbě aerosolů; vyčleňte speciální náradí pouze na čištění odtoků a nečistěte odtoky v době, kdy probíhá výroba. Pro organizaci tohoto pravidelného čištění jednotlivých prostor je nutné mít k dispozici plán pravidelného čištění (x krát za x let).

#### **Spouštění zařízení po odstávce (= čištění před zahájením provozu)**

Výroba hluboce zmrazené zeleniny je velmi sezonné záležitost. Při zpracování určité komodity se používají zařízení a vybavení, která jsou po zbytek roku (mimo sezónu) uskladněna (např. systémy odstraňování hmyzu u listové zeleniny, krájecí stroje). Před opětovným použitím těchto zařízení/vybavení je nutné provést důkladné čištění a dezinfekci, aby se zabránilo křížové kontaminaci. Provozovatel potravinářského podniku musí toto vyčištění před zahájením provozu zahrnout do plánování čištění a dezinfekce.

#### **Údržba čisticích a dezinfekčních potřeb a vybavení**

Údržbu a čištění je potřeba provádět rovněž u vybavení pro čištění a dezinfekci (např. kartáče, mopy, rozvody vody) a zařízení (např. vysokotlaký čisticí stroj, podlahové čističe), aby se zabránilo křížové kontaminaci. Hadice a trysky hadic je doporučeno v době, kdy nejsou používány, uchovávat mimo podlahu nebo jiné znečištěné povrchy. Zařízení na čištění bot nebo brodítka je třeba nejméně jednou denně vyprázdnit, vyčistit a znova naplnit, aby se zabránilo tvorbě nik. Je třeba vyčlenit čisticí a dezinfekční prostředky pouze pro konkrétní oblasti (např. barevným rozlišováním).

#### **Pracovníci podílející se na očistě**

Pracovníci podílející se na činnostech v oblasti očisty by se měli věnovat výlučně těmto činnostem a měli by být vybaveni zvláštními ochrannými rukavicemi, oděvy, obuví a ochrannými brýlemi odlišnými od těch, které se používají při běžných výrobních činnostech. Měli by být proškoleni v oblasti očisty včetně používání chemických výrobků ve svých čisticích stanicích. Pracovníci, kteří manipulují s odpadky, smetím z podlahy, kanalizací a odpadem z výroby, by neměli manipulovat s potravinářskými výrobky ani přicházet do kontaktu s povrchy nebo obalovými materiály, které přicházejí do styku s potravinami, pokud si nejprve nepřevléknou plášt/uniformu, neumyjí a nevydezinfikují ruce a nevydezinfikují obuv pomocí brodítka nebo ještě lépe zařízení na čištění bot.

#### **Ověřování čištění a dezinfekce**

Po čištění a dezinfekci daného typu povrchu a zařízení by měla být provedena pečlivá **vizuální kontrola** jinou osobou, než je osoba odpovědná za samotné čištění a dezinfekci. Taková vizuální kontrola může být součástí vstupní kontroly před povolením spuštění výrobních linek. V případě vizuálního zjištění organické kontaminace je třeba před zahájením provozu znova provést čištění a dezinfekci. Do této vizuální kontroly musí být zahrnuta i obtížněji přístupná místa a prostory.

**Odběr vzorků z kontaktních povrchů pro mikrobiologické vyšetření** a analýzu celkového počtu mikroorganismů nebo jiného ukazatele je nutno provádět pravidelně s cílem ověřit, zda jsou čištění a dezinfekce i nadále účinné a zda jsou prováděny rádně. Pro rychlou kontrolu a uvolnění výrobního zařízení k použití po čištění a dezinfekci lze použít testy ATF nebo jiné metody rychlé kontroly. Toto ověřování čištění a dezinfekce však nemůže nahradit kontrolu výskytu *L. monocytogenes* v prostředí (viz dále část 4).

## **2.2. Voda: zdroje, kvalita a vodovodní síť**

Při výrobě hluboce zmrazené zeleniny se používají velké objemy vody. Dostupnost i kvalita vody se ocítá pod stále větším tlakem, takže provozovatelé potravinářských podniků musí dbát na to, aby se vnitřní opakování používání vody nestalo zdrojem křížové kontaminace potravinářských výrobků bakterií *L. monocytogenes*. Provozovatelé potravinářských podniků se musí zabývat následujícími body v oblasti hospodaření s vodou a její potenciální kontaminace bakterií *Listeria monocytogenes*:

- a) identifikovat potenciální zdroje vody (např. voda z vodovodu, dešťová voda, podzemní voda, vyčištěná recyklovaná voda)
- b) ověřit kvalitu dostupné vody pomocí analýzy (mikrobiologických i chemických parametrů → splňuje tato voda požadavky na pitnou vodu, čistou vodu, užitkovou vodu?)
- c) identifikovat potenciální využití recyklované / opětovně použité vody (např. opětovné použití chladicí vody po blanšírování jako oplachové vody) v některých krocích výroby → v této situaci je nutno provést pečlivé vyhodnocení s cílem zabránit křížové kontaminaci
- d) identifikovat potřebu dezinfekce vody (na základě fyzikálních metod, jako je UV, reverzní osmóza nebo chemická dezinfekce s využitím schválených biocidů, jako je například chlor, kyselina peroxyoctová, ClO<sub>2</sub>) v případě recyklované vody, dešťové vody, odtokové vody nebo odpadní vody s cílem zvýšit kvalitu vody
- e) kontrolovat a potvrzovat použité techniky dezinfekce vody (denní monitorování, kontrola chemických reziduí v případě chemické dezinfekce vody)
- f) plánovat údržbu skladovacích cisteren, potrubních systémů a filtračních systémů využívaných pro rozvod vody s cílem zabránit tvorbě biofilmu a potenciální přítomnosti *L. monocytogenes* → zahrnout část systému rozvodu vody rovněž do odběru vzorků z okolního prostředí (jak je uvedeno v oddíle 4.1)
- g) předcházet křížové kontaminaci odpadní vodou / odtokovou vodou s jinými zdroji vody při výrobě
- h) předcházet usazování stojaté vody ve strojích, trubkách, potrubích a na podlahách
- i) bránit hromadění stojaté vody ve výpustích vody a kolem nich
- j) Předcházet tomu, aby odkapávající kondenzát ze zařízení, potrubí a trubek kontaminoval potraviny, povrchy přicházející do styku s potravinami nebo obalové materiály na potraviny
- k) ujistit se, že voda používaná na glazování má kvalitu pitné vody

Je třeba vypracovat **plán hospodaření s vodou** obsahující všechny tyto prvky. Je třeba vypracovat vhodný **analytický plán** s cílem ověřit jakost používané vody na základě výsledků mikrobiologických a chemických zkoušek s přihlédnutím k evropským, vnitrostátním nebo regionálním požadavkům příslušných orgánů. Stanovisko úřadu EFSA týkající se rizika výskytu bakterie *Listeria monocytogenes* v tomto typu výroby uvádí jako významný zdroj kontaminace rovněž vodu používanou při mytí, chlazení apod. (více informací viz EFSA, 2020).

### **2.3. Regulace teploty výrobního a skladovacího prostředí včetně řízení mrazicího tunelu**

#### ***Regulace teploty výrobního a skladovacího prostředí***

*L. monocytogenes* je environmentální patogen odolný proti chladu, který je schopen se šířit i při teplotách 0 °C. V chladných podmínkách se jeho tempo růstu zpomalí, takže zachování chladicího řetězce zabrání (rychlému) růstu tohoto patogenu. V prostředí výroby hluboce zmrazené zeleniny se zpravidla vyskytují některé prostory, ve kterých není regulovaná teplota. Jak je uvedeno v oddíle 2.1 (čištění a dezinfekce), u těchto prostor je potřeba pečlivě zvažovat čištění a dezinfekci zařízení, která přicházejí do přímého i nepřímého styku s potravinami. Kolísavé teploty mohou způsobovat vysokou vlhkost (=relativní vlhkost), tvorbu aerosolů a/nebo odkapávání z vyšších konstrukcí (např. ze stropu nebo z potrubních systémů). Jakmile je výrobek hluboce zmrazen, je nutno při jeho skladování a přepravě zaručit teplotu -18 °C nebo nižší. V případě, že je třeba s hluboce zmrazenými výrobky znova manipulovat (např. míchání, balení), doporučujeme tyto činnosti provádět při nízkých teplotách okolního prostředí. Není-li to možné jinak a hluboce zmrazené výrobky musí být ponechány v podmínkách pokojové teploty, musí tam být ponechány jen (velmi) krátce, aby se zabránilo jejich rozmrzení. Příslušná doba bude závislá na konkrétním produktu a okolní teplotě a musí ji ověřit provozovatel potravinářského podniku.

***Řízení mrazicího tunelu***

Mrazicí tunely jsou klíčovými zařízeními při výrobě hluboce zmrazené zeleniny, a cykly nízké a vyšší teploty se u nich liší v závislosti na použité technologii (proudové nebo kryogenní mrazničky) a na jejich konstrukci. Po teplotních cyklech mezi  $-30/-40^{\circ}\text{C}$  následují krátké cykly odmrazování při teplotách cca  $30/50^{\circ}\text{C}$  s cílem zabránit nadměrnému hromadění ledu v tunelu. V případě, že v tunelu zůstávají potravinářské výrobky nebo se tam hromadí, mohou se stát živoucí půdou pro bakterie *Listeria monocytogenes*. Proto musí být u mrazicích tunelů pravidelně prováděna technická údržba (oddíl 2.6) a řádné sledování a regulace teploty cyklů (tento oddíl), musí být zařazený do plánu čištění a dezinfekce (oddíl 2.1) a musí u nich být prováděny pravidelné vizuální kontroly s cílem zabránit nadměrnému hromadění produktů v rámci pracovní metodiky (oddíl 2.9), a tak předcházet akumulaci bakterií *Listeria monocytogenes* a/nebo tvorbě biofilmu v tunelu.

Rozlišují se dva typy odmrazování tunelů:

1. **Úplné odmrazování tunelů** Je závislé na typu a mrazicím výkonu tunelu. Při každém úplném odmrazení je nutno provést hloubkové čištění (viz oddíl 2.1).
2. **Částečné/postupné odmrazování v průběhu výroby.** Provádí se pouze u některých značek mrazicích tunelů a je poskytováno jako volitelně přidávaná možnost. Výparníky se v průběhu výroby nikdy neodmrazují současně. Úseky, kde se nacházejí odmrazované výparníky, jsou zcela uzavřeny a pasterizovány horkou vodou/plynem nebo párou. Během odmrazovacího cyklu úseku daného výparníku je proud vzduchu odkloněn směrem k jiným soustavám výparníků, které fungují v režimu mrazení.

#### **Systém vytápění, ventilace a klimatizace**

Ve zpracovatelských závodech, kde se provádí hluboké zmrazování, se může objevit teplotní a vlhkostní gradient vzhledem k přítomnosti oblastí s vysokými (pokojovými) teplotami, oblastí s nízkými teplotami a cirkulaci vzduchu mezi nimi. Teplotní gradienty vznikají typicky v prostorách mezi výstupem z mrazicích tunelů a shromažďováním polotovarů hluboce zmrazené zeleniny ve velkých pytlích/nádobách (velkoobjemových), případně v prostorách mezi blanšírováním a chlazením blanšírovaného produktu. Teplotní gradient může způsobit kondenzaci a odkapávání vody. V těchto závodech musí jako program PNP fungovat odborně instalovaný a udržovaný systém vytápění, větrání a klimatizace.

#### **2.4. Personál: znalosti, školení a chování**

Při prevenci/kontrole *L. monocytogenes* je důležité, aby personál zachovával hygienu, především na základě správného chování obsluhy a její znalosti rizik souvisejících s tímto patogenem. Proto jsou pro získání těchto znalostí důležitá (opakovaná) školení a komunikace (např. výsledky hygienických kontrol, výsledky kontrol čištění a dezinfekce). Důležitým faktorem souvisejícím s personálem je potenciální zdroj křížové kontaminace z obuvi, rukou a rukavic a pláště (nebo uniformy) při přechodu z jednoho místa nebo prostoru ve výrobě do druhého. Pro potenciální šíření bakterie *Listeria monocytogenes* jako environmentálního patogenu má zásadní význam přechod z prostor v režimu „méně přísné hygieny“ do prostor v režimu „přísnější hygieny“. Proto je třeba vytvořit jasné pokyny, jak tyto hranice ve výrobní zóně překračovat, a sdělit je hospodářským subjektům. Případně lze zavést hygienické „nárazníkové zóny“, jako je například hygienický zámek, zařízení na čištění obuvi, zvláštní obuv vyčleněná jen pro danou zónu a stanoviště pro dezinfekci rukou, které umožní přechod mezi jednotlivými zónami a zabrání přenosu bakterie *Listeria monocytogenes* z jedných prostor do druhých (viz rovněž oddíl 2.5). Tato zařízení, např. brodítka s cílem předcházet tvorbě nik, je nutno začlenit do programu čištění a dezinfekce. Pláště nebo uniformy je třeba rozlišovat podle úkolu, který daný personál provádí (např. výroba v prostorách s méně přísným hygienickým režimem, prostory s přísným hygienickým režimem a technická údržba). V případě, že ve výrobních a obchodních zařízeních pracují dočasní zaměstnanci, je třeba vytvořit školení na míru a dohody o tom, co je třeba dělat a co nedělat. V rámci správné praxe se doporučuje zvážit minimalizaci využívání dočasných zaměstnanců při významnějších činnostech týkajících se kontroly *Listeria monocytogenes*.

#### **2.5. Infrastruktura, zařízení a vybavení**

Infrastruktura a organizace výrobních a skladovacích zařízení bude mít při výrobě hluboce zmrazené zeleniny

zásadní význam pro prevenci a kontrolu výskytu *Listeria monocytogenes*.

**Vytváření zón**

Doporučuje se rozlišovat prostory s „méně přísným“ hygienickým režimem a s „přísným hygienickým režimem“. Tak by měla být uspořádána všechna výrobní a skladovací zařízení. Tyto jednotlivé zóny jsou uvedeny rovněž ve vývojových diagramech (viz obrázky 2–4). Rozlišujeme různé prostory:

#### **Zóna 1: prostory s méně přísným hygienickým režimem**

➔ Charakteristické vlastnosti:

- Prostory přímo propojené s vnějšími prostory
- Venkovní plochy pro přijímání surovin
- Kroky ve výrobě před praním a/nebo blanšírováním
- Technické prostory

➔ Kontrolní opatření:

- Je možná přítomnost dřeva, kartonu a/nebo hlíny.
- Není třeba přístup přes hygienický zámek.
- Není prováděna regulace teploty ani řízené větrání / proudění vzduchu.

#### **Zóna 2: prostory s přísným hygienickým režimem**

➔ Charakteristické vlastnosti:

- Žádný přímý kontakt s vnějšími prostory
- Fáze výroby od praní a blanšírování až po získání hluboce zmrazené zeleniny
- Manipulace s otevřenými hluboce zmrazenými produkty například při glazování, míchání nebo balení

➔ Kontrolní opatření:

- Potřeba přístupu přes hygienický zámek (= řízený přístup do vnějšího prostředí)
- Řízené větrání / proudění vzduchu
- Doporučuje se regulace teploty.
- Kontovalo, možnost přítomnosti čistého dřeva nebo kartonu (např. oktabínů)

#### **Zóna 3: Bezpečná oblast**

➔ Charakteristické vlastnosti:

- Skladování balených sypkých nebo konečných produktů (hluboce zmrazených)
- Teplota produktu pod bodem mrazu

➔ Kontrolní opatření:

- Pouze uzavřená balení/nádoby
- Regulace teploty (teplota pod bodem mrazu)

V souvislosti s oddělením prostor ve výrobních a skladovacích zařízeních bude v jednotlivých oblastech vyžadován různý hygienický režim a kontrolní opatření, jako například:

- vyšší četnost čištění a dezinfekce,
- větší omezení obsluhy v oblasti osobní hygieny,
- vyčlenění materiálů pro konkrétní účely výroby (samozřejmě mobilní vybavení jako kontejnery, odpadové nádoby) a/nebo materiály pro čištění a dezinfekci v určité zóně,
- prevence křížové kontaminace mezi prostory s odlišnými hygienickými režimy: je nutno se zamyslet nad organizací propojení hygienických zón pro obsluhu, materiály, potravinářské výrobky, (mobilní) zařízení a vybavení a průtok vzduchu a vody ➔ tok směrem z „bezpečných prostor“ a prostor „s přísným hygienickým režimem“ do prostor „s méně přísným hygienickým režimem“ a NIKOLI naopak.

#### **Materiály přicházející do styku s potravinami a hygienická koncepce zařízení, vybavení a infrastruktury obecně**

Materiály přicházející do styku s potravinami a ta zařízení a části infrastruktury, které nepřicházejí do přímého styku s potravinami, by měly být vyrobeny z vhodných materiálů (například z nerezové oceli nebo z plastových materiálů schválených pro použití v potravinářství), jejichž používání je udržitelné, nejsou vyrobeny z porézních

nebo absorpčních materiálů a nejsou citlivé na korozi, aby se zabránilo

vytváření nik. V těchto nikách (které mají podobu například malých vrypů nebo prasklin) se může hromadit *L. monocytogenes*, a postižená část se tak může stát živnou půdou pro tento patogen. Při navrhování infrastruktury a závodu je třeba dbát na hygienické rozvržení: například povrchy by měly být hladké bez ostrých spojů, bez slepých míst v potrubí, při přepravě potravinářských výrobků by nemělo existovat žádné křížové spojení, zařízení a vybavení by mělo být instalováno v dostatečné výši od podlahy, aby se usnadnila očista a zabránilo se rozstřikování vody po podlaze, zařízení by mělo být snadno čistitelné (po demontáži). Kabely a potrubní systémy jsou citlivé na akumulaci prachu a v kombinaci s vysokou vlhkostí by se na nich / kolem nich mohly tvořit níky environmentálních patogenů. Je třeba zajistit, aby konstrukce lávek a schodů s otevřenou mřížkou nebyly umístěny nad exponovanými potravinami a/nebo vodou. Povrchy, které nepřicházejí do styku s potravinami, je nutno zahrnout do pravidelného čištění a dezinfekce (viz oddíl 2.1) a je třeba se v maximálním možném rozsahu vyhýbat horizontálním konstrukcím.

### **Systémy proudění vzduchu / větrání**

**Proudění vzduchu** mezi zónami v přísném hygienickém režimu a zónami v méně přísném hygienickém režimu se doporučuje řídit takto: Vzduch by měl proudit z čistých do znečištěných prostor, a proto se doporučuje pozitivní proud vzduchu z prostor s přísným hygienickým režimem do prostor s méně přísným hygienickým režimem. Větrací systémy včetně výparníků v mrazících tunelech je nutno udržovat a čistit podle potřeby. Je třeba posoudit, zda je nezbytné čistit vzduch pomocí filtrů. Potenciálním zdrojem kontaminace může být **zdroj vzduchu** používaného jako vstupní, a provozovatelé potravinářských podniků proto musí kontrolovat, odkud tento vzduch pochází (tj. zamezit přívodu vzduchu z technických prostor a znečištěných prostor, jako jsou například prostory sloužící k likvidaci odpadu). V případě, že je používán **stlačený vzduch** (např. pro účely optického třídění) je nezbytné používat filtry, aby se zabránilo šíření kapiček oleje z čerpacích systémů a cirkulaci mikroorganismů. Filtry je potřeba zahrnout do programu pravidelné údržby (viz oddíl 2.6), aby se zabránilo tvorbě nik s výskytem *L. monocytogenes*.

### **Mobilní zařízení**

Některé části zařízení jsou koncipovány tak, aby byly mobilní a aby je bylo možno zapojit do výrobních linek a zase je od nich odpojit v závislosti na druhu produktu (např. listová nebo hlíznatá zelenina), na míře znečištění surovin (např. přítomnost hlíny nebo písku), na potřebě dalšího třídění nebo odstraňování hmyzu, na krájecích zařízeních (např. krájení na proužky nebo na plátky) atd. V případě, že jsou části zařízení zapojeny do linky nebo jsou přemísťovány do jiné zóny v daném závodě, je třeba vyhodnotit jejich čistotu a potenciál pro křížovou kontaminaci (např. přechod z prostor s méně přísným hygienickým režimem do prostor s přísným hygienickým režimem, cirkulace osob a materiálů) a je třeba provést kontrolu před uvedením do provozu. Menší (monitorovací) zařízení (např. teploměry, měřiče ATF) pohybující se v rámci daného zařízení mohou způsobit křížovou kontaminaci a je třeba je používat jen ke konkrétnímu vyhrazenému účelu (např. nepřesunovat je z méně přísného hygienického režimu do přísného hygienického režimu, případně, jak stanoví doporučení správné praxe, vyhradit je jen pro konkrétní zónu/oblast dané továrny).

## **2.6. Technická údržba**

Preventivní technická údržba, jako je například plánovaná revize a kontrola zařízení a infrastruktury, má z hlediska prevence a kontroly *L. monocytogenes* zásadní význam. Provozovatelé potravinářských podniků musí zavést plán preventivní údržby, v němž budou obsaženy následující prvky:

- Podrobný popis typu technické údržby
- Plánování v závislosti na výrobních činnostech (neorganizujte žádnou technickou údržbu během výrobních činností, abyste zabránili kontaminaci produktu)
- Potřeba kontroly před spuštěním strojů a zařízení, které nejsou využívány často (tj. v případě sezónní výroby)
- Do plánu údržby musí být zahrnuty všechny stroje a zařízení včetně větších instalací (vodovodní a čerpací systémy, mrazicí tunely atd.), které přicházejí do přímého nebo nepřímého styku s potravinářskými výrobky.

- Výměna vzduchových a vodních filtrů a kontrola biofilmu v těchto filtrových komorách
- Zařízení pro hospodaření s vodou a systémy odstraňování odpadních vod
- Organizace čištění při uvedení do provozu po technických zásazích

- Speciální uniformy a obuv pro interní a externí techniky pro jednotlivé zóny v závodě
- Vyhrazené vybavení pro údržbu a vozíky nebo mobilní zařízení s nástroji pro techniky omezené na jednotlivé zóny a hygienické režimy ve výrobním závodě

Je třeba organizovat pravidelné hygienické kontroly (např. 3–4krát ročně) s cílem identifikovat další místa kontaminace, jako jsou praskliny, vrypy a koroze, u nichž je nutný technický zásah.

## 2.7. Kontrola odpadů

Potravinový odpad se člení do více stupňů, a pokud jsou potravinové toky součástí potravinového/krmivového řetězce, je třeba dodržovat vhodný hygienický a bezpečnostní režim a omezení. Během veškerých výrobních a skladovacích činností je třeba zabránit křížové kontaminaci mezi „potravinami“ a „odpadem“. Provozovatel potravinářského podniku musí určit, jak postupovat v případě, kdy se potravinářské výrobky nacházejí na podlaze (např. v případě přetížených dopravních pásů, kdy výrobky padají na zem), aby se zabránilo křížové kontaminaci potravin *L. monocytogenes*, usazenou v odtocích kanalizace nebo na podlaze. Důrazně se doporučuje, aby uvedené výrobky již nebyly použity jako „potraviny“ a využily se pro výrobu krmiv s výjimkou toho, když k dané situaci dojde na samém počátku výrobního procesu, když produkty z pole vstupují do výrobních zařízení (v prostorách s méně přísným hygienickým režimem).

Odpadkové koše, kontejnery na odpad a pojízdné systémy sběru odpadu musí být v dobrém stavu (viz bod 2.5 a 2.6) a musí být zahrnuty do plánu čištění a dezinfekce (viz bod 2.1). Jsou zahrnuty do požadavků na obsluhu v rámci pracovní metodiky, aby se zabránilo stěhování kontejnerů na odpad přes různé oblasti a tím i šíření *L. monocytogenes* ve výrobním prostředí (viz oddíl 2.9). Kontejnery musí být vyhrazeny pouze pro určitou funkci (např. přijímání výrobků, přepracování, odstraňování krmiv, odpad) a musí být od sebe jasně odlišeny (např. barevné kódování, označování, štítky).

## 2.8. Kontrola surovin a výběr dodavatelů

Minimalizace pravděpodobnosti, že suroviny (jako je například zelenina z pole), polotovary (například předčištěná a předepraná zelenina) a přísady (např. předvařená rýže, ryby nebo masné výrobky, koření atd.) budou kontaminovány již při dodání, představuje preventivní opatření k omezení přítomnosti *Listeria monocytogenes* při výrobě hluboce zmrazené zeleniny.

V závislosti na povaze příchozích produktů může docházet k několika druhům kontaminace:

- **Suroviny z pole, jako je například syrová zelenina**, mohou obsahovat *L. monocytogenes* již při příjezdu do továrny → rizikové faktory kontaminace může představovat přítomnost hlíny a kontejnery používané při přepravě. Pokud dochází k chlazení produktů již na poli nebo v zemědělském podniku, může potenciálně dojít ke kontaminaci související s vlhkostí (např. při aplikaci chladicí vody, rozstřikováním kapiček studené vody s cílem snížit teplotu produktů)
- **Polotovary (např. předčištěné suroviny, které jsou omyté, oloupané a nakrájené, jako například mrkev a cibule)** → tyto produkty pocházejí z jiných zpracovatelských zařízení a mohou být kontaminovány při zpracování nebo křížově kontaminovány z nádob, ve kterých jsou přepravovány. Nesprávná teplota může podporovat růst *L. monocytogenes*.
- **Přísady** (např. hluboce zmrazená zelenina, ryby, maso, rýže, sušené výrobky atd.) → mohou být kontaminovány u dodavatele a začleněny do výrobního procesu provozovatele potravinářského podniku.
- **Obalové materiály** (např. primární materiály, materiál použitý při skladování – např. velké pytle, kontejnery na sypané materiály) → jsou méně citlivé na kontaminaci bakterií *Listeria monocytogenes*, ale musí být čisté, bez prachu a je třeba je chránit před křížovou kontaminační příjezdou.
- **Technické pomůcky** (např. prostředky na dezinfekci vody, odpěňovače používané v mycích nádržích atd.) nebo přísady → jsou méně citlivé na kontaminaci *L. monocytogenes*, ale musí být skladovány/distribuovány v čistých nádržích/nádobách, aby se zabránilo zanesení křížové kontaminace

do prostředí továrny.

- **Voda** ➔ viz oddíl 2.2

Důležitým krokem, který pomáhá zabránit potenciální kontaminaci, je výběr dodavatelů a komunikace s dodavateli ohledně přítomnosti *L. monocytogenes* v souvislosti s konkrétní surovinou. Vzhledem k povaze různých surovin však nebude možné dosáhnout toho, aby byly suroviny prosté všech listérií, neboť u většiny surovin používaných v tomto odvětví se při výrobě nebo zpracování neprovádí listericidní kontrolní opatření (jako je například pasterizace nebo sterilizace). Proto je nutné provádět důkladný výběr dodavatelů včetně následujících kontrolních opatření:

- vypracovat postupy pro výběr a schvalování dodavatelů,
- navazovat (dlouhodobé) vztahy s dodavateli,
- provádět pravidelné audity na místě s cílem zajistit, aby dodavatelé měli zavedeny spolehlivé systémy řízení bezpečnosti potravin, prováděli správnou praxi a uplatňovali obecná hygienická pravidla s cílem zabránit kontaminaci *L. monocytogenes*,
- brát v potaz, zda je dodavatel z EU nebo ze země mimo EU (v zemích mimo EU mohou platit jiné právní předpisy).

V případě syrové zeleniny dovážené z pole lze předpokládat environmentální kontaminaci bakteriemi *Listeria* spp. nebo případně *L. monocytogenes*. Tito dodavatelé (prvovýroba) však musí kontrolovat potenciální dodatečnou kontaminaci a vyhnout se používání znečištěných kontejnerů/krabic/nádob, znečištěného materiálu a vybavení pro sklizeň, kontaminovaných vodních zdrojů a případně předcházet tvorbě biofilmu v chlazených skladovacích a zvlhčovacích prostorách. Všechna tato opatření musí být součástí jejich osvědčených zemědělských postupů a musí být zaměřena na minimalizaci mikrobiologické kontaminace v prvovýrobě. Zemědělcům se doporučuje postupovat podle dokumentu „Oznámení Komise o pokynech pro řešení mikrobiologických rizik u čerstvého ovoce a zeleniny v prvovýrobě prostřednictvím správné hygieny“ (oznámení Komise C163/2017), v němž je uvedena řada postupů správné zemědělské a hygienické praxe s cílem zabránit mikrobiologické kontaminaci na úrovni hospodářství a během prvních činností po sklizni nebo ji minimalizovat.

Testování jedné šarže surovin na přítomnost *L. monocytogenes* (= odběr vzorků z šarží) má omezenou hodnotu při stanovení přijatelnosti této šarže a nemůže nahradit další programy PNP a HACCP při ochraně před *L. monocytogenes* ve výrobním procesu daného provozovatele potravinářského podniku (dále viz oddíl 5.1). Základní hodnota testování surovin tvoří součást vybudované historie a umožňuje sledovat dodavatele v rámci hodnocení/ověřování dodavatelů. Proto NENÍ testování surovin a kontrola šarží vhodným opatřením pro regulaci *L. monocytogenes*.

## 2.9. Metodika práce

V neposlední řadě bude mít pro každodenní prevenci a regulaci šíření bakterie *Listeria monocytogenes* a potenciální tvorby biofilmu/nik ve výrobním prostředí zásadní význam metodika práce, organizace výrobního procesu a systém řízení zavedený v daném závodě. Při prevenci a ochraně před *L. monocytogenes* jsou obzvláště důležité následující aspekty:

### Čistota

Továrna a její okolí musí být uklizené a čisté. Výrobky, které se hromadí podél zpracovatelské linky (např. na pásových dopravnících, v mrazicím tunelu) lze okamžitě odebrat a není nutné, aby se hromadily až do provedení pravidelného čištění a dezinfekce. Je důležité řídit se zásadou průběžného vizuálního úklidu, což znamená časté odstraňování materiálu z dopravníků, zpracovatelských zařízení, podlah atd., protože to snižuje celkovou zátěž v celém závodě.

### Angažovanost a informovanost vedení a personálu

Vedení závodu musí identifikovat **zaměstnance na klíčových pozicích** v jednotlivých oblastech/zónách, kteří budou denně provádět a kontrolovat nezbytné předpoklady, PPNP a kritické kontrolní body (viz oddíl 3 na

základě plánu HACCP). Všichni pracovníci (včetně technických pracovníků a dočasného personálu) musí být **informováni a vyškoleni** v oblasti regulace bakterie *Listeria monocytogenes* (jak je uvedeno v oddíle 2.4). Vedení musí **přidělit zdroje** (tj. peníze, čas,

personál, odborné znalosti) na odběr vzorků z prostředí, investice do infrastruktury a údržby, úpravu vody apod., které umožňují prevenci a ochranu před bakterií *Listeria monocytogenes*.

#### ***Organizace výrobního procesu hluboce zmrazené zeleniny***

Produkce hluboce zmrazené zeleniny je silně závislá na sezónní dostupnosti syrové zeleniny. Vrcholy produkce se kryjí s obdobím sklizně zpracovávané komodity. Závod musí být uspořádán v souladu s touto skutečností z hlediska:

- dostupnosti vybavení a zařízení (aby bylo připraveno a instalováno veškeré potřebné vybavení a zpracovatelské linky),
- času vyčleněného na odstávky výroby pro účely čištění a dezinfekce (viz oddíl 2.1),
- dostupnosti personálu,
- dostupnosti vody
- atd.

V provozu může být několik zpracovatelských linek a produktů současně, což může přispět k vyššímu potenciálu křízové kontaminace mezi linkami, personálem a produkty. Doporučuje se výrobu dobře zorganizovat tak, aby byl minimalizován pohyb personálu a zařízení mezi jednotlivými prostorami a linkami. Je třeba zavést občasné odstávky výrobních linek v nepřetržitém provozu s cílem umožnit občasné čištění a očistu a vyprázdnění mrazicího tunelu vzduchem s cílem odstranit nahromaděné produkty, zbytky produktů apod.

Výrobní proces je většinou kontinuální počínaje surovinami až po velké objemy hluboce zmrazených produktů. **Zásada pohybu produktu kupředu** zpravidla nepředstavuje problém. Je však třeba kontrolovat pohyb pohyblivých zařízení, personálu a pohyblivého vybavení, zejména pokud dochází k přechodům z prostor s méně přísným hygienickým režimem do prostor s přísným hygienickým režimem.

Všechny kroky výrobního procesu musí mít své pokyny pro pracovníky ohledně toho, co dělat a co nedělat v oblasti výrobních činností, hygienických pravidel, kroků v oblasti bezpečnosti potravin, kontroly jakosti, které mají být prováděny atd. Proto je nutno zavést vhodný **systém dokumentace** se snadno srozumitelnými a snadno přístupnými pokyny a postupy.

#### ***3. HACCP (= plán analýzy rizik a kritické kontrolní body)***

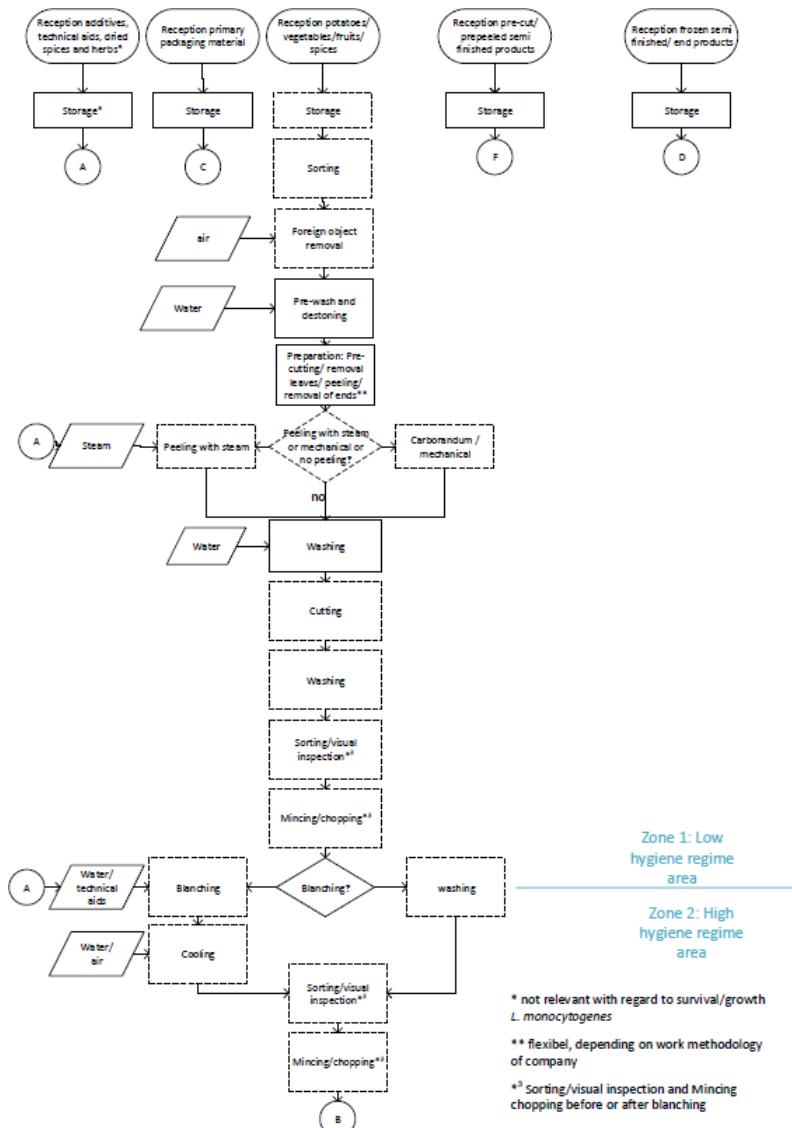
Bakterii *L. monocytogenes* v závodech na výrobu a skladování hluboce zmrazené zeleniny musí řešit nejen programy PNP, ale rovněž plán HACCP s cílem zjistit, kde v celém procesu dochází k potenciálnímu výskytu, akumulaci nebo růstu tohoto nebezpečí nebo kde je možné jeho snížení. V případě plánu HACCP je dodržována struktura a metodika uvedená ve sdělení Komise EU k provádění systémů řízení bezpečnosti potravin (C278/2016). Na obrázcích 2, 3 a 4 je znázorněn vývojový diagram, který popisuje jednotlivé kroky tohoto procesu.

**Poznámka 1:** Tento plán HACCP lze použít jako výchozí bod pro vlastní plán HACCP dané společnosti, případně pro revizi jejího stávajícího plánu. Je nezbytné přizpůsobit tento plán na míru dané společnosti přizpůsobením postupu výroby, konkrétního vybavení, informací o potvrzování a rozměrech výrobních linek atd.

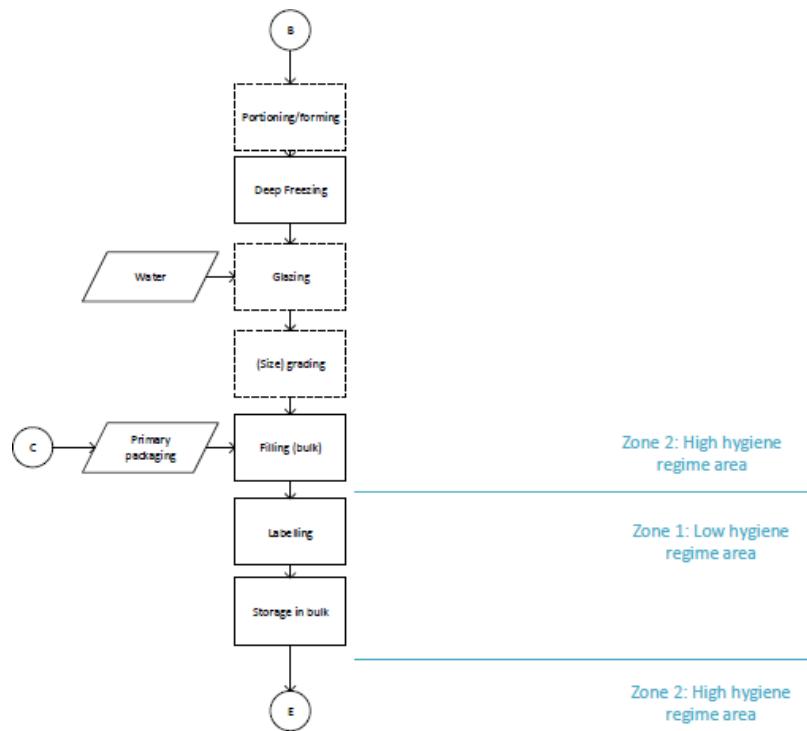
**Poznámka 2:** Plán je zaměřen na rozpoznávání nebezpečí, preventivní opatření, hodnocení nebezpečnosti (PxR=E=R) a také na definování potenciálních kritických kontrolních bodů, PPNP nebo PNP a rizika bakterie *Listeria monocytogenes*. Ostatními částmi plánu HACCP (tj. potvrzování, ověřování, dokumentace) se tyto pokyny podrobněji nezabývají. Nejsou do nich zahrnuta ani další nebezpečí (tj. jiná mikrobiologická, chemická a fyzikální nebezpečí), která musí provozovatel potravinářského podniku dále analyzovat. Proto se lze řídit sdělením Komise EU o řízení bezpečnosti potravin (C278/2016).

**Poznámka 3:** Tyto pokyny se vztahují na zmrazenou zeleninu považovanou za potravinu, která není určena k přímé spotřebě. Provozovatelé potravinářských podniků, kteří mají v úmyslu uvádět na trh zmrazenou zeleninu jako potravinu určenou k přímé spotřebě, by měli dodržovat i další preventivní a kontrolní opatření k zajištění bezpečnosti výrobků určených k přímé spotřebě, která však nejsou součástí předloženého plánu HACCP.

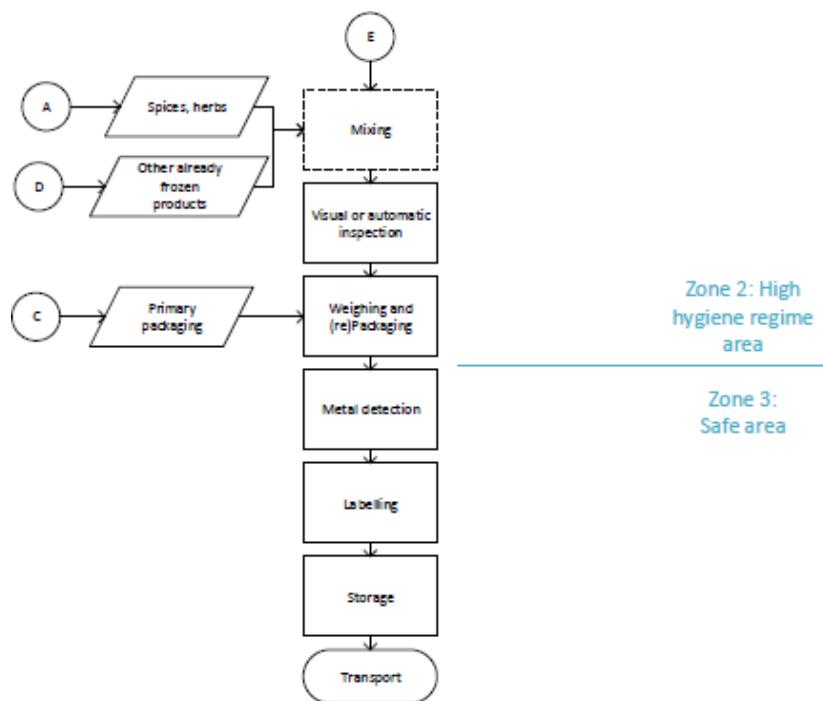
Tabulka 2 uvádí identifikaci nebezpečí po jednotlivých krocích procesu, přidává k nim zjištěná kontrolní opatření, odhad pravděpodobnosti (P) a účinku (E) na lidské zdraví a přiřazuje k nim riziko (R). Konečně je pak přidělen PNP, PPNP nebo kritický kontrolní bod v závislosti na přiřazené úrovni rizika. Tabulka 3 uvádí příklady monitorovacích tabulek, v nichž jsou uvedena monitorovací a nápravná opatření, která mají být provedena.



Obrázek č. 2. Vývojový diagram výroby hluboce zmrazené zeleniny – část 1



Obrázek č. 3. Vývojový diagram výroby hluboce zmrazené zeleniny – část 2



Obrázek č. 4. Vývojový diagram výroby hluboce zmrazené zeleniny – část 3



Tabulka 2: Identifikace nebezpečí, preventivní/kontrolní opatření, pravděpodobnost (P), účinek (E), riziko (R) a přiřazení PNP, PPNP nebo kritického kontrolního bodu						
Identifikace nebezpečí	Preventivní/kontrolní opatření	P	E	R	Motivace	PNP/PPNP/kritický kontrolní bod
<b>Příjem a skladování surovin, polotovarů, hluboce zmrazených surovin a vody (zóna 1: oblast s méně přísným hygienickým režimem) – obr. 2</b>						
<i>L. monocytogenes</i> přítomná v surovinách pocházejících z pruvovýroby (pole) (zelenina)	Zásady výběru dodavatele / nákupu: <ul style="list-style-type: none"><li>• Správná zemědělská praxe</li><li>• Čištění a dezinfekce zařízení/nádob</li><li>• Kontrola biofilmu v případě skladování v chladu / zvlhčování produktů</li></ul>	1	3	3		PNP – surovina (oddíl 2.8)
<i>L. monocytogenes</i> přítomná v polotovarech (předčištěná zelenina) a případách (hluboce zmrazené produkty)	Zásady výběru dodavatele/nákupu: <ul style="list-style-type: none"><li>• Správná hygienická praxe a HACCP</li><li>• Dodavatel má zaveden propracovaný plán regulace bakterie <i>Listeria monocytogenes</i></li><li>• Čisté nádoby při příjezdu</li><li>• Správná teplota chlazení při příjezdu</li></ul>	2	3	4		PNP – surovina (oddíl 2.8)  PNP – metodika práce (oddíl 2.9): vstupní kontrola při příjezdu
Voda kontaminovaná <i>L. monocytogenes</i>	Výběr vhodných vodních zdrojů, pravidelné kontroly kvality vody	1	3	3		PNP – voda (oddíl 2.2)
Kontaminace <i>L. monocytogenes</i> z přijímacích a skladovacích prostor	<ul style="list-style-type: none"><li>• Regulace teploty v případě skladování v chlazeném nebo hluboce zmrazeném stavu</li><li>• Regulace času a zásady FIFO pro (chlazené) výrobky</li><li>• Čištění a dezinfekce skladovacích prostor/zařízení Technická údržba skladovacích prostor</li></ul>	2	3	4		PNP – regulace teploty (oddíl 2.3) PNP – metodika práce (oddíl 2.9) PNP – čištění a dezinfekce (oddíl 2.1)  PNP – infrastruktura (oddíl 2.5)
Případy, technické pomůcky, sušené koření a bylinky, obalové materiály → nejsou relevantními zdroji <i>L. monocytogenes</i> .						

<b>Třídění, odstraňování cizích předmětů, předmývání / odstraňování kamenů, příprava, postup mytí, krájení, třídění / vizuální kontrola, loupání, mletí a sekání (zóna 1: prostory s méně přísným hygienickým režimem) – obr. 2</b>						
Kontaminace prostřednictvím výrobního prostředí, vybavení, nástrojů	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Program čištění a dezinfekce</li> <li>• Technická údržba včetně kontrol před zahájením provozu v případě sezonného využívání zařízení/vybavení</li> <li>• Infrastruktura</li> </ul>	1	3	3	Na/v zařízení se mohou tvořit biofilmy; P=1: zóna 1:	PNP – čištění a dezinfekce (oddíl 2.1) PNP – technická údržba (oddíl 2.6) PNP – infrastruktura (oddíl 2.5)
Kontaminace prostřednictvím obsluhy	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Školení a informovanost personálu</li> <li>• Infrastruktura: hygienické zámky mezi jednotlivými prostory</li> </ul>	1	3	3	P=1, stále v prostoru s méně přísným hygienickým režimem	PNP – personál (oddíl 2.3) PNP – infrastruktura (oddíl 2.5)
Kontaminovaný vzduch užívaný k odstraňování cizích předmětů a/nebo v mycích nádržích k vytvoření mycích systémů typu „jacuzzi“	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Vhodné filtry a čištění filtrů a výparníků</li> <li>• Kontrola, odkud je vzduch nasáván</li> </ul>	1	3	3	P=1, stále v prostoru s méně přísným hygienickým režimem	PNP – infrastruktura – regulace vzduchu (oddíl 2.5)
Kontaminovaná voda a tvorba biofilmů v mycí nádrži (pro jednotlivé kroky mytí)	Hospodaření s vodou: <ul style="list-style-type: none"> <li>• čištění a dezinfekce soustavy trubek a mycí nádrže (a jiných mycích zařízení, jako jsou například pádla a otočné bubny)</li> <li>• Časté vyměňování vody a/nebo doplňování vodních nádrží</li> <li>• Recyklace a/nebo čištění vody v případě potřeby</li> </ul>	1	3	3	P=1, stále v prostoru s méně přísným hygienickým režimem	PNP – čištění a dezinfekce (oddíl 2.1) PNP – hospodaření s vodou (oddíl 2.2)
		2*	3	4	*P = 2, v případě neblanšírovaných produktů (např. pórk, cibule)	PPNP 1: kontaminace vodou v mycích nádržích v případě neblanšírovaných produktů

Využívání kontaminované vody pro přípravu páry v případě loupání pomocí páry	Správná úprava vody s cílem zabránit kontaminaci	1	3	3	P=1, stále v prostoru s méně přísným hygienickým režimem PNP – čištění a dezinfekce (oddíl 2.1) PNP – hospodaření s vodou (oddíl 2.2)
--	--	---	---	---	---

<b>Blanšírování (zóna 1–2) – obr. 2</b>	Poznámka: v případě zeleniny, u které není prováděno blanšírování, bude tento krok výroby dalším krokem při praní, protože produkty se zpracovávají na stejných zpracovatelských linkách.	<p>Blanšírování je tepelné zpracování a technologický krok zaměřený na deaktivaci enzymů s cílem stabilizovat hluboce zmrazenou zeleninu během dlouhodobého skladování v teplotách pod bodem mrazu. Některé komodity se blanšírují, jiné nikoli; to do značné míry závisí na rozhodnutích daného provozovatele potravinářského podniku, požadavcích zákazníků apod.</p> <p>Blanšírování se provádí především ponořením produktů do horké vody nebo páry. Teploty se mohou pohybovat mezi 65 a 110 °C a jsou udržovány po určitou dobu (1–10 minut v závislosti na komoditě, velikosti kusů zeleniny, sezonní variabilitě atd.) → kombinace času a teploty závisí na době potřebné pro inaktivaci enzymů polyfenoloxidázy (POD) a peroxidázy (PPO). Některé produkty blanšírovat nelze z důvodu škodlivých účinků na jejich jakost (např. cibule nebo pórek).</p> <p>a: Blanšírování bude mít za následek snížení množství mikrobiální flóry v zelenině (v současné době označované také jako „mikroflóra“), ačkoli jeho cílem není odstranění patogenů jako <i>L. monocytogenes</i> nebo jejich omezení na přijatelné množství podle definic kritického kontrolního bodu v HACCP. Blanšírování proto NENÍ považováno za kritický kontrolní bod při eliminaci bakterie <i>Listeria monocytogenes</i> a úplné pasterizaci (tj. omezení <i>L. monocytogenes</i> o 6 log).</p>				
Doba/teplota blanšírování je příliš krátká/nízká, takže se <i>Listeria monocytogenes</i> může ve vodě/produktu šířit.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Monitorování doby a teploty kroku blanšírování</li> <li>• Ověřit destrukci enzymů prostřednictvím enzymatických testů</li> </ul>	2	3	4	viz a	PPNP 2: proces blanšírování, čas/teplota
Kontaminace prostřednictvím výrobního prostředí, vybavení, nástrojů	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Program čištění a dezinfekce</li> <li>• Technická údržba</li> <li>• Infrastruktura</li> </ul>	2	3	4	P = 2 vzhledem k přesunu do prostoru s přísným hygienickým režimem	PNP – čištění a dezinfekce (oddíl 2.1) PNP – technická údržba (oddíl 2.6) PNP – infrastruktura (oddíl 2.5)
Kontaminace prostřednictvím obsluhy	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Školení a informovanost personálu</li> <li>• Infrastruktura: hygienické zámky mezi jednotlivými prostory</li> </ul>	2	3	4	P = 2 vzhledem k přesunu do prostoru s přísným hygienickým režimem	PNP – personál (oddíl 2.3) PNP – infrastruktura (oddíl 2.5)
Použití kontaminované vody/páry – recyklace vody	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Čištění a dezinfekce soustavy trubek</li> <li>• Rozhodnutí o recyklaci vody při blanšírovacích krocích</li> <li>• Sledování potenciální kontaminace vody a potřeby dezinfekce vody</li> </ul>	2	3	4	P = 2 vzhledem k přesunu do prostoru s přísným hygienickým režimem	PNP – čištění a dezinfekce (oddíl 2.1) PNP – hospodaření s vodou (oddíl 2.2)
<b>Chlazení (zóna 2: přísný hygienický režim) – obr. 2</b>						

Růst <i>L. monocytogenes</i> v případě příliš pomalého chlazení (v případě přežití po	• Monitorování času /teploty chlazení	2	3	4	viz b	PPNP 3: sledování teploty chladící vody
---	---------------------------------------	---	---	---	-------	---

blanšírování nebo na základě následné kontaminace po blanšírování)	<ul style="list-style-type: none"> <li>Dodržujte kapacitu chlazení – objem produktů, které mohou projít krokem chlazení</li> <li>Prozkoumejte potřebu dezinfekce vody s cílem předejít růstu bakterií v chladicí vodě</li> </ul>					
Kontaminace prostřednictvím výrobního prostředí, vybavení, nástrojů	<ul style="list-style-type: none"> <li>Program čištění a dezinfekce</li> <li>Technická údržba</li> <li>Infrastruktura</li> </ul>	2	3	4	P = 2, prostory s přísným hygienickým režimem	PNP – čištění a dezinfekce (oddíl 2.1) PNP – technická údržba (oddíl 2.6) PNP – infrastruktura (oddíl 2.5)
Kontaminace prostřednictvím obsluhy	<ul style="list-style-type: none"> <li>Školení a informovanost personálu</li> <li>Infrastruktura: hygienické zámky mezi jednotlivými prostory</li> </ul>	2	3	4	P = 2, prostory s přísným hygienickým režimem	PNP – personál (oddíl 2.3) PNP – infrastruktura (oddíl 2.5)
Křížová kontaminace kontaminovanou vodou	<ul style="list-style-type: none"> <li>Čištění a dezinfekce soustavy vodovodních potrubí</li> <li>Posouzení potřeby přidání dezinfekčního prostředku jako technologické pomůcky pro zachování kvality vody</li> <li>Posouzení objemu vody přidané do chladicích nádrží s cílem vyměnit chladicí vodu</li> </ul>	2	3	4	P=2, protože se jedná o zónu 2	PNP – čištění a dezinfekce (oddíl 2.1) PNP – hospodaření s vodou (oddíl 2.2)
b Obvykle je vhodné snížení teploty produktu pod 10 °C za 1 min, maximálně 2 min. (EFSA, 2018b). Neponechávejte jej v teplotním rozmezí mezi 50 °C a 10 °C						
<b>Třídění / vizuální kontrola, mletí/sekání, porcování/tváření – třídění podle velikosti po zmrazení (zóna 2: přísný hygienický režim) – obr. 2/3</b>						

Kontaminace z výrobního prostředí, zařízení, nástrojů a potravinářských produktů, které jsou na základě optického/vizuálního třídění vyčleněny jako odpad	<ul style="list-style-type: none"><li>• Program čištění a dezinfekce</li><li>• Technická údržba</li><li>• Infrastruktura</li></ul>	2	3	4	P = 2, prostory s přísným hygienickým režimem	PNP – čištění a dezinfekce (oddíl 2.1) PNP – technická údržba (oddíl 2.6) PNP – infrastruktura (oddíl 2.5) PNP – odpad (oddíl 2.7)
---	--	---	---	---	---	---

	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Správný sběr odpadu nebo odstranění vytříděných produktů</li> </ul>					
Kontaminace prostřednictvím obsluhy	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Školení a informovanost personálu</li> <li>• Infrastruktura: hygienické zámky mezi jednotlivými prostory</li> </ul>	2	3	4	P = 2, prostory s přísným hygienickým režimem	PNP – personál (oddíl 2.3) PNP – infrastruktura (oddíl 2.5)
Křížová kontaminace ze zóny 1	<p>Pracovní metodika s cílem zabránit křížové kontaminaci:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• oddělené nástroje /vybavení pro různé zóny</li> <li>• Odpadkové nádoby na sběr vytříděných potravinových produktů</li> </ul>	2	3	4	P = 2, prostory s přísným hygienickým režimem	PNP – metodika práce (oddíl 2.9):
<b>Hluboké zmrazení / glazování (zóna 2: přísný hygienický režim) – obr. 3</b>						
Příliš pomalé zmrazování nebo výkyvy teploty v mrazicím zařízení, což vede k růstu/kontaminaci <i>L. monocytogenes</i> – na teploty < -18 °C	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Potvrzování a monitorování doby a teploty mrazení</li> <li>• Doba/teplota/cykly mrazení, které je nutno definovat pro každou skupinu produktů (v závislosti na povaze zeleniny, její velikosti apod.)</li> </ul>	2	3	4	Viz c	PPNP 4: doba/teplota mrazení
Kontaminace zevnitř mrazicího tunelu / mrazicího zařízení (např. tvorba biofilmu, odkapávání)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Čištění a dezinfekce mrazicího tunelu, dopravníkových pásů, instalací</li> <li>• Hygienické uspořádání (včetně proudění vzduchu)</li> </ul>	2	3	4	P=2, přísný hygienický režim	PNP – čištění a dezinfekce (oddíl 2.1) PNP – infrastruktura (oddíl 2.5)

Znečištěný vzduch (např. proudové mrazicí zařízení)	<ul style="list-style-type: none"><li>• Kontrola původu vzduchu</li><li>• Čištění a dezinfekce, vhodné filtry a čištění filtrů a odpařovačů</li></ul>	2	3	4	P=2, přísný hygienický režim	PNP – čištění a dezinfekce (oddíl 2.1) PNP – infrastruktura (oddíl 2.5)
---	---	---	---	---	------------------------------	--

Kontaminovaná voda používaná ke glazování	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Čištění a dezinfekce soustavy trubek/výparníku/trysky</li> <li>• Použití vody v pitné kvalitě</li> </ul>	2	3	4	P=2, přísný hygienický režim	PNP – čištění a dezinfekce (oddíl 2.1) PNP – hospodaření s vodou (oddíl 2.2)
c Vzhledem k tomu, že <i>L. monocytogenes</i> není při blanširování zcela odstraněna a může dojít ke křížové kontaminaci, je nanejvýš důležité, aby v mrazicím zařízení nedocházelo k žádnému růstu.						
<b>Plnění ve velkých objemech (zóna 2–1: z přísného hygienického režimu do méně přísného režimu u zavřených balení) – obr. 2</b>						
Kontaminovaný obalový materiál	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Zásady nákupu</li> <li>• Čisté a suché skladovací prostředí</li> <li>• V případě opakované použitelných materiálů: řádná očista</li> </ul>	2	3	4	P=2, přísný hygienický režim vzhledem k přímému kontaktu obalového materiálu s hluboce zmrazeným produktem	PNP – kontrola surovin (oddíl 2.8) PNP – infrastruktura (oddíl 2.5) PNP – čištění a dezinfekce v případě opakované použitelných materiálů (bod 2.1)
Kontaminace prostřednictvím výrobního prostředí, zařízení, nástrojů → používání velkoobjemových kontejnerů, které jsou přepravovány z místa na místo a uváděny do přísného hygienického režimu	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Program čištění a dezinfekce</li> <li>• Infrastruktura</li> <li>• Metodika práce pro velkoobjemové kontejnery (návod k použití)</li> </ul>	2	3	4	P = 2, prostory s méně přísným hygienickým režimem	PNP – čištění a dezinfekce (oddíl 2.1) PNP – infrastruktura (oddíl 2.5) PNP – metodika práce (oddíl 2.9):
Kontaminace prostřednictvím obsluhy	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Školení a informovanost personálu</li> <li>• Infrastruktura: hygienické zámky mezi jednotlivými prostory</li> </ul>	2	3	4	P = 2, prostory s přísným hygienickým režimem	PNP – personál (oddíl 2.3) PNP – infrastruktura (oddíl 2.5)
Potenciální růst <i>L. monocytogenes</i> v případě kolísání teploty produktů, případně přerušení toku do zásobníku v mrazicím zařízení z toho důvodu, že v příslušné části závodu není sledována regulace teploty	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Metodika práce: instrukce týkající se nepřetržité přepravy z velkoobjemových kontejnerů naplněných hluboce zmrazenou zeleninou směrem k mrazicímu zařízení; těsné uzavření velkoobjemových kontejnerů</li> <li>• V případě přerušení práce → je nutno přjmout</li> </ul>	2	3	4	P = 2, důležité z hlediska zamezení růstu a šíření	PNP – metodika práce (oddíl 2.9):

	nápravná opatření týkající se produktů (měření teploty, odběr vzorků z produktů pro uvolňování jednotlivých šarží).				
<b>Hromadné označování a skladování (zóna 3: bezpečná oblast) – obr. 2</b>					

Nesprávná doba použitelnosti / nesprávný kód produktu	<ul style="list-style-type: none"> <li>Metodika práce: doba použitelnosti bude důležitá pro identifikaci a sledovatelnost</li> </ul>	1	3	3	Teploty jsou příliš nízké, než aby umožňovaly růst <i>L. monocytogenes</i> (hluboce zmrazené)	PNP – metodika práce (oddíl 2.9):
Poškození a kontaminace produktu <i>L. monocytogenes</i> při skladování (např. odkapávání)	<ul style="list-style-type: none"> <li>Udržujte skladovací prostory v dobrém stavu.</li> <li>Metodika práce: Balíky se nesmějí nacházet na podlaze a nesmějí být otevřené.</li> <li>Pravidelné čištění a dezinfekce</li> </ul>	1	3	3	Produkt je zabalen a hluboce zmrazen. (zóna 3)	PNP – infrastruktura (oddíl 2.5) PNP – metodika práce (oddíl 2.9), PNP – čištění a dezinfekce (oddíl 2.1)
Růst <i>L. monocytogenes</i> v případě nesprávné teploty	<ul style="list-style-type: none"> <li>Monitorování skladovací teploty a doby skladování</li> <li>Metodika práce: zásada FIFO</li> </ul>	2	3	4		PNP – regulace teploty (oddíl 2.4) PNP – metodika práce (oddíl 2.9)
<b>Míchání s kořením / bylinkami / jinými hluboce zmrazenými výrobky a (vizuální/automatická) kontrola a převážení/přebalení (zóna 2: přísný hygienický režim) – obr. 4</b>						
Kontaminace při otevírání velkoobjemových balení	<ul style="list-style-type: none"> <li>Metodika práce: hygienicky otevřít obaly (velkoobjemové kontejnery s hluboce zmrazenou zeleninou nebo nádoby od dodavatelů s přísadami), aby se zabránilo kontaktu prachu nebo vnějších vrstev obalových materiálů s hluboce zmrazenou zeleninou</li> </ul>	2	3	4	P=2, přísný hygienický režim a otevírání obalů	PNP – metodika práce (oddíl 2.9):
Kontaminovaný obalový materiál	<ul style="list-style-type: none"> <li>Zásady nákupu</li> <li>Čisté a suché skladovací prostředí</li> <li>V případě opakovaně použitelných materiálů: řádná očista</li> </ul>	2	3	4	P=2, přísný hygienický režim vzhledem k přímému kontaktu obalového materiálu s hluboce zmrazeným produktem	PNP – kontrola surovin (oddíl 2.8) PNP – infrastruktura (oddíl 2.5) PNP – čištění a dezinfekce v případě opakovaně použitelných materiálů (bod 2.1)

Kontaminace prostřednictvím obsluhy	• Školení a informovanost personálu	2	3	4	P = 2, prostory s přísným hygienickým režimem	PNP – personál (oddíl 2.3) PNP – infrastruktura (oddíl 2.5)
-------------------------------------	-------------------------------------	---	---	---	---	---

	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Infrastruktura: hygienické zámky mezi jednotlivými prostory</li> </ul>					
Kontaminace prostřednictvím výrobního prostředí, vybavení, nástrojů	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Program čištění a dezinfekce</li> <li>• Technická údržba</li> <li>• Infrastruktura</li> </ul>	2	3	4	P = 2, prostory s přísným hygienickým režimem	PNP – čištění a dezinfekce (oddíl 2.1) PNP – technická údržba (oddíl 2.6) PNP – infrastruktura (oddíl 2.5)
Příliš dlouhá doba mimo mrazicí zařízení a příliš vysoká teplota produktu, která umožňuje růst <i>L. monocytogenes</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sledování času a teploty v tomto prostoru</li> <li>• Metodika práce: z mrazicího skladu je třeba odebírat jen omezený počet kontejnerů, aby se zabránilo zvýšení teploty výrobků.</li> <li>• V případě přerušení výroby provedte u produktu nápravná opatření, např. měření teploty a rozhodnutí, jak je třeba s produkty naložit (např. odběr vzorků ze šarží a jejich uvolnění k dalšímu zpracování).</li> </ul>	2	3	4	P = 2, prostory s přísným hygienickým režimem	PNP – regulace teploty (oddíl 2.4) PNP – metodika práce (oddíl 2.9)
<b>Detekce kovů / označování/ skladování /přeprava (zóna 3: uzavřená balení v bezpečném prostoru) – obr. 4</b>						
Nesprávná doba použitelnosti / nesprávný kód produktu	Metodika práce: doba použitelnosti bude důležitá pro identifikaci a sledovatelnost.	1	3	3	Teploty jsou příliš nízké pro růst <i>L. monocytogenes</i> (v hluboce zmrazeném stavu).	PNP – metodika práce (oddíl 2.9):
Poškození a kontaminace produktu <i>L. monocytogenes</i> při skladování (např. odkapávání)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Udržujte skladovací prostory a dopravní prostředky v dobrém stavu.</li> <li>• Metodika práce: Balíky se nesmí nacházet na podlaze a nesmí být</li> </ul>	1	3	3	Produkt je zabalen a hluboce zmrazen. (záona 3)	PNP – infrastruktura (oddíl 2.5) PNP – metodika práce (oddíl 2.9), PNP – čištění a dezinfekce (oddíl 2.1)

	<ul style="list-style-type: none"><li>• otevřené.</li><li>• Pravidelná očista</li></ul>				
--	---	--	--	--	--

Růst <i>L. monocytogenes</i> v případě nesprávné teploty	<ul style="list-style-type: none"> <li>Monitorování skladovací teploty a doby skladování (i během přepravy)</li> <li>Metodika práce: zásada FIFO</li> </ul>	2	3	4		PNP – regulace teploty (oddíl 2.4) PNP – metodika práce (oddíl 2.9)
--	---	---	---	---	--	---

**Tabulka 3 Monitorování a nápravná opatření pro PPNP uvedené v plánu HACCP (tabulka 2)**

Poznámka: každý provozovatel potravinářského podniku musí potvrdit, zda jsou tyto PPNP vhodné pro daný účel, a dále je přizpůsobit konkrétnímu způsobu výroby dané společnosti.

PPNP nebo kritic ký kont rolní bod	Krok ve výrobním procesu	Cíl	Potvrzování	Monitorov ání	Nápravná opatření
PPNP 1	Kontaminovaná voda a tvorba biofilmů v mycí nádrži (pro jednotlivé kroky mytí) – v případě nebalanširovaných produktů	Předcházet hromadění <i>L. monocytogenes</i> v mycích nádržích	<ul style="list-style-type: none"> <li>Vyhodnoťte a definujte, jak často a/nebo v jakém objemu je třeba vyměňovat vodu v mycích nádržích.</li> <li>Vyhodnoťte a definujte podmínky pro recyklaci vody a to, zda je nezbytná úprava vody.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Sledujte stanovenou frekvenci vyměňování vody a/nebo doplňování vodních nádrží.</li> <li>V případě potřeby dodržujte stanovené podmínky pro recyklaci vody a/nebo úpravu vody (včetně dezinfekce vody).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Vyměňujte a doplňujte vodu ve vodních nádržích.</li> <li>Revidujte podmínky recyklace vody a/nebo úpravy vody.</li> </ul>

PPNP 2	Blanšírování zeleniny	Doba/teplota blanšírování je příliš krátká/nízká, takže se <i>Listeria monocytogenes</i> může ve vodě/produktu šířit.	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Vyhodnoťte a definujte, zda teplota/čas může umožnit růst nebo šíření <i>L. monocytogenes</i> v průběhu procesu blanšírování pro jednotlivé produkty, řezy, roční období atd.</li> </ul>	Sledujte dobu blanšírování / teplotu podle potvrzeného času / teploty pro jednotlivé produkty, řezy, roční období atd.	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Pokud doba a teplota blanšírování nesplňují stanovená kritéria, je třeba vyhodnotit možný růst <i>L. monocytogenes</i>.</li> <li>– V případě možného růstu je třeba provést výměnu nebo ošetření blanšírovací vody a odebrat vzorky, aby bylo možné vyhodnotit potenciální kontaminaci produktu.</li> </ul>
PPNP 3	Chlazení po blanšírování	Růst <i>L. monocytogenes</i> v případě příliš pomalého chlazení (v případě přežití	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Vyhodnoťte a definujte, jestli by teplota/doba chlazení mohla umožňovat růst nebo šíření <i>L.</i></li> </ul>	– Sledujte dobu a teplotu chlazení, jak je uvedeno v potvrzení.	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Pokud doba a teplota chlazení nesplňují stanovená kritéria, je třeba provést hodnocení potenciálního</li> </ul>

		po blanšírování nebo na základě následné kontaminace po blanšírování)	<i>monocytogenes</i> v průběhu chlazení po blanšírování.  – Vyhnete se ponechání v teplotním rozmezí mezi 50 °C a 10 °C sledováním teploty vody a/nebo toku produktu.  – Vyhodnoťte a určete, zda je nutno provést dezinfekci chladicí vody.	– Obvykle je třeba snížit teplotu produktu pod 10 °C za 1 min, maximálně za 2 min. (EFSA, 2018b).	růstu <i>L. monocytogenes</i> . – V případě možného růstu je třeba provést výměnu nebo ošetření chladicí vody a odebrat vzorky, aby bylo možné vyhodnotit potenciální kontaminaci produktu.
PPNP 4	Mrazení zeleniny v mrazicím tunelu	Příliš pomalé mrazení nebo teplotní výkyvy v mrazicím zařízení vedoucí k růstu/kontaminaci <i>L. monocytogenes</i> – na teploty < -18 °C	– Doba /teplota/cykly mrazení, které je nutno vyhodnotit a definovat podle jednotlivých skupin produktů (v závislosti na povaze zeleniny, její velikosti atd.)	– Sledování času/teploty v mrazicím tunelu a teploty produktu  – Sledování toho, že nedochází k hromadění produktů v mrazicím tunelu	– Není-li dodržena potvrzená doba/teplota určitého produktu během zmrazení, je třeba zkontrolovat, zda v mrazicím tunelu nedochází k hromadění produktu.  – Vyhodnoťte, zda je teplota produktu vyšší než -4 °C (při takových teplotách se může obnovit mikrobiologická aktivita a potenciální růst bakterie <i>Listeria monocytogenes</i> ). – V takovém případě je nutno zorganizovat vyčištění /dezinfekci mrazicího tunelu.

#### **4. Odebírání vzorků z prostředí k ověření kontroly výskytu bakterie *Listeria monocytogenes* jako patogenu v prostředí a ověření prováděných preventivních/kontrolních opatření**

Bakterie *Listeria monocytogenes* je environmentálním patogenem a její mikrobiální akumulace není vizuálně rozpoznatelná, pro určení potenciálních míst výskytu *L. monocytogenes* ve výrobním prostředí je proto nezbytné odebírat z něj vzorky. Monitorování prostředí má tři cíle:

- (1) ověřit účinnost preventivních a kontrolních opatření (nezbytné předpoklady a plán HACCP);
- (2) určit přítomnost *L. monocytogenes* a místa, ve kterých nadále přežívá, pokud se v závodě nacházejí; a
- (3) ujistit se, že nápravnými opatřeními byla *L. monocytogenes* odstraněna, pokud byla v závodě zjištěna.

Důležité odkazy k odběru vzorků z prostředí:

- a) Zásady odebírání vzorků z prostředí jsou popsány v normě ISO 18593:2018.
- b) Detekční analýza vzorků z prostředí za účelem prokázání *L. monocytogenes* je uvedena v normě EN ISO 11290 v části 1.
- c) Dokument se specifickými pokyny k odběru vzorků z míst a zařízení pro zpracování za účelem zjištění *Listeria monocytogenes* poskytla referenční laboratoř EU (EURL, *L. monocytogenes*, 2012).
- a) Urgent scientific and technical assistance to provide recommendations for sampling and testing in the processing plants of frozen vegetables aiming at detecting *L. monocytogenes* (*Naléhavá vědecká a technická pomoc s cílem poskytnout doporučení pro odběr vzorků a testování ve zpracovatelských závodech hluboce zmrazené zeleniny, jejichž účelem je zjistit přítomnost L. monocytogenes*), EFSA, 2018b.
- b) Odkazy na protokoly ke kontrole prostředí přináší rovněž Lakshmikanta (2013) a CAC (2007).
- c) Zajímavý modelovací přístup k určení nevhodnějšího místa pro odběr vzorků a času jejich odběru v závodě vyrábějícím zmrazené výrobky představuje Zoellner a kol., 2019.

##### **4.1 *Listeria* spp. nebo *L. monocytogenes*?**

Je třeba poznamenat, že výrobci potravin v některých případech preferují monitorování nepatogenní *Listeria* spp v prostředí jako indikátoru pro *L. monocytogenes*. Zaměření se na tuto širší skupinu bakterií *Listeria* spp. jako na indikátorové organismy by mohlo vést k důkladnější kontrole adekvátní hygieny prostředí (a byl by to tedy dobrý ukazatel přiměřené hygieny procesů) a umožnit nápravu situací, které potenciálně vedou ke kontaminaci bakteriemi *L. monocytogenes* (CAC, 2007). Použití *Listeria* spp. jako markeru / indikátorového organismu *L. monocytogenes* je však diskutabilní. Skupina *Listeria* spp. zahrnuje také jiné druhy, které jsou nepatogenní a jsou všudypřítomnými mikroorganismy, které se příležitostně vyskytují v potravinách nebo v prostředí výroby potravin. Pouhá přítomnost *Listeria* spp. tak nutně neprokazuje přítomnost patogenu *L. monocytogenes*. Podle EFSA (2018b) se doporučuje testovat přímo na *L. monocytogenes* v souladu s protokolem normy EN ISO11290 části 1 (metoda průkazu) a v případě pozitivního výsledku se důrazně doporučuje, aby byly izolány potvrzené jako *L. monocytogenes* odeslány do národní referenční laboratoře nebo referenční laboratoře EU pro bližší charakterizaci (typizaci). V případě vyšetřování nákaž listeriózou, jejichž cílem je zjistit potenciální zdroj *Listeria monocytogenes*, je testování na *L. monocytogenes* samozřejmě nutné (EFSA, 2018b).

##### **4.2 Místa odběru vzorků**

Plán monitorování prostředí musí zahrnovat místa odběru vzorků zvolená podle míry pravděpodobnosti, že daná lokalita bude kontaminována bakterií *Listeria monocytogenes*. Je na provozovateli potravinářského podniku shromáždit historické informace o výsledcích testování v rámci této kontroly, aby bylo ve výrobním prostředí možné určit kritické oblasti, např. určitá zařízení (v přímém nebo nepřímém styku), určitá období v roce, výrobu určitých komodit atd. Provozovatel potravinářského podniku může připravit obsáhlý seznam míst odběru vzorků (včetně povrchů přicházejících a nepřicházejících do přímého styku s potravinami), doporučuje se však, aby se po uplynutí určité doby testovala všechna uvedená místa odběru vzorků. Doporučuje se rozdělit místa odběru vzorků podle pravděpodobnosti křížové kontaminace potravinářských výrobků bakterií *Listeria monocytogenes* a míst, kde mohou tyto organismy přežívat. Příklad rozdělení je uveden v tabulce 4. Obsáhlý

seznam možných míst odběru vzorků je k dispozici v dokumentu EFSA (2018b). Doporučuje se mít pevně stanovená místa odběru vzorků a střídající se místa odběru, která se mění po každých odběrech vzorků v poměru 70/30; to znamená, že 70 % míst je pevně stanovených a 30 % míst se po každém kole odběru vzorků střídá.

**Tabulka 4 Přehled typů povrchů přicházejících a nepřicházejících do přímého styku s potravinami, potenciálních míst odběru vzorků a navrhované četnosti odběru (podle tabulky 1)**

Druh	Popis	Příklady míst odběru vzorků	Navrhovaná četnost odběru vzorků
1	Povrchy přicházející do přímého styku s potravinami	Vnitřek nádrží, obaly a dopravníky, násypy, vnitřek trubek	Každý týden
2	Povrchy nepřicházející do přímého styku s potravinami, které jsou v těsné blízkosti povrchů přicházejících do styku s potravinami	Skříně zařízení, stěny, podlahy nebo odtoky v bezprostředním okolí povrchů přicházejících do styku s potravinami	Každý měsíc
3	Vzdálenější povrchy nepřicházející do přímého styku s potravinami, které by případně mohly být příčinou kontaminace	Vysokozdvížné vozíky, kola odpadkových košů / zařízení, brodítka pro personál, podlahy a odtoky nepřicházející do přímého styku s potravinami	Každých 6 měsíců
4	Povrchy, které nepřicházejí do styku s potravinami, a prostory vzdálené od zpracovatelského prostředí	Chodby mimo výrobní prostory, prostory, kde jsou skladovány suroviny nebo hotové výrobky Skříně zařízení, stěny, podlahy nebo odtoky, které NEJSOU v přímém okolí povrchů přicházejících do styku s potravinami	Každých 6 měsíců

#### 4.3 Četnost, doba, prostory a metody odběru vzorků

**Četnost odběru vzorků** musí být intenzivnější v prostorech, kde je vyžadován přísný hygienický režim (viz oddíl infrastruktura 2.5) a v místech odběru vzorků typu 1 > 2 > 3 a 4. V případě šetření zdroje nákazy je třeba dodržet stručnější plán odběru vzorků, který předkládá úřad EFSA (EFSA, 2018b).

Kromě míst odběru vzorků a četnosti jejich odběru lze rovněž stanovit vhodnou **dobu odběru**, kdy mají být vzorky z prostředí odebrány. Nejdůležitější dobou pro odběr vzorků je několik hodin po zahájení výroby (např. po třech až čtyřech hodinách) nebo nejlépe chvíle těsně před čištěním, protože za tu dobu se může bakterie *L. monocytogenes* (pokud je zjištěna) dostat z míst, kde přežívá, a kontaminovat výrobní prostředí. Dny a časy odběru vzorků se musí střídat, aby byl zachycen plný rozptyl potenciálních kontaminací. Pokud jsou vzorky odebrány příliš brzy po dezinfekci, nemusí být dezinfekční činidlo odpovídajícím způsobem neutralizováno a mohlo by analytický test narušit. Další informace jsou k dispozici v dokumentu EFSA (2018b). Jak je uvedeno v oddíle 3.1, cílem odběru vzorků z prostředí není ověřit účinnost prováděných čisticích a dezinfekčních činností, nýbrž plně ověřit preventivní a nápravná opatření prováděná při kontrole výskytu *L. monocytogenes*.

Různé metody a oblasti odběru vzorků jsou obecně popsány v normě EN ISO 18593:2018 a uvedeny v pokynech referenční laboratoře EU pro odběr vzorků v prostoru a zařízení pro zpracování potravin pro detekci *Listeria monocytogenes* (EURL for *Listeria monocytogenes*, 2012). Pro shrnutí:

- Pro odběr vzorků z **těžko dosažitelných, malých/úzkých prostorů a prasklin** se používají střevové tampony; obvykle se vzorek odebírá z plochy  $\leq 100 \text{ cm}^2$  (např. z úzkých prasklin na více metrech).
- Pro odběr vzorků z **velkých povrchů** se použijí sterilní hadříky nebo houbičky; obvykle z plochy  $> 100 \text{ cm}^2$  – celková plocha odběru vzorku je co možná největší, aby se zvýšila pravděpodobnost detekce *Listeria monocytogenes*. Doporučuje se odebrat vzorky z plochy mezi 1 000 a 3 000  $\text{cm}^2$ .

#### **4.4 Zpracování údajů a analýza/pozorování trendů**

Na základě výsledků analýzy lze budovat databázi a shromažďovat poznatky z minulosti. V rámci sledování trendů lze získat následující informace, které pomohou určit potenciální kontaminační cesty: citlivost místa odběru vzorků, dotčené komodity, období roku (sezónní variabilita), zapojených pracovníků a další otázky, které mohou mít dopad na kontaminaci, např. technická údržba, změna personálu, změna

zařízení, sezónní použití zařízení atd. Toto sledování trendů může provozovatelům potravinářských podniků pomoci zjistit, proč může být prostředí jejich závodu náchylnější ke kontaminaci *L. monocytogenes*. Komunikaci může usnadnit plán závodu s vyznačenými citlivými místy, která jsou náchylná ke kontaminaci. Programy monitorování prostředí musí být upraveny tak, aby zachycovaly nové poznatky získané přezkoumáním trendů a údajů.

#### **4.5 Nápravná opatření**

V případě, že je monitorovací test na *L. monocytogenes* pozitivní, je nutné provést specializovanější kontrolu na místech odběru pozitivních vzorků a v jejich širším okolí a je třeba přijmout další nápravná opatření. Pro zjištění hlavní příčiny a zamezení problémů v budoucnu je třeba přijmout následující opatření:

- a) Po zjištění *L. monocytogenes* během testování prostředí se v případě, že provozovatel potravinářského podniku vyžaduje další (vnitřní) šetření, důrazně doporučuje uchovat izoláty. Další zkoumání může zahrnovat charakterizaci kmene, např. genotypizaci umožňující sledování mikrobiálního zdroje. Například v případě opakujících se pozitivních výsledků testů na *L. monocytogenes* může genotypizace shromážděných izolátů poskytnout informace o tom, zda je opakující se výskyt *L. monocytogenes* spojen s jedním konkrétním perzistentním kmenem *Listeria monocytogenes* či nikoli. Toto doporučení je důležité i v případě pozitivní detekce vzorku z výrobku (viz oddíl 5. 1).
- b) Je potřeba intenzivní vyčištění a dezinfekce místa odběru vzorků a následné intenzivnější sledování, dokud nedojde k vyřešení kontaminace.
- c) Pro vyhodnocení potenciální kontaminace zpracovaných potravin je třeba stanovit propojení pozitivně kontaminovaného prostředí se šaržemi hluboce zmrazených výrobků vyrobenými ve stejném časovém rozmezí:
  - c1) Je třeba provést dobře zdokumentované hodnocení rizika a sledování trendů / analýzu u šarží, které byly zpracovány během kontaminace, s přihlédnutím k dalším historickým údajům o kontaminaci *L. monocytogenes* u šarží výrobků nebo testování prostředí, které byly zaznamenány před nejnovějším výskytem *L. monocytogenes* přítomným v závodě. Toto hodnocení rizik může zahrnovat např. identifikaci možných kontaminačních cest z výrobního prostředí až po potraviny, druh použitých surovin nebo složek a informace o jejich dodavateli, jakékoli neobvyklé činnosti ve společnosti (např. změna zaměstnanců, probíhající stavba, změna postupů čištění a dezinfekce, používání sezónního vybavení, odlišné parametry procesů atd.) a musí být podpořeno údaji o předchozím testování výrobků a prostředí (historické údaje).
  - c2) Při absenci výsledků testování konečných výrobků (historických údajů), a pokud hodnocení rizika naznačuje zvýšenou pravděpodobnost kontaminace šarží zmrazených v průběhu zjištěné kontaminace prostředí, doporučuje se odběrem vzorků z příslušných šarží potvrdit, zda jsou vyrobené šarže konečných výrobků shledány kontaminovanými a měly by být považovány za nepřijatelné (pro detekci *L. monocytogenes* v 25 g se doporučuje nejméně n = 5 jednotek vzorků na jednu analyzovanou šarži).

Souhrnně řečeno tedy dostupné historické údaje (viz c1) spolu s údaji z dočasně posíleného odběru vzorků z konečných výrobků (viz c2) v šaržích hluboce zmrazených výrobků vyrobených ve stejném časovém rámci, kdy byla při testování v rámci monitorování prostředí zjištěna *L. monocytogenes*, musí prokázat, že konečný výrobek splňuje stanovený střední limit výrobku (nejlépe *L. monocytogenes*, které nebyly nikdy zjištěny v 25 g v < 10 KTJ/g, nebo jiný stanovený střední limit, viz oddíl 5.1). Proto je nezbytné dobře zdokumentovat hodnocení rizik a je třeba stanovit podrobné sledování/analýzu trendů, což umožní propojit výsledky odběru vzorků z prostředí se vzorky z výrobků, a tím shromáždit historické údaje.

- d) Vyhodnocení možné tvorby biofilmu, identifikace zdroje kontaminace a zvážení konkrétních opatření k odstranění biofilmu.

- e) Pro zlepšení sledování v budoucnu je třeba přizpůsobit program pro sledování (tj. další místa odběru vzorků, změna četnosti).
- f) Zorganizovat jasné sdělování informací osobám odpovědným za čištění a dezinfekci, údržbu a provozní činnosti týkající se zjištěné kontaminace a podílejícím se na těchto činnostech.

#### **4.6 Postup detekční kontroly výskytu *L. monocytogenes* v prostředí**

Provozovatel potravinářského podniku musí stanovit postup pro detekční kontrolu prostředí, která by měla zahrnovat:

- 1) určení míst odběru vzorků;
- 2) stanovení plochy odběru vzorků (počet cm<sup>2</sup>, na kterých se provede stér);
- 3) vymezení četnosti odběru vzorků (s ohledem na různé hygienické režimy a typ míst odběru vzorků, viz tabulka 4) a doby odběru vzorků;
- 4) protokol používaný pro detekci *Listeria* spp. nebo *L. monocytogenes* ve vzorcích z prostředí v laboratoři pro kontrolu jakosti (viz EFSA, 2018b);
- 5) metodu odběru vzorků (stér nebo jiné) a přepravu vzorků do laboratoře;
- 6) analýzu trendů získaných výsledků, aby bylo možné určit potenciální další nápravné nebo preventivní činnosti, která je třeba přijmout jako nápravná opatření;
- 7) předpoklad každoročního přezkumu postupu detekční kontroly prostředí pro aktualizace podle nových vývojů ve výrobních oblastech (např. nové zařízení, jiné rozdělení zón atd.), nové prvky výrobních metod atd. pro zajištění aktuálního postupu;
- 8) určení odpovědné osoby, která tento postup vypracuje, sledování a přijetí opatření v případě případné kontaminace;
- 9) definování komunikačního kanálu v organizaci pro případ zjištění pozitivního výsledku a potřeby přijmout nápravná opatření.

#### **5. Specifikace konečných výrobků a sdílení informací o rizicích se spotřebiteli hluboce zmrazené zeleniny**

Je zřejmé, že navzdory možnému zavedení programů nezbytných předpokladů, systému HACCP a dobře zavedeného systému řízení bezpečnosti potravin nelze vyloučit, že některé hluboce zmrazené výrobky mohou být v některých případech kontaminovány nízkými koncentracemi *L. monocytogenes* (detekován na 25 g, ale obvykle <10 KTJ/g). Bakterie *L. monocytogenes* se může vyskytnout, protože do výrobního procesu není zahrnuta žádná úplná tepelná inaktivace (blanšírování je navrženo jako technologické tepelné ošetření, u kterého nemusí být nutně potvrzeno, že zajišťuje snížení *L. monocytogenes* o 6 řádů – viz oddíl 3 plánu HACCP.) Hluboké zmrazení se navíc provádí po blanšírování a je otevřeným procesem, a tak ani při dodržení přísného programu nezbytných předpokladů nelze kontaminaci *L. monocytogenes* zcela zabránit v typických výrobních procesech a infrastrukturách používaných v tomto průmyslovém odvětví hluboce zmrazené zeleniny (viz oddíl 3 plánu HACCP). Tyto pokyny se vztahují na zmrazenou zeleninu považovanou za potravinu, která není určena k přímé spotřebě.

Je proto důležité použít **jasnou komunikační strategii** k informování spotřebitelů o hluboce zmrazené zelenině dodávané podnikům (např. potravinářský průmysl, catering institucí nebo činnosti v odvětví hotelů, restaurací a kaváren) nebo spotřebitelům (hluboce zmrazená zelenina dále distribuovaná spotřebitelům maloobchodní činností). To by mělo být prováděno nejen prostřednictvím označování konečných výrobků nebo uváděním jejich technických specifikací, ale také dalšími komunikačními kanály, jako jsou webové stránky, recepty, informační brožury, sociální média atd. Komunikace musí být konzistentní, aby se předešlo nejasnostem ohledně toho, jak tuto zmrazenou zeleninu vhodně skladovat, rozmrazovat a připravovat nebo používat.

V tomto oddíle jsou dále navrhovány zásady plánu odběru vzorků pro testování konečných výrobků, specifikací konečných výrobků a strategií sdělování informací o rizicích na základě provedených imunologických testů (příloha III) a stanoviska úřadu EFSA (EFSA, 2020).

## 5.1 Ověření systému řízení bezpečnosti potravin pomocí testování středního limitu pro *L. monocytogenes*

Možné jsou různé strategie odběru vzorků **konečných výrobků (B2B nebo B2C)** (tj. odběr vzorků šarží pro uvolnění šarží, monitorování zaměřené na zjištění prevalence patogenů v potravinách na základě statistických přístupů).

Odběr vzorků je nástrojem pro **ověřování systému řízení bezpečnosti potravin**, jehož cílem je získat informace o bezpečnosti potravin vyráběných v rámci současného výrobního systému a systému řízení bezpečnosti potravin. Testování konečných výrobků odráží účinnou integraci všech preventivních a kontrolních kroků do přípravy a výroby potravin uváděných na trh (Zwietering a kol., 2016). **Celoroční odběr vzorků** v rámci ověřování umožní provozovateli potravinářského podniku získat přehled o variabilitě kontaminace a poskytnut možnost sledovat/analyzovat trendy (např. v jakém období roku nebo u jakého typu hluboce zmrazené zeleniny nacházíme další problémy a co by mohlo být jejich potenciální příčinou?). Skutečná velikost vzorku (nebo počet vzorků) pro testování konečných výrobků při ověřování systému řízení bezpečnosti potravin se často určuje podle toho, co je ekonomicky proveditelné nebo jaké jsou požadavky zákazníků. Tyto **plány náhodného výběru vzorků** jsou také známy jako pragmatické nebo empirické plány odběru vzorků (CAC, 2004). Počet a typ vzorků je většinou vybíráno intuitivně, na základě zkušeností a znalostí vedoucího kvality nebo provozu o místech odběru vzorků a časech odběru vzorků ve výrobním závodě (Uyttendaele a kol., 2018).

Při výrobě a obchodování s hluboce zmrazenou zeleninou musí **celoroční plán odběru vzorků konečných výrobků v rámci ověřování systému řízení bezpečnosti potravin** navrhnut provozovatelé potravinářských podniků, kteří se podílejí na výrobě hluboce zmrazené zeleniny, aby se ověřila preventivní a kontrolní opatření zavedená při kontrole *L. monocytogenes* (obrázek 1). V plánu odběru vzorků musí být stanoven počet vzorků konečných výrobků odebraných každoročně pro různé druhy hluboce zmrazené zeleniny jako konečné výrobky (B2B nebo B2C) a četnost odběru vzorků (nebo interval mezi odběrem vzorků), přičemž je třeba stanovit:

- různé kategorie hluboce zmrazených výrobků (tj. druh zeleniny, výrobky z jednoho druhu zeleniny nebo smíšené výrobky),
- druh výrobního procesu (blanšírovaný/neblanšírovaný),
- objem výroby,
- potenciální náchylnost k výskytu *L. monocytogenes*,
- sezónnost výroby,
- potenciál pro podporu růstu nebo nulový růst (viz bod 4.1)
- atd.

Za účelem ověření ročního plánu odběru vzorků se vzorky analyzují za účelem zjištění či nezjištění výskytu *L. monocytogenes* ve 25 g. Pokud je *L. monocytogenes* zjištěna ve 25 g, je třeba stanovit počet ve stejných vzorcích, aby se ověřilo, zda je, či není dosaženo stanoveného průběžného limitu (< 10 KTJ/g). Je však pravděpodobné, že v důsledku heterogenní distribuce kontaminace *Listeria monocytogenes* v šarži budou některé výrobky kontaminovány a jiné ne. Proto je možné, že opětovnou analýzou stejného vzorku získáme odlišné výsledky. V ročním plánu odběru vzorků se proto doporučuje čas od času provést přímé stanovení počtu *Listeria monocytogenes* (např. každých x vzorků – přímé stanovení počtu *L. monocytogenes*, aby se prokázalo, že není překročen střední limit 10 KTJ/g). Analytické protokoly jsou uvedeny v normě EN ISO 11290 v části 1 (metoda průkazu *L. monocytogenes* v potravinách) a část 2 (metoda stanovení počtu *L. monocytogenes* v potravinách) nebo rovnocenné rychlé metody (ověřené podle ISO 16140). V případě pozitivní detekce může být užitečné dále charakterizovat izoláty (typizací) prostřednictvím uznané národní referenční laboratoře nebo referenční laboratoře EU pro *L. monocytogenes* (EURL *L. monocytogenes*) (EFSA, 2018b). Například v případě opakujících se pozitivních výsledků testů na *L. monocytogenes* může genotypizace shromážděných izolátů poskytnout informace o tom, zda je opakující se výskyt *L. monocytogenes* spojen s jedním konkrétním perzistentním kmenem *Listeria monocytogenes* či nikoli (viz také nápravná opatření pro monitorování prostředí, část 4.5). Dále lze odebíráním vzorků z konečného výrobku rozpracovat **analýzu/pozorování trendů** a získat tak

vhled do potenciální kontaminace výrobků a zdrojů kontaminace u výše uvedených faktorů.

## 5.2. Specifikace konečného výrobku a sdělování informací o rizicích

Uvedené pokyny se vztahují na zmrazenou zeleninu, která se nepovažuje za určenou k přímé spotřebě. Sdružení PROFEL si však uvědomuje, že někteří spotřebitelé (v podnicích či mimo ně) nemusí etiketu číst, a bere v úvahu „přiměřeně předpokládané nevhodné použití“, tj. že některé z těchto druhů zmrazené zeleniny se používají jako určené k přímé spotřebě a nejsou před spotřebou tepelně upraveny. Kromě toho toto odvětví bere v úvahu „přiměřeně předpokládané nevhodné použití“ spočívající v tom, že někteří spotřebitelé potraviny dostatečně nerozmrazují nebo je řádně tepelně neupravují (po dobu kratší než 2 minuty při teplotě 70 °C).

Odvětví se snaží tomuto předcházet pomocí osvědčených postupů stanovených v pokynech o kontaminaci zmrazených potravin bakterií *L. monocytogenes* (tj. cílová hodnota není zjištěna v 25 g) a na základě imunologického testování (viz příloha III), včetně přiměřeně předpokládaného nevhodného rozmrazování při uchování v chladničce (testy provedené v chladničce při teplotě 9 ± 1 °C, tj. vyšší než teplota doporučená na etiketě – a za použití rychle rostoucího izolátu *L. monocytogenes* získaného z ohniska nákazy na kukurici cukrové v roce 2018 stanoví střední limit na < 10 KTJ/g).

Je třeba poznamenat, že pravděpodobnost falešně pozitivních výsledků je nízká, a to jak metodou průkazu *L. monocytogenes* (ISO 11290-1), tak metodou stanovení počtu *L. monocytogenes* (ISO 11290-2) nebo rovnocennými metodami rychlé detekce podle normy ISO16140, ale že nehomogenní bakteriální distribuce by mohla dobře vysvětlit nesoulad mezi výsledky při stanovení počtu a výsledky metody průkazu v jiném dílčím vzorku šarže, zejména u nízkých hodnot. Dále je třeba upozornit, že zajistění bezpečnosti potravin v šarži odběrem vzorků a testováním má určitá omezení (více informací viz webová stránka komise ICMSF, <http://www.icmsf.org/>).

Na základě imunologického testování (viz příloha III), stanoviska úřadu EFSA (2020) a odborné diskuse v rámci vypracování těchto pokynů pro hygienu jsou navrženy následující **specifikace konečného výrobku společně s jeho označením a sdělováním informací o rizicích hluboce zmrazené zeleniny (jakožto výrobků, které nejsou určeny k přímé spotřebě)**:

	Cílová hodnota – po výrobě	Střední limit – po výrobě	Po celou dobu použitelnosti během uchovávání v mrazničce a rozmrazování / uchovávání v chladničce <sup>1</sup>
<i>L. monocytogenes</i>	nezjištěno ve 25 g (a)	< 10 KTJ/g (b)	< 100 KTJ/g (c)

<sup>1</sup>Poznámka: zmrazená zelenina se považuje za potravinu, která není určena k přímé spotřebě.

- a) cílová hodnota, pokud jsou dodrženy navrhované odvětvové hygienické pokyny pro kontrolu bakterií *L. monocytogenes* při výrobě hluboce zmrazené zeleniny;
- b) i když jsou však zavedeny programy PNP, systém HACCP a dobře zavedený systém řízení bezpečnosti potravin, nelze vyloučit, že hluboce zmrazená zelenina bude občas kontaminována nízkou koncentrací *L. monocytogenes*, a proto lze střední limit stanovit na < 10 KTJ/g;
- c) cíl bezpečnosti potravin týkající se *L. monocytogenes* má zajistit bezpečné potraviny pro spotřebitele (pro tu část populace, která není citlivá vůči nákaze: definice viz oddíl 5.2.2).

### 5.2.1. Sdělování informací o rizicích označením výrobku

S ohledem na výsledky imunologického testu *L. monocytogenes* posuzujícímu chování patogenu při rozmrazování / uchovávání zmrazené zeleniny v chladničce za přiměřeně předpokládaných podmínek v domácnostech spotřebitelů (viz příloha III) se doporučuje sdělovat spotřebitelům informace o rizicích, a to na etiketě výrobku, v technických specifikacích, na internetových stránkách, v sociálních médiích atd. Na základě

výsledků a odlišného růstového potenciálu *L. monocytogenes* z provedeného imunologického testování (příloha III) a růstového modelu provedeného úřadem EFSA (EFSA, 2020) se doporučuje jiné sdělení spotřebitelům o rizicích u zmrazené kukuřice cukrové a zmrazených batátů než u jiné zmrazené zeleniny.

1) U zmrazené kukuřice cukrové a batátů:

S ohledem na stanovený růstový potenciál *L. monocytogenes*, který je během 24 h trvajícího rozmrazování / uchovávání v chladničce vyšší než  $1 \log_{10}$ , by měly být zmrazená kukuřice cukrová a batátová považovány za zmrazené potraviny, které nejsou určeny k přímé spotřebě.

Proto se doporučuje konzistentní informování spotřebitelů v celém odvětví, a to umístěním označení na maloobchodních baleních. Na etiketě konečného výrobku v balení B2B nebo B2C by měly být jasné uvedeny:

- (1) podmínky pro adekvátní uchovávání v mrazničce (čas/teplota) při  $-18^{\circ}\text{C}$  a  $-12^{\circ}\text{C}$ ;
- (2) doporučení pro použití výrobku:
  - a. *potřeba tepelné úpravy (výrobky neurčené k přímé spotřebě) a návod k tepelné úpravě (např. způsob, čas a teplota)\*;*
  - b. „*vařit bez předchozího rozmrazení*“ (*bez rozmrazování a uchovávání v chladničce/ nekonzumovat bez důkladné tepelné úpravy, tj. nejméně po dobu 2 minut nad  $70^{\circ}\text{C}$ .*)

\*Od konzumace zmrazené zeleniny jako potraviny určené k přímé spotřebě lze koncové spotřebitele dále odradit odkazem na návod na přípravu (různé návrhy tepelné úpravy) na etiketě.

## 2) U ostatní zmrazené zeleniny:

S ohledem na stanovený růstový potenciál *L. monocytogenes*, který je během 24 h trvajícího rozmrazování / uchovávání v chladničce nižší než  $1 \log_{10}$ , nemá být ostatní zmrazená zelenina rozmrazována nebo uchovávána v chladničce déle než 24 h; jedná se o zeleninu, která byla podrobena imunologickému testování (hrášek, pastinák, bílé zelí) a ostatní zmrazenou zeleninu, která byla zahrnuta do kategorizace zmrazené zeleniny a u které bylo zjištěno menší riziko než u pěti vybraných druhů zmrazené zeleniny, které byly součástí imunologického testování *L. monocytogenes* (viz příloha III). Používají se také jako potraviny neurčené k přímé spotřebě.

Doporučuje se konzistentní informování spotřebitelů v celém odvětví, a to umístěním následujících označení na maloobchodních baleních. Na etiketě konečného výrobku v balení B2B nebo B2C by měly být jasné uvedeny:

- (2) podmínky pro adekvátní uchovávání v mrazničce (čas/teplota) při  $-18^{\circ}\text{C}$  a  $-12^{\circ}\text{C}$ ;
- (3) doporučení pro používání výrobků:
  - a. *potřeba tepelné úpravy (výrobky neurčené k přímé spotřebě) a návod k tepelné úpravě (např. způsob, čas a teplota)\*;*
  - b. *návod k rozmrazování (je-li nutné);*
  - c. *omezení rozmrazování a uchovávání v chladničce na dobu maximálně 24 h při  $5-7^{\circ}\text{C}**$ .*

\*Od konzumace zmrazené zeleniny jako potraviny určené k přímé spotřebě lze koncové spotřebitele dále odradit odkazem na návod na přípravu (různé návrhy tepelné úpravy) na etiketě.

\*\* Teplota v chladničce mezi  $5-7^{\circ}\text{C}$  nebo podle specifikace příslušného vnitrostátního orgánu, neboť vnitrostátní právní předpisy stanovující teplotu výrobků se mohou v jednotlivých členských státech ES lišit.

### **5.2.2. Sdělování informací o rizicích skupinám citlivým vůči nákaze**

V případě, že je zmrazená zelenina určena ke stravování spotřebitelů citlivých vůči nákaze, je třeba tuto zmrazenou zeleninu považovat za potravinu neurčenou k přímé spotřebě, a proto je během její přípravy povinná tepelná úprava, což musí být jasné sděleno dodavateli nebo skupině spotřebitelů citlivých na listeriozu, zejména těhotným ženám, lidem starším 74 let a pacientům s oslabenou imunitou, tj. pacientům se zjištěnými primárními onemocněními, jako je onemocnění jater, rakovina a cukrovka, případně pacientům po transplantaci orgánů. Tyto skupiny osob, jejichž primární onemocnění souvisí s nejvyšší mírou výskytu listeriozy, představují cca 1 % celkové populace (ve Francii), ale odpovídají 43 % případů listeriozy a 55 % úmrtí (Goulet et al., 2012). Namísto přímého oslovovalní těchto osob by také mohlo být užitečné jasné informovat o potřebě naležitých podmínek rozmrazování zdravotnické pracovníky, lékařský personál, pečovatele nebo ty, kteří

uvedeným osobám poskytují výživové poradenství (*„Omezení rozmrzování a uchovávání v chladničce na maximálně 24 h při 5–7 °C“*), aby u všech druhů hluboce zmrazené zeleniny zdůrazňovali před konzumací „potřebu důkladně povařit a dosáhnout po dobu alespoň 2 minut teploty nad 70 °C“.

Sdělování informací těmto skupinám spotřebitelů citlivým vůči nákaze je iniciativou, které se mají věnovat také veřejné zdravotnické agentury, orgány pro bezpečnost potravin nebo nevládní organizace činné v této oblasti zdravotnictví. Je to však také odpovědnost, kterou sdílí s ostatními zúčastněnými stranami v potravinovém řetězci: zejména při B2B prodeji hluboce zmrazené zeleniny stravovacím službám nemocnic nebo pečovatelských domů je třeba vzít úvahu tento typ sdělování informací o rizicích.

Přesto hluboce zmrazená zelenina, je-li před spotřebou řádně tepelně upravena, zůstává nejlepší (a jedinou) možností, jak konzumovat zeleninu (jako součást zdravé stravy), pro osoby s rozpoznánými primárními onemocněními, která narušují buněčnou imunitu, a pro těhotné ženy, jelikož konzumace čerstvých produktů se těmto skupinám osob citlivých vůči nákaze, které potřebují nízkou mikrobiální (neutropenickou) stravu, nedoporučuje.

Některé pokyny pro tyto zdravotnické pracovníky/personál jsou k dispozici v následujících odkazech:

- <Https://www.health.belgium.be/nl/advies-9311-listeriose> a příloha k tomuto dokumentu (v nizozemštině/francouzštině), která obsahuje několik odkazů na doporučení poskytovaná v různých zemích.
- <https://www.food.gov.uk/research/research-projects/development-of-an-initial-report-for-reducing-the-risk-of-vulnerable-groups-contracting-listeriosis>  
nebo <https://www.food.gov.uk/sites/default/files/media/document/listeria-guidance-june2016-rev.pdf>

### **Příloha I: odkazy na právní předpisy**

Sdělení Komise C278/2016. Sdělení Komise – Pokyny k provádění systémů řízení bezpečnosti potravin zaměřené na programy nezbytných předpokladů (PNP) a postupy založené na zásadách HACCP, včetně otázek zjednodušení/pružnosti jejich provádění v některých potravinářských podnicích (2016/C 278/01). Úřední věstník Evropské unie: C 278/271–C 278/232.

Sdělení Komise C163/2017. Oznámení Komise o pokynech pro řešení mikrobiologických rizik u čerstvého ovoce a zeleniny v pravovýrobě prostřednictvím správné hygieny (2017/C 163/01). Úřední věstník Evropské unie: C 163/1.

Směrnice 89/109/EHS. Směrnice Rady 89/109/EHS ze dne 21. prosince 1988 o sbližování právních předpisů členských států týkajících se hluboce zmrazených potravin určených k lidské spotřebě.

Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 178/2002 ze dne 28. ledna 2002, kterým se stanoví obecné zásady a požadavky potravinového práva, zřizuje se Evropský úřad pro bezpečnost potravin a stanoví postupy týkající se bezpečnosti potravin. Úř. věst. L 31, 1.2.2002, s. 1.

Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 852/2004 ze dne 29. dubna 2004 o hygieně potravin. Úř. věst. L 139, 30.4.2004, s. 1.

Nařízení (ES) č. 2073/2005 ze dne 15. listopadu 2005 o mikrobiologických kritériích pro potraviny. Úř. věst. L 338, 22.12.2005, s. 1. Nařízení Komise (ES) č. 528/2012 ze dne 22. května 2012 o dodávání biocidních přípravků na trh a jejich používání.

### **Příloha II: další odkazy**

AFFI (American frozen food institute). *Listeria control Plan*. [www.affifoodsafety.org](http://www.affifoodsafety.org).

Buchanan, R. L., Gorris, L. G. M., Hayman, M. M., Jackson, T. C., a Whiting, R. C. (2017). A review of *Listeria monocytogenes*: an update on outbreaks, virulence, dose-response, ecology, a risk assessments. Food Control, 75, 1–13.

CAC (1976). Code of Practice for the processing a handling of quick-frozen foods (CAC/RCP 8-1976).

CAC (2004). CAC/GL 50-2004 General guidelines on sampling.

CAC (2007). Guidelines on the application of general principles of food hygiene to the control of *Listeria monocytogenes* in foods. CAC/GL 61 – 2007

CAC (2015). Standard for quick-frozen vegetables CXS 320-2015

Devlieghere, F., Rajkovic, A., Samapundo, S., Uyttendaele, M., Vermeulen, A., Jacxsens, L., Debevere, J. (2013). Food microbiology a analysis. Laboratory of Food Microbiology a Food Preservation, Faculty of Bioscience Engineering, Ghent University.

ECDC (2016). [https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/documents/AER\\_for\\_2016-listeriosis.pdf](https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/documents/AER_for_2016-listeriosis.pdf)

EFSA (2018a). Multi-country outbreak of *Listeria monocytogenes* serogroup IVb, multi-locus sequence type 6, infections linked to frozen corn a possibly to other frozen zeleniny – first update. doi:10.2903/sp.efsa.2018.EN-1448

EFSA (2018b). Urgent scientific a technical assistance to provide recommendations for sampling a testing in the processing plants of frozen zeleniny aiming at detecting *Listeria monocytogenes*. EFSA-2018-0141. EFSA Journal.

EFSA a ECDC (2018). Souhrnná zpráva Evropské unie o vývojových tendencích a zdrojích zoonoz, původců zoonoz a ohnisek chorob vyvolaných původcem v potravinách v roce 2017. EFSA Journal 2018;16(12):5500, s. 262.

EFSA (2020). The public health risk posed by *Listeria monocytogenes* in frozen fruit and vegetables including herbs, blanched during processing. The EFSA Journal (2020); 18(4):6092. 10.2903/j.efsa.2020.6092

EN ISO 11290 část 1 (2017). Mikrobiologie potravinového řetězce – horizontální metoda průkazu a stanovení počtu *Listeria monocytogenes* a *Listeria* spp. – část 1: metoda průkazu. Mezinárodní organizace pro normalizaci, Ženeva.

EN ISO 11290 část 2 (2017). Mikrobiologie potravinového řetězce – horizontální metoda průkazu a stanovení počtu *Listeria monocytogenes* a *Listeria* spp. – část 2: metoda stanovení počtu. Mezinárodní organizace pro normalizaci, Ženeva.

ISO 18593 (2018). Mikrobiologie potravinového řetězce – horizontální metody specifikující techniky vzorkování z povrchů. Mezinárodní organizace pro normalizaci, Ženeva.

EURL-*L. monocytogenes* (2012). Guidelines on sampling the food processing area and equipment for the detection of *L. monocytogenes*. Verze 3 – 20/08/2002.

EURL – *L. monocytogenes* (2019). Technical guidance document for conducting shelf-life studies on *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods. Verze 3 z 6. června 2015 – změna č. 1 z 21. února 2019.

Goulet V, Hebert M, Hedberg C, Laurent E, Vaillant V, De Valk H, Desenclos JC. (2012). Incidence of listeriosis and related mortality among groups at risk of acquiring listeriosis. Clin Infect Dis. 1;54(5):652-60.

ICMSF: <http://www.icmsf.org/>

Lakshmikantha, C. (2013). Environmental Monitoring Program: An Early Warning System for Microbiological Hazards. *Quality Assurance and Food Safety*. <https://www.qualityassurancemag.com/article/aib1213-environmental-monitoring-program>

McLauchlin, J., Mitchell, R. T., Smerdon, W. J., a Jewell, K. (2004). *Listeria monocytogenes* and listeriosis: a review of hazard characterisation for use in microbiological risk assessment of foods. *International Journal of Food Microbiology*, 92(1), 15–33.

Pocheville, A.(2015).The Ecological Niche: History and Recent Controversies. In Heams, Thomas; Huneman, Philippe; Lecointre, Guillaume; a kol. (editoři). Handbook of Evolutionary Thinking in the Sciences. Dordrecht: Springer. s. 547–586. 978-94-017-9014-7.

Turner, D.E., Daugherity,E.K. ,Altier,C. a Maurer K.J.(2010). Efficacy and Limitations of an ATP-Based Monitoring System. J Am Assoc Lab Anim Sci. 2010 Mar; 49(2): s. 190–195.

Uyttendaele, M., De Loy-Hendrickx, A., Vermeulen, A., Jacxsens, L., Debevere, J. en Devlieghere, F. (2018). Microbiological guidelines: support for interpretation of microbiological test results of foods. Die Keure, ISBN978 2 87403 503 6.

Van Walle I., Björkman J.T., Cormican M., Dallman T., Mossong J., Moura A., Pietzka A., Ruppitsch W., Takkinnen J., European Listeria WGS typing group. Retrospective validation of whole genome sequencing-enhanced surveillance of listeriosis in Europe, 2010 to 2015. Euro Surveill. 2018;23(33) via <https://ecdc.europa.eu/en/listeriosis/microbiology>

Zoellner, C., Jennings, R., Wiedmann, M. a Ivanek, R. (2019). EnABLE: an agent-based model to understand *Listeria* dynamics in food processing facilities. Nature Scientific reports (www.nature.com/scientific reports), <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30679513>

Zwietering, M.H., Jacksens, L., Membre, J.M., Nauta, M. a Peterz, M. (2016). Relevance of microbial finished product testing in food safety management. Food Control, 60, 31–43.

**Příloha III: Technická zpráva o imunologickém testování za účelem posouzení chování bakterie *Listeria monocytogenes* při rozmrazování / uchovávání zmrazené zeleniny v chladničce za podmínek, které lze opodstatněně předpokládat v domácnostech spotřebitelů**

**1) Příprava imunologického testování *L. monocytogenes***

- i. **Kategorizace zeleniny:** Za účelem identifikace výrobků, které jsou pro imunologické testy nejdůležitější, byla provedena kategorizace zmrazené zeleniny na základě vlastností, jako je pH, obsah cukru, antibakteriální složky, obsah živin, struktura/textura výrobku.
- ii. **Doba chlazení:** po diskusi bylo dohodnuto, že testování nemá být prováděno při teplotě okolí; v takových podmínkách výrobce nenese odpovědnost. Testy by se mely zaměřit na růstový potenciál během doby použitelnosti (což znamená po dobu až 24 h v chladničce). Aby bylo možné vyhodnotit jeden další krok, bylo odsouhlaseno, že analýza bude provedena i po 48 h v chladničce.
- iii. **Teplota chlazení:** Bylo dohodnuto použít teploty 9 °C (jako uznané/doporučené teploty pro imunologický test *L. monocytogenes* v Belgii (FASFC) a v Nizozemsku (NVWA) a podpořené údaji předloženými ve studii od Roccato a kol. publikované v odborném časopise Food Research International (2017: 96, 171–181), aby bylo možné napodobit odůvodněně předpokládané nevhodné použití v zemích jak na jihu, tak na severu EU.
- iv. **Šarže:** bylo dohodnuto, že se bude pokud možno pracovat s třemi šaržemi vybrané zmrazené zeleniny od tří různých výrobců. První šarže byla dodána do laboratoře / podrobena testování v březnu, druhá šarže byla dodána do laboratoře / podrobena testování v dubnu–květnu; třetí šarže byla dodána do laboratoře / podrobena testování v červenci–srpnu 2019.
- v. **Velikost vzorku:** Bylo dohodnuto použít vzorků o hmotnosti 200 g, což odpovídá spotřebitelskému množství zmrazené zeleniny (při každém odběru vzorku bylo připraveno a naočkováno jedno balení o hmotnosti 200 g; u všech plánovaných analýz je vyžadováno minimálně 150 g).
- vi. **Kmeny *L. monocytogenes*:** Test byl proveden akademickou laboratoří výzkumné jednotky mikrobiologie potravin a jejich konzervace na univerzitě v Gentu (FMFP-UGent), která má doložené výsledky ve vypracovávání imunologických testů za použití koktejlu tří kmenů *L. monocytogenes* (LMG 23194, LMG 23192, LMG 26484; více informací o kmenech viz [www.bccm.belspo.be/catalogues/lmg-catalogue-search](http://www.bccm.belspo.be/catalogues/lmg-catalogue-search)). Kromě těchto tří kmenů byl do koktejlu přidán čtvrtý kmen *L. monocytogenes*: kmen *L. monocytogenes* ST6, izolovaný ze zmrazené zeleniny / výrobního prostředí souvisejícího s ohniskem nákazy popsaným v EFSA/ECDC (2018) (Multi-country outbreak of *Listeria monocytogenes* serogroup IVb, multi-locus sequence type 6, infections linked to frozen corn and possibly to other frozen vegetables – first update. EFSA supporting publication 2018:EN-1448. 19 pp. doi:10.2903/sp.efsa.2018.EN-1448)
- vii. **Koncentrace inokula:** V souladu s technickými pokyny pro studie použitelnosti týkajícími se *Listeria monocytogenes* v potravinách určených k přímé spotřebě (EU-RL Listeria, červen 2014) bylo použito inokulum o cca 100 KTJ/g (v rozmezí 30–300 KTJ/g).
- viii. **Postup inokulace:** Zmrazená zelenina (objemná balení) byla společností vyrábějící zmrazenou zeleninou dodána do laboratoře a skladována při teplotě –18 °C. Krátce po dodání byla z velkých zmrazených balení (bez rozmrazování) odvážena jednotlivá zmrazená balení o hmotnosti 200 g a zabalena do vysoce těsnící fólie a před inokulací skladována po dobu maximálně 2 týdnů. Dále byla tato individuálně předvážená zmrazená balení (o 200 g) přes noc rozmrazena (v chladničce o teplotě 4 °C) a byla naočkována 400 µl inokula (cca  $1 \times 10^5$  KTJ/ml) koktejlu ze 4 vybraných kmenů *Listeria monocytogenes* (LMG 23194, LMG 23192, LMG 26484 a LFMFP 1049) za účelem získání inokula o přibližně 100 KTJ/g. Kmeny byly kultivovány odděleně: prvních 24 hodin při teplotě 37 °C, následně se subkultura nechala inkubovat v čerstvém médiu po dobu tří dnů při teplotě 7 °C v případě

kmenu LFMFP 1049 (kmen ST 6

izolovaný ze zmrazené zeleniny / výrobního prostředí během propuknutí nákazy v EU v roce 2018) a po dobu čtyř dnů při teplotě 7 °C v případě ostatních tří kmenů (během předchozí studie charakterizující růstové charakteristiky kmene ST6 bylo prokázáno, že roste rychleji než ostatní tři kmeny). Inokulace byla provedena nakapáním kultivační suspenze na částečně rozmrzená (přes noc při teplotě 4 °C) balení zeleniny. Bezprostředně po inokulaci byla naočkována částečně rozmrzená balení zeleniny o hmotnosti 200 g uzavřena/zapečetěna a opět uložena v teplotě -18 °C po dobu 14 dnů.

ix. Odběr vzorků a testování: Zmrzená balení byla vyjmuta ze zmrazovače a vložena do chladničky při teplotě 9 °C po dobu 24 hodin, aby se rozmrazila (viz teplotní profil v oddílu o výsledcích). Paralelně byly testovány tři replicitní vzorky (test 1, test 2 a test 3). U všech replicitních vzorků (test 1, 2, 3) byl počet *L. monocytogenes* stanoven po 14 dnech při -18 °C (den 0) a po 1 a 2 dnech odmrazování (24 h a 48 h uchovávání v chladničce při 9°±1 °C). Počet *L. monocytogenes* byl stanoven v souladu s normou ISO 17025.

Pozn.: U jednoho z replicitních vzorků (test 1) byl celkový počet aerobních bakterií, bakterií kyseliny mléčné a pH stanoven před inokulací, po 14 dnech skladování při teplotě -18 °C a po 1 a 2 dnech rozmrzování (po 24 h a 48 h při 9 °C). U všech replicitních vzorků (test 1, 2, 3) byla zjištována přítomnost nebo absence *Listeria monocytogenes* (na 25 g) a bylo měřeno pH a aw slepého vzorku před inokulací. Slepé vzorky byly naočkovány 400 µl rozpouštědla (fyziologickým roztokem).

## 2) Výsledky podle kategorizace zeleniny

Byly zohledněny následující charakteristiky potravin:

- specifická kategorie zeleniny,
- pH (minimální a maximální),
- obsah cukru a škrobu,
- přítomnost antilisterické složky
- blanšírování,
- řezná plocha.

Hodnota pH a obsah cukru a škrobu se použily k zařazení různých specifických kategorií zeleniny do hlavních skupin. Kromě toho byly všechny výrobky obsahující antilisterické složky zařazeny do samostatné skupiny. Další charakteristiky, jako je blanšírování a řezná plocha, byly použity k určení, který typ zeleniny bude v daném čase vybrán pro imunologické testování za účelem posouzení růstového potenciálu *L. monocytogenes* v rámci těchto (hlavních) skupin.

### i. Specifické kategorie zeleniny

Výrobky byly zařazeny do jedenácti různých kategorií na základě vědeckého stanoviska úřadu EFSA k riziku, které představují patogeny v potravinách jiného než živočišného původu, konkrétně jeho části 1 – Analýza výskytu nákazy a vyhodnocení rizik kombinací potravin/patogenů (EFSA Scientific Opinion on the risk posed by pathogens in food of non-animal origin Part 1, outbreak data analysis and risk ranking of food/pathogen combinations, EFSA Journal 2013, 11, 3025). Výrobky byly klasifikovány podle „obecné kategorie komodit“. Pouze v několika málo případech byla tato kategorie dále rozdělena do uvedených specifických kategorií.

### ii. Klasifikace podle pH

Hodnoty pH byly získány ze seznamu zveřejněného na webu PickYourOwn.org s použitím následujících odkazů:

- a. Anon. 1962. pH values of food products. Food Eng. 34(3): 98–99.
- b. Bridges, M. A., and Mattice, M.R. 1939. Over two thousand estimations of the pH of representative foods, American J. Digestive Diseases, 9:440-449.
- c. Warren L. Landry and et al. 1995. Examination of canned foods. FDA Bacteriological Analytical Manual, 8th Ed. Chapter 21, Table 11, AOAC International, Gaithersburg, MD 20877.
- d. Grahn M.A. 1984. Acidified and low acid foods from Southeast Asia. FDA-LIB.

Na základě vykázaného maximálního pH zeleniny byly tyto hodnoty klasifikovány takto:

- pH < 4,4: Není relevantní, protože pH je nižší než minimální pH pro imunologický test

- podle nařízení EU 2073/2005.
  - $4,4 < \text{pH} < 5,0$ : nízké riziko,

- $5,0 < \text{pH} < 6,0$ : střední riziko,
- $\text{pH} > 6,0$ : vysoké riziko.

iii. Klasifikace podle obsahu cukru a škrobu

Údaje o obsahu cukru a škrobu vycházely z belgické výživové tabulky (Nubel). Všechny hodnoty byly založeny na čerstvých výrobcích, protože pro většinu druhů zeleniny nebyly k dispozici žádné údaje o nutričním složení zmrzačených variant. Výrobky byly zařazeny podle obsahu cukru a škrobu do tří kategorií:

- nízký obsah: < 1%,
- střední obsah: od 1 do 4 % u cukru; od 1 do 5 % u škrobu,
- vysoký obsah: více než 4 % u cukru; více než 5 % u škrobu.

iv. Klasifikace podle přítomnosti antilisterické složky

Uvádí se, že druhy *Allium* z čeledi *Alliaceae* obsahují deriváty alicinu a sirné složky, které vykazují antimikrobiální aktivitu (Mnayer a kol., 2014). Rovněž se uvádí, že mrkev obsahuje antilisterické složky, které snižují koncentraci *L. monocytogenes* v mrkvi určené k přímé spotřebě během jejího uchovávání v chladničce (Sant' Ana et al. 2012). Výrobky byly rozděleny pouze na „žádné studie“ nebo „publikovaný studie o přítomnosti antilisterických složek“ (nejsou známy žádné podrobné informace o koncentraci těchto složek).

v. Blanšírování jako rizikový faktor

Výrobky se zařazují do tří skupin: blanšírovaný (ano), neblanšírovaný (ne), nebo obojí (různé).

Upozorňujeme, že blanšírování je technologická tepelná úprava, jejíž hlavním cílem je deaktivovat enzymy, které způsobují rozklad výrobku a pokles kvality. Blanšírováním však lze dosáhnout také určité mikrobiologické deaktivace. Přesná úroveň snížení koncentrace *Listeria monocytogenes* bude záviset na použitých podmínkách uvedeného procesu (čas/teplota). I když blanšírování jako technologické ošetření může přinést deaktivaci patogenu, může také způsobit ztrátu textury a změkčení zeleniny, což může usnadnit růst *L. monocytogenes* (pokud bylo použito pouze mírné tepelné ošetření nebo pokud je blanšírovaný výrobek náchylný k dodatečné kontaminaci). Po projednání se skupinou odborníků nebylo při zařazení výrobků do různých hlavních kategorií blanšírování zohledněno, protože použití tohoto kroku se může u stejného typu zeleniny lišit napříč šáržemi výrobků a napříč výrobci.

vi. Řezná plocha jako rizikový faktor

Výrobky byly zařazeny do různých skupin:

- bez rizika: nepoškozený,
- nízké riziko: pouze jedna řezná plocha,
- střední: více než jedna řezná plocha (např. po loupání),
- vysoké: pokrájený.

Pokud se jeden druh potraviny ze zeleniny objevil ve více než jedné skupině, byla řezná plocha označena jako „různé“. Po projednání se skupinou odborníků nebyly tyto rozdíly v řezných plochách zohledněny při seskupení výrobků do různých hlavních kategorií, protože se u stejného typu zeleniny mohou lišit napříč šáržemi/výrobci; tento faktor byl ale v rámci jedné (hlavní) skupiny použit k určení toho, který typ výrobku má být použit v imunologickém testu.

Závěr: Čtyři hlavní rizikové skupiny a výběr zmrazené zeleniny podrobené imunologickému testu na *L. monocytogenes*

Na základě přiřazení klasifikace rizik (na základě pH, obsahu cukru a škrobu a přítomnosti antilisterických složek) do různých specifických kategorií byly určeny čtyři hlavní rizikové skupiny.

Čtyři hlavní skupiny

- |    |  |
|----|--|
| 1. | Skóre 0 (obsahuje antilisterické složky) |
| 2. | Skóre < 0,2                              |
| 3. | Skóre 0,2 až 0,35                        |
| 4. | Skóre ≥ 0,35                             |

Výsledek hodnocení hlavních typů zmrazené zeleniny uváděných na trh EU je následující.

Na základě hodnocení byly pro další testování *L. monocytogenes* vybrány následující druhy zmrazené zeleniny, které patřily do hlavní kategorie s nejvyšším skóre (> 0,35):

- o zrna kukuřice cukrové,
- o sladké brambory (batáty),
- o hrách,
- o pastinák.

Kromě toho bylo  
bílé zelí

vybráno k imunologickému testování *L. monocytogenes*. Bílé zelí bylo přidáno, aby byla zahrnuta zmrazená „zelená listová“ zelenina, a rovněž s ohledem na jeho předchozí vliv při rozšíření bakterie *L. monocytogenes*. (Zelí také patřilo do skupiny s druhým nejvyšším skóre (0,2 až < 0,35).

### 3) Výsledný růstový potenciál *L. monocytogenes* ve zmrazené zelenině: výklad obecných zásad referenční laboratoře EU

Růstový potenciál *L. monocytogenes* ve třech šaržích pěti vybraných druhů zeleniny rozmrazovaných po dobu 24 h a 48 h při teplotě 9 °C po předchozím zmrazení při teplotě –18 °C po dobu 14 dnů je uveden v tabulce 1. Je třeba poznamenat, že den 0 není dnem inkulace kmeny *L. monocytogenes* (ta byla provedena dne – 14). Den 0 představuje spíše začátek rozmrazování, kdy byla dříve naočkovaná balení zmrazené zeleniny o hmotnosti 200 g přenesena do chladničky. Teplotní profil během rozmrazování / uchovávání v chladničce viz oddíl 4.

#### Výpočet růstového potenciálu

Podle technických pokynů EU RL (EURL, 2019) je růstový potenciál (log KTJ/g) definován jako rozdíl mezi mediánem výsledků (tří replicitních vzorků) na konci testu a mediánem výsledků na začátku testu (tří replicitních vzorků). Je třeba poznamenat, že v některých členských státech EU příslušné vnitrostátní orgány (např. NVWA v Nizozemsku) rozhodly, že pokud je maximální rozdíl mezi těmito třemi replicitními vzorky na konci doby použitelnosti vyšší než 0,5 log KTJ/g, neměl by se použít medián, ale nejvyšší hodnota těchto tří replicitních vzorků.

#### Interpretace výsledků testů pro posouzení růstového potenciálu

Podle technických pokynů referenční laboratoře EU (EURL, 2019) růstový potenciál vyšší než 0,5 log KTJ/g naznačuje, že potravina je schopna podpořit růst *L. monocytogenes* během doby použitelnosti podle použitého časově-teplotního profilu. Cílová hodnota na konci výrobního procesu by měla vždy zůstat „nevyskytuje se v 25 g“. Podle růstového potenciálu, který byl stanoven během testování, lze dosáhnout určitého středního limitu (tabulka 2).

**Tabulka 2** Střední limit na konci výrobního procesu s ohledem na vypočtený růstový potenciál.

Růstový potenciál (log KTJ/g) během doby použitelnosti, kdy jsou výrobky uváděny na trh, stanovený imunologickým testováním	Střední limit na konci výrobního procesu, aby se zabránilo patogenu vyššímu než 100 KTJ/g na konci doby použitelnosti
negativní nebo mezi 0,00 a 0,49	< 100 KTJ/g
mezi 0,50 a 0,99	< 10 KTJ/g
mezi 1,00 a 1,99	< 1 KTJ/g nebo se na g nevyskytuje
mezi 2,00 a 2,99	v 10 g se nevyskytuje
více než 3,00	v 25 g se nevyskytuje

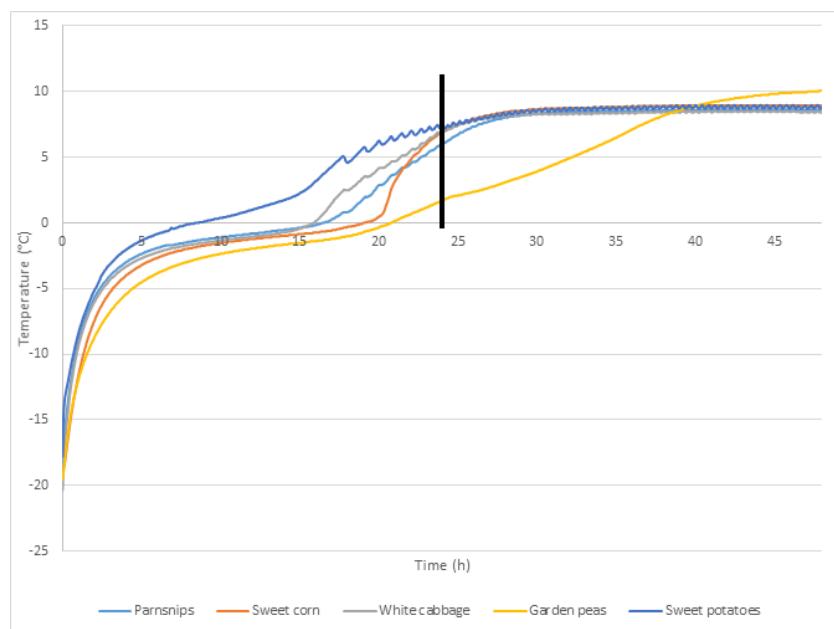
**Tabulka 1** Růstový potenciál *L. monocytogenes* po 24 h a 48 h rozmrazování v chladničce při 9 °C

šarže 1								potenciál růstu den 1		potenciál růstu den 2	
zelenina	šarže	replicitní vzorek	pH	den 0	den 1	den 2	EU	NVWA	EU	NVWA	
Hrách zahradní	1	1	6,42	1,78	2,52	3,28	0,62	0,62	1,26	1,26	
		2	6,44	2,18	2,4	3,04					
		3	6,48	1,6	2,2	2,88					
Pastiná k	1	1	6,2	2,15	2,28	2,98	0,13	0,13	0,96	0,96	
		2	6,11	2,28	2,23	3,11					
		3	6,12	1,7	2,32	3,11					
Kukuřice cukrová	1	1	6,69	2	2,74	3,43	0,69	0,69	1,37	1,89	
		2	6,76	2,08	2,88	3,45					
		3	6,76	2,46	2,77	3,97					
Batáty (sladké brambory)	1	1	6,09	1,6	2	3	0,89	0,97	1,76	1,97	
		2	6,09	1	2,49	3,36					
		3	5,88	2,15	2,57	3,57					
Bílé zelí	1	1	6,04	1,6	2,04	1,6	0,44	0,44	0	0	
		2	6,01	1,95	2	1,7					
		3	6,01	1,48	2,08	1,6					
šarže 2								potenciál růstu den 1		potenciál růstu den 2	
zelenina	šarže	replicitní vzorek	pH	den 0	den 1	den 2	EU	NVWA	EU	NVWA	
Hrách zahradní	2	1	6,86	1,70	3,04	2,97	0,70	0,70	0,85	0,85	
		2	6,91	2,11	2,81	3,04					
		3	6,95	2,34	2,76	2,87					
Pastiná k	2	1	6,27	1,60	2,76	3,71	0,85	0,85	1,71	1,71	
		2	6,16	1,90	2,83	3,61					
		3	6,16	2,15	2,62	3,53					
Kukuřice cukrová	2	1	7,4	1,60	2,88	4,20	1,10	1,10	2,35	2,38	
		2	7,4	2,32	3,04	4,00					
		3	7,49	1,85	2,95	4,23					
Batáty (sladké brambory)	2	1	6,2	2,00	3,34	3,63	0,71	1,26	1,58	1,61	
		2	6,21	2,20	2,78	3,69					
		3	6,14	2,08	2,79	3,66					
Bílé zelí	2	1	6,4	1,48	2,54	3,53	0,59	0,59	1,79	1,79	
		2	6,46	2,04	2,57	4,00					
		3	6,5	1,95	2,52	3,74					
šarže 3								potenciál růstu den 1		potenciál růstu den 2	
zelenina	šarže	replicitní vzorek	pH	den 0	den 1	den 2	EU	NVWA	EU	NVWA	
Hrách zahradní	3	1	6,85	1,60	2,43	3,66	0,73	0,73	2,16	2,16	
		2	6,86	1,90	2,67	3,86					
		3	6,83	1,70	2,40	3,86					
Pastiná k	3	1	6,31	2,26	2,68	3,81	0,33	0,33	1,73	1,73	
		2	6,3	1,85	2,41	3,99					
		3	6,33	2,08	2,41	3,81					
Kukuřice cukrová	3	1	7,22	1,70	3,00	3,57	1,28	1,28	1,87	2,02	
		2	7,25	1,70	2,98	3,51					
		3	7,23	1,85	2,94	3,72					
Batáty (sladké brambory)	3	1	6,08	1,85	2,73	3,23	0,23	0,55	1,08	1,12	
		2	6,19	2,34	2,41	3,26					
		3	6,08	2,18	2,40	3,30					
Bílé zelí	2	1	6,41	2,04	2,54	2,93	0,50	0,50	0,80	0,80	
		2	6,38	2,04	2,65	2,84					
		3	6,41	2,41	2,36	2,84					

#### 4) Časově-teplotní profily zmrazené zeleniny během rozmrzování

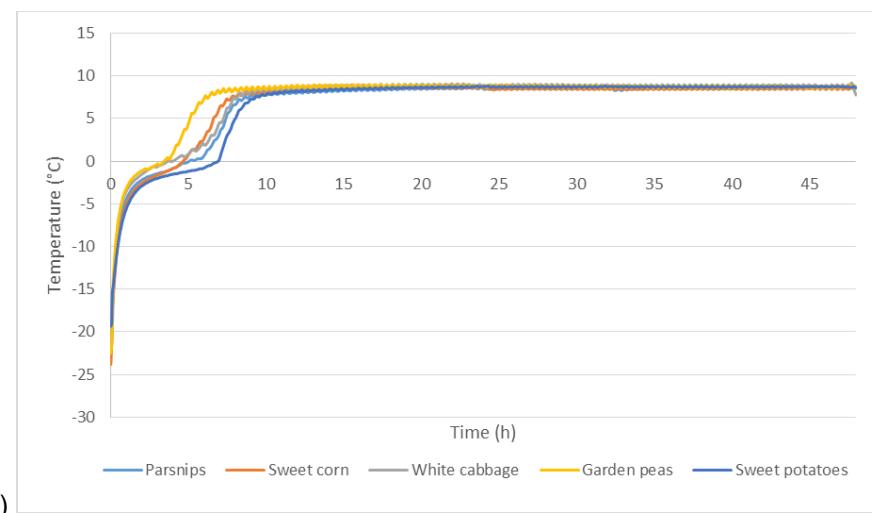
Šarže 1: teplotní profil (naplnění velkým objemem: 11–7 kg; pět druhů zmrazené zeleniny v jednom testu)

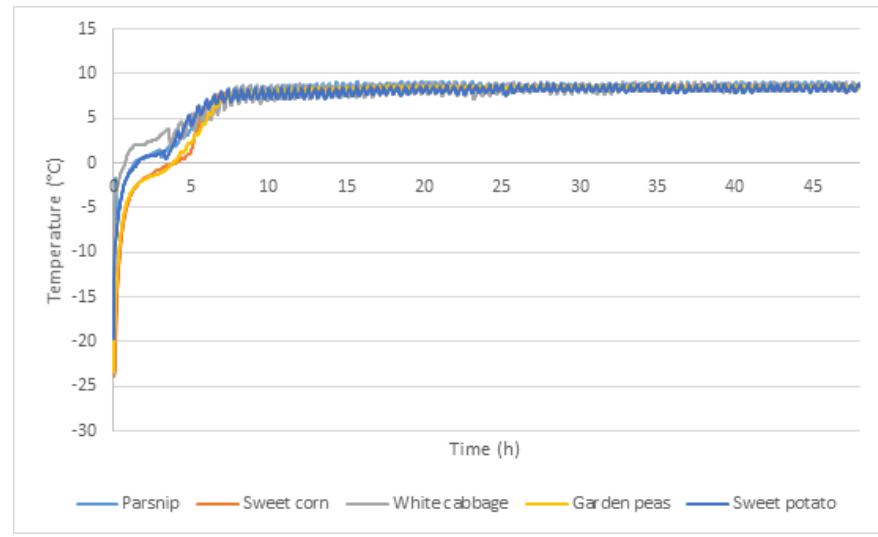
Obrázek č. 1. Měřený teplotní profil jednoho balení po 200 g pro každý typ zmrazené krájené zeleniny přenesené ze zmrazovače ( $-18^{\circ}\text{C}$ ) do chladničky o  $9^{\circ}\text{C}$  na dobu 48 h (teplota zaznamenána pomocí tlačítka pro zapsání teploty, Maxim Integrated, Kalifornie, USA) (chladnička o objemu 331 l – obsahující celkem 35–55 balení zmrazené krájené zeleniny po 200 g) = scénář 1 (chladnička naplněna velkým objemem výrobků simulujícím odmrazování v prostředí cateringu nebo B2B).



Šarže 2 a 3: teplotní profil (naplnění malým objemem: 1,4–2,2 kg; jeden test na jeden druh zmrazené zeleniny)

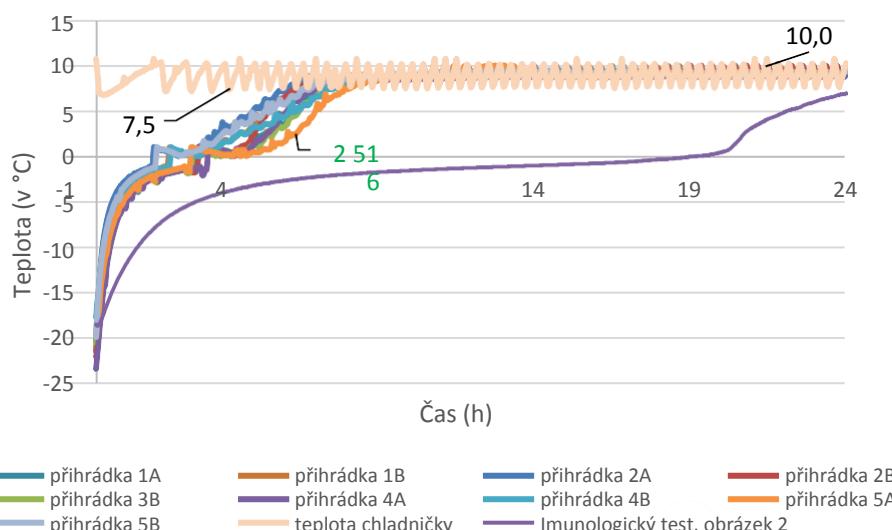
Obrázek č. 2. Měřený teplotní profil jednoho balení po 200 g pro každý typ zmrazené krájené zeleniny přenesené ze zmrazovače ( $-18^{\circ}\text{C}$ ) do chladničky o  $9^{\circ}\text{C}$  na dobu 48 h (teplota zaznamenána pomocí tlačítka pro zapsání teploty, Maxim Integrated, Kalifornie, USA) a) teplotní profil šarže 2 a b) teplotní profil šarže 3 (chladnička o objemu 331 l – obsahující celkem 7–11 balení zmrazené krájené zeleniny po 200 g) = scénář 2 (chladnička naplněna malým objemem výrobků simulujícím odmrazování v domácnosti).





#### Zaměření na teplotní profil (čas (t)–teplota (T) záznamy pro (nenačkovanou) kukuřici cukrovou při dvou různých podmínkách rozmrzování (naplnění velkým a malým objemem))

Jak je uvedeno, rozmrzení balení zmrazené zeleniny trvalo při naplnění velkým objemem delší dobu (šarže 1) (teplota > 0 °C dosažena po > 18h) a byl zkoumán teplotní profil alternativního scénáře rozmrzování (naplnění malým objemem), který byl považován za reprezentativnější pro rozmrzování/chlazení v domácnostech. V tomto alternativním scénáři bylo ze zamrazovače odebráno celkem 10 zmrazených (při -18 °C) balení o hmotnosti 200 g a vloženo do dosud prázdné chladničky o 9 °C (po dvou baleních na každou z pěti příhrádek chladničky). Umístění deseti balení v jedné chladničce umožnilo ponechat pohromadě vybranou kategorii potravin a všechny její jednotlivé replicity (a slepé) vzorky balení, které byly součástí stejné šarže v imunologickém testu na *L. monocytogenes*. Zaznamenaný teplotní profil pro 9 z těchto 10 balení (každý po 200 g = 2 kg odmrazované kukuřice cukrové) v chladničce je znázorněn na obrázku 3.



Obrázek č. 3. Měřený teplotní profil 9 z 10 odmrazovaných balení kukuřice cukrové po 200 g (celkově 2 kg nebo 2000 g odmrazované zmrazené kukuřice cukrové) přenesené ze zamrazovače (-18 °C) do (jinak prázdné) chladničky o 9 °C na dobu 48 h (teplota zaznamenána pomocí tlačítka pro zapsání teploty, Maxim Integrated, Kalifornie, USA) (objem chladničky 331 l – obsahující celkem 10 balení zmrazené kukuřice cukrové po 200 g) (žlutá řádka označená „imunologický test“ se týká šarže 1 scénáře 1, teploty při velkém objemu naplnění)

Tyto časové a teplotní profily ukazují, že tento typ testování *L. monocytogenes* k posouzení chování *L. monocytogenes* při odmrazování / uchovávání zmrazené zeleniny v chladničce za opodstatněně předpokládaných podmínek v domácnostech spotřebitele neodpovídá „standardnímu“ testu na *L. monocytogenes* popsanému v pokynu Evropské referenční laboratoře pro testování (EURL Lm Version 3 – Amd 1 dd, 21. února 2019).

Výše uvedené pokyny byly původně nastaveny pro testování *L. monocytogenes* u předbalených chlazených potravin s prodlouženou dobou použitelnosti (> 5 dnů) při chlazení (hlavní rizikové výrobky, pokud jde o *L. monocytogenes*),

tj. druh potravin, které jsou vyráběny a uváděny na trh jako „chlazené“ potraviny (viz např. potraviny analyzované v celounijní referenční studii o *L. monocytogenes* v potravinách, jmenovitě uzených rybách, vařených masných výrobcích, (měkkých) sýrech a také lahůdkových salátech atd.).

Výsledky současné studie *L. monocytogenes* imunologického testování rozmrazované zeleniny se odchylují od „standardní“ testu pro *L. monocytogenes*, tak jak je popsán v pokynech Evropské referenční laboratoře, protože

- 1) neexistuje žádná „jednotná“ teplota výrobku, nýbrž „proměnný“ teplotní profil, který je ovlivněn:
  - i) typem/objemem chladničky (a případně také dalším naplněním chladničky jinými studenými potravinami) a
  - ii) „počtem“, „odmrazovaných potravin“ (počtem balení a případně také „hmotnosti“ jednotlivých odmrazovaných balení, jejich umístěním v chladničce atd.)
- 2) Nejde o testování „prodloužené“ doby použitelnosti, ale o testování odůvodněně předpokládaného způsobu, jakým „spotřebitel manipuluje“ s výrobkem při odmrazování (do 24h až max. 48h) v chladničce („odůvodněně předpokládané překročení teploty“ je nastavené na 9 °C, zatímco obvykle agentury pro bezpečnost potravin nebo příslušné orgány v celé EU doporučují, aby byly chladničky pro spotřebitele nastaveny na max. 5 °C) (např. viz <https://www.food.gov.uk/safety-hygiene/chilling> )

## 5) Diskuse o růstovém potenciálu *L. monocytogenes* při odmrazování / uchovávání zmrazené zeleniny v chladničce

Je zřejmé, že i když jsou zavedeny programy nezbytných předpokladů, systém kritických kontrolních bodů (HACCP) a dobře zavedený systém řízení bezpečnosti potravin je na zaveden – jak je stanoveno v pokynech PROFEL o hygieně –, lze očekávat, že u tohoto typu výrobního procesu hluboce zmrazené zeleniny může dojít k občasné (post-)kontaminaci, kterou proto nelze vyloučit; v celoodvětvové mikrobiologické analýze hluboce zmrazené zeleniny bylo zjištěno, že některé hluboce zmrazené výrobky určené pro maloobchodní trh jako zmrazené potraviny mohou být příležitostně kontaminovány nízkými úrovněmi *L. monocytogenes* (< 10 KTJ/g). Ačkoli většina zmrazené zeleniny není mírněna a používána jako určená k přímé spotřebě, aby byl zajištěn bezpečnostní limit *L. monocytogenes* nejvýše 100 KTJ/g v době spotřeby potravin na trhu určených k přímé spotřebě, by doba rozmrazování (v chladničce) nebo uchovávání zmrazených balení zeleniny v chladničce neměla podporovat růst o více než 1 log<sub>10</sub> jednotek, neboť jinak by nízká úroveň kontaminace bakterií *L. monocytogenes* (< 10 KTJ/g) mohla přesáhnout 100 KTJ/g v době použití a spotřeby dané zmrazené zeleniny spotřebitelem.

**Celkově je růstový potenciál *L. monocytogenes* pozorovaný po 24 h menší než 1 log<sub>10</sub>, s výjimkou zmrazené kukuřice (šarže 2 a šarže 3) a s výjimkou jednoho z replicitních vzorků zmrazených batátů (ze šarže 2).**

Pokud je uchovávání v chladničce prodlouženo o dalších 24 h (až na 48 h), pak růst *L. monocytogenes* na rozmrazené chlazené zelenině často překračuje 1 log<sub>10</sub> a mezi šaržemi je pozorována určitá variabilita v rozsahu *L. monocytogenes*. Tuto pozorovanou variabilitu mezi jednotlivými šaržemi (a také zaznamenanou variabilitu v rámci jedné šarže) lze přičíst několika faktorům. Ve skutečnosti se jednalo o různé šarže (pocházející také z různých výrobních společností) stejného druhu zmrazené zeleniny, jejichž vlastnosti výrobku se mohou mírně lišit. Dále byla zjištěna variabilita v měřeném „zaznamenaném teplotním profilu“ (např. obrázek 3 s několika slepými vzorky kukuřice cukrové), a proto se očekávalo, že se objeví i variabilita teplotních profilů napříč baleními, která se současně rozmrazují ve stejně chladničce. To může do určité míry ovlivnit růst, a tím i pozorovaný růstový potenciál *L. monocytogenes* mezi různými šaržemi a v rámci jedné šarže.

Jak bylo uvedeno výše, z výsledků oddílu L. monocytogenes uvedených v tabulce 1 (oddíl 3) se projevilo, že kukuřice cukrová je nejvíce náchylná k podpoře růstu L. monocytogenes, a také může podporovat růst více než o  $1 \log_{10}$  během 24 h odmrazování/skladování v nejvhodnějších podmínkách (dosahujících teploty  $> 0^\circ\text{C}$  během 2–5h), jak bylo pozorováno u šarží 2 a 3 (viz tabulka 3 pro souhrn růstového potenciálu L. monocytogenes u cukrové kukuřice). V předběžné studii charakterizující růst LFMFP 1049 (kmen ST 6 izolovaný z mrazené zeleniny / výrobního prostředí během rozšíření nákazy v EU v roce 2018) bylo zaznamenáno, že tento kmen rostl rychleji než ostatní tři kmény při teplotě  $7^\circ\text{C}$ . Proto byl proveden zvláštní test, který se týkal šarže 3 cukrové kukuřice s použitím koktejlu ze tří standardních kmén L. monocytogenes (a tedy bez očekávaného rychleji rostoucího kmene ST6). Bylo konstatováno (viz tabulka 3), že růstový potenciál L. monocytogenes byl v druhém případě skutečně menší než  $1 \log_{10}$  jednotky během prvních 24 h uchovávání při teplotě  $9^\circ\text{C}$ . Zahrnutí kmene ST 6 izolovaného ze zmrazené zeleniny / výrobního prostředí během rozšíření nákazy v EU v roce 2018 by tedy do jisté míry mohlo vysvětlit zvýšený růst L. monocytogenes v cukrové kukuřici (více než  $1 \log_{10}$  během 24 h rozmrazování/uchovávání).

**Tabulka č. 3: Shrnutí výsledného růstového potenciálu L. monocytogenes na kukuřici cukrové**

zelenina	šarže	EU	NVWA	EU		
		NVWA Kuk	0,69	0,69	1,37	1,89
Kukuřice cukrová	2*		1,10	1,10	2,35	2,38
Kukuřice cukrová	3*		1,28	1,28	1,87	2,02

\*imunologický test provedený na čtyřech kmenech L. monocytogenes (v šaržích 1, 2, 3)

tj. včetně kmén L. monocytogenes ST6 izolovaných z ohniska ve zmrazené kukuřici v EU v roce 2018

° teplotní profil v šarži 1 byl odlišný (při rozmrazování trvalo dosažení teploty  $> 0^\circ\text{C}$  delší dobu)

zelenina	šarže	Růstový potenciál den 1		Růstový potenciál den 2	
		EU	NVWA	EU	NVWA
Kukuřice cukrová	3**	0,62	0,62	1,33	1,33

\*\*imunologický test provedený s použitím šarže 3, ale s třemi kmény L. monocytogenes namísto čtyř zkušebních kmén

tj. bez kmén L. monocytogenes ST6 izolovaných z ohniska ve zmrazené kukuřici v EU v roce 2018

**Závěrem lze konstatovat, že poznatky získané na základě imunologického testování popsáného výše o chování a růstovém potenciálu L. monocytogenes při rozmrazování / uchovávání zmrazené zeleniny v chladničce byly použity jako vstupní údaje pro 1) stanovení specifikace L. monocytogenes u konečného výrobku a 2) vytvoření odpovídajícího způsobu sdílení informací o riziku se spotřebiteli pomocí etiket, jak je popsáno v hygienických pokynech v oddíle 5.2.**

#### Odkazy k příloze III:

Mnayer, D., Fabiano-Tixier, A.-S., Petitcola, E., Hamieh, T., Nehme, N., Ferrant, C., Fernandez, X. and Chemat, F. (2014). Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of six essentials oils from the Alliaceae Family. Molecules, 19, 20034-20053.

Noriega, E., Newman, J., Saggers, E., Robertson, J., Laca, A., Diaz, M., Brocklehurst, T.F. (2010). Anti-Listerial activity of carrots: effect of temperature and properties of different carrot fractions. Food Research International, 43, 2425-2431.

Sant'Ana, A.S., Barbosa, M.S., DESTRO, M.T., Landgraf, M., Franco, B.D.G.M. (2012). Growth potential of *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* in nine types of ready-to-eat vegetables stored at variable temperature conditions during shelf-life. International Journal of Food Microbiology 157, 52-58.