

# **ЕКОЛОГО-СЪОБРАЗНО УПРАВЛЕНИЕ НА ОКОЛНАТА СРЕДА**

## **ОРИЕНТИРАН КЪМ РАБОТНО МЯСТО КУРС ЕКОЛОГИЧНА ИНФОРМИРАНост И УПРАВЛЕНИЕ НА ПАТОГЕНИ, ПРЕДИЗВИКВАЩИ КРЪСТОСАНИ ИНФЕКЦИИ ПРИ ХОРА И РАСТЕНИЯ**

**СУ „СВ. КЛИМЕНТ ОХРИДСКИ“**

доц. д-р ПЕТЯ ХРИСТОВА

## РО 11: РАСТЕНИЯТА КАТО ВЕКТОРИ ЗА ПРЕДАВАНЕ НА ЧОВЕШКИ ПАТОГЕНИ

### 1. Въведение

През последните години броят на човешки инфекции, причинени от опортюнистични патогени, се е увеличил драстично. Всяка година един на всеки 6 души се разболява след консумация на заражена храна. Нарастващата информираност, че заразени растения – като пресни плодове и зеленчуци – са отговорни за значителна част от хранителните отравяния с патогенни микроорганизми, потвърждава необходимостта от постигане на ново разбиране за взаимодействието между растенията и човешките патогени, определя специфичните интервенции, необходими за намаляване на заболяемостта, и измерва напредъка на поставените пред обществото здравни цели, произтичащи от политиките и интервенциите за осигуряване на безопасност на храните.

Ризосферата е естествен резервоар на опортюнистични патогени. Макар че много представители на ризосферния микробиом са полезни за растежа на растенията, групата на растителните патогенни микроорганизми колонизира ризосферата със стремеж да пробие защитния микробен щит и да преодолее вродените механизми на растителна защита, за да причини заболяване. Трета група микроорганизми, намиращи се в ризосферата, са човешки облигатни или опортюнистични патогенни бактерии.

Човешките патогенни микроорганизми се изучават предимно поради вредното си въздействие върху човешкото здраве. Те притежават разнообразен набор от генетични фактори, необходим за проявление на патогенността, включително специализирани системи за синтез и секреция на токсини и адхезини, които участват в схемата за манипулиране или заобикаляне на имунната система на човека. Произходът на човешките патогенни бактерии често се свързва с животинските патогени, причиняващи заболявания и епидемии; постоянното взаимодействие на човека като преносител с околната среда предразполага тези патогени да се адаптират към алтернативни ниши, които включват и неживотински източници.

Не е изненадващо, че вече се открива, че някои животински патогени, които предизвикват сериозни заболявания при човека, имат патогенен потенциал и спрямо растенията. Епидемиологията и стратегиите за причиняване на заболявания от тези патогени, независимо дали се разглеждат първоначално като растителни, или като

човешки, са от особен интерес за проучване както в областта на биологията, така и на еволюцията на кръстосаната патогенеза между различни царства.

Честотата на заболяванията, свързани с инфекции, предизвикани от *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* и *Listeria monocytogenes* след консумацията на (пресни) зеленчуци и плодове и кълнове от семена, ясно показва, че тези патогени не се предават само по „класически“ път – като консумация на месо, яйца и млечни продукти, но могат да се предават на хората и чрез растения или продукти, получени от тях. Много е обезпокоително, че тези човешки патогени се адаптират към нови местообитания в околната среда, без да губят своята вирулентност спрямо човека. Замърсяването на пресни продукти с патогени може да случи преди или след прибиране на реколтата, а веднъж замърсена, продукцията трудно се обеззаразява и хигиенизира. Проблемът се усложнява още повече в случаите, когато бактериите нахлуват в проводящите тъкани и системи на растенията, тъй като там те са защитени от конвенционалните санитарни обработки на растителната повърхност. Такива санитарни третираня намаляват общата микробна натовареност и нивата на замърсяване на повърхностите, но не проникват в растителната тъкан. Адаптирането на патогените към специфичната среда на растенията води до по-дългото им задържане в растенията, което увеличава възможността да се предават на човека чрез консумация на храни с растителен произход.

Оказва се, че много видове патогенни бактерии имат доста широк спектър от гостоприемници. Микроорганизмите, които участват в кръстосани инфекции, са по-коварни от останалите, които се предават на хората при контакт или потребление на растенията. Човешките патогени, способни да колонизират различни биологични царства, както и растенията като техни потенциални резервоари, имат важно значение за възникването и разпространението на инфекциозни заболявания.

Управлението на кръстосаните инфекции при растения и животни изисква повече интердисциплинарни изследвания и взаимодействие между институциите. Оценка на източниците на заболяванията, свързани с храни и с консумация на храни, са важни и могат да се използват за различни цели, включително и за информирано стратегическо планиране, информирано вземане на решения въз основа на оценка на риска, оценка на ползите от интервенциите, както и оценка на въздействието на интервенциите. Стратегиите за намаляване на замърсяването по веригата от производството до потребителите са най-актуални в дневния ред на агенциите по безопасност на храните. Настоящата лекция описва пригодността на човешките чревни патогени да се развиват върху растения и произтичащите последици за безопасността на храните. Отделено е

внимание на основните човешки патогени, които успешно колонизират растителните храни. Растежът и оцеляването на чревните патогени върху или в растенията са обсъдени в контекста на растителната микробна екология. Информацията за различните фактори, които влияят върху оцеляването на чревните патогени, осигурява добра основа за оценка на инфекциозната доза на патогените и за подготвяне на план за информираност и контрол на безопасността на храните и защитата им от патогени.

## **2. Проникване в „кръстосаните” домени на растителните патогенни бактерии**

Животът на Земята е разнообразен и взаимнообвързан: все още не е описана екосистема, която приютава организми само от един вид. Взаимодействията между организмите в една екосистема могат да бъдат много различни по своя характер – от полезни или неутрални до вредни. Обикновено инфекциозното заболяване се определя като резултат от вредни взаимодействия и е ограничено до определена комбинация от участници – гостоприемник (болните) и патогени (агент, причиняващ заболяването). Инфекциозната болест може да бъде определена като биологичен процес, който води до нарушаване на нормалната физиология на многоклетъчния организъм в отговор на наличието на патогенни микроорганизми върху или в тялото.

Заболяванията се различават по своето проявление, но винаги преминават през три основни етапа: адхезия, инвазия и колонизация. Патогените са развили приспособления за осъществяване на всеки един етап от инфекциозния процес с цел да инфектират различни гостоприемници, като в някои случаи това са членове на различни биологични домени. Скоковете между гостоприемници от различни царства се дефинират като „кръстосани“ в случаите, когато микроорганизмите обикновено колонизират предимно един домен, но са в състояние многократно да заразяват видове, принадлежащи към друго биологично царство. Кръстосаното заразяване се наблюдава по-често в животинското царство, но през последните години са описани редица примери на кръстосани инфекции между растенията и човека. Инфекциозният процес протича и в двете посоки: 1) заразяване и причиняване на болести по растенията от човешки патогени, и 2) причиняване на инфекциозни заболявания у хората от фитопатогенни растения. Терминът „човешки патогени върху растенията“ (НРОР) е предложен наскоро за обозначаване на патогени, които обитават, колонизират, заразяват или по друг начин си взаимодействат с растения.

Стратегиите за предизвикване на заболявания в таксономично несвързани гостоприемници, използвани от патогени, участващи в кръстосани инфекции,

представяват особен интерес, тъй като растителните и животинските (човешките) организми имат отличителни физически бариери и защитни реакции. Докато облигатните човешки патогени или фитопатогени развиват предимно фактори за преодоляване на физическите бариери и вродените защитни сили на определен гостоприемник, за кръстосаните патогени се изисква наличие на разнообразна библиотека от гени и стратегии за преодоляване на специфичните защитни бариери на всеки отделен домакин от различните биологични царства. За проявление на вирулентността и патогенността, както и за развитие на болестта и нейното разпространение до всеки гостоприемник се налага патогените да притежават универсален набор от фактори, които осигуряват закрепване (адхезия) на патогена, проникване и колонизация, или с други думи трябва да прилагат универсална стратегия за заболяване, при което един и същ пакет от патогенни фактори да е ефективен за всички гостоприемници. Фитопатогенните бактерии използват специфични детерминанти, които подпомагат нарушаването на подсилените клетъчни стени и манипулират физиологията на растенията, с което улесняват процеса на заболяване. Човешките патогени използват детерминанти (адхезини, инвазини и токсини), чрез които използват физиологията на бозайниците, за да преодоляват силно развитите адаптивни имунни отговори. Патогенните микроорганизми с потенциал за кръстосани скокове между таксономичните царства трябва да могат да влязат в тесен и постоянен контакт с потенциалните гостоприемници и да бъдат в състояние да преодолеят или да избегнат защитата на макроорганизма. Възпроизвеждането на агенти, участващи в кръстосани инфекции, в или в близост до новия гостоприемник осигурява предаването или освобождаването на успешни генотипове. Адаптирането към гостоприемник от различни домени включва точкови мутации, генетични пренареждания, придобиване на нови генетични елементи, които допринасят за повишаване на вирулентността или специфичността към гостоприемника. Идентифицирането на тези генетични детерминанти при микроби с растителен и човешки патогенен потенциал може да осигури по-добро разбиране на еволюцията на фитопатогенността, както и да изясни ролята на растенията като потенциални резервоари за клинично значими бактерии.

В последните години са описани неочаквано голям брой бактериални и гъбни патогени, способни да осъществяват кръстосани инфекции в различни домени. Грам-отрицателното бактериално семейство *Enterobacteriaceae*, което включва много от човешките патогени, свързани с растителните храни (например родовете *Escherichia*, *Salmonella* и *Shigella*), съдържа редица родове, които са типични фитопатогени

(*Enterobacter*, *Erwinia*, *Pantoea*, *Pectobacterium* и т.н.) и причиняват болести по растенията като главня, повяхване и меко гниене. Таксономичната свързаност на тези растителни и човешки патогени повдига интересни въпроси, свързани с биологичната им роля. Все още не е ясно дали се касае за конкуренция за нишата на обитаване, или за синергизъм, за хоризонтален обмен на нуклеинови киселини в защитените растителни ниши или дори за разширяване на обхвата от гостоприемници. Такива микробните видове се означават като **crossover (кръстосани) патогени**, тъй като инфектират и причинят болести както по растенията, така и при хората. Патогените, признати за способни да инфектират различни биологични царства (**cross-kingdom pathogens**), включват няколко бактериални вида, които обичайно обитават растителните повърхности и са компонент на ризосферния микробиом: *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*, *Dickeya spp.*, *Enterococcus faecalis*, *Serratia marcescens*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Phytophthora infestans*, *Salmonella enterica*, *Escherichia coli* и *Listeria monocytogenes*.

## 2.1. Растенията като среда на местообитание за човешки патогени

Земеделските растения са се превърнали в източник на човешки патогени, особено за бързоразвиващите се видове, които принадлежат към групата на шига токсин продуциращите бактерии. Опасността от човешки патогени в свежи продукти от растителен произход, предназначени за директна консумация, се проявява при избухването на инфекция, причинена от *Escherichia coli* O104:H4, в Германия и Франция през 2011 г., когато почти 4000 души са заразени и се стига до 54 жертви и над 900 случая на хемолитично-уремичен синдром. Най-вероятният път на предаване на патогена е бил чрез продукти за пряка консумация, като източник са кълнове от семена на сминдух, които са били транспортирани от Египет до Ротердам (Холандия) около 17 месеца преди появата на първите заболели в Хамбург и околностите. Интересен факт е, че патогенът не е изолиран в кълновете сминдух, но епидемиологични факти показват, че е бил свързан със семената в продължение на относително дълъг период от време.

Възникват въпроси за условията, при които един човешки патоген може да се задържи като жизнеспособен субект във враждебна среда за толкова дълъг период от време, и защо подобни наблюдения не са били правени преди. Дали това е била първа поява на огнище на заболяване, причинено от човешки патогенни бактерии, които се адаптират към растителната среда? За да отговорим на този въпрос, трябва да разгледаме естеството на причиняващия агент, който е нетипичен за патогенните щамове на *E.coli*,

най-често срещани се в Европа и САЩ. Избухването на инфекцията се дължи на ентероагрегативен щам *E. coli* O104: H4, който не се развива в животните, за разлика от други щамове *E. coli* тип O, и само хората са основен резервоар. Епидемии, причинени от този вид патоген, са рядкост в западните общества, докато тези, причинени от *E. coli* O157:H7 и *S. enterica*, са по-чести. Това показва, че конкретните функции на тези човешки патогени вече са налице, а жизненият им път в растителната среда е удължен. Въпросът е дали тези функции са присъщи на определени подгрупи на човешките патогени, или са наскоро придобити – например чрез хоризонтален трансфер на гени. Щамът, причиняващ избухването на инфекция в района на Хамбург, трябва да се разглежда като силно вирулентен патоген, който е придобил своята вирулентност и антибиотична резистентност чрез хоризонтален трансфер на гени посредством механизмите на трансдукция (фаг инфекция) и конюгация (прехвърляне на плазмид). Придобиването на нови вирулентни характеристики е един от аспектите от еволюцията на нов патоген, а селективният подбор е друг, като огнищният щам може би е еволюирал чрез увеличаване на своята вирулентност в резултат на пасиране през хора и едновременно с това е настъпило подобряване на екологичната му компетентност в растенията. При това развитие има риск от появата на нови видове силно вирулентни човешки бактериални патогени, които са напълно адаптирани за живот в близост до или във вътрешността на селскостопански растения.

## 2.2. Човешки патогени, които могат да инфектират растения

Нашето центристко разбиране за етиологията на човешките заболявания често води до радикални хипотези, че човешките патогенни бактерии са свързани само с един източник – човека. Видове от *родовете Salmonella, Serratia, Enterobacter* и *Enterococcus* се смятат за проблемни човешки патогени, които са често срещани във вътреболнична среда, причиняват хранителни отравяния, общи инфекции и сепсис. Има и други бактериални видове, които причиняват кожни заболявания, рани и инфекции на пикочните пътища (напр. *B. cereus, Proteus vulgaris*) и могат да бъдат изолирани като основни компоненти на ризосферната среда.

Редица бактериални човешки патогени са способни да колонизират и да причиняват заболяване в голям брой растителни източници. Те най-често навлизат в кореновата тъкан в местата на латерално поникване на корена и се развиват в растителните тъкани. Възможността за поява на човешки патогенни бактерии в ризосферата се благоприятства от няколко фактора: високо хранително съдържание, защита от ултравиолетова



радиация, наличие на водни филми за диспергиране и за предотвратяване на изсушаване.

Според някои автори проникването на човешките патогени се контролира от изобилието от изключително разнообразни местни ризосферни микробни общности, които осигуряват бариера срещу нахлуването на човешките патогени. Например растежът на *S. enterica* и *E. coli* O157:H7 върху корените на *Arabidopsis thaliana* силно се инхибира от ризосферните щамове на *Enterobacter asburiae*. Въпреки това много от човешките патогенни бактерии могат да бъдат силно конкурентни за хранителни вещества и да произвеждат различни антимикробни метаболити, които им позволяват да колонизират и пролиферират върху растителните повърхности в присъствието на автохтонните микробни общности. Интересното е, че механизмите, включени в ризосферната колонизация и антимикробната активност на човешки патогенни бактерии, изглеждат подобни на механизмите, участващи при вирулентността и колонизацията на човешките тъкани.

### 2.2.1. *Salmonella*

Този род се състои от два вида – *Salmonella enterica* и *Salmonella bongori*. *S. enterica*, подразделена на стотици серотипове, е причинител на много заболявания при човека, животните и птиците по цял свят, включително гастроентерит и кореман тиф. Тя е патогенът, който най-често се открива при инфекции, свързани с консумацията на плодове и зеленчуци. Въпреки своята ясна адаптация към оцеляване в човешки гостоприемници *Salmonella* може да бъде открита в ризосферната микробиота на няколко културни растения. Дълго време се е предполагало, че *Salmonella* може да оцелее върху растенията след повече или по-малко инцидентна инфекция, но тази хипотеза наскоро бе оспорена. *Salmonella* бактериите са в състояние да се задържат в почвата. Изследвания върху нативни *Conzattia multiflora*, бобово дървовидно растение, характерно за Мексико, разкриха съществуването на фигопатогенни линии *Salmonella*, изолирани от нодулиращите му структури. *S. enterica ssp., enterica* серотип *Typhimurium* (*S. typhimurium*), е изолирана от ризосферата на няколко културни растения като пшеница (*Triticum sativum*), маслодайна рапица (*Brassica napus*) и ягоди (*Fragaria ananassa*). Оказва се, че микробната концентрация на *S. enterica* в ризосферата на диви домати (*Solanum pimpinellifolium*) е по-ниска, отколкото при домашни сортове домати (*Solanum lycopersicum*).

Освен почвата друг път за инфекция може да бъде водата, която е била в контакт с човешки или животински отпадъци. Замърсената вода е добре познат път за разпространение на множество патогени, включително *Salmonella*. Бактериите могат да



се движат в цялата водоснабдителна система и впоследствие достигат нивите, където замърсената вода се използва за напояване. Оказва се, че популацията на *S. enterica* във филосферата на домати растения, напоявани със замърсена вода, е количествено по-голяма, отколкото при растения, отгледани от семена в предварително заразена почва.

Инфекцията на растенията със *Salmonella* може да се получи и с помощта на други организми. Коинокулирането на нематода *Caenorhabditis elegans* и *Salmonella Newport* при марули, ягоди или моркови завършва с растителна инфекция. Интересно е, че растителните тъкани не се заразяват с патогена при неговото инокулиране в отсъствието на нематода. Това е още един интересен пример за парадигмата при патогените – много често проявата на инфекциозност изисква наличие на специфични фактори, които в дадения случай се доставят от нематода. *Salmonella* може да се транспортира и чрез насекоми, напр. от мравката фараон (*Monomorium pharaonis*), която, придвижвайки се от закрити съоръжения към околната среда, влиза в контакт с набор от възможни гостоприемници, включително с растения. Взаимодействието между *Salmonella* и арбускуларна микоризална гъба (AMF) придава по-висока устойчивост и вирулентност на патогенната бактерия спрямо растенията, ако те са колонизирани от AMF. Това показва още един слой на взаимодействия в ризосферата.

Податливостта на заразяване със *S. enterica* направо от почвата е различна при различните видове земеделски култури. В растенията от семейство Кръстоцветни (*Brassicaceae*) салмонелите формират количествено по-големи бактериални популации, отколкото при домати и марулите. Въпреки това е доказано, че марулите имат филосфера с по-високи нива на замърсяване, което предполага, че има други пътища на замърсяване, като например водата за напояване, която също „ефективно” провежда патогена.

При поникването на семената (например на люцерната) се разрушава ендосперма и се синтезират различни ензими, които довеждат до освобождаването на редуциращи захари и други органични молекули, които преминават във водата за напояване. В резултат на тези процеси се получава подходяща среда за растеж и размножаване на *S. enterica*. Бактериите метаболизират тези молекули като източник на хранителни вещества и това прави растителните екsudати подходящ хранителен източник. Високите скорости на размножаване на някои щамове салмонела в ефлукса на покълнали семена предполагат наличието на сапрофитен растеж. Други растителни патогенни бактерии също могат да допринесат за развитие на инфекцията със салмонела. Пектинолитичните бактериални патогени, които причиняват меко гниене и по този начин имобилизират хранителните

вещества, много често се асоциират с инфекция на плодове и зеленчуци от *S. enterica*.

Салмонелите не само са в състояние да колонизират филосферата, но като инфектират растението, причиняват смърт на растителни органи. Заразяването със *Salmonella* в *Arabidopsis* чрез издънки или кореноплодни тъкани води до хлороза, увяхване и евентуална смърт на заразените тъкани в рамките на седем дни.

### 2.2.2. *Escherichia coli*

*Escherichia coli* е бактерия, която обикновено се намира в стомашно-чревния тракт на хора и топлокръвни животни. Поради широкото ѝ разпространение в червата *E. coli* се използва като показател за откриване и измерване на фекално замърсяване при оценката на безопасността на храните и водата. Смятани за безвредни коменсали, щамовете *E. coli* представляват около 1 % от микробната популация на нормалната чревна популация. Повечето от щамовете в червата са полезни за функционирането на стомашно-чревния тракт на човека, но има и такива, които са вредни. Патогенните щамове *E. coli* се отличават от останалите по своята способност да причиняват сериозни заболявания в резултат от експресията на генетичните им елементи за производство на токсини, адхезия и инвазия в клетките на гостоприемника, намеса в клетъчния метаболизъм и разрушаване на тъканите. За да се разпространят от един гостоприемник към друг, тези бактерии трябва да излязат в околната среда. Щамовете на *E. coli* може да оцелеят в продължение на няколко седмици извън гостоприемника и дори да се развият и размножават във водата или почвата. Има риск, когато растителната среда се е превърнала в гостоприемник, който *E. coli* колонизира. Въпреки че повечето видове *E. coli* са безвредни, наличието на патогенни щамове върху плодовете и зеленчуците представлява риск за безопасността на храните. Все по-често се идентифицират огнища, свързани с инфекции от *E. coli* O157, след консумацията на зеленолистни зеленчуци. Няколко клона на *E. coli* са придобили острови на патогенност чрез хоризонтален пренос на гени, които им позволяват да причиняват инфекции на пикочните пътища и диарии. Диаричните щамове *E. coli* са разделени в шест категории и могат да причинят различни заболявания – от умерена до тежка диария и системни заболявания (например хемолитично-уремичен синдром).

#### Шига токсин продуциращи щамове *E. coli*

Шига токсин продуциращата бактерия *E. coli* (STEC) е зоонозен патоген, колонизиращ основно говеда и дребни преживни животни. Макар продуктите от говеждо месо да са сред най-често признаваните източници на инфекции с *E. coli* O157, плодовете и зеленчуците, които се консумират сурови, също са важен източник. Описани са три

механизма за прикрепване на *E. coli* O157 към растителните листа. На първо място, за разлика от непатогенните *E. coli*, патогенният щам O157 STEC:H7 адхерира твърдо към обвивката на домати, листата на спанак и корените на люцерната. Адхезия към тези повърхности се медира от пилите, разположени по повърхността на бактериалната клетка. Адхезията на *E. coli* O157, както и ентеропатогенните щамове ЕРЕС се осъществява върху листата на различни видове салати посредством система за секреция от филаментозен тип (Т3SS). Секреционната система на *E. coli* O157 е предназначена да инжектира ефекторни протеини в клетки на бозайници. Транслокацията на тези протеини се медира от АТФ-аза и зависи от конфигурацията на порите в плазмената мембрана. Перитрихалните камшичета на *E. coli* O157 също имат важно значение за прикрепването на бактерията към листната маса. Всички тези данни показват, че *E. coli* O157 притежава множество механизми за колонизиране на растенията, които са добре адаптирани към тази биосфера. Подобно на *Salmonella*, *E. coli* O157 също може да проникне във вътрешните порести мезофилни кухини на растенията и да оцелее в тази среда.

Ентероагрегативни щамове *E. coli* и ентеротоксигенни щамове *E. coli*

Ентероагрегативните щамове *E. coli* (EAEC) причиняват тежък бактериален гастроентерит, но естественият им резервоар все още не е установен. Гостоприемници – мишени са най-често децата в ранна възраст и пътуващите хора, както и някои домашни животни като телета и прасета. За изучаване на разпространението на *E. coli* (EAEC) листата на маруля са инкубирани за 1 час с определено количество от патогена и са наблюдавани следните две входни врати и пътя на инвазия: (I) дифузна адхезия на патогена към епидермиса на листата на марулята, и (II) локализирана адхезия към повърхностните клетки на устицата. Свързването към епидермиса се медира от пилус, за който е известно, че играе важна роля в колонизацията на човешките черва, докато агрегацията около устицата се медира от камшичета. Предполага се, че камшичетата са основните посредници при адхезията на щамове ЕТЕС върху епидермиса на листа от маруля.

### **2.2.3. *Serratia marcescens***

Представителите на род *Serratia* предизвикват значими инфекции при хора, животни и насекоми. Таксономичната характеристика на рода е доста противоречива, като до момента има 14 признати видове, с по 2 подвида. Типовият вид на рода, *Serratia marcescens*, е човешки патоген, който често се среща в дихателните и пикочните пътища на хората и е отговорен за приблизително 1,4 % от вътреболничните инфекции, които

могат да бъдат животозастрашаващи. Щамовете на околната среда *S. marcescens* често са червени поради продукцията на продигиозин, а щамовете, свързани с болничните огнища, са предимно непигментирани. Много *S. marcescens* щамове са устойчиви на няколко антибиотика, поради което тази бактерия представлява все по-голям проблем за общественото здраве. Въпреки това относително малко се знае за факторите, които допринасят за патогенезата на *S. marcescens* към нейния гостоприемник (Mahlen, 2011). Въпреки своите животински вирулентни фактори *S. marcescens* може да се разглежда и като широко разпространен фитопатоген. Този вид е признат като клетъчно тъканен резидентен, който причинява заболяване по тиквите (*Cucurbita pepo* и *Cucurbita moschata*) и динята, което се характеризира с увяхване, обезцветяване на флоема и пожълтяване на листата. *S. marcescens* образува биофилм по стените на флоема, блокира транспорта на хранителни вещества, в резултат на което растението увяхва и умира.

#### **2.2.4. *Enterobacter cloacae***

Друга бактерия, която показва също кръстосана патогенеза, е *Enterobacter cloacae*, важен вътреболничен патоген, отговорен за бактеремия, инфекции на долните дихателни пътища, инфекции на кожата и меките тъкани, както и инфекции на пикочните пътища. *E. cloacae* синтезира шига подобен цитотоксин II, който е свързан с хемолитично-уремичен синдром при бебета. Въпреки че има доказателства, че *E. cloacae* еволюира, за да колонизира човешкия гостоприемник, той също е идентифициран като причинител на болестта „сиво ядро“ при макадамията (*Macadamia integrifolia*). Началото на болестта засяга не само качеството на ядките, произведени от дървото, но води до сиво оцветяване и лоша миризма. *E. cloacae* причинява и бактериално меко гниене при драконовите плодове (*Hylocereus spp.*), бактериално гниене на листата на орхидеите (*Odontioda orchids*), а също така е отговорен за вътрешното пожълтяване на папаята и гниенето на лука.

*Enterobacter* причинява кафяво гниене в главите на лука, след като реколтата е прибирана, изсушена и складирана. Следите от разлагането обикновено се появяват по някои люспи на луковицата, докато в тъканта се развиват кафяви на цвят кръгове, които ясно се виждат при нарязване на главата лук наполовина. При съхранение на големи количества лук, при които честотата на гниене, причинено от *Enterobacter*, е > 2,5 %, цялата партида не може да се продава и производителят има значителни загуби.

Вирулентните фактори и механизмите на *E. cloacae* за предизвикване на заболявания по растенията са все още неизвестни, което затруднява и ограничава разработването на методи за контрол на този фитопатоген.

### 2.2.5. *Enterococcus*

Кръстосаната патогенеза не се ограничава само до Грам-отрицателните бактерии, тя може да бъде открита и при Грам-положителните. Ентерококите са част от нормалната чревна флора на хора и животни, но също така са важни опортюнистични патогени, отговорни за сериозни инфекции, особено при имунокомпрометирани пациенти. С увеличаване на резистентността към антибиотици ентерококите се оказват нозокомиални патогени, които могат да бъдат трудни за лечение. Родът *Enterococcus* включва над 17 вида, но само няколко могат да предизвикат локални или системни клинични инфекции на пикочните пътища, включително коремни инфекции, раневи инфекции, бактериемия и ендокардит. Като цяло групата на ентерококите се отнася към гама-подгрупата на стрептококите, които не предизвикват хемолиза. Клиничните изолати на множество видове ентерококи обаче са развили като фактор на патогенност способността да произвеждат хемолизини, които лизират червени кръвни клетки. Хемолитичните щамове проявяват множествена лекарствена резистентност по-често, отколкото нехемолитични щамове, докато щамове, изолирани от фекални проби от здрави индивиди, показват ниска (17 %) честота на производство на хемолизини.

Оказва се, че ентерококите са способни не само да инфектират клетки от бозайници и нематоди, но също и растения като *Arabidopsis thaliana*. При заразяване в лабораторни условия с *E. faecalis* смъртта на растението настъпва след около седем дни. Първоначалните признаци на заболяването се появяват веднага щом бактерията успешно се прикрепил към повърхността на листата, след това *E. faecalis* навлиза в листната тъкан чрез устицата или чрез рани, размножава се и колонизира междуклетъчните пространства на растението гостоприемник. Тези процеси причиняват прекъсване на стената на растителната клетка и мембранните структури и довеждат до гниене на растението. Изглежда, че фитопатогеността на *E. faecalis* включва някои от същите генетични фактори, участващи в патогенезата при животните, включително системата на кворум-сенсинг и синтезата на серинови протеази. *E. faecalis* използва обща стратегия за причиняване на заболявания, което му позволява да използва едни и същи вирулентни фактори за два различни гостоприемника.

### 2.2.6. *Listeria monocytogenes*

*L. monocytogenes* е човешки патоген, за който се смята, че се предава на хората чрез консумация на замърсени хранителни продукти от животински произход. Тя предизвиква сериозни заболявания като листериоза, които протичат летално при малки

деца, бременни жени и възрастни хора. Естественят хабитат на тази бактерия са почвите, богати на разлагаща се растителна маса. Следователно тя може естествено да се прикрепи към всеки растителен продукт, който се отглежда в контакт с почвата, и да се интернализира в него. Това превръща листерията в една от най-опасните замърсители на храни от растителен произход. Необичайно за човешки патоген *L. monocytogenes* използва растителните захари за своя растеж и по този начин се превръща в сериозен проблем при консумация на минимално преработени плодове или зеленчуци. Когато зеленчуците или плодовете са нарязани, се освобождава по-голямо количество захари, които бактерията усвоява успешно. Психрофилната природа на листерията благоприятства развитието ѝ при ниски температури, каквито обикновено се използват за съхранение на растителните храни в складовете.

*Listeria* в растителните тъкани. Все още няма доказателства дали *L. monocytogenes* може да се интернализира във вътрешността на растенията. Информацията за проникването и колонизацията на *L. monocytogenes* в растителните тъкани е много ограничена и някои от резултатите са противоречиви. Доказано е, че подобно на *E. coli*, листерията може да влезе в устицата на листата, но дали това е активен процес, или пасивно заклещване на бактерии в структурата (която е много по-голяма от бактериалната клетка), не е ясно. Макар бактериите да могат да проникват, естествените отвори на растенията могат да бъдат защитени от различни дезинфектанти, които предизвикват затваряне на повърхностните клетки. Тъй като организъмът се среща често в почвата, навлизането на *Listeria* в листната тъкан е по-вероятно да се случи след прибиране на реколтата, а не по време на растежа. Плодовите и зеленчуковите култури могат да бъдат замърсени след прибиране на реколтата, когато е налице достатъчно голяма температурна разлика между тази на растенията и тази на използваната за измиване вода. Това дава възможност за по-активно проникване и движение на вода в растителните тъкани. След навлизането си бактериите се транспортират от масовия поток на водата в растението и се движат с нея. Заразяването на растенията може да се осъществи, когато за наторяване се използва заразна оборска тор, какъвто е случаят с инфекциозно огнище през 1981 г. Това е първата епидемия от *L. monocytogenes*, която категорично е свързана с храна и е причинена от търговски подготвени салати от сурово зеле в Канада. В резултат има най-малко 41 заболели и 7 потвърдени смъртни случая. В този случай е установено, че използваните органични торове при отглеждане на зеле са били инфектирани от овце – преносители на *Listeria*, което е довело до тежко замърсяване на зелената листна маса.



Растеж на *Listeria* в пресни продукти. *L. monocytogenes* се развива с различна скорост в зависимост от състоянието и вида на пресните продукти (зdravi, повредени, нарязани пресни продукти). *L. monocytogenes* се развива предимно върху повърхността на интактни домати, докато върху моркови, зеле, чушки, пъпеш и диня се развива само в нарязани, настъргани форми или повредена продукция. *Listeria* расте добре на настъргана маруля, като популацията се увеличава по време на съхранението. Предполага се, че опаковките с модифицирана атмосфера увеличават способността на *L. monocytogenes* да се развива поради инхибиране на конкурентната микрофлора в растителния продукт. Ефектът зависи от вида на продуктите, състава на модифицираната атмосфера, както и от условията на съхранение. Продължителният срок на годност увеличава риска от листериоза.

Способността на *Listeria* да оцелее при топлинна обработка и в киселинни условия е различна при различните видове пакетирани зеленчуци. Варената или пастьоризирана продукция обикновено поддържа условия, осигуряващи бърз растеж на листериите. Това може да представлява риск за консуматорите при замърсяване след постобработка, особено ако храната не е била в хладилник и се консумира без термична обработка. В момента се приема, че повечето произведени суровини поддържат растежа на *L. monocytogenes*, което определя този патоген като един от основните фактори за контрол на безопасността на храните.

### 3. Изводи

- Броят на огнища на хранителни заболявания, свързани с консумацията на пресни растителни продукти, е нараснал драстично от началото на 90-те години на двайсети век.
- *S. enterica* и *E. coli* O157: H7, свързани предимно с предизвикване на инфекции при консумация на храни от животински произход, причиняват най-голям дял от епидемиите, свързани с пресни растителни храни.
- Данните от наблюденията представят убедителни доказателства за наличието на ентеропатогенни бактерии върху пресни плодове и зеленчуци.
- Не всички видове ентеропатогени са екологично генерализирани. Съществуват големи разлики между различните чревни патогени в способността им да се свържат и да колонизират растителни повърхности и специални фенотипове и играят роля в някои от тези различия.



- Независимо че способността на *S. enterica* за развитие върху растения е сравнително по-слаба от тази на обикновените ризосферни бактерии, този човешки патоген може да расте по растителна повърхности при условия на висока влажност и висока температура, два фактора, които влияят на нейната конкурентоспособност в това местообитание.
- Няколко проучвания, извършени в лабораторни камери и в полеви условия, показват, че *S. enterica* и *E. coli*, инокулирани в периода на засаждане, се задържат върху културите за продължителен период от време, включително до прибирането на реколтата.
- Заразената растителна тъкан може да осигури богата на хранителни вещества и защитена екологична ниша за чревните патогени. Въпреки това тази възможност за растеж се диктува от природата на взаимодействията с резидентната растителна микрофлора.
- Експресирането в чревните патогени на детерминанти за преживяване и на вирулентни фактори, получени от други ризосферни обитатели в хабитата на растенията, може да модулира взаимоотношенията доза-отговор в човешкия гостоприемник и да позволи хранителните заболявания да настъпват с по-ниски инфекциозни дози.

## ИЗПОЛЗВАНА ЛИТЕРАТУРА

- Bassett J. and McClure P. (2008) A risk assessment approach for fresh fruits. *Journal of Applied Microbiology* 104, 925–943.
- Berg G., Eberl L. and Hartmann A. (2005) The rhizosphere as a reservoir for opportunistic human pathogenic bacteria. *Environmental Microbiology* 7 (11), 1673–1685.
- Berger C.N., Sodha S.V., Shaw R.K., Griffin P.M., Pink D., Hand P. and Frankel G. (2010) Fresh fruit and vegetables as vehicles for the transmission of human pathogens. *Environmental Microbiology* 12(9), 2385–2397.
- Brandl M. (2006) Fitness of Human Enteric Pathogens on Plants and Implications for Food Safety. *Annual Review of Phytopathology* 44, 367–392.
- Brandl M., Cox C.E. and Teplitski M. (2013) Salmonella Interactions with Plants and Their Associated Microbiota. *Phytopathology* 103 (4), 316–325, <http://dx.doi.org/10.1094/PHYTO-11-12-0295-RVW>.

- Duan J., Zhao Y. and Daeschel Mm. (2011) Ensuring Food Safety in Specialty Foods Production 2011, <https://catalog.extension.oregonstate.edu/em9036>
- European Food Safety Authority (EFSA). (2011) Guidance on the environmental risk assessment of plant pests EFSA Panel on Plant Health (PLH) 2, 3, Parma, Italy. EFSA Journal; 9 (12): 2460.
- EASAC. (2014) Risks to plant health: European Union priorities for tackling emerging plant pests and diseases. Policy report, 24 February 2014, ISBN: 978-3-8047-3251-3.
- Fletcher J., Leach J. E., Eversole K., and Tauxe R. (2013) Human Pathogens on Plants: Designing a Multidisciplinary Strategy for Research. *Phytopathology* 103 (4), 306–315, <http://dx.doi.org/10.1094/PHYTO-09-12-0236-IA>.
- Food Safety Risk Assessment of NSW Food Safety Schemes (2009) Food Authority, Australia.
- Food Standards Agency UK (2004). Survey of baby foods for mycotoxins. <http://www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/fsis6804.pdf>.
- Flood J. (2010) The importance of plant health to food security, *Food Sec.* 2:215–231, DOI 10.1007/s12571-010-0072-5.
- FSAI [Food Safety Authority of Ireland] (2003). Results of 4th quarter national survey 2002 (NS4), European Commission co-ordinated programme for the official control of foodstuffs for 2002, Bacteriological safety of pre-cut fruit & vegetables, sprouted seeds and unpasteurised fruit & vegetables juices from processing and retail premises. [http://www.fsai.ie/surveillance/food\\_safety/microbiological/4thQuarter2.pdf](http://www.fsai.ie/surveillance/food_safety/microbiological/4thQuarter2.pdf).
- FSA [Food Science Australia] (2000a). Final report – scoping study on the risk of plant products. Food Science Australia prepared for SafeFood NSW.
- FSA [Food Science Australia] (2000b) Fact Sheet Preservation of vegetables in oil and vinegar. Retrieved 14 January 2009, <http://www.foodscience.afisc.csiro.au/oilvine.htm>.
- FSAI [Food Safety Authority of Ireland] (undated). 3rd Trimester National Microbiological Survey 2005 (05NS3): EU Coordinated programme 2005, bacteriological safety of prepackaged mixed salads. Food Safety Authority of Ireland, Retrieved 2 December 2008, from [http://www.fsai.ie/surveillance/food\\_safety/microbiological/mixed\\_salads.pdf](http://www.fsai.ie/surveillance/food_safety/microbiological/mixed_salads.pdf).
- Gilbert S., Lake R., Hudson A and Cressey P. (2006). Risk profile: Shiga-toxin producing *Escherichia coli* in leafy vegetables. Institute of Environmental Science and Research Limited report prepared for the New Zealand Food Safety Authority. Retrieved 14 January 2009,

[http://www.foodsafety.govt.nz/elibrary/industry/Risk\\_Profile\\_Shiga\\_Toxin-Science\\_Research.pdf](http://www.foodsafety.govt.nz/elibrary/industry/Risk_Profile_Shiga_Toxin-Science_Research.pdf).

- Jay S., Davos D., Dundas M., Frankish E. and Lightfoot D. (2003). Salmonella. In: Hocking A.D. (Ed.). Foodborne Microorganisms of Public Health Significance, pp. 207–266. Australian Institute of Food Science and Technology, Waterloo.
- Hernandez-Reyes C. and Schikora A. (2013) Salmonella, a cross-kingdom pathogen infecting humans and plants. *FEMS Microbiol Lett* 343, 1–7.
- Kirzinger M., Nadarasah G. and Stavrinos J. (2011) Insights into Cross-Kingdom Plant Pathogenic Bacteria. *Genes* 2, 980–997, doi:10.3390/genes2040980.
- Lake R., Hudson A., Cressey P. and Gilbert S. (2005). Risk profile: *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat salads. Institute of Environmental Science and Research Limited report prepared for the New Zealand Food Safety Authority. Retrieved 14 January 2009.
- Mahlen S. (2011) *Serratia* Infections: from Military Experiments to Current Practice. *Clinical Microbiology Reviews*, 24 (4), 755–791, 0893-8512/11/\$12.00 doi:10.1128/CMR.00017-11.
- Mendes R., Garbeva P. and Raaijmakers J.M. (2013) The rhizosphere microbiome: significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms. *FEMS Microbiology Reviews* 37, 634–663.
- van Baarlen P., van Belkum A., Summerbell R.C., Crous P.W. and Thomma B.P.H.J. (2007) Molecular mechanisms of pathogenicity: how do pathogenic microorganisms develop cross-kingdom host jumps? *FEMS Microbiology Reviews* 31, 239–277.
- Pezzoli L., Elson R., Little C., Yip H., Fisher I., Yishai R., et al. (2008) Packed with Salmonella – Investigation of an international outbreak of Salmonella Senftenberg infection linked to contamination of prepacked basil in 2007. *Foodborne Pathogens and Disease* 5(5), 661–668.
- Szabo E., Scurrah K. and Burrows J. (2000) Survey for psychrotrophic bacterial pathogens in minimally processed lettuce. *Letters in Applied Microbiology* 30, 456–460.
- Miller S.A., Beed F.D. and Harmon C.L. (2009) Plant Disease Diagnostic Capabilities and Networks. *Annual Review of Phytopathology* 47, 15–38.
- van Overbeek L., van Doorn J., Wichers J.H., Amerongen A., van Roermund H.J.W. and Willemsen P.T.J. (2014) The arable ecosystem as battleground for emergence of new human pathogens. *Frontiers in Microbiology*, article 104, 1–17, doi: 10.3389/fmicb.2014.00104.



Funded by the  
Erasmus+ Programme  
of the European Union

Turnbull-Fortune S. and Badrie N. (2014) Practice, Behavior, Knowledge and Awareness of Food Safety among Secondary & Tertiary Level Students in Trinidad, West Indies. Food and Nutrition Sciences 5, 1463–1481.

## **РО 12: ИНФОРМИРАНОСТ И УПРАВЛЕНИЕ НА БЕЗОПАСНОСТТА НА ХРАНИТЕ, СВЪРЗАНИ С РАСТИТЕЛНИ ПАТОГЕНИ**

### **1. Въведение**

Приведените в предходния раздел доказателства очертават способността на ентеропатогенните бактерии да растат и да се задържат в културните растения. Този многофункционален начин на живот може да обясни забележителната честота на хранителните заболявания, свързани със замърсяването на земеделските култури. Плътността на бактериалната популация на ентеропатогените в растителната продукция не е единственият определящ фактор за възникване на инфекция в човешкия гостоприемник. Взаимодействията на чревните патогени с растенията могат да подкрепят не само оцеляването им в новите местообитания, но и да увеличат способността им да инфектират хора.

Безопасността на храните има значителни последици върху човешкото здраве, социалното поведение и икономиката. От една страна, възникналите огнища на хранителни инфекции може да разболеят значителен брой хора, докато съпътстващите изтегляния на продукцията и публичността могат да намалят доверието на потребителите, да доведат до спад на търсенето и значителни икономически загуби по всички части на веригата на доставки. Затова е разработена програма за информираност и осигуряване на безопасност на растителните храни срещу риска от човешки патогени. Програмата включва три стъпки, използвани за управление на здравето на човека и безопасността на растителните продукти: 1) Идентификация на опасностите; 2) Оценка на риска; 3) Контрол на риска.

### **2. Основни рискови фактори, влияещи на патогенната инфекция и разпространение**

Рисковите фактори за заразяване на продукцията са по веригата на доставките, както на етапа преди прибирането на реколтата (още на полето), така и на етапа след нейното прибиране, обработка и съхранение. Патогенните популации могат да се установят в отглежданите култури още във фазата на отглеждане на реколтата. Рискът може да бъде увеличен след прибиране на реколтата или при по-нататъшно пряко замърсяване или

чрез коконтаминиране от съществуващи популации патогени по време на процедурите на обработка и преработка на продукцията.

Водата е възможен път за съществено замърсяване на посевните площи. Възможни източници са отток от околните пасища на животни и напояване от замърсен източник. Рискът, свързан с използването на вода от различни източници, които се различават по микробиологични качества, за напояване на продукцията, е оценен и е призната необходимостта от подобряване на техническите инструкции. Интересен факт е, че при отглеждане на спанак в заразени почви с *E. coli* O157:H7 не се открива интернализация на бактерията в растението, а се открива в листата на спанака, след като замърсена вода е накапана върху тях. Това предполага по-ниска вероятност за предаване на патогени от замърсена вода чрез капково напояване в сравнение с по-голяма вероятност за контаминиране чрез разпръскващи поливни системи (режийни спринклерни системи). Напояването обаче не е единственият известен начин за замърсяване на растителните култури, свързан с водата. Използването на вода при преработката след прибирането на реколтата също играе роля за замърсяването. Например огнище на инфекция със *Salmonella*, серотип Newport, е било свързано с консумация на манго, третирано с гореща вода за предотвратяване на преноса на плодовите мушици. Патогените могат да се прехвърлят към околната среда чрез прилагане на неподходящо компостирани или сурови торове от животински произход или канализационни води. Фекалиите на диви животни могат също да бъдат източник. Проследяването и разследването на околната среда на огнище на *E. coli* O157, свързано с пакетирани спанак, е показало, че ранчо в долината Салинас в Калифорния е най-вероятният източник на заразата. Прилагането на молекулни методи за анализ като пулсова електрофореза и мултилокусен анализ на тандемните повтори са показали идентични профили на изолираните патогенни щамове от спанак и изолатите от обиталищата на местни свине и фекалии от едър рогат добитък. Въпреки това начинът, по който е станало замърсяването на спанака в конкретния случай, не е бил определен.

Насекомите също са възможен източник на замърсяване. В лабораторни условия контаминирани мухи са показали директно прехвърляне на бактерии към листата на растенията или плодовете. Голям брой от мухи, принадлежащи към семействата *Muscidae* и *Calliphoridae*, открити в полетата с растителна продукция, съседни на пасищата на едър рогат добитък, са преносители на *E. coli* O157:H. Предполагаемите източници на замърсяване на плодовете, използвани за сок, включително и паднали плодове, са заразена почва, вода, канализация или оборска тор, както и използването на

замърсени води за миене или преработка на плодове и замърсяване на самото място на потребление.

Процесите, свързани със съхраняването, измиването и рязането на готовата продукция, също са възможни източници на замърсяване. Срязаните повърхности на листата са конкретна таргетна цел на патогенни бактерии като салмонела, които показват специфичен тропизъм към тях. Срязаните пъпешки могат да съдържат патогени от кората към ядливата част на плода, където бактериите могат да се размножават, ако отрязаният пъпеш не се съхранява в хладилник. Използването на неподходящо обеззаразена вода в охладителите, които се използват за съхранение и обработка на големи количества пресни продукти, може да доведе до замърсяване на цялата партида..

Други важни фактори, които вероятно са допринесли за развитието на растителните продукти като източник на ентеритни заболявания, са:

- ✓ Промени в хранителната промишленост
  - Интензификация и централизация на производството
  - По-широко разпространение на продукцията на по-дълги разстояния
  - Въвеждане на минимална обработка на продукцията
  - Увеличен внос на пресни продукти
- ✓ Промени в навиците на потребителите
  - Повишена консумация на храна извън дома
  - Повишена популярност на салатните барове
  - Повишена консумация на пресни плодове и зеленчуци, както и на фрешове
- ✓ Увеличен брой на населението в риск (възрастни хора, имунокомпрометирани)
- ✓ Засилено епидемиологично наблюдение
- ✓ Подобрени методи за откриване, идентифициране и проследяване на патогени
- ✓ Развиване на патогени с ниска инфекциозна доза

### **3. Санитарен анализ на риска при растителните продукти в схемата за безопасност на храните**

Оценката на риска, проведена върху рисковете, свързани с растителните продукти, показва, че прясно нарязаните плодове и зеленчуци, покълналите семена, зеленчуците в мазнина и непастьоризираният сок са с висока степен на риск. Това се проследява в историята на огнищата на хранителни заболявания в Австралия и САЩ, при които е



изолирана най-вече *Salmonella*. Годишната консумация на тези продукти се оценява на 11 000 тона свежи зеленчуци, 150 тона свежи плодове, 2600 тона семена и кълнове, 1000 тона зеленчуци в мазнина, както и 100 000 литра непастьоризиран сок в страни като Австралия.

Растителните продукти, които са заразени с *L. monocytogenes*, *Aeromonas spp.*, *B. cereus* и *Salmonella*, са с висок риск за човешкото здраве. Замърсяването на прясно нарязани плодове и зеленчуци може да се случи по време на растежа, прибирането на реколтата или обработката с основните патогени, свързани със здравен риск като *L. monocytogenes* и *C. botulinum* за храни, опаковани в условията на модифицирана атмосфера. Тези продукти се считат за голям риск, когато се консумират сурови.

Покълналите семена могат да бъдат замърсени с *B. cereus*, *Salmonella* и патогенни щамове *E. coli* по време на растежа на реколтата от семена, а също и по време на процеса на покълване, което осигурява почти перфектна среда за развитие на микроорганизмите. Средата с намалено съдържание на кислород, предоставена от зеленчуци, потопени в мазнина, позволява растежа на анаеробни микроорганизми, включително *C. botulinum*, причинител на ботулизма. За да се намали рискът, зеленчуците и плодовете обикновено са сваряват и подкиселяват, преди да се потопят в мазнина. Непастьоризираните плодови сокове могат да бъдат замърсени по време на процеса на изстискване или поради замърсяване на външната страна на плода или използването на повредени и мухлясали плодове. Тъй като сокът не е термично обработен, всички патогенни микроорганизми са в състояние да оцелеят, а популацията на киселинно-толерантни щамове на *E. coli* и *Salmonella* може да нарасне.

### **3.1. Рискови групи от населението като част от схемата за безопасност на храните**

Някои подгрупи от населението са изложени на по-голям риск от хранителни заболявания или при тях могат да се развият по-тежки форми в сравнение с общата популация. Степента на уязвимост зависи от чувствителността на индивида и патогенността на патогенния микроорганизъм. В общи линии уязвимите групи включват деца под петгодишна възраст, хора над 65-годишна възраст, бременни жени и хора с потиснат имунитет. Смята се, че броят на ястията, предоставени на уязвими лица в обществени учреждения като болници, старчески домове, хосписи, заведения за дневни грижи и детски градини, е приблизително 133 милиона годишно. Смята се, че до един милион ястия годишно, сервирани в тези учреждения, могат да бъдат заразени с хранителен патоген.

От 1995 г. са регистрирани 65 огнища на хранителни заболявания в австралийски обществени учреждения като старчески домове, детски градини и болници, със 758 заболявания и 75 смъртни случая. Патогените, изолирани при тези инфекции, включват видовете *Salmonella*, *C. perfringens*, *L. monocytogenes* и *Campylobacter*. Разпространението на заболявания, свързани с храни и с консумация на храни, и свързаните с тях смъртни случаи в напреднала възраст сред живеещи в домове за възрастни хора са далеч повече от изходното ниво на тези заболявания при населението като цяло, докато децата са изложени на по-голям риск от хранителни инфекции и интоксикации, предизвикани от *Salmonella*, предвид високия процент на салмонелоза при тях.

Основната опасност за уязвимите лица е свързана с *L. monocytogenes*, като някои подгрупи в рамките на тези групи от населението са 100 пъти по-податливи на листериоза, отколкото населението като цяло. Други рискови групи включват бебета, изложени на *C. botulinum* при консумация на замърсен мед, неонатални кърмачета, приемащи храни, замърсени с *Cronobacter sakazakii* (бивш *Enterobacter sakazakii*), и индивиди с чернодробна дисфункция, изложени на инфекция от *Vibrio vulnificus* след консумация на сурови стриди. Други организми, които могат да доведат до по-тежки заболявания в уязвимите подгрупи, включват патогенните ентерохеморагични щамове на *E. coli*, *S. aureus* и *C. perfringens*.

При оценка на рисковете, свързани с храни, е важно да се помисли за приготвянето на храната и за възможните рискови сценарии. При разработване на менюта и доставката на материали, при приготвяне и сервиране на храни на клиенти от уязвимите групи предприятията за кетъринг трябва да имат предвид податливостта на клиентите си. В Кодекса за хранителни стандарти от тези предприятия се изисква да приложат програма за управление и контрол на безопасността на храните, включително смяна на храни с висок риск с алтернативни, но с по-нисък риск; ефективно почистване и хигиенизиране на плодове и зеленчуци, които се консумират сурови; ограничаване на сроковете за съхранение; правилно и ефективно почистване и хигиенизиране на оборудването.

### 3.2 Оценка на риска

Оценката на риска представлява рационално прилагане на принципите за безопасност при наличните възможности за работа с опасни материали. При оценка на потенциален патоген се отчитат следните характеристики:

- Биологичната и физическата природа на агента

- Източниците, склонни да приютят агента
- Чувствителността на гостриемника
- Процедурите, които могат да разпространяват агента
- Най-добрият метод за ефективно отстраняване на агента

Биологичната природа на патогените е свързана с разпределението им в рискови групи.

### **Рискови групи на патогените**

Микроорганизмите, които са човешки патогени, могат да бъдат категоризирани в групи (RG) на базата на предаване, инвазивност, вирулентност (тоест способността да причиняват болести) и смъртност на специфичния патоген. Рисковите групи от инфекциозни агенти (RG1 до RG4) приблизително съответстват на нивата на биологична безопасност (BSL1 до BSL4), които описват предпазните практики, оборудването за осигуряване на безопасност, както и проектните характеристики на съоръженията и методите за безопасно боравене с тези микроорганизми.

Схемата започва с RG1 агентите, които са непатогенни за здрави възрастни хора, и се изкачва по скалата на нарастваща опасност към RG4.

**АГЕНТИТЕ ОТ РИСКОВА ГРУПА 1** не са свързани с болести при здрави възрастни хора. Примери: *E. coli* K-12, *Saccharomyces cerevisiae*.

**АГЕНТИТЕ ОТ РИСКОВА ГРУПА 2** са свързани с човешки заболявания, които рядко са сериозни или животозастрашаващи и които могат да се овладеят с лесно достъпни превантивни или терапевтични интервенции. Примери: ентеропатогенните щамове на *E. coli*, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *Cryptosporidium*, *Staphylococcus aureus* и други.

**АГЕНТИТЕ ОТ РИСКОВА ГРУПА 3** причиняват сериозни или смъртоносни заболявания при хората, за които може да са налични превантивни или терапевтични интервенции (но са с висок индивидуален риск и с нисък риск в общността). Примери: човешкият имунодефицитен вирус, *Brucella abortus*, *Mycobacterium tuberculosis*.

**АГЕНТИТЕ ОТ РИСКОВА ГРУПА 4** могат да причинят сериозни или смъртоносни заболявания при хората, за които обикновено не са налични превантивни или терапевтични интервенции (налице е висок индивидуален риск и висок риск в общността). Примери: *Ebola virus*, *Cercopithecine herpesvirus 1* (*Herpes B* или *Monkey B virus*).

Определянето на рисковата група на патогена е отправна точка за цялостната оценка на риска. По-голямо внимание трябва да се обърне на планираните процедури и наличното оборудване за осигуряване на безопасност. Препоръчаните предпазни мерки могат да се увеличават или намаляват в сравнение с тези, основани единствено на заданието на

рисквата група и коригирани за отразяване на специфичната ситуация, която ще бъде използвана за патогена. Микроорганизмите в RG1 изискват използване на стандартни основни биологични лабораторни техники и микробиологични практики, докато тези в RG4 изискват максимални ограничителни съоръжения и практики. Някои патогени от RG2 или RG3 вероятно ще бъдат обработени експериментално в камера UW-Madison, тъй като за тях е определена умерена и висока степен на опасност. Тези средства обикновено изискват по-сложен инженерен контрол (например съоръжения и оборудване), отколкото са налични в стандартните лаборатории, както и специални процедури за обработка и обеззаразяване. Тези изводи се отнасят и за микроорганизмите, които причиняват болести по животни и растения, които не са категоризирани в рискови групи, каквито са човешките патогени. Използването на херметична конструкция за животински и растителни патогени се основава на тежестта на заболяването и на неговата способност да се разпространява и устройва в местната среда.

Преминаването от инвазия към инфекция след контакт с инфекциозен агент зависи от дозата, начина на предаване, инвазивните характеристики на агента, вирулентността и устойчивостта на гостоприемника. Не всички контакти водят до инфекция и още по-малко са тези, при които се развива клинично заболяване. Дори когато възникне заболяване, тежестта може да варира значително. С атенюираните щамове трябва да се работи със същите предпазни мерки като при вирулентните щамове, макар намалената патогенност да е добре документирана и е необратима. Вирусните вектори, дори ако е установена дефектна репликация, могат да представляват заплаха за рекомбинация с щамове от див тип и/или неумишлена доставка на техните чужди гени.

### **Кои човешки патогени приютяват растителните храни?**

Четири приоритетни патогени са посочени от регулаторните агенции като първоначален фокус за изследване на източниците на хранителни заболявания: *Salmonella*, *E. coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* и *Campylobacter*. Също така обаче растителни продукти, заразени с патогени като *Aeromonas spp.*, *C. botulinum* и *B. cereus*, имат висок риск за предизвикване на заболявания, когато се консумират сурови.

Замърсяването на пресните плодове и зеленчуци, както е посочено в предходния раздел, може да се случи в различни етапи от получаването, обработката и съхранението на реколтата, както и при пакетиране в условията на модифицирана атмосфера.

Оценката на риска, предложена в тази лекция, прави преглед на опасностите, свързани с производството на храни, регулирани по схемите за безопасност на храните съгласно

регламентите за храните. Тя включва анализ на рисковите фактори на шест растителни продукта – свежи плодове и зеленчуци, непастъризиран сок и зеленчуци в мазнина.

Оценката на риска е част от цялостния процес, наречен анализ на риска. Анализът на риска се използва от правителствата и индустрията, за да се извърши оценка и управление на риска и да се осигури информираност за рисковете, свързани с конкретни храни или хранителни групи. В крайна сметка оценката на риска има за цел да намали възможността от хранителни заболявания.

Комисията по Кодекс Алиментариус (CAC) разделя анализа на риска на **три компонента**:

- **Оценка на риска** – процес, чрез който се определя потенциалният риск за безопасността на храните.
- **Управление на риска** – процес на определяне на алтернативи за управление на опасностите, идентифицирани при оценката на риска.
- **Комуникация на риска** – обмен на информация за риска и управлението на риска сред заинтересованите страни.

Комисията по Кодекс алиментариус през 1999 г. е идентифицирала **четири компонента за оценка на риска**:

- **Идентифициране на опасностите** – процес на откриване и определяне на потенциалните опасности, свързани с храната.
- **Оценка на експозицията** (оценка на излагането на опасност) – прогноза на потенциалното излагане на хората на опасност. Включва използването на данни, като например за появата на източници на опасност в храната и/или за потенциални темпове на потребление на храната. Оценката на експозицията (излагането на опасност) може да се определи като оценка на набора от условия, които влияят върху степента/обхвата на експозицията (излагането на опасност).
- **Характеризиране на опасностите** – оценката на потенциалните заболявания, свързани с опасността.
- **Характеризиране на риска** – процес на определяне на вероятността от възникване и на тежестта на вредните ефекти върху здравето на базата на информацията, събрана при идентификацията на опасностите, оценката на експозицията и характеризирането на опасностите. Характеристиката на риска може да се разглежда като „количествено измерване на вероятността от нежелани ефекти при определени условия на експозиция“.

При оценяване на въздействието на растителните патогени в етапа на оценка някои автори добавят и компонента „доза-отговор“, който включва определяне на връзката между размера на експозицията и вероятността от неблагоприятни последици.

### 3.2.1. Идентифициране на опасностите

За изследване на микробиологичната опасност са избрани шест продукта (вж. Табл. 1) с висок риск за замърсяване с патогени: свежи зеленчуци, които се консумират сурови; свежи зеленчуци, които са охладени и с удължен срок на годност след пакетиране в условия на модифицирана атмосфера; зеленчуци в мазнина; кълнове от семена, плодови непастьоризирани сокове и пресни нарязани плодове. Схемата за безопасност на храните е подготвена с цел да се представят минималните регулаторни изисквания за производството на растителни продукти с висок риск и как да се приложат контролни мерки за минимизиране на риска от микробиологични опасности, свързани с тези продукти.

Табл. 1. Микробиологични опасности, свързани с растителни продукти

Растителен продукт	Микроорганизми с висок риск	Микроорганизми със среден риск
Свежи зеленчуци – консумирани сурови	Патогенни <i>E. coli</i> <i>Cероварове</i> <i>Salmonella</i> <i>L. monocytogenes</i>	
Свежи нарязани зеленчуци – охладени, пакетиране в условия на модифицирана атмосфера или с удължен срок на годност	<i>L. monocytogenes</i> <i>C. botulinum</i>	
Зеленчуци в мазнина	<i>C. botulinum</i>	
Кълнове от семена	Патогенни <i>E. coli</i>	<i>B. cereus</i>

	Сероварове <i>Salmonella</i>	<i>L. monocytogenes</i>
Пресни нарязани плодове	Патогенни <i>E. coli</i>  Сероварове <i>Salmonella</i>  <i>L. monocytogenes</i>	<i>Cryptosporidium parvum</i>  Ентеровируси
Плодови сокове/напитки (непастеризирани)	Сероварове <i>Salmonella</i>  Патогенни <i>E. coli</i>	

Одобрено от Агенция по безопасност на храните БХ (2000а)

### Свежи нарязани зеленчуци

Свежо нарязаните плодове и зеленчуци са сурови аграрни продукти, които са подготвени за консумация след предварителна обработка като миене, подрязване или нарязване. Замърсяването на зеленчуците може да се случи по време на растежа, събирането на готовата продукция и обработката им. При определени обстоятелства микроорганизмите могат също да бъдат приети от зеленчуците. Тези храни са с висок риск от заразяване с патогенни щамове *E. coli*, различни серовари *Salmonella* и *L. monocytogenes*.

Условия, които насърчават интернализирането на микроорганизми, включват увреждане на естествената структура (напр. напукване, стволни белези, разфасовки), пускане на топла продукция в охладител, използване на замърсена вода за измиване.

Процесите на рязане и/или премахване на защитните външни повърхности на растенията може да увеличат потенциала за оцеляване и развитие на патогенните бактерии. При подготовката на много растителни продукти, за които не е предвиден етап на пълно унищожаване и елиминиране на патогените, различни мерки (като промивно саниране) може да се използват за намаляване на микробното замърсяване с патогени.

Много свежи зеленчуци са опаковани в условия на модифицирана атмосфера (МАР) и в охладено състояние имат удължен срок на годност. Тази форма на обработка може да доведе до повишен риск от заразяване с патогени като *L. monocytogenes* и психотропни



щамове на *C. botulinum* поради подобряване на условията за тяхното оцеляване и осигуряване на допълнително време за растеж. MAP продуктите могат да станат напълно анаеробни, ако растителната тъкан е активно дишаща и използва цялото количество кислород. Изчерпването на кислорода инхибира конкурентната група на аеробни организми, развалящи храната, и повишава възможността за развитие на анаеробни или факултативни анаеробни патогени.

### **Пресни нарязани плодове**

Обикновено пресните плодове се определят като нискорискови храни, тъй като имат по-дебел защитен епидермис в сравнение с повечето зеленчуци и голяма част от тях се добиват от дървета или храсти. Изключение правят пъпешите и ягодите, които се смятат за храни с по-висок риск, тъй като растат близо до земята и техните повърхности могат да бъдат замърсени с почва.

Замърсяването на плодовете може да се случи във всеки един момент от растежа им (като източници са замърсена почва, контаминирани торове, замърсена поливна вода, отпадъци от животни/птици), при събирането на реколтата, при преработка (включително миене), дистрибуция, търговия и потребление. Много микробни патогени не могат да оцелеят или да растат по повечето плодове благодарение на ниското рН на средата. Въпреки това пъпешите и ягодите имат относително високо рН, което ги прави по-вероятна заплахата за контаминиране. Причината за това е, че някои видове пъпеша имат пореста кора (например канталупа), която може да позволи проникване на патогени и селскостопански химикали в плодовете. Затова пъпешите често се потапят в дезинфекционен разтвор след прибиране на реколтата.

Свежите плодове могат да бъдат предлагани под различни форми чрез обелване, кълцане, нарязване и опаковане. Много пресни нарязани плодове са опаковани в MAP и охладени, за да се удължи срокът им на годност. Увеличаването на сроковете за съхранение може да доведе до повишен риск от патогени, които са адаптирани към киселата среда на плодовете и са в състояние да оцелеят и да се развиват в тези храни.

В прясно нарязаните плодове е идентифицирана широка гама от бактериални (*E. coli*, сероварове *Salmonella*, *L. monocytogenes*) и вирусни патогени, както и ентеритни паразити (*Cryptosporidium parvum*), които представляват опасност. Самият процес на рязане и/или отстраняване на защитните външни повърхности на плода може да увеличи потенциала на патогените за оцеляване и/или растеж. Берачите на плодове и работниците може да са заразители, а като преносители на инфекции също са важен източник на замърсяване.

## **Зеленчуци в мазнина**

Тази категория продукти включва разнообразна гама от зеленчуци и смеси от зеленчуци и билки, които могат да се използват пресни, сушени, печени или подкиселени. Добавянето на мазнина има за цел изключване на въздуха, за да не се променя цветът на зеленчука. Въпреки че потапянето на зеленчуците в мазнина намалява наличния кислород в контейнера, противно на общоприетото схващане това не запазва храната от контаминиране. Някои патогенни бактерии са в състояние да оцелеят и да растат в среда с намалени нива на кислород и дори при анаеробни условия в отсъствие на кислород. *C. botulinum* е основният патоген, който е рисков тук, тъй като може да расте анаеробно и именно той е свързан с появата на заболявания след консумация на зеленчуци в мазнина. Зеленчуците могат да бъдат заразени със спори от *C. botulinum*, които често са свързани с почвата, и процесите на обработка като готвене и подкисляване може да не са достатъчни, за да се инактивират спорите или да се предотврати тяхното прорастване и растеж. Създаването на киселинна среда с рН под 4,6 трябва да предотврати растежа на патогените, но винаги се препоръчва повече от една санитарна мярка за безопасност.

## **Кълнове от семена**

Кълновете от семена обикновено се консумират сурови – това са семена от люцерна, папуда, нахут, кресон, сминдух, соя, леща, слънчоглед, лук и репички. Семената за покълване обикновено не получават никаква специална обработка по време на прибиране на реколтата и транспорта и така могат да бъдат замърсени с патогенни организми на полето или по време на прибиране на реколтата, обработка, преработка и дистрибуция. Някои бобови кълнове могат да се готвят преди консумация, но много други се консумират сурови, например в салати.

Микробиологичните патогени, които често се асоциират със семена, използвани за покълване, са *B. cereus*, сероварове *Salmonella* и *E. coli*. Тези видове микроорганизми често се изолират от огнища на хранителни заболявания. Неравните повърхности и пукнатините в семето може да защитят патогените от микробиоцидното третиране и да затруднят откриването им по време на рутинни анализи. Високите нива на органична материя, съдържащи се в семената, също намаляват ефективността на хлорното третиране по време на миенето на семена и кълнове на семена. Бактериални популации от 10<sup>2</sup>-10<sup>7</sup> CFU/гр са наблюдавани по семената за покълване и тази естествена популация може бързо да се увеличи при висока влажност и умерени температурни условия, използвани в оранжерии за покълване на семена. Микроорганизмите могат

да се интернализират в тъканите на кълновете по време на растежа и по тази причина санираното измиване на покълнали семена няма да бъде ефективно (FSA, 2000a).

### **Непастьоризирани плодови сокове**

Плодовите сокове са получени чрез извличане на сока от плодовете (цитрусови сокове) или чрез накисване на плодовете (грозде, череша, горски плодове, сок от ябълки и т.н.). Този процес може да бъде последван от избистряне, филтруване, пастьоризация и/или други процеси за намаляване на микробна натовареност. През последните години се наблюдава тенденция за производство на „естествени“ плодови сокове, несъдържащи консерванти и получаващи малка или почти никаква топлинна обработка.

Всички микроорганизми по повърхността на плодовете могат потенциално да замърсят сока, направен от тях. Малко е вероятно бактериалните патогени да се развият в соковете благодарение на ниското им рН, но някои бактерии, вируси и протозои са в състояние да оцелеят за продължителни периоди от време. Продължителността на периода, през който микроорганизмите могат да оцелеят, зависи от рН на сока, температурата на съхранение и физиологичното състояние на микроорганизма. Някои патогенни серотипове *Salmonella* и щамове на *E. coli* са известни като киселинно толерантни, като тази реакция е активирана от предходни третираня със сублетални рН стойности.

Соковете от ябълки и круши могат да бъдат контаминирани от микотоксини като патулин, който се произвежда от няколко вида плесени – *Penicillium* и *Aspergillus*. *P. expansum*, изглежда, е основният производител на патулин в ябълки и продукти от ябълки. Тъй като патулинът е концентриран в гниещата тъкан на плодовете, това е добър показател за качеството на плодовете, използвани за направата на сок.

Киселият характер на плодовите сокове ги прави корозивни за металите. За да се избегне потенциално химическо замърсяване, тези продукти трябва да се съхраняват само в съдове, устойчиви на корозия, или в такива от неръждаема стомана. Други метали като мед може да бъдат открити в напитката по време на съхранение.

### **3.2.2. Оценка на експозицията**

#### **Данни за производството на растителни храни**

Салатите от листни зеленчуци като маруля, рукола и спанак са най-често срещаните продукти в категорията прясно нарязани зеленчуци. Въз основа на ограничената информация от производителите очакваното годишно потребление на прясно нарязани плодове и зеленчуци е следното: 11 000 тона свежи зеленчуци, 150 тона пресни нарязани плодове, приблизително 1000 тона зеленчуци в мазнина, между 2100 и 2600 тона кълнове от семена. Доставчици на плодови сокове изнасят данни, че производството на

непасуоризирани плодови сокове е със сравнително нисък обем, около 100 000 литра на година, без да се включват соковете, приготвяни в търговските обекти.

### **Консумация на растителни продукти**

Данните за потреблението на плодове през периодите 1997 – 1998 г. и 1998 – 1999 г. показват увеличение с 8,3 % от 124,7 кг на глава от населението до 135,0 кг. През същия период вносът на портокали и други цитрусови плодове е нараснал с повече от 62 %. Консумацията на зеленчуци показва стабилно увеличение с 9,4% през последното десетилетие. Консумацията на домати също показва значително увеличение от 20,9 кг през 1997 – 1998 г. до 24,9 кг през 1998 – 1999 г., с ръст от 19%. Категорията „други зеленчуци“ отбелязва също увеличение на потреблението през 1998 – 1999 г. От 4,6 % до 25,1 кг на човек. Около 35 % от всички анкетирани консумират плодови сокове и напитки при средна консумация от 250 мл на ден.

### **Разпространение на опасностите в растителните продукти**

Важен елемент от оценката на риска е определянето на степента на разпространение на идентифицираните опасности. Какво е разпространението на опасностите в растителните продукти, се определя чрез микробиологичен контрол на хранителните продукти. През 90-те години са провеждани сравнително малко микробиологични анализи на готови за консумация салати и зеленчуци, предимно за изясняване на причините за случайно възникнали заболявания, свързани с храни и с консумация на храни. През този период има данни за изследване едва на 54 проби, от които само една е дала положителна реакция за *L. monocytogenes*. Нарастването обаче на огнищата от инфекциозни заболявания, свързани с растителни храни, определя нова политика спрямо управлението и контрола на безопасността на храните и много държави започват интензивни анализи на растителните храни. Така през 2000 г. в Австралия са анализирани 120 проби от минимално обработени, нарязани и пакетирани марули. Три от тях (2,5 %) са били положителни за *L. monocytogenes*, 66 проби (55 %) са били положителни за *Aeromonas hydrophila* или *A. caviae* и 71 проби (59 %) са били положителни за *Y. enterocolitica*. Проучването на микробиологичното качество на прясно изцедени сокове през 2005 г. показва, че *L. monocytogenes* се открива в 1/291 проби (0,3 %), но нивото е достатъчно пробата да се класифицира като потенциално опасна, докато *E. coli* се изолира в 2,4 %. През 2006 г. при микробиологичен контрол на 261 проби от покълнали семена, предлагани в търговската мрежа, 7 проби (2,7 %) са контаминирани с *E. coli* и две проби са класифицирани като микробиологично неприемливи. В една от контаминираните проби е идентифициран веротоксигенен щам

на *E. coli* (VTEC), докато *Listeria* и *Salmonella* не са открити. Друго по-мощно проучване през 2008 г. на 122 проби от покълнали семена показва, че 99,2 % от пробите са микробиологично приемливи, като една проба е категоризирана като незадоволителна поради наличие на *V. cereus* в концентрация от 5500 CFU/гр. Интересно, че при успоредни анализи на проби от свежи зеленчуци, предлагани от същия производител, *E. coli* е открит само в една проба (0,8 %), докато очакваните *Salmonella*, *L. monocytogenes* и веротоксигенни щамове *E. coli* (VTEC) не са идентифицирани.

Надзорната Агенция по безопасност на храните на Ирландия (FSAI) наблюдава бактериологичните рискове при редица растителни продукти като част от координирана програма на Европейската комисия (FSAI, 2003). Тя е определила като неприемливи или потенциално опасни търговски проби от нарязани плодове и зеленчуци поради наличието на *Salmonella* в 1/529 проби (0,2 %) и *L. monocytogenes* в 1/344 проби (0,3 %). Качествени тестове установяват, че 21/513 проби (4,1 %), са положителни за *L. monocytogenes*. Проби от покълнали семена не са класифицирани като неприемливи или потенциално опасни, макар че *L. monocytogenes* е открита в 1/26 проби (3,8 %). Не са установени проблеми с непастъризовани плодове и зеленчукови сокове.

През 2008 г. в рамките на тази програма на Европейската комисия в Обединеното кралство са изследвани предварително опаковани смесени салати от търговските обекти за *L. monocytogenes*, която се открива в 4,8 % от пробите. Включено е паралелно проучване на FSAI и за *Salmonella*. Количественият анализ открива две проби с *L. monocytogenes* при нива над 100 CFU/гр, но не се установява наличие на *E. coli* O157 или *Campylobacter*. При проверка на пакетирани зеленчуци се установява, че пет от 3852 проби (0,1 %) са положителни за *Salmonella*, докато нивата на коли бактериите са с ниска честота.

Доста по-различна е картината при изследванията на бактериални патогени в растителните храни в САЩ (по данни от 2006 г.). Наблюдава се драстично увеличаване на заразената храна в сравнение на предходни години. В проби от зеле са установени различни серовари на *Salmonella* – 100 случая; от листата на маруля са изолирани *E. coli* O121:H19 – 4 случая, и *E. coli* O157:H7 – 162 случая; в 202 проби от спанак има *E. coli* O157:H7; в сок от моркови е установен *Cl. Botulinum* – 6 случая; по повърхността на домати е открита *Salmonella* – 400 случая; а следи от *L. monocytogenes* са качествено установени по ягодите; при пъпеши и спанак има следи от *Salmonella*.

### 3.2.3. Характеризиране на опасностите

#### Огнища на хранителни заболявания, свързани с растителни продукти

През 1995 г. агенциите по безопасност на храните официално започват регистрация на огнищата на хранителни заболявания, свързани с консумацията на пресни растителни храни и продукти.

Първите съобщения обаче са преди този период. През 1989 г. в Австралия са идентифицирани три отделни огнища на *Salmonella* в плодови салати, а през 1991 г. при консумация на непастьоризиран портокалов сок избухва национална епидемия от норовирусна инфекция. Рискът от замърсяване с листерия в растителните продукти е установен след появата на листериоза при употреба на замърсена плодова салата. В периода 1998 – 1999 г. са документирани шест смъртни случая на пациенти в напреднала възраст и девет души са били засегнати.

През 1996 г. сред учениците в Сакай Сити, Осака, Япония, е регистрирана масова ентеритна инфекция, причинена от *E. coli* O157:H7. Заболяването се дължало на консумация на кълнове от бели репички, които били сервирани по централизирана програма за осигуряване на обяд в 56 училища. Над 8000 деца развиват симптоми и 398 деца са хоспитализирани. Регистрираните два нови инцидента с *E. coli* O157:H7 в съседни области също са били свързани с консумацията на бели репички. Проследяването на произхода на всички заразени кълнове показва, че идват от една и съща ферма. Това илюстрира размерите, които може да придобие огнището при възникване на реална опасност при централизиран процес на производство и обработка на суровините, които са предназначени за широко разпространение.

В САЩ от 1993 г. до 1997 г. са идентифицирани значително по-висок брой инфекциозни огнища, свързани с храни и с консумация на храни, (повече от 190), довели до 16 058 заболявания, като 598 пациенти са хоспитализирани и са потвърдени осем смъртни случая. Наблюдава се постепенно нарастване на дела на хранителните инфекции от 0,7 % през 1970 г. на 6 % през 90-те години. За периода 1990 – 2005 г. са получени данни за все по-често замърсяване на зелени салати, пьпеш, маруля и зеле със *Salmonella*, като асоциираните с консумация на растителни храни инфекциозни огнища са довели до регистриране на средно 47,8 случая, което е повече от отчетените инфекциозни огнища, възникнали след консумация на заразени птици, говеждо месо и морски дарове. През 2006 г. са идентифицирани четири инфекциозни огнища след консумация на пресен спанак, заразен с *E. coli* O157, а проследяването на източника на салмонелоза насочва към употреба на заразени домати. През този период са докладвани и две огнища, свързани със заразени с *E. coli* O157:H7 марули. Само за януари 2007 г. са установени 205 случая, от които 103 са хоспитализирани, има 31 случая на хемолитично-уремичен



синдром (HUS) и са потвърдени 3 смъртни случая. Проследяването на произхода на замърсяването показва, че е свързано с продукцията на спанак от една ферма. Предполага се, че наличието на диви прасета близо до обработваемите площи и напоителните кладенци е било сред основните екологично рискови фактори. При обработката на спанака е включен етап на измиване, който обаче не елиминира проблема и дори може да улесни разпространението на патогени от замърсената към незамърсената продукция. Това е пример за мащабна поява на тежка бактериална болест, дължаща се на неефективни хигиенни мерки при отглеждането и преработката на спанак. През 2008 г. възниква голяма епидемия от салмонела (Saint paul) в САЩ и Канада, свързана с консумацията на множество сурови растителни продукти. Към август 2008 г., 1442 души са били засегнати, като най-малко 286 са хоспитализациите, а инфекциозните огнища са допринесли за 2 смъртни случая. Епидемиологичните данни сочат, че основният вектор за разпространяване на салмонелата са партида люти чушки. Макар в началото на епидемията чушките Серано да са смятани за основен вектор на заразата, оказва се, че и домати също могат да бъдат източник. Замърсяването на продуктите може да се е случило във фермата, по време на обработката или в дистрибуторската мрежа. Огнищният щам на *Salmonella* е открит в обработваема площ за отглеждане и в съоръжение, свързано с опаковане на продукцията в Мексико. Това е най-голямото потвърдено огнище в САЩ през последното десетилетие. Тъй като много хора със салмонела не търсят медицинска помощ или не им се правят тестове на изпражненията, може да се приеме, че има много повече недеklarирани случаи на хранителни заболявания.

В Англия и Уелс за периода 1992 – 2006 г. са анализирани инфекциозни огнища, свързани с консумацията на пригответени салати. От установените 82 огнища от пригответени салати са засегнати 3434 души, като 66 са хоспитализирани и има един смъртен случай. Примерите за хранителни заболявания включват седем огнища на ботулизъм след консумация на продукти от растителен произход. Контаминирани продукти са предлагани в търговската мрежа: чесън в мазнина, лешниково кисело мляко, картофени сосове, патладжанови сосове, сос от черен боб, хумус и охладен сок от моркови. Анализите на причините за възникване на инфекциозните огнища определят температурата на съхранение като ключов фактор. През 2007 г. 55 случая на инфекция от *Salmonella senftenberg* в Англия и Уелс са свързани с пресен босилек. Шотландия, Дания, Холандия и САЩ също съобщават за 19 нови случая с огнищен щам. Осем проби от прясно пакетирани босилек от Израел са положителни по отношение на същия щам.



Микробиологичните доказателства предполагат връзка между замърсяването на пресен босилек и случаите на инфекция със *Salmonella senftenberg*, които са довели до изземване на всички потенциално засегнати партии босилек от пазара във Великобритания.

Оценката на броя на заболяванията, хоспитализациите и смъртните случаи, причинени от основните патогени, е важна стъпка в приоритизиране на патогените в програмите за контрол на заразите. След оценка на мащаба на заболяемостта в резултат на специфичните хранителни източници е необходим втори етап за определяне на интервенциите, които да доведат до намаляване на заболяванията и да помогнат за измерване на напредъка към целите на общественото здраве, произтичащи от политиките за управление и контрол на безопасността на храните. Оценките на източника на хранителното заболяване се използват за различни цели, включително и за информиране при подготвяне на политиките по стратегическо планиране, основани на риска, с цел вземане на решения, оценка на ползите от интервенции, както и оценка на въздействието на интервенциите.

### **Растителни продукти с висок риск**

Както бе вече посочено, при определяне на обхвата на изследваните растителни продукти пет специфични растителни продукта са класифицирани като храни с висок риск поради риск от зараза със специфичен патоген. Именно те са разгледани и по-долу.

### **Прясно нарязани зеленчуци и прясно нарязани плодове**

#### ***Listeria monocytogenes***

Количествените изследвания на *L. monocytogenes* в прясно нарязани зеленчуци и плодове показват, че този патоген е сравнително слабо разпространен и най-често е с най-ниски нива. *L. monocytogenes* може да обитава различни растителни ниши, като показва бавен растеж при хладилни температури, но може да увеличи количеството си в някои групи стоки, съхранявани при температури от 10 – 15°C за 7 – 10 дни. Смята се, че потенциалът за растеж в хладилни условия при кратък срок на годност на продуктите е сравнително нисък. Такива продукти не подлежат на допълнителна обработка в процеса на готвене, при който да се премахне замърсяването. Когато продуктът обаче е пакетирани в модифицирана атмосфера, се увеличава срокът на годност и това води до увеличаване на потенциала за растеж на патогена.

#### **Патогенни щамове *Escherichia coli***

Съществува реална възможност патогенни щамове *E. coli* да присъстват на повърхността на зеленчуците след пряко или косвено замърсяване с фекалии от преживни животни или от товарачи на храни, които носят патогена в червата си. Проучванията на

предварително нарязани зеленчуци и салати, различни от тези, които се произвеждат в Мексико, много рядко са контаминирани с патогенни щамове *E. coli*.

### **„Доза – отговор“ за *E.coli***

Много важен показател за възникването на инфекциозно огнище е показателят „дозата–отговор“ на патогена. (Gilbert et al. 2006) преразглеждат оценките на „доза-отговор“ за *E.coli* O157: H7 и първоначалните прогнози за инфекциозната доза са свързани с по-малко от няколкостотин клетки. По-късни разработки оценяват вероятността за инфекция при въздействие на различно количество клетки. Един модел прогнозира, че доза от  $5,9 \times 10^5$  клетки ще доведе до инфекция при 50 % от потребителите, а вероятността от заболяване при 100 клетки е  $2,6 \times 10^{-4}$ . Второ проучване изчислява средна доза (50 % от изложените хора да проявят симптоми) от  $1,9 \times 10^5$  и вероятност от  $6 \times 10^{-2}$  за възникване на инфекции при излагане на 100 клетки. Анализът на данните от начално училище в Сакай Сити, Япония, при избухването на епидемия от зараза с *E. coli* O157:H7 показва много по-висока вероятност от инфекция при ниски дози, отколкото при предишните модели. (Gilbert et al. 2006) определят „доза-отговор“ за *E. coli* O111 и O55, като дозата за инфекция при 50 % от населението е свързана с излагане на  $2,6 \times 10^6$  организми. Вероятността от заболяване, когато са изложени 100 клетки, е  $3,5 \times 10^{-4}$ . Повечето изследователи приемат, че концентрацията на патогенния организъм ще нарасне върху листните зеленчуци при температури над 7°C. Въпреки това поради ниската инфекциозна доза на организма в храната растежът може да не предизвика заболяване.

### ***Salmonella***

През 2003 г. честотата на салмонела в плодове, зеленчуци и подправки е под 10 %. Количеството на салмонела в сурови зеленчуци обикновено е  $< 1$  CFU/гр, но броят им може да бъде по-висок от 240 CFU/гр в холандска цикория. Избухването на инфекция в Германия вследствие на консумация на заразен червен пипер и картофен чипс, подправен с червен пипер, е довела до приблизително 1000 случая на салмонелоза. Интересно е, че количеството на салмонела, открито в храната, е било много ниско – около 2,5 *Salmonella* CFU/гр в червения пипер и 0,04 – 0,45 *Salmonella* CFU/гр от чипса.

### ***Clostridium botulinum***

Рискът от ботулизъм се увеличава при продукти, опаковани в условията на MAP, с дълъг срок на годност, поради увеличаване на възможността за покълване и растеж на спорите на патогена. Допринасящи фактори са ниската доза, която се изисква за причиняване на заболяване, тежестта на заболяването, както и фактът, че при обработка на храната се

увеличава рискът, и наличието на епидемиологична връзка. Тази оценка е много необходима, тъй като все по-често се срещат в разпространителската мрежа и растителни продукти с дълъг срок на годност.

### **Зеленчуци в мазнина**

Администрацията по храните и лекарствата на САЩ (FDA) описва случаи на ботулизъм, дължащ се на недостатъчно подкиселяване на храните, и продукти, преработени от 29 фирми, които са неадекватно подкиселени. В доклада на FDA се заключава, че някои производители на храни не осъзнават важността на адекватния контрол на рН. Въпреки регламента за подкиселяване на храните, публикуван през 1979 г., са отчетени две сериозни огнища на ботулизъм през 1980 г. в Канада и в САЩ. Нарязан чесън в мазнина е ясно идентифициран като източник на ботулинов токсин. Рискът от развитие на ботулизъм при консумация на зеленчуци в мазнина остава актуален, тъй като продуктите са популярни и домашното им производство е често срещано.

Според FSA все още битуват две погрешни хипотези за зеленчуците в мазнина:

- Добавянето на мазнина има консервиращ ефект.

**Неправилно.** Единствената функция на мазнината е да се предотврати окисляването на въздух в съда, което може да доведе до промяна на цвета на някои храни. С изключение на въздуха от повърхността това създава анаеробни условия, които действително благоприятстват растежа на някои видове бактерии, включително *C. botulinum*.

- Някои билки и подправки и особено чесънът имат значителни антимикробни свойства.

**Неправилно.** Консервиращият ефект на тези материали е лек и краткотраен, което се доказва от огнищата на ботулизъм в Канада и САЩ.

**Правилно.** Подкисляването на храните до рН по-малко от 4,6 контролира развитието на *C. botulinum*. Охлаждането се използва в някои случаи като допълнително препятствие за развитие на патогена.

### **Покълнали семена**

Изследванията на инфекциозните огнища идентифицират няколко фактора, които влияят на микробиологичната безопасност на покълнали семена. Към днешна дата е установено, че замърсени семена са били вероятният източник за повечето огнища. Замърсяването на покълнеците може да е настъпило във фермата, в процеса на прорастване или поникване. Хидрофобната повърхност на семената затруднява

санитарните мерки и отстраняването на замърсяващите микроорганизми. Условието по време на покълване (време, температура, активност на водата – aw, рН и хранителни вещества) са идеални за развитие на патогенни бактерии, които водят до повишен риск.

### **Непастъоризирани плодови сокове**

По-голямата част от епидемиите, причинени от консумацията на сокове, са свързани с употребата на плодове, замърсени предварително с животински изпражнения. Овощните градини често са разположени в близост до животновъдни ферми и обитания на диви животни с потенциал за микробно замърсяване.

Замърсяването на сокове е по-вероятно да се случи, когато кожата или корите на плодовете са в контакт със сока по време на обработката.

### **3.2.4. Характеризиране на риска**

#### **Свежо нарязани зеленчуци и плодове**

##### **✓ *Listeria monocytogenes***

Количествената оценка на риска от *L. monocytogenes* според FDA/USDA (2003) показва нисък риск за плодове, зеленчуци и деликатесен тип салати. Макар да изглежда малко вероятно да се развие епидемична инфекция дори и при лица, уязвими по отношение на листериоза, последствията от заболяването остават тежки. Оценката за висок риск се прилага предимно за продукти, съхранявани в условията на модифицирана атмосфера (МАР), които имат по-дълъг период на годност. Потенциалът за растеж в складовете определя преминалите през МАР зеленчуци и салати като особено опасни.

##### **✓ Патогенни щамове *Escherichia coli***

Официалната статистика по целия свят документира редица огнища на *E. coli*, свързани с тази група продукти. Последствията от заболяванията са потенциално тежки с високи нива на хоспитализация и дългосрочни ефекти като HUS и проблеми с бъбреците. Австралийската Академия за храните оценява риска от патогенни щамове *E. coli* от висок клас, докато (Gilbert et al. 2006) ги поставят в категорията с най-висока тежест. В Нова Зеландия обаче рискът от този патоген е поставен в най-ниската категория по честота. Затова от съществено значение е да продължат усилията за предотвратяване на вероятността от хранително предаване на тази група от организми.

##### **✓ Сероварове *Salmonella***

Рискът от *Salmonella* в тези продукти, оценен като риск от висока степен, се основава на тежестта на заболяването и на отсъствието на фаза за готвене, което да елиминира опасността за потребителите. Значителната опасност от сероварите на *Salmonella* за плодовете и зеленчуците се определя въз основа на сходни критерии за FSA, но трябва

да се има предвид, че нарастването им в продукта не е условие за евентуална болест.

Това, изглежда, отговаря на условията за много огнища, приписвани на продукти, в които салмонелите биха могли да оцелеят, но не и да растат.

#### ✓ *Clostridium botulinum*

FSA оценява риска от *C. botulinum* в тези продукти като висок. Допринасящите фактори са тежестта на заболяването, обработката и опаковането в MAP. Това може да увеличи риска и наличието на епидемиологична връзка. Засега няма епидемиологични доказателства в подкрепа на категоризацията с висок риск, тъй като към днешна дата растителните продукти с дълъг срок на годност са били в ограничена наличност.

#### ✓ **Зеленчуци в мазнина**

По отношение на тези продукти всички органи добре разбират, че ако са приготвени без подходящи мерки за контрол, може да се получи слабо подкиселен продукт, който има потенциал да причини тежко заболяване заради патогени като *C. botulinum*. Тези продукти понякога са подготвени в малки и средни предприятия и при недостатъчен контрол от органите за управление на безопасността на храните това увеличава риска.

#### ✓ **Кълнове от семена**

Условията по време на покълване (време, температура, водна активност, рН и хранителни вещества) са идеални за развитие на патогенни бактерии като *Salmonella* и патогенни *E.coli*, което пък води до класифициране на кълновете от семена като продукт с висок риск. Потенциалът за растеж на патогенни организми по време на покълването увеличава риска, а има и епидемиологични доказателства, че замърсяването се проявява. Разпространението на патогени може да се намали при адекватно изпълнение на мерките за контрол като саниране на семената преди поникване.

#### ✓ **Непастъоризирани плодови сокове**

Класирането на непастъоризираните сокове като храни с висок риск е целесъобразно. Потенциалните източници на замърсяване са почти идентични с тези при прясно нарязаните плодове и съществуват силни епидемиологични доказателства, които оправдават високата категория на риск. Двете големи огнища в Австралия през 1991 г. и 1999 г. са в резултат от замърсяване на непастъоризиран сок със салмонела и ясно показват възможността непастъоризираният сок да предизвика заболяване.

## **4. Мениджмънт на риска при растителните продукти – мониторинг, контрол и превенция**

### **4.1. Микробиологичен мониторинг**

До края на 1980 г. микробиологичното изследване е почти единственият метод за практическо наблюдение и оценка на хигиената на храните. С помощта на тампон, гъба или контактна пластина се взема проба от микробната популация на растителната повърхност, която предоставя ценна информация за нивото на замърсяване. Устройството за вземане на проба се използва за отпечатване на микроорганизмите от известна площ (обикновено 100 кв. см.) от повърхности като работен плот или конвейер или от оборудване, за които е известно, че са потенциален източник на замърсяване (като клапан или помпа). Материалът се събира и след това се суспендира в подходящ разтворител, прехвърля се в микробиологична хранителна среда, обикновено с агар. След период на инкубиране степента на замърсяване може да бъде измерена чрез преброяване на видимите колонии. Основното предимство на микробиологичното наблюдение е, че предоставя директна индикация за микробно замърсяване, а също така и възможност да се провери за наличие на специфични организми като хранителните патогени. За съжаление, този подход има и редица ограничения, най-вече на времето, необходимо за получаване на резултат. Етапът на култивиране обикновено изисква най-малко 24 часа инкубиране и трябва да се извърши в подходящо оборудвана лаборатория, която често е извън мястото на производство на храните. Това означава, че резултатите са на разположение със задна дата и имат ограничена стойност за целите на мониторинга на НАССР или за бърза оценка за почистване. Дори ако тампоните са взети веднага след почистване и дезинфекция, най-малко един пълен ден от производството вероятно ще е завършен, преди да е налична цялата информация за нивата на замърсяване. Резултатите може да бъдат сериозно засегнати от остатъчна антимикробна активност, оставаща върху повърхности след саниране, така че се изисква специален разреждател, съдържащ инертни съединения за предотвратяване на инхибирането в култура.

Микробиологичните проби и микробиологичното изследване все пак остават основната техника за наблюдение на уязвими сектори, техника и приспособления за евентуално замърсяване от патогени. Целевите микроорганизми, които се проследяват задължително чрез микробиологичен контрол съгласно нормативните документи, са *L. monocytogenes*, *S. enterica* и *E. coli*.

## **4.2. Контрол и превенция на растителни продукти**

### **4.2.1. Програми за качество и безопасност на растителните храни**

За да се гарантира безопасността на растителните храни, следва да се прилага строг контрол от началото до края на всички етапи от производството на хранителни

продукти, включително в етапите на производство и преработка за намаляване на всички потенциални опасности, като средство за предотвратяване на контаминиране на готовите продукти.

Следните програми се използват най-често, за да се гарантира безопасността и качеството на храните:

- Добри производствени практики (ДПП)
- Стандартни санитарни оперативни процедури (и SSOP)
- Анализ на опасностите и контрол на критичните точки (НАССР)

✓ **Добри производствени практики (ДПП)**

Насоките на ДПП описват практиките за безопасно производство на храни. Те се изискват от закона и се прилагат за всички производствени фирми за храни. ДПП са предписани за четири основни области на хранително-вкусовата промишленост:

- Хигиена на персонала, за да се предотврати разпространението на болести
- Адекватни сгради и съоръжения
- Санитарни контактни повърхности (оборудване и прибори)

✓ **Санитарни стандарти и оперативни процедури (ССОП)**

Санитарните стандарти и оперативните процедури са задължителни за фирмите за производство на сок и за предприятията за преработка и производство на растителни храни, подлежащи на НАССР. Въпреки че отделни протоколи могат да варират за различните съоръжения, ССОП предоставят специфични процедури, които да помогнат и да гарантират санитарна обработка на храните. Тези документи описват процедурите за осем санитарни условия:

- Безопасност на водата
- Чистота на домакинските съдове и инвентара
- Превенция на кръстосано замърсяване
- Хигиена на ръцете и тоалетните
- Защита на храната от замърсители
- Етикетиране и съхранение на токсични съединения
- Мониторинг на здравето на работниците и служителите
- Контрол на вредителите

✓ **Анализ на опасностите и контрол на критичните точки (НАССР)**

Програмата НАССР е система за управление, при която безопасността на храните се следи чрез анализ и контрол на биологични, химически и физически опасности, свързани



със суровините, производството, доставката и обработката им, до производството, разпределението и потреблението на крайния продукт. През 40-те години от създаването си до момента HACCP системите са се наложили като метод за осигуряване и контрол на безопасността на храните. FDA и американското Министерство на земеделието са издали наредби, които правят HACCP задължителна за морските дарове, соковете и месните продукти, за които тези системи се смятат за ефективен начин за контрол на безопасността на храните и опазване на общественото здраве. HACCP не е самостоятелна програма. Успехът на HACCP до голяма степен зависи от предварителното наличие на други необходими програми, включително ДПП и ССОП. Наличието и ефективното изпълнение на тези програми е предпоставка за HACCP да се реализира успешно.

HACCP включва седем принципа:

- Анализ на риска
- Идентификация на критичните контролни точки (ККП)
- Създаване на критични граници
- Процедури за мониторинг
- Коригиращи действия
- Водене на отчетност
- Процедурите за проверка

### **4.3. Хигиена на растителните храни**

#### **4.3.1. Източници на замърсяване**

Ако приемем, че бактериите не са интернализират в растителната тъкан, повърхностните санитарни мерки обикновено са ефективен начин за отстраняване на патогенни бактерии от продукта. Повечето доклади показват, че замърсените повърхности са най-вероятният източник на замърсяване на продукта и че рискът от заразяване е най-висок между първичното изрязване и разчупване и етапа на опаковане. Източниците на замърсяване, които подлежат на контрол, са: ръце и ръкавици и лични предпазни средства; инструменти в етапа за нарязване; транспортъори; перални танкове и промивни вода; контейнери и стелажи за опаковки и опаковъчна техника.

Кръстосаното замърсяване е един от основните рискове за безопасността на храните по време на обработката. Кръстосаното замърсяване може да се случи по три основни начина:

- **Храна от храна.** Храните могат да бъдат контаминирани от бактерии от други храни. Този тип на кръстосано контаминиране е особено опасен, когато сурови храни са в контакт с готвени храни.
- **Хора – храна.** Хората могат да бъдат източник на кръстосано замърсяване на храни, когато добрите хигиенни практики не са изпълнени от работниците, които са ангажирани с подготовката и преработката на храните. Например, обработка на сурови храни без спазване на обща хигиена след използване на тоалетната (неправилно измиване на ръцете), докосване на сурови меса и след това приготвяне на храни, без измиване на ръцете между отделните задачи, като се използва престилка за избърсване на ръцете между различните етапи, и други.
- **Оборудване за храна.** Замърсяването може да се предава от кухненско оборудване и прибори за хранене. Този тип замърсяване се случва, защото оборудването или съдовете не са добре почистени и дезинфекцирани между всяка употреба.
- Температурите по време на съхранение и дистрибуция също могат да бъдат източник на замърсяване. Патогените, причиняващи заболявания, растат добре в храната, когато тя се съхранява при температура между 5°C и 57°C, известна като зона на температурна опасност. Ако храната се държи при тази температура в продължение на повече от 4 часа, патогените могат да се развият до нива, достатъчно високи, за да причинят сериозни хранителни заболявания. Затова е много важно да се поддържа топла храна при температура 60°C или по-висока и студена храна при 5°C или по-ниска, както и проверката на температурата на храната да е най-малко на всеки 4 часа при съхранение и дистрибуция.

За да се предотврати или намали количеството на патогените, се прилагат различни методи на саниране. Санирането е многостепенен процес, който включва почистване и дезинфекциране като две много важни и отделни стъпки. Ефективното почистване и санитарните процедури включват премахване на отломки, използване на почистващи разтвори, изплакване с вода, дезинфекция, където е необходимо, и химическо чистене. Те са необходими за постигане на правилно ниво на хигиена при обработка на храни или производствени мощности. Ако те не се спазват, има по-голям риск от замърсяване на храните от патогенни микроорганизми или разваляне. Има и риск от образуване на биофилми по повърхностите на съоръженията във фабриките за приготвяне на храни, ако тези програми са неадекватни. Важно е да се избягва употребата на фенолни и

метанолни продукти, тъй като те могат да причинят проблеми с оцветяването на продуктите и безопасността на потребителите.

Почистващите и санитарните програми включват четири стъпки:

- Рутинни процедури, извършвани по време и при завършване на преработката на хранителните продукти или при ежедневната подготовка.
- Периодични процедури, изисквани по-рядко.
- Мониторинг, за да се гарантира, че процедурите са извършвани правилно.
- Верификация, за да се провери ефективността на програмата.

#### 4.3.2. Методи за саниране

##### Дезинфекция

Много производители и доставчици използват добрите практики за намаляване на риска от замърсяване. Конвенционалните методи за намаляване на микробното контаминиране включват общи процедури за обеззаразяване на реколтата с различни препарати. Прилагането обаче на тези стандартни процедури, например като обработка на реколтата с обеззаразяващи разтвори (съдържащи около 20-200 мг / мл-1 свободен хлор, за различни периоди от време) показват, че общият брой на бактериалните клетки намалява, но не елиминира напълно естествената микробна популация или човешките патогени.

Естествените дезинфектанти, използвани в домашни условия, включително прясно приготвен разтвор от лимонов сок и оцет, са показали, че имат ефект за намаляване на *Salmonella* серотип *Typhimurium* в рукола и пресен лук. При третиране за 15 минути с разтвор в съотношение 1:1 лимонов сок и оцет бактериалната концентрация намалява до неоткриваеми нива. Подобен ефект има третирането на моркови, като количеството на салмонела намалява до недетектирано ниво.

Третирането на търговска салата айсберг, предварително инокулирана с естествени развалящи микроорганизми, с хлор, озон или тяхната комбинация, намалява броя на жизнеспособните микроорганизми. В допълнение комбинацията хлор-озон увеличава срока на годност на марулите. Не се наблюдават видими промени в мътността на промивните води или влошаване на качеството на марулите по време на изплакване, което показва приложимостта на метода за търговска обработка.

Йонизиращите лъчения също имат ефект за намаляване на микробното замърсяване. Проучванията върху листни зеленчуци са показали логаритмично намаляване на *Listeria*

monocytogenes, *Salmonella* и *E. coli* O157:H7, когато се използват за обеззаразяване на различни листни зеленчуци, включително салата айсберг, маруля и спанак.

### **Биоконтрол**

Алтернативен метод за намаляване на замърсяването е използването на селскостопански практики, които насърчават растежа на конкурентни бактерии във филосферата с цел намаляване на замърсяването с човешки патогени. Различни проучвания показват, че естествената микрофлора на растенията може да инхибира растежа на *E. coli* O157:H7, *Salmonella* серотипове Montevideo и Chester, *Staphylococcus aureus*. Щамове от видовете *Pseudomonas* и *Bacillus*, изолирани от зелен пипер, маруля, бейби моркови, кълнове от люцерна и детелина, могат да инхибират растежа на *Salmonella* серовар Chester и *L. monocytogenes*. *Enterobacter cloacae* намалява колонизацията на моркови, кресон, маруля, репички, спанак и домати от *E. coli* O157:H7 и *L. monocytogenes*, докато *Enterobacter asburiae* намалява тяхното оцеляване по листата на марулята. Също така развитието на *Arabidopsis thaliana* съвместно с *E. asburiae* в гнотобиотични условия силно намалява замърсяването на корените от *Salmonella* или *E. coli* O15.

### **Контрол, базиран на снимково изображение**

Идентификацията и количественото определяне на болести по растенията е необходимо за адекватна растителна защита, за определяне на загубите на реколтата, както и за изработване на стратегии за разплод в селското стопанство. Потенциалът на анализите на базата на снимково изображение за откриване и контрол на болестите по растенията се оценява като много добър и използването на тези техники за изследване на растителни инфекции с човешки потенциално патогенни микроорганизми е нова и развиваща се област. Този анализ включва заснемане на цели масиви с растителна продукция и търсене на фенотипни белези по растенията, които са индикация за фитопатогенни болести или за развитие на човешки патогени.

## **4.4. Примери за прилагане на специфични мерки за контрол на безопасността на храните при преработката на специализирани храни**

### **Плодови сокове – специалитети**

За плодовите сокове – специалитети, като сок от нар, манго и нони често се твърди, че имат високо съдържание на здравословни фитохимикали, включително антиоксиданти и биофлавоноиди. Когато за един продукт има означение за здравословна храна върху етикета, процедурите по неговото приготвяне и контрол трябва да следват регулациите за етикетирането на храните на FDA. Неправилно обработените плодови сокове могат

да съдържат патогенни микроорганизми и да предизвикат огнища на заболявания в хранителната верига. Агенцията по храните е издала наредба, която съдържа клауза за задължително прилагане на принципите на HACCP при обработването на плодови и зеленчукови сокове. Плановете за HACCP трябва да включват мерки за контрол, които постоянно да осигуряват намаляване с най-малко 5 логаритъма на количеството на микроорганизмите за срок толкова дълъг, колкото е срокът на годност на продукта при съхранение при нормални и умерени условия. За целите на настоящия регламент като „основен микроорганизъм“ се избира най-устойчивият микроорганизъм, който е от значение за общественото здраве и има вероятност да се изолира в сока, например *Escherichia coli* O157:H7.

Пастьоризацията е критична точка в контрола при преработката на соковете. Топлинната енергия, използвана за пастьоризация, увеличава срока на годност на сока чрез инактивиране на инертни микроорганизми и някои ензими. За да се поддържат цветът и ароматът им, при пловите сокове се използва флаш пастьоризиране, наричано още високотемпературна обработка за кратко време (HTST). Тя осигурява безопасен продукт за обществено ползване, с минимална деградация на ароматите в ултрапастьоризирания продукт. При флаш пастьоризацията минималната температура е 71,5°C за време между 15 и 30 секунди. За да се гарантира успехът на пастьоризацията, температурата на сока трябва да се наблюдава непрекъснато чрез записване по време на пастьоризационния процес. Непрекъснатият мониторинг показва дали има отклонение от установената критичната граница. В случаите на отклонение производителите трябва да отделят и задържат засегнатия продукт за оценка, да го унищожат или да го изтеглят от пазара. Техническите мерки включват коригиране на пастьоризатора (температура или дебит) за постигане на критичната граница. Точността на устройството за записване на температурата трябва да се проверява ежедневно със стъклен термометър с живак. Самият живачен термометър трябва да се калибрира всяка година.

#### **Контролни мерки за осигуряване на безопасността на пловите сокове:**

- Доставчикът трябва да гарантира, че превозваните плодове са брани само от дърветата и не са събирани паднали плодове.
- Плодовете трябва да се изплакват и след това да се измиват с четка и дезинфектант, съдържащ минимум 200 ppm свободен хлор, в продължение на 30 секунди от времето за контакт.

- Процесът на пастьоризация, протичащ с минимална температура от 160°F (71,5°C) в продължение на 15-30 секунди, трябва да осигури петкратно намаление на броя на патогените. Температурата на нагряване и времето са критичните фактори, които трябва да бъдат наблюдавани, контролирани и документирани.

## 5. Информираност за безопасността на храните – послания или знания

Какво е състоянието на информираност на съвременното общество по отношение на безопасността на храните? Едно проучване сред студенти и работещи хора показва различни нива на информираност. При проучване на степента на информираност за безопасността на храните по-голямата част от анкетираните (76 %) посочват, че миенето на ръце след работа със сурови растителни или месни продукти е „здравословно и важно за безопасността на потребителите“. Също така 50 % от учещите посочват, че е важно „за безопасността“ да се използват отделни дъски или ножове при рязане на сурови хранителни продукти. Това показва значително висока информираност за безопасността на храните сред учениците.

Анкетираните от женски пол в средните училища показват значително по-високо ниво на липса на информираност относно пътищата за кръстосано замърсяване и положителните навици за повишаване на безопасността на храните в сравнение с анкетираните учещи мъжки пол. Анкетираните от женски пол от висшите училища също показват значително по-ниска степен на информираност за кръстосаното замърсяване, отколкото мъжете в същото ниво на образование. Като цяло по-голямата част от учещите показват липса на осведоменост за пътищата на кръстосано замърсяване. По-голямата част от анкетираните ученици от средните училища са наясно с рисковете, свързани с кръстосаното замърсяване.

Резултатите от обработката на данните от проучването показват, че средното ниво на информираност е 16/50 в средното училище и 15/50 в сектора на висшето образование. Диапазонът на оценките за осведоменост при учениците от средните училища е 0 – 35 от 50 и 0 – 30 от 50 за студентите (висше образование). Студентите от мъжки пол във висшите училища показват по-високо ниво на практикуване на информираността за безопасността на храните. Медианата на осведоменост за безопасността на храните (15/50) и режима (20/50) при резултатите са еднакви за анкетираните от средното и от висшето образование. В средното училище 50 % от респондентите от женски пол и 6 % от респондентите от мъжки пол са отговорили с „да“ на въпроса дали получават

допълнителна информация за безопасността на храните (извън източниците в предоставения им въпросник). Тези ученици са обучавани в училище в часовете по хранене и икономика. 21 % от респондентите от мъжки пол и 17 % от респондентите от женски пол във висшите училища също отговарят с „да“ на този въпрос. От N = 205 анкетираните 15 % от жените и 11 % от мъжете избират отговор „не“ по отношение на допълнителната информация (виждане, чуване и четене) за безопасността на храните, с изключение на посочените източници в предоставения им въпросник, и 13 % от жените и 10 % мъжете са посочили, че не могат да си спомнят дали са получавали информация за безопасността на храните. Осемнадесет процента (18 %) от анкетираните в сектора на висшето образование са заявили, че имат информация за безопасността на храните от телевизията и интернет.

По-нататъшният анализ по отношение на мястото, в което студентите са чули или прочели информация за безопасността на храните, разкрива, че 36 % от жените и 14 % от мъжете са получили информация от различни други източници, например вестници, книги, родители и етикети на хранителните продукти. В средното образование 52 % от учащите от женски пол и 5% от учащите от мъжки пол посочват, че са преминали формално обучение в областта на управление на безопасността на храните, включително за стандартите за безопасност на храните при приготвяне на храна. Сред респондентите от висшите училища 56 % от мъжете и 36 % от жените посочват, че са преминали формално обучение в областта на управлението на безопасността на храните, включително за стандартите за безопасност на храните при приготвяне на храна.

Участниците не са оценявани според знанията си, тъй като въпросите са структурирани така, че да се определи самооценката на участниците на знанията им в областта на безопасността на храните. Оценката на самостоятелното получаване на знания за безопасността на храните при 23 % от жените и 3 % от респондентите от мъжки пол в средните училища и 7 % от анкетираните жени и 12 % от анкетираните мъже във висшите училища показва, че те смятат, че базисните им знания за безопасността на храните са „много добри“. Допълнителната разбивка по пол показва, че 43 % от респондентите от женски пол и 1 % от респондентите от мъжки пол в средните училища и 25 % от респондентите от женски пол и 27 % от респондентите от мъжки пол в сектора на висшето образование оценяват знанията си за безопасността на храните като „сравнително добри“. Анкетираните мъже от сектора на висшето образование показват по-висока степен на възприемане на знания от жените във висшите училища, както и в сравнение с респондентите от мъжки пол в средното образование. Учениците от мъжки



пол в средните училища показват значително по-ниско ниво на знания от анкетираните от женски пол. Няма разлика между анкетираните от женски пол в двете образователни равнища. Като цяло резултатите на жените в средното образователно ниво и мъжете във висшето образователно ниво показват, че базата от знания на тези учащи отразява познаване на проблемите на безопасността на храните.

## ИЗПОЛЗВАНА ЛИТЕРАТУРА

- Bassett J. and McClure P. (2008) A risk assessment approach for fresh fruits. *Journal of Applied Microbiology* 104, 925–943.
- Berg G., Eberl L. and Hartmann A. (2005) The rhizosphere as a reservoir for opportunistic human pathogenic bacteria. *Environmental Microbiology* 7 (11), 1673–1685.
- Berger C.N., Sodha S.V., Shaw R.K., Griffin P.M., Pink D., Hand P. and Frankel G. (2010) Fresh fruit and vegetables as vehicles for the transmission of human pathogens. *Environmental Microbiology* 12(9), 2385–2397.
- Brandl M. (2006) Fitness of Human Enteric Pathogens on Plants and Implications for Food Safety. *Annual Review of Phytopathology* 44, 367–392.
- Brandl M., Cox C.E. and Teplitski M. (2013) Salmonella Interactions with Plants and Their Associated Microbiota. *Phytopathology* 103 (4), 316–325, <http://dx.doi.org/10.1094/PHYTO-11-12-0295-RVW>.
- Duan J., Zhao Y. and Daeschel Mm. (2011) Ensuring Food Safety in Specialty Foods Production 2011, <https://catalog.extension.oregonstate.edu/em9036>
- European Food Safety Authority (EFSA). (2011) Guidance on the environmental risk assessment of plant pests EFSA Panel on Plant Health (PLH) 2, 3, Parma, Italy. *EFSA Journal*; 9 (12): 2460.
- EASAC. (2014) Risks to plant health: European Union priorities for tackling emerging plant pests and diseases. Policy report, 24 February 2014, ISBN: 978-3-8047-3251-3.
- Fletcher J., Leach J. E., Eversole K., and Tauxe R. (2013) Human Pathogens on Plants: Designing a Multidisciplinary Strategy for Research. *Phytopathology* 103 (4), 306–315, <http://dx.doi.org/10.1094/PHYTO-09-12-0236-IA>.
- Food Safety Risk Assessment of NSW Food Safety Schemes (2009) Food Authority, Australia.
- Food Standards Agency UK (2004). Survey of baby foods for mycotoxins. <http://www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/fsis6804.pdf>.

Flood J. (2010) The importance of plant health to food security, *Food Sec.* 2:215–231, DOI 10.1007/s12571-010-0072-5.

FSAI [Food Safety Authority of Ireland] (2003). Results of 4th quarter national survey 2002 (NS4), European Commission co-ordinated programme for the official control of foodstuffs for 2002, Bacteriological safety of pre-cut fruit & vegetables, sprouted seeds and unpasteurised fruit & vegetables juices from processing and retail premises. [http://www.fsai.ie/surveillance/food\\_safety/microbiological/4thQuarter2.pdf](http://www.fsai.ie/surveillance/food_safety/microbiological/4thQuarter2.pdf).

FSA [Food Science Australia] (2000a). Final report – scoping study on the risk of plant products. Food Science Australia prepared for SafeFood NSW.

FSA [Food Science Australia] (2000b) Fact Sheet Preservation of vegetables in oil and vinegar. Retrieved 14 January 2009, <http://www.foodscience.afisc.csiro.au/oilvine.htm>.

FSAI [Food Safety Authority of Ireland] (undated). 3rd Trimester National Microbiological Survey 2005 (05NS3): EU Coordinated programme 2005, bacteriological safety of prepackaged mixed salads. Food Safety Authority of Ireland, Retrieved 2 December 2008, from [http://www.fsai.ie/surveillance/food\\_safety/microbiological/mixed\\_salads.pdf](http://www.fsai.ie/surveillance/food_safety/microbiological/mixed_salads.pdf).

Gilbert S., Lake R., Hudson A and Cressey P. (2006). Risk profile: Shiga-toxin producing *Escherichia coli* in leafy vegetables. Institute of Environmental Science and Research Limited report prepared for the New Zealand Food Safety Authority. Retrieved 14 January 2009, [http://www.foodsafety.govt.nz/elibrary/industry/Risk\\_Profile\\_Shiga\\_Toxin-Science\\_Research.pdf](http://www.foodsafety.govt.nz/elibrary/industry/Risk_Profile_Shiga_Toxin-Science_Research.pdf).

Jay S., Davos D., Dundas M., Frankish E. and Lightfoot D. (2003). Salmonella. In: Hocking A.D. (Ed.). *Foodborne Microorganisms of Public Health Significance*, pp. 207–266. Australian Institute of Food Science and Technology, Waterloo.

Hernandez-Reyes C. and Schikora A. (2013) Salmonella, a cross-kingdom pathogen infecting humans and plants. *FEMS Microbiol Lett* 343, 1–7.

Kirzinger M., Nadarasah G. and Stavrinos J. (2011) Insights into Cross-Kingdom Plant Pathogenic Bacteria. *Genes* 2, 980–997, doi:10.3390/genes2040980.

Lake R., Hudson A., Cressey P. and Gilbert S. (2005). Risk profile: *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat salads. Institute of Environmental Science and Research Limited report prepared for the New Zealand Food Safety Authority. Retrieved 14 January 2009.

- Mahlen S. (2011) Serratia Infections: from Military Experiments to Current Practice. *Clinical Microbiology Reviews*, 24 (4), 755–791, 0893-8512/11/\$12.00 doi:10.1128/CMR.00017-11.
- Mendes R., Garbeva P. and Raaijmakers J.M. (2013) The rhizosphere microbiome: significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms. *FEMS Microbiology Reviews* 37, 634–663.
- van Baarlen P., van Belkum A., Summerbell R.C., Crous P.W. and Thomma B.P.H.J. (2007) Molecular mechanisms of pathogenicity: how do pathogenic microorganisms develop cross-kingdom host jumps? *FEMS Microbiology Reviews* 31, 239–277.
- Pezzoli L., Elson R., Little C., Yip H., Fisher I., Yishai R., et al. (2008) Packed with Salmonella – Investigation of an international outbreak of Salmonella Senftenberg infection linked to contamination of prepacked basil in 2007. *Foodborne Pathogens and Disease* 5(5), 661–668.
- Szabo E., Scurrah K. and Burrows J. (2000) Survey for psychrotrophic bacterial pathogens in minimally processed lettuce. *Letters in Applied Microbiology* 30, 456–460.
- Miller S.A., Beed F.D. and Harmon C.L. (2009) Plant Disease Diagnostic Capabilities and Networks. *Annual Review of Phytopathology* 47, 15–38.
- van Overbeek L., van Doorn J., Wichers J.H., Amerongen A., van Roermund H.J.W. and Willemsen P.T.J. (2014) The arable ecosystem as battleground for emergence of new human pathogens. *Frontiers in Microbiology*, article 104, 1–17, doi: 10.3389/fmicb.2014.00104.
- Turnbull-Fortune S. and Badrie N. (2014) Practice, Behavior, Knowledge and Awareness of Food Safety among Secondary & Tertiary Level Students in Trinidad, West Indies. *Food and Nutrition Sciences* 5, 1463–1481.