

МИНИСТЕРСТВО НА ЗДРАВЕОПАЗВАНЕТО
НАЦИОНАЛЕН ЦЕНТЪР ПО ОБЩЕСТВЕНО ЗДРАВЕ И АНАЛИЗИ

Директор на НЦОЗА
Д-р Ивайло Ваклинов

Бул. „Акад. Иван Гешов“ № 15
1431 София

Телефон: 359 2/954 49 99
Факс: +359 2/ 954 12 11
Тел.центра : 8056/200



**МИКРОБИОЛОГИЧНИ
КРИТЕРИИ ЗА ХИГИЕНАТА НА
ПРОЦЕСИТЕ.**

**ЗНАЧЕНИЕ ЗА ОЦЕНКАТА НА
РИСКА**

СТАНОВИЩЕ

Доц. д-р Росица Еникова, дм,
Директор Дирекция „Аналитични лабораторни дейности“
към НЦОЗА

София, 2010 г.

МИКРОБИОЛОГИЧНИ КРИТЕРИИ ЗА ХИГИЕНАТА НА ПРОЦЕСИТЕ. ЗНАЧЕНИЕ ЗА ОЦЕНКАТА НА РИСКА

Оценката на риска от микробно замърсяване на храните се извършва главно по отношение на патогенните микроорганизми, причинители на инфекциозни заболявания, предавани чрез храната. В това направление е изработена методология за качествена и количествена оценка на риска, изяснени са на европейско равнище много закономерности по отношение на най-актуалните причинители – *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *Cronobacter sakazakii* в различни групи храни.

Не така стои, обаче, проблемът с индикаторните микроорганизми. Регламентите ЕС 2073/2005, 1441/2007 и 365/2010 много категорично поставят въпроса, че мястото на приложение на критериите за хигиена на процесите е в хранителната верига преди изнасянето на готовите храни на пазара и че отклоненията от нормативите за тях предполагат сериозни корективни мерки. Това не се разбира достатъчно добре от бизнес-операторите с храни, както и от контролните органи, които са готови да натоварят Технологичните документации с изисквания към индикаторните микроорганизми в крайния продукт, който е изнесен вече в търговската мрежа. В случаите на отклонения вместо корективни действия се налагат наказателни мерки, които нямат необходимия ефект. С подобно поведение така само се ограничават възможностите за гъвкави и навременни действия за подобряване на хигиената на производство, а оттам – и на безопасността.

Не за първи път в нашите публикации поставяме проблема за индикаторните микроорганизми – те са неделима част и от по-традиционните, и от по-съвременните критерии за оценка на микробиологичното състояние на храните в главна посока – хигиената на производствените процеси в хранителната промишленост.

Поводът отново да се върнем към темата е неправилното приложение на критериите за хигиената на процесите в практиката на микробиологичния контрол на храните.

Ще дадем пример с два автентични казуса :

По внушения на проверяващи производството официални държавни инспектори мелничарско предприятие включва в собствената си Технологична документация следните микробиологични критерии и изисквания за готови млевни продукти (брашна) :

- „общ брой на мезофилните аеробни микроорганизми – да не се установяват;
- колиформи – да не се установяват;
- *Salmonella spp.*, - да не се установяват;
- коагулазоположителни стафилококи – да не се установяват;
- плесени и дрожди – да не се установяват”.

Въз основа на тези критерии и норми излиза, че от брашната, гриса и другите млевни продукти се изисква почти пълна стерилност. Това е логически nonsens за храни, които според естеството си носят в себе си цялата микрофлора на екосистемата, от която водят началото си суровините. Те не могат да бъдат стерилни. Няма технологичен процес, който да регулира количеството и качеството на микрофлората – технологиите в мелничарската промишленост не съдържат термични и други обеззаразяващи процеси. Гореизложените критерии обричат млевната продукция на пълно и постоянно несъответствие на нормите, заложиени в собствената нормативна документация на производителя. Не са взети под внимание никакви доводи и съображения за спецификата на микрофлората на зърнените храни. Не е взето под внимание и много важното обстоятелство – че брашната и грисът са суровини, които се довеждат до консумативна готовност по технологии с изпичане и/или варене, а това надеждно унищожава патогенните за човека бактерии - например салмонели и други чревни видове. Салмонели теоретично могат да попаднат в зърното и брашната от животински екскрети и от складови вредители, които са техни чести носители – главно диви и синантропни гризачи, птици, както и селскостопански животни. Но салмонелите нямат шанс да се размножават в брашното, а изпичането на хляба надеждно ги унищожава. Що се отнася до стафилококите – теоретично също могат да попаднат в малки количества в брашната, но там няма условия за развитие и образуване на ентеротоксини. В изискването за отсъствие на стафилококи също няма логика.

Несъстоятелно е изискването в брашната да не се съдържат плесени и дрожди. Това са природни контаминанти, които постъпват от полето – почва, растения и др. заедно с аеробните бацили, за които става дума по-долу. Те са неделима част от естествената микрофлора на зърнените храни. Още по-несъстоятелно е в брашното да отсъстват аеробни мезофилни бактерии – това е невъзможно от гледна точка на естествения произход на продукта. По отношение на колиформите – те са признат показател за биологично контаминиране от екскретите на диви и селскостопански животни. Пълното им отсъствие е нереално. По-подходящо би било тук да бъдат нормирани *Enterobacteriaceae* - един по-интегрален индикатор на биогенно

контаминиране, но границите, в които те се допускат, да не са особено строги и да бъдат съобразени също с екосистемата и реалностите на селскостопанската практика.

Не е взета под внимание спецификата на микрофлората на зърното – главно почвени микроби, представители на сем. *Bacillaceae*, които са основните контаминанти с термично устойчиви спори, имащи значение по-нататък след изпичането на хляба за развитие на „картофената болест”. Такъв показател изобщо не е предвиден и включен в Технологичната документация, въпреки че е единствения по рода си опасен за качеството на производните на брашната продукти.

Примерът показва не само непрофесионалното прилагане на микробиологични критерии в производството, но и отсъствието на информираност за реалните микробиологични рискове, специфични за дадената група храни – в случая – продукти на преработката на зърнени култури. Такива норми обричат производителя на постоянно несъответствие на продукцията на поставените от самия него изисквания, дават повод за правомерно, но неоправдано санкциониране от страна на контролните органи, блокира възможностите за корективни действия.

Втори пример привеждаме от практиката на млекопреработващата промишленост.

В голяма търговска верига един асортимент цедено кисело мляко с трайност 20 дни след около 3-дневен престой на щанда с млечните продукти показва видими процеси на развала – алуминиевите капаци на опаковките се подуват, при отварянето им продуктът очевидно е развален – с неспецифични кисел мирис и неприятен привкус. Лабораторният анализ е с категорични резултати – в продукта се съдържат дрожди.

В Технологичната документация за цеденото кисело мляко са поставени нормативи само за отсъствие на *Listeria monocytogenes* – в съответствие с изискванията на Регламенти ЕС 2073/2005 и 1441/2007 към „готовите за консумация храни”. Други микробиологични показатели не са заложили, включително критерии за хигиената на процесите. Авторите на Регламентите очевидно са изхождали от концепцията, че при висока хигиена на производство технологията, включваща висока пастьоризация, и микробиологичните процеси във „ферментиралите” млека, каквото всъщност е цеденото кисело мляко, водят до пълно обезвреждане на чревната и друга остатъчна пост-пастьоризационна микрофлора. Не се третира вторично инфектиращи агенти каквито са например дрождите. А те са обичайни, много „вирулентни” вторични замърсители в млекопреработването и изискват сериозен и постоянен производствен контрол с оглед избягването на ситуации, подобни на настоящата.

При този казус лабораторията, доказала дрождите, получи сериозни възражения от производителя в смисъл, че е подходила незаконно, позволявайки си да изследва продукта по други микробиологични критерии, освен *Listeria monocytogenes*, и не заложи в Регламентите. Налице бе парадокс – вместо признателност за откриване на причините за дефектите, специалистите получиха от производителя обвинения за некоректност и неспазване на международните критерии и норми.

Подобни примери не представляват рядкост в съвременната практика на хигиенния контрол върху хранителните продукти и обекти. За избягването на така възникващите конфликтни ситуации е необходимо много детайлно познаване, но и творческо приложение на Регламентите на ЕО 2073/2005, 1441/2007 и 365/2010. Още по-сложно е с храните, за които в тях отсъстват микробиологични критерии. Важна е обаче основната теоретична постановка, развита в Регламент ЕО 2073/2005, която трябва да се прилага и за тези храни. Именно в този документ философията на микробиологичния контрол бе поставена на съвременна основа, дефинирайки двете основополагащи категории, фундаментални за интерпретацията на микробиологичните анализи :

- ✚ Критерии за безопасност

- ✚ Критерии за хигиената на процесите

Критерии за хигиената на процесите всъщност са индикаторните микроорганизми. Класическите им характеристики са свързани с информацията, която те дават за хигиенното състояние на производството на храните в конкретните условия на хранителната верига. Те информират за:

- ✚ степента на биологично и фекално контаминиране; косвено – за степента на риск от патогенни чревни микроорганизми;

- ✚ ефекта на технологичните процеси;

- ✚ прогнозите за бъдеща развала на продуктите при неправилно съхранение;

- ✚ епидемични рискове от потенциално патогенни микроорганизми.

Повечето индикаторни микроорганизми принадлежат към потенциално патогенните родове и видове – такива са например :

- ✚ *Escherichia coli*,

- ✚ *Proteus*,

- ✚ *Bacillus cereus*,

- ✚ *Clostridium perfringens*,

- ✚ *Pseudomonas*

и много други.

При размножаване и достигане на голям брой, т.е. високи инфекциозни дози, е възможно те да се проявят като причинители на съответните токсикоинфекции. Има и щамове, по-близки до облигатно патогенните бактерии – ентеропатогенни, веротоксигенни, ентерохеморагични *Escherichia coli* и др. Така че индикаторните микроорганизми безспорно имат не само косвено, но и пряко отношение към биологичната безопасност на храните.

Оценката на риска от заболявания в случаи с индикаторни микроорганизми изисква методология и подходи, аналогични на тези при облигатно патогенните микроорганизми, примерно :

- ✚ *Bacillus cereus* в храни за кърмачета и малки деца;

- ✚ *Bacillus cereus* в храни на зърнена основа.

Други нежелани последствия от присъствието и жизненодеятелността на индикаторните микроорганизми са свързани с качеството на храните, например :

- ✚ Картофената болест при хляба от *Bacillus subtilis, spp. mesentericus*;

- ✚ Развалата на месото в присъствието на *Enterobacteriaceae, Proteus hauseri, Pseudomonas, Clostridia* и други;

- ✚ Шупването на киселото мляко в присъствието на *Torula, Candida, Sacharomyces*;

- ✚ Бомбажът или “плоскокиселата ферментация” на консервите в присъствието на мезофилни или термофилни микроорганизми от родовете *Bacillus* и *Clostridium*;

..... и много други примери.

Тук става дума за оценка не само на хигиената на производство, но и за оценка на качеството на храните, без това да бъде свързано директно с безопасността. При такава постановка на въпроса значението на микрофлората за качеството на храните е първостепенна грижа на бизнес-операторите. Те са особено заинтересовани от контрола на индикаторните микроорганизми, в случая дори повече, отколкото контролните медицински органи.

Европейските микробиологични Регламенти не препоръчват много богата палитра от индикаторни микроорганизми, приложими във вътрешния контрол и самоконтрол на производството на храни. Изискванията към критериите за хигиена на процесите са много пестеливи. Критериите са малко на брой и не обхващат всички значими индикатори. Това е продиктувано вероятно от предпазливостта да не бъдат поставяни прекалено строги изисквания, да не бъде допуснато ограничение на

движението на стоки, както и от невъзможността да бъдат отразени всички специфични детайли, характерни за отделните видове производства. Колкото и свършен да бъде един нормативен документ, той не може да обхване цялото многообразие от храни, технологии, производствени условия, екологична характеристика, човешкия фактор.

Според Регламенти 2073/2005; 1441/2007 и 365/2010 към индикаторните микроорганизми се отнасят:

- ✚ *Enterobacteriaceae*;
- ✚ *Escherichia coli*;
- ✚ *Staphylococcus aureus*;
- ✚ *Bacillus cereus*;
- ✚ Общият брой на мезофилните аеробни и факултативно анаеробни микроорганизми
- ✚ В един от казусите според Регламентите при контрола на месните продукти като критерий за хигиената на процесите се третират и *Salmonella spp.*

Както се вижда, в Регламентите присъстват и бактерии, по традиция признавани досега в българската практика като патогенни – коагулазоположителните стафилококи и дори салмонелите. Истината е, че това са практически условно патогенни микроорганизми.

В действителност списъкът на родовете, видовете и групите индикаторни микроорганизми е много по-богат:

- ◆ Мезофилни аеробни микроорганизми - общ брой*
- ◆ Анаеробни микроорганизми
- ◆ Психротрофни микроорганизми
- ◆ Термофилни микроорганизми
- ◆ Осмотолерантни микроорганизми
- ◆ Протеолитични микроорганизми
- ◆ Липолитични микроорганизми
- ◆ Колиформи (*Coliforms*)
- ◆ *Enterobacteriaceae**
- ◆ *Escherichia coli**
- ◆ *Pseudomonas*
- ◆ *Proteus, Providencia, Morganella*

- ◆ *Bacillaceae*
- ◆ *Bacillus cereus**
- ◆ *Bacillus mesentericus*
- ◆ Сулфитредуциращи кластридии
- ◆ *Clostridium perfringens*
- ◆ *Lactobacillus*
- ◆ *Lactococcus*
- ◆ *Leuconostoc mesenteroides*
- ◆ Плесени
- ◆ Дрожди

Забележка : със звездичка са обозначени индикаторните микроорганизми, които са обекти на Регламенти ЕО 2073/2005; 1441/2007 и 365/2010.

При внимателен прочит на Регламентите, обаче, правото на бизнес-операторите да извършват вътрешен контрол и по други, не посочени в критериите показатели, но присъстващи в горната по-подробна листа на индикаторите, не се ограничава. Нещо повече – препоръчва се да бъде изследвана по индикаторни микроорганизми и производствената среда, което в голяма степен може да обогати информацията за пътищата на контаминиране на храните в процеса на тяхното производство.

Във възловите критични точки на хранителната верига, където става оценката на ефективността на технологиите или там, където има реална заплаха от вторично замърсяване на продукцията, трябва да се прилагат адекватни критерии.

Съвременната действителност показва, че палитрата на микробиологичните критерии, които фирмите-производители използват в практиката на вътрешния контрол, както и при търговските си взаимоотношения, е разнообразна и сложна. Тя е резултат от дългогодишна практика и добро познаване на същинските потенциални заплахи от микробиологично естество за всеки тип производство на храни. Историческият опит дава много блестящи примери за регулиран производствен микробиологичен контрол в редица подотрасли на хранителната промишленост, при които микробиологичното състояние и безопасност на готовата продукция са обект на постоянен мониторинг.

Можем да посочим примери за системен производствен контрол от практиката на консервното производство на България в миналото, много преди навлизането на

НАССР-системите за вътрешен контрол. Такъв пример е Инструкция XVI-1/4-77 (1982) “Производствен микробиологичен контрол на стерилизирани консерви”, в която са установени критичните от гледна точка на технологията и хигиената етапи на производството, както и микробиологичните критерии и норми. В следната таблица 1 представяме кратко описание на тези критерии в специфичните критични точки :

Таблица 1


Инструкция XVI-1/4-77 (1982) “Производствен микробиологичен контрол на стерилизирани консерви”

Наблюдавани критични етапи в производството	Наблюдавани критерии
Суровина преди измиване	<ul style="list-style-type: none"> ✚ Общ брой мезофилни аероби
Суровина след измиване	<ul style="list-style-type: none"> ✚ Общ брой мезофилни аероби ; ✚ Спори на мезофилни аероби ; ✚ Анаероби мезофили – вегетативни, спори; ✚ Термофили аеробни, анаеробни.
Суровина след бланширане	<ul style="list-style-type: none"> ✚ Общ брой мезофилни аероби ; ✚ Спори на мезофилни аероби ; ✚ Анаероби мезофили – вегетативни, спори; ✚ Термофили аеробни, анаеробни.
Заливка	<ul style="list-style-type: none"> ✚ Общ брой мезофилни аероби
Консерва преди стерилизацията	<ul style="list-style-type: none"> ✚ Общ брой мезофилни аероби ; ✚ Спори на мезофилни аероби ; (норми – от 50 000 до 300 000 cfu/g – вегетативни; 25 – 50 cfu/g спори) ✚ Анаероби мезофили – вегетативни, спори; ✚ Термофили аеробни, анаеробни.
Консерва след стерилизацията	<ul style="list-style-type: none"> ✚ Общ брой мезофилни аероби ; ✚ Спори на мезофилни аероби ; ✚ Анаероби мезофили – вегетативни, спори; ✚ Термофили аеробни, анаеробни

Друг подобен пример е Инструкция XVI-1/2-77(1982) “Производствен микробиологичен контрол на замразени готови ястия”, в която се третира задължителните изследвания при производствения микробиологичен контрол на нестерилни продукти – готовите замразени ястия – Таблица 2.

Инструкция XVI-1/2-77(1982)

“Производствен микробиологичен контрол на замразени готови ястия”

Наблюдавани критични етапи в производството	Наблюдавани критерии
Суровина след измиване	 Общ брой мезофилни аероби
Непосредствено след термичната обработка на месо и зеленчуци (поотделно)	 Общ брой мезофилни аероби;  Спори на мезофилни аероби
Готов продукт преди замразяване	 Общ брой мезофилни аероби;  <i>Coliforms</i> ;  <i>Staphylococcus</i> ;  Спори на мезофилни анаероби
Готов продукт след замразяване	 Общ брой мезофилни аероби;  <i>Coliforms</i> ;  <i>Staphylococcus</i> ;  Спори на мезофилни анаероби

Това не са критерии, при отклоненията от които продукцията се унищожава или не се допуска за по-нататъшно производство на храни за човешка консумация. Това са индикатори за необходимост от корективни действия в технологиите и хигиената на процесите, за динамично насочване на производителя към слабите места на производството, където могат да възникнат рискови за здравето ситуации, определяни с помощта на индикаторните микроорганизми.

Ключов момент е интерпретацията на данните от изследванията на критериите за хигиената на процесите, т.е. на индикаторните микроорганизми.

Три са ключовите въпроси, които си поставяме при тази интерпретация :

- 1. Кои са микробиологичните критерии (индикаторни показатели), най-подходящи за адекватна оценка на хигиената на конкретното производство?**
- 2. Къде, в кой момент на хранителната верига да изследваме индикаторните микроорганизми, т.е. критериите за хигиена на процесите ?**
- 3. Трябва ли да бракуваме, унищожаваме или преработваме продукцията, когато намерим отклонения от индикаторните критерии ?**

Отговорите на тези въпроси са в зависимост от вида (категорията) на храната, от нейното предназначение и начина на употреба, от технологията на нейното

производство, от техническото ниво на оборудването, от културата на производството и персонала, от степента на епидемичен риск, която носят критериите за хигиена на процесите.

Отговор на тези въпроси можем да потърсим чрез анализ на сигнификантното значение на всеки един от критериите в различни групи храни – особено на тези, които не са обект на Регламентите ЕО 2073/2005, 1441/2007 и 365/2010.

Общ брой на микроорганизмите (Total Plate Count - TPC)

По традиция от българската практика този показател се обозначава като „общ брой на мезофилните аеробни и факултативно анаеробни микроорганизми“. Това наименование най-точно отразява физиологията на микроорганизмите, които са от разнообразни таксономични групи (растеж на бактерии, аеробно и анаеробно при умерена температура – 30°C, в неселективна хранителна среда – агар с дрождев екстракт и глюкоза, след култивиране 72 ± 3 часа).

Според Регламентите този индикатор (TPC) се контролира като критерий за хигиената на процесите при клането на преживни животни, свине, при мляно месо и месни заготовки за консумация в сурово състояние, при механично обезкостено месо. За мляното месо, заготовките и механично обезкостеното месо например нормите са : $n = 5$; $c = 2$; $m = 5,0 \cdot 10^5$; $M = 5,0 \cdot 10^6$. В случая TPC отразява общата степен на микробно замърсяване, без зависимост от обеззаразяващи технологични процеси, всъщност – общата хигиена при клането или раздробяването на месото.

Според националните препоръчителни критерии норми по този показател има за следните категории храни (таблица 3):

Както се вижда от примерите в таблица 3, приложението на критерия е ограничено, за специални видове храни, обикновено за случаи, когато има възможности за термично и други въздействия, водещи до редукция на микробното съдържание. Изключение правят растителните подправки и дроги, които носят специфичната за почвено замърсяване разнообразна микрофлора, представена главно от спорообразуващи аеробни бактерии от рода *Bacillus*, плесени и дрожди, *Enterobacteriaceae*, не е изключена находката на анаеробни клостридии.

Таблица 3

ОБЩ БРОЙ НА МИКРООРГАНИЗМИТЕ (ТРС) В РАЗЛИЧНИ ГРУПИ ХРАНИ

КАТЕГОРИИ ХРАНИ	План за вземане на проби		Допустими стойности, CfU/g	
	n	c	m	M
Сметани и сметанови кремове с масла на растителна основа - емулсионни и прахообразни	5	2	$1,0 \cdot 10^3$	$1,0 \cdot 10^4$
Плодови и зеленчукови концентрати и пулпове за промишлена преработка, получени по физични методи	5	2	$1,0 \cdot 10^3$	$1,0 \cdot 10^4$
Сухи супи, бульони и сосове	5	2	$5,0 \cdot 10^4$	$1,0 \cdot 10^5$
Ястия полуготови - полуфабрикати за термична кулинарна преработка, охладени и замразени зеленчукови, месни, рибни, смесени	5	2	$1,0 \cdot 10^6$	$5,0 \cdot 10^6$
Ястия готови за директна консумация зеленчукови, месни, рибни, от птиче и друго месо, смесени	5	2	$1,0 \cdot 10^5$	$5,0 \cdot 10^5$
Червен пипер	5	2	$1,0 \cdot 10^7$	$5,0 \cdot 10^7$
Други растителни подправки и дроги	5	2	$1,0 \cdot 10^6$	$1,0 \cdot 10^7$
Концентрати за безалкохолни напитки	5	2	$5,0 \cdot 10^2$	$5,0 \cdot 10^3$
Безалкохолни напитки	5	2	50	100
Хранителни добавки	5	2	$1,0 \cdot 10^3$	$1,0 \cdot 10^4$
Ензимни препарати	5	2	$,0 \cdot 10^4$	$1,0 \cdot 10^5$
Комбинирани подобрители за влагане в месни и млечни продукти	5	2	$1,0 \cdot 10^4$	$1,0 \cdot 10^5$
Стартерни култури (неспецифични микроорганизми)	5	2	$5,0 \cdot 10^2$	$1,0 \cdot 10^3$
Сухи смеси-полуфабрикати за кърмачета над 6 месеца и деца на плодова, зеленчукова, зърнено-плодова или кореноплодна основа (за пюрета, каши, пудинги, десерти и др.)	5	2	$1,0 \cdot 10^4$	$2,5 \cdot 10^4$

Нашият опит в проучването на микрофлората на растителни подправки и дроги показва високата степен на общо микробно контаминиране на тези храни – до 10^6 - 10^8 и повече CfU/g. В Таблица 4 представяме наши данни за общия брой на мезофилните аеробни микроорганизми – вегетативни форми и спори в 14 партиди червен пипер. Рискът от тях е, че са основен източник на вторично контаминиране на готовите за консумация храни със съответните степени на епидемична опасност и причина за развалата на супи, ордьоври, основни ястия и пр. Това обстоятелство е в основата на приетото от повечето страни и организации на бизнес-операторите в областта на подправките да прилагат този показател при окачествяването на продукцията.

Таблица 4

ОБЩ БРОЙ НА МИКРООРГАНИЗМИТЕ В ПАРТИДИ ЧЕРВЕН ПИПЕР

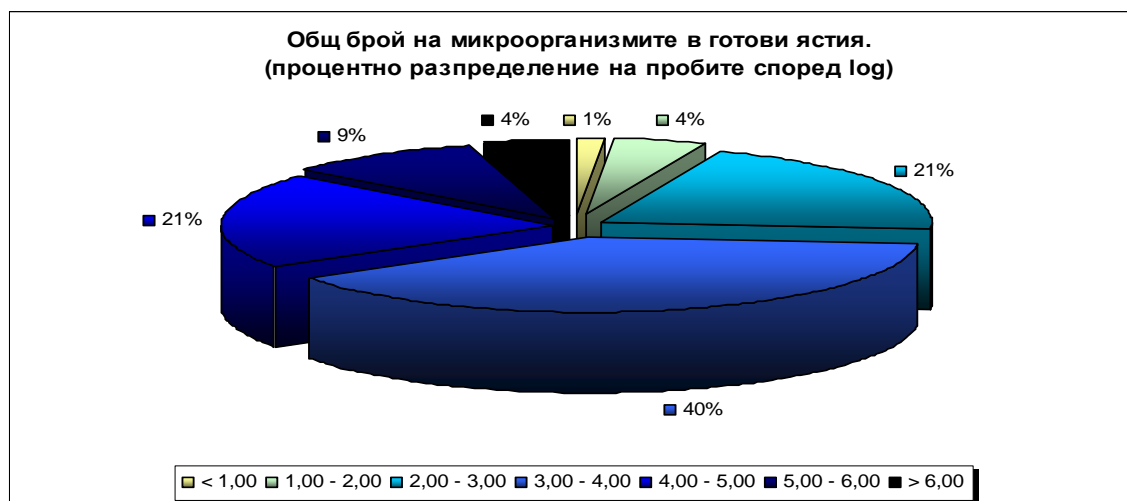
ПАРТИДА №	Общ брой на мезофилните аеробни и факултативно анаеробни микроорганизми – вегетативни форми	Общ брой на мезофилните аеробни и факултативно анаеробни микроорганизми – спорови форми
1.	$8,7 \cdot 10^6$	$7,6 \cdot 10^6$
2.	$9,0 \cdot 10^5$	$8,8 \cdot 10^5$
3.	$1,2 \cdot 10^7$	$6,1 \cdot 10^6$
4.	$6,2 \cdot 10^6$	$5,5 \cdot 10^6$
5.	$1,8 \cdot 10^6$	$2,4 \cdot 10^6$
6.	$1,4 \cdot 10^6$	$8,7 \cdot 10^6$
7.	$9,9 \cdot 10^7$	$6,7 \cdot 10^7$
8.	$9,5 \cdot 10^5$	$1,5 \cdot 10^6$
9.	$1,2 \cdot 10^4$	$1,2 \cdot 10^4$
10.	$7,8 \cdot 10^4$	$5,2 \cdot 10^4$
11.	$5,8 \cdot 10^4$	$4,2 \cdot 10^4$
12.	$5,0 \cdot 10^2$	$1,0 \cdot 10^3$
13.	$5,8 \cdot 10^5$	$1,0 \cdot 10^5$
14.	$4,1 \cdot 10^4$	$5,4 \cdot 10^4$

Анализът на гореизложените данни показва, че част от наблюдаваните в това изследване партиди показаха нисък общ брой на аеробните мезофилни

микроорганизми. Впоследствие бе изяснено, че се касае за партии, подлагани на облъчване с гама-лъчи в малки дози. Общото впечатление е, че спорите по-малко се влияят от облъчването, отколкото вегетативните форми, а именно спорите са най-рискови за качеството на производните продукти, в които се влагат подправките. Това е пример как с помощта на индикатора ТРС може да бъде извлечена богата информация за продукта.

Намираме също така за особено важно общият брой на мезофилните аеробни микроорганизми да се прилага при производствения контрол на готовите ястия в кетъринговите предприятия. Резултатите от наши системни проучвания върху този тип кулинарна продукция показват, че при тях са възможни доста големи вариации в хигиената на производството. Нашите данни от едно производствено предприятие за кетъринг-продукция с добра организация на ДПП и ДХП илюстрират нееднаквото ниво на хигиената за сравнително еднородна продукция. Това са многокомпонентни порции ястия, обикновено термично обработен месен или рибен продукт с гарнитура, като броят на микроорганизмите в 13 % от случаите надхвърля 100 000 CfU/g, а тази граница се счита за рискова от гледна точка на евентуални болестни инциденти от условно-патогенни микроорганизми.

Фигура 1



Разпределението на пробите според степента на контаминиране с аеробни мезофилни микроорганизми демонстрира многообразието на фактори, които влияят

върху общия брой, показва и че мониторингът по този критерий е необходим на бизнес-оператора за реалистична оценка на състоянието на хигиената на производството (фигура 1).

Трябва да добавим, че контингентът от проби, обобщени във Фигура 1, не съдържа патогенните *Listeria monocytogenes* или *Salmonella* и не представлява директна епидемична опасност даже в силно замърсените партии. Така че в случая с общия брой на аеробните мезофилни микроорганизми индикаторът няма пряка връзка с оценката на епидемичната безопасност, а само подсказва нивото на хигиенно благополучие на производствения процес.

Изследването на общия брой на мезофилните аероби е много важен индикатор при прогнозиране и експериментално установяване на сроковете на трайност. Няма динамичен и чувствителен маркер, свидетелстващ за размножаване или редукция на смесената микрофлора на повечето видове храни. Показателят е препоръчителен при разнообразни видове храни – пастьоризирани млека и сметани, топени сирена, термично обработени месни и други изделия с животински произход, пастьоризирани яйчни продукти, пастьоризирани и пресни плодови сокове и нектари, полуготови и готови ястия, кулинарни десерти, сандвичи, ордьоври, комбинирани салати, сосове, безалкохолни напитки и др. Ето един пример с пресни плодови сокове тип „фреш“ , съхранявани в хладилни условия – от 0 до +5°C (таблица 5):

Таблица 5

**ОБЩ БРОЙ НА МЕЗОФИЛНИТЕ АЕРОБИ В НЕПАСТЬОРИЗИРАНИ ПЛОДОВИ И
ЗЕЛЕНЧУКОВИ СОКОВЕ**

Вид на плодovия сок	Интервал на изследване	Общ брой на мезофилните аеробни и факултативно анаеробни микроорганизми CfU/g
Портокал	веднага (1 ден)	12 900
	3 ден	1 980 000
	5 ден	18 200
Грейпфрут и портокал	веднага (1 ден)	8 500
	3 ден	33 360
	5 ден	864
Киви, портокал, ябълка	веднага (1 ден)	22 100
	3 ден	186 000
	5 ден	3 100

Вид на плодовия сок	Интервал на изследване	Общ брой на мезофилните аеробни и факултативно анаеробни микроорганизми CfU/g
Ананас, портокал, ябълка	веднага (1 ден)	19 730
	3 ден	45 450
	5 ден	7 900
Морков, ябълка	веднага (1 ден)	89 090
	3 ден	1 830 000
	5 ден	2 470 000
Морков, червено цвекло, целина, ябълка	веднага (1 ден)	180 900
	3 ден	2 010 000
	5 ден	114 540

При едно неочаквано високо ниво на контаминиране по време на приготвянето на соковете смесената аеробна микрофлора до 3 ден се размножава интензивно, след което, с малко изключение при сока от морков и ябълка, към 5 ден съществено се редуцира. Решаването на проблема с трайността е въпрос на комплексното обобщение на данните за органолептиката, киселинността, съдържанието на други микроорганизми като *Enterobacteriaceae*, *Lactobacillus*, плесени, дрожди, съпоставимо с общия брой на аеробните мезофили, количеството на които далеч не е безобидно в този предназначен за директна консумация продукт. Именно този индикатор показва, че са необходими ефективни мерки за недопускане на първично замърсяване на соковете по време на самото производство и едва след това извършване на ново наблюдение върху динамиката на горепосочените показатели за окончателно решение на проблема с трайността.

Изследването на общия брой на микроорганизмите не е експресен микробиологичен тест. Резултатите му се отчитат едва на 72 час след посевките на пробите. Това не дава възможност за бърза реакция в момента на производството. Отчитани пост-фактум, резултатите насочват практиката към широко поставени превантивни корекции в общия хигиенен статус на помещенията и оборудването, в техниката на подготовка на суровините и материалите, в поведението на персонала, зает с окончателното оформяне на готовите храни. Критерият ТРС е още по-удобен за ползване при експерименталното доказване на сроковете на трайност.

Много важен е проблемът с психротрофната микрофлора, особено на бързо развалящите се храни. Днес никой не съхранява продукти извън хладилника, освен при

екстремни ситуации. Именно психротрофите са основната причина за развалата на храни от животински и друг произход, богати на хранителни вещества и с висока водна активност. Техниката на анализите на общия брой на психротрофите е аналогична на тази при ТРС, но култивирането е при +6,5°C в продължение на 10 дни. За текущ контрол този критерий не е удобен, но при решаването на проблемите за сроковете на трайност на охладени продукти (от 0 до +6° - +8°C) неговото приложение е много подходящо. В състава на психротрофната микрофлора влизат и микроорганизми с широки температурни диапазони на растеж, които биха се проявили и при 30°C. Успоредното приложение на двата показателя – мезофилни и психротрофни микроорганизми, е най-сигнификантния път за решаване на проблемите с трайността на храните.

В Таблица 6 показваме наши експериментални резултати от успоредно наблюдение на мезофилите и психротрофите при много бързо развалящи се храни - заготовки от сладководни риби, съхранявани в хладилни условия в зависимост от опаковането – под вакуум и без вакуум. Съпоставката на двата критерия дава много повече възможности за сравнение и за обосновано вземане на решения по сроковете на трайност.

В рубриката „Общ брой на микроорганизмите” можем да поставим и някои специфични критерии, обединяващи по физиолого-биохимичен признак разнородни родове и видове микроорганизми с общи характеристики. Това са „протеолитичните”, „липолитичните”, „осмотолерантните” микроорганизми. Те имат индикаторно място в специфични храни, в които са важни за прогнозите при съхранението, зреенето, развалата на храните.

Протеолитичните микроорганизми се изброяват в трайните млечни продукти, в които могат да дадат прогноза за правилното протичане на биотехнологичния процес. По същия начин критерият би могъл да се използва в трайните сурово-сушени зреещи колбаси. При висок брой протеолитични микроорганизми ензимо-химичните процеси биха могли да протекат в нежелана посока, засягайки белтъка и предизвиквайки вместо ферментация на захарите и натрупване на органични киселини, разлагане на белтъка и аминокиселините, гнилоствни процеси, респ. развала. Протеолитичните микроорганизми принадлежат към различни таксономични групи – тук могат да бъдат посочени аеробните *Bacillus*, анаеробните *Clostridia*, *Proteus*, *Pseudomonas*, плесените.

Таблица 6

**СРАВНИТЕЛНИ ДАННИ ЗА МЕЗОФИЛНИТЕ И ПСИХРОТРОФНИТЕ АЕРОБНИ И ФАКУЛТАТИВНО АНАЕРОБНИ
МИКРООРГАНИЗМИ ВЪВ ВАКУУМ-ОПАКОВАНА РИБА В ПРОЦЕСА НА СЪХРАНЕНИЕ**

Вид на продукта	Наблюдавани показатели	Опаковани под вакуум						Опаковани без вакуум					
		24 час	48 час	72 час	5 ден	7 ден	10 ден	24 час	48 час	72 час	5 ден	7 ден	10 ден
Шаран (предварително неохладен)	ТРС - мезофилни (log CfU/g)	5,18	6,11	6,90	-	6,98	7,79	5,48	7,23	8,42	-	8,18	8,50
	ТРС-психротрофни (log CfU/g)	5,11	5,20	5,94	-	6,87	6,30	6,15	6,83	7,15	-	7,88	8,68
Шаран (предварително охладен)	ТРС - мезофилни (log CfU/g)	3,0	4,04	4,11	4,26	3,98	3,80	3,15	3,86	3,30	3,04	3,61	3,65
	ТРС-психротрофни (log CfU/g)	1,78	3,59	2,53	2,48	3,60	3,81	3,0	3,11	2,46	3,15	2,96	4,23
Толстолоб	ТРС - мезофилни (log CfU/g)	3,75	2,98	-	2,71	3,49	4,49	4,41	4,53	-	4,30	4,11	4,40
	ТРС-психротрофни (log CfU/g)	3,23	2,32	-	2,00	3,38	4,41	3,48	4,49	-	4,20	4,15	5,18
Пъстърва	ТРС - мезофилни (log CfU/g)	2,86	3,45	5,78	-	-	-	2,54	2,90	5,30	-	-	-
	ТРС-психротрофни (log CfU/g)	2,32	3,36	5,83	-	-	-	< 10	3,84	6,49	-	-	-

Липолитичните микроорганизми се наблюдават в маслата и маргарините, където имат значение за качеството, хидролизират триглицеридите до глицерин и свободни мастни киселини. Към тях бихме могли да отнесем стафилококите, *Pseudomonas*, в най-голяма степен плесените.

Осмоторантните микроорганизми могат да се наблюдават в осолени или по-скоро храни в саламура, в конфитюрите, мармеладите, джемове. Устойчиви към високи концентрации на готварска сол и захари например са стафилококите – те растат и образуват ентеротоксини при 10 % концентрация на готварска сол и 20 % концентрация на глюкоза или захароза. Осмоторантен е *Leuconostoc mesenteroides* – той расте при 20 % концентрация на захароза, при което образува слюзести вещества от рода на мукополизахаридите и олигозахаридите. Наблюдавано е токсинообразуване от *C.botulinum* при осолени продукти с 14 % готварска сол в саламурата. Но това са редки, единични казуси. Най-широко разпространените осмоторантни микроорганизми са плесените, които имат голямо значение при развалата на много солени и мариновани храни, както и в конфитюрите и джемове.

Изброяването на протеолитичните, липолитичните и осмоторантни микроорганизми се осъществява по техниката за определяне на броя в 1 g от продукта в специфични хранителни среди, различни от тези, в които се изброява ТРС. Това са казеиновия агар или агарът със сухо обезмаслено мляко за протеолитичните, агарът с млечна мазнина или трибутирин за липолитичните, агарите със захароза или натриев хлорид – за осмоторантните микроорганизми.

Enterobacteriaceae, Coliforms, Escherichia coli

Тези три индикаторни теста се прилагат повсеместно поединично или в различни комбинации в зависимост от необходимостта от доказване на фекално, антропогенно или биогенно контаминиране, категорията храни, степента на риск от размножаване в процеса на съхранение, при доказване на ефективността на измиването и дезинфекцията на оборудването и инвентара в хранителни обекти. Най-старият критерий е „Коли-бактерии”, за пръв път използван от Луи Пастър за доказване на ефективността на въведената от него пастъризация на млякото.

В съвременните Регламенти ЕО 2073/2005, 1441/2007 и 365/2010 *Enterobacteriaceae* имат място в оценката на хигиената на процесите при кланични трупове на едри преживни животни, овце, кози, коне и прасета, в пастъризирано

мляко, в мляко и суроватка на прах, сладоледи, в яйчни продукти. Особено взискателни са нормите за сухи храни за кърмачета, диетични и сухи преходни храни за ранната възраст.

Друг критерий за хигиената на процесите, обозначен в Регламентите, е *Escherichia coli* с неговия безусловно фекален произход и потенциалната възможност на някои щамове за висока патогенност и вирулентност, респ. фекално-индикаторно и епидемиологично значения. Друг е въпросът, че съвременният референтен метод (ISO 16649-1-3) диагностицира бета-глюкуронидазо-положителните щамове *E.coli* и не е подходящ за изолирането и доказването на веротоксигенния серовар *E.coli* 0157:H7. *E.coli* се препоръчва като критерий за хигиената на процесите при мляно месо, месни заготовки и механично отделено месо, сирена от топлинно преработено мляко, масло и сметана от сурово мляко, топлинно преработени мекотели, нарязани плодове и зеленчуци, непастъоризирани плодови и зеленчукови сокове.

Прилаганият най-широко в практиката не само у нас, но и в другите страни критерий *Coliforms* понастоящем постепенно се измества от *Enterobacteriaceae* поради по-широкия обхват на последния, включващ не само представителните за *Coliforms* родове *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia* (като правило ферментиращи лактозата), но и *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus*, *Providencia*, *Morganella* и други, ферментиращи глюкозата, но не и лактозата родове, отнасящи се към патогенните и условно-патогенни чревни бактерии.

В Регламенти ЕО 2073/2005, 1441/2007 и 365/2010 *Coliforms* не фигурират и това е категоричен симптом за всеобщото вече мнение, че замяната им с по-обхватния критерий *Enterobacteriaceae* е целесъобразно и е въпрос на време за пренастройване на националните, фирмени и други микробиологични критерии и норми.

В Таблица 7 представяме препоръчаните в националните микробиологични критерии за хранителни продукти, които не са обект на Регламент ЕС 2073/2005 и Регламент ЕС 1441/2007, изисквания към критерия *Enterobacteriaceae*.

Както се вижда от таблицата, *Enterobacteriaceae* се препоръчват за много от нестерилните храни, особено там, където няма сериозни традиции за здравно нормиране, независимо от масовото им потребление. Това са бозата и други безалкохолни напитки и концентрати за тях, плодovите, зеленчукови продукти, гъбите, нешоколадовите захарни изделия, маслените и емулсионни продукти и др., детските храни. Нормите са либерални, но обикновено критерият се нормира заедно с *E.coli*,

изискванията към които са по-строги и комбинацията от двата теста дава по-реалистична картина на характера на микробното замърсяване с чревни бактерии.

Таблица 7

Enterobacteriaceae

В БЪЛГАРСКИТЕ НАЦИОНАЛНИ МИКРОБИОЛОГИЧНИ КРИТЕРИИ

КАТЕГОРИИ ХРАНИ	План за вземане на проби		Допустими стойности, CfU/g	
	n	c	m	M
Брашна и грис	5	2	< 100	< 1000
Сухи полуфабрикати и комбинирани храни на зърнена основа за директна консумация без топлинна обработка (смеси за пюрета, каши, кремове, пудинги, десерти, "Мюсли", зърнени ядки, корн-флейкс, екструдирани зърнени закуски, други)	5	2	< 100	< 1000
Закуски хлебни за директна консумация (баници, бюреци, милинки, солени и сладки кифли и кроасани, масленки, бухти, мекици, понички, други, без и с пълнеж)	5	2	< 100	< 1000
Маргарини за директна консумация	5	3	< 10	< 100
Сметани и сметанови кремове с масла на растителна основа-емулсионни и прахообразни (за чай, кафе, сосове и сладкарски кремове)	5	2	< 10	< 100
Емулсионни продукти (майонези, майонезни сосове, дресинги и други)	5	3	< 10	< 100
Плодове и зеленчуци сурови, измити, почистени, цели или нарязани, за директна консумация, охладени, замразени и сушени. Плодове, зеленчуци и гъби сушени, охладени и замразени, предназначени за термична преработка (еднокомпонентни, многокомпонентни).	5	2	< 1000	< 10 000
Плодови и зеленчукови концентрати и пулпове за промишлена преработка, получени по физични методи	5	2	< 10	< 100
Ядкови плодове за директна консумация	5	2	< 100	< 1 000
Плодове, зеленчуци и кореноплодни, сушени пулверизационно, барабанно, чрез екструзия или лиофилизация за директна консумация и кулинарни цели (картофено пюре на прах, пелети, чипс, други)	5	2	< 10	< 100
Сухи супи, бульони и сосове	5	2	< 100	< 1 000
Бонбони нешоколадови (карамелажни, небет-шекер, меки, дъвчащи, драже, други), десертни блокчета, други; халви, локум; глазури и квертюри нешоколадови; бисквити захарни	5	2	< 100	< 1 000
Червен пипер	5	2	< 1 000	< 10 000
Сушени листни и други подправки	5	2	< 100	< 1 000
Концентрати за безалкохолни напитки	5	2	< 1	< 10

Суши концентрати за безалкохолни напитки	5	2	< 10	< 100
Напитки слабоалкохолни (от 0,5 до 5,0 w/v% етилов алкохол)	5	2	< 1	< 10
Боза	5	2	< 100	< 1000
Стартерни култури за млечната промишленост	5	2	< 10	< 100
Млека сухи за кърмачета и сухи диетични храни за специални медицински цели за кърмачета над 6 месеца	10	0	0/10 g	-
Комбинирани детски храни на зърнена основа за директна консумация за кърмачета до 6 месеца и над 6 месеца	10	0	0/10 g	-
Суши смеси-полуфабрикати за кърмачета над 6 месеца и деца на плодова, зеленчукова, зърнено-плодова или кореноплодна основа (за пюрета, каша, пудинги, десерти и др.)	5	2	< 0,3	< 10

В изследвания от последната година например в проби боза, произвеждана по съвременните рецептури бяха открити : *Enterobacteriaceae* – в 42,1 % в количества от 2,48 до 4,46 lg CFU/g; *Escherichia coli* – в 21,0 % в количества от 0,60 до 3,10 lg CFU/g, т.е. в много по-високи количества, отколкото допустимите граници на нормите.

Традиционните *Coliforms* остават надежден и достъпен за интерпретация хигиенен индикатор в много групи нестерилни храни. Точно тази достъпност и добре известните и приложими методи за диагностика, прилагани в повечето производствени лаборатории, дават основание критерият да бъде оставен като интегрален тест за фекално и биогенно контаминиране, много често също в комбинация с *E.coli*. В Таблица 8 представяме категориите храни, за които препоръчваме неговото приложение.

Таблица 8

***Coliforms* в БЪЛГАРСКИТЕ НАЦИОНАЛНИ МИКРОБИОЛОГИЧНИ КРИТЕРИИ**

КАТЕГОРИИ ХРАНИ	План за вземане на проби		Допустими стойности, CfU/g	
	n	c	m	M
Солени и солено-мариновани плодове, зеленчуци и гъби (туршии); маслини в саламура	5	2	< 1 000	< 10 000
Суши сладкарски полуфабрикати и основи, вафли, сладкарски бисквити, сладкарски кексове, рула, кроасани, козуначени изделия, сухи сладкарски десерти, сиропирани ориенталски сладкиши	5	2	< 100	< 1000

Неутрайни сладкарски кремове	5	2	< 100	< 1000
Какао на прах, какаова маса	5	2	< 100	< 1000
Шоколад, шоколадови бонбони	5	2	< 100	< 1000
Ястия полуготови - полуфабрикати за термична кулинарна преработка , охладени и замразени зеленчукови , месни, рибни, смесени: супи натурални и концентрирани ; ястия еднокомпонентни и многокомпонентни; полуготови тестени изделия с пълнеж - пици, пелмени, равиоли, лазаня, тортелини)	5	2	< 1 000	< 10 000
Ястия готови за директна консумация зеленчукови , месни, рибни, от птиче и друго месо, смесени: супи натурални и концентрирани; ястия еднокомпонентни и многокомпонентни; тестени изделия с пълнеж (пици, пелмени, равиоли, лазаня, тортелини	5	2	< 100	< 1000
Десерти кулинарни	5	2	< 100	< 1000
Комбинирани ордьоври и салати, охладени, за директна консумация (салати майонезни, млечни , други комбинирани салати, ордьоври); сандвичи комбинирани охладени за директна консумация	5	2	< 100	< 1000
Напитки безалкохолни газирани и негазирани	5	2	< 0,3	< 1
Хранителни добавки (суплементи)	5	2	< 10	< 100
Ензимни препарати с микробен или животински произход	5	2	< 10	< 100
Комбинирани подобрители за влагане в месни и млечни продукти	5	2	< 10	< 100
Пиво	5	2	< 1	< 10
Стартерни култури за месната, млечната промишлености, винопроизводството и производството на туршии	5	2	< 10	< 100
Дрожди хлебопекарни пресовани	5	2	< 1 000	< 10 000
Дрожди хлебопекарни сухи	5	2	< 100	< 1000

В следната Таблица 9 представяме резултати от наши наблюдения върху някои видове храни за съдържание на *Coliforms* и *Escherichia coli*. Безусловно, за по-широкообхватен поглед върху биогенното замърсяване интегралният показател *Coliforms* е много по-представителен, отколкото *Escherichia coli*. В храните няма толкова категорично становище, че *Escherichia coli* е същинският индикатор на фекално замърсяване, а другите родове, отнасящи се към колиформите, са показател за

«старо» фекално или «външно» замърсяване, както е при контрола на други обекти на външната среда. Ние считаме, че чревни *Enterobacteriaceae*, ферментиращи лактозата и не отнасящи се към рода *Escherichia*, също постоянно и в големи количества се екскретират от чревния тракт на хора и животни. Наред с това *Escherichia coli* има аналогична на тях резистентност и преживяемост в околната среда. Поради това при търсене на фекално и биогенно замърсяване показателят *Coliforms* има по-обхватно индикаторно значение, без да може чрез него да се диференцират обстоятелствата около биогенното – антропогенно или екзогенно замърсяване на храните.

Според Таблица 9 : 4,3 % от сирената, 11,7 % от комбинираните салати, ордьоври и гарнитурни, 6,7 % от готовите ястия и 8,9 % от кулинарните десерти, наблюдавани в това проучване, се намират в диапазона на граничните стойности на нормативите, отразени в Таблица 8, респ. в тези случаи би било необходимо провеждането на коригиращи действия за привеждане в съответствие на хигиената на производството в съответните хранителни обекти. Особено неблагоприятни са данните за храните, преминали през обеззаразяващи технологични процеси, каквито са готовите ястия. Очевидно, цифрите са резултат от вторично контаминиране на продукцията, след основната кулинарна обработка.

В Таблица 10 представяме сравнителни резултати от наблюдения в динамика на три критерия за хигиената, свързани с индикаторното значение на чревните бактерии – *Enterobacteriaceae*, *Coliforms* и *Proteus*, *Providencia*, *Morganella* (последните са лактозо-негативни чревни бактерии, дезаминиращи фенилаланина). Моделният продукт е сладководна риба. Независимо от различните техники на изброяване (титър или CfU/g) , изследванията показват, че най-големите регистрирани количества са по показателя *Enterobacteriaceae*, който обобщава броя на лактозо-положителните и лактозо-отрицателните тестове – в случая *Coliforms* и *Proteus*, *Providencia*, *Morganella*, и най-обобщено и адекватно отразява степента на замърсяване с чревни микроорганизми и динамиката на тяхното развитие. За специални цели – в случая мотивиране на начина на опаковане и сроковете на трайност *Enterobacteriaceae* са най-удобен и обективен показател.

Таблица 9

**ИЗСЛЕДВАНИЯ НА *Escherichia coli* и *Coliforms* РАЗЛИЧНИ
ГОТОВИ ЗА КОНСУМАЦИЯ ХРАНИ**

№	Вид продукти	Показатели	Разпределение на пробите в зависимост от броя на <i>Coliforms</i> и <i>Escherichia coli</i> (MPN/g)									
			< 10		10 – 100 (< 100)		100 – 1000 (< 1000)		> 1000		ОБЩО изследвани проби	
			брой	%	брой	%	брой	%	брой	%	брой	%
1.	Сирена	<i>E.coli</i>	73	100	0	0	0	0	0	0	73	100
		<i>Coliforms</i>	63	91,3	3	4,4	3	4,3	0	0	69	100
2.	Салати, ордьоври, гарнитурни	<i>E.coli</i>	130	96,3	5	3,7	0	0	0	0	135	100
		<i>Coliforms</i>	93	77,5	13	10,8	14	11,7	0	0	120	100
3.	Готови ястия	<i>E.coli</i>	145	96,7	2	1,3	3	2,0	0	0	150	100
		<i>Coliforms</i>	132	88,0	8	5,3	10	6,7	0	0	150	100
4.	Десерти	<i>E.coli</i>	99	98,0	0	0	2	2,0	0	0	101	100
		<i>Coliforms</i>	82	81,2	10	9,9	9	8,9	0	0	101	100

Таблица 10

СРАВНИТЕЛНИ ДАННИ ЗА ДИНАМИКАТА НА ЧРЕВНИТЕ МИКРООРГАНИЗМИ ВЪВ ВАКУУМ-ОПАКОВАНА РИБА

Вид на продукта	Наблюдавани показатели	Опаковани под вакуум						Опаковани без вакуум					
		24 час	48 час	72 час	5 ден	7 ден	10 ден	24 час	48 час	72 час	5 ден	7 ден	10 ден
Шаран (неохладен предварително)	<i>Enterobacteriaceae</i> (log CfU/g)	4,81	6,20	6,56	-	6,73	-	6,23	7,15	6,76	-	7,40	-
	<i>Coliform</i> (log CfU/g)	4,78	5,20	5,43	-	5,30	-	5,0	5,68	5,18	-	5,95	-
	<i>Proteus, Providencia, Morganella</i> (титър)	10 ⁻⁵	10 ⁻⁵	-	-	10 ⁻⁶	-	10 ⁻²	10 ⁻⁵	10 ⁻⁴	-	10 ⁻⁵	10 ⁻¹
Шаран (охладен предварително)	<i>Enterobacteriaceae</i> (log CfU/g)	2,78	2,78	<2,0	3,18	3,11	2,70	2,84	2,84	2,70	2,00	< 2,0	2,00
	<i>Coliform</i> (титър)	10 ⁻¹	10 ⁻¹	10 ⁻¹	> 10 ⁻¹	> 10 ⁻¹	> 10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻¹	10 ⁻¹	> 10 ⁻¹	10 ⁻¹	> 10 ⁻¹
	<i>Proteus, Providencia, Morganella</i> (титър)	10 ⁻¹	> 10 ⁻¹	10 ⁻¹	10 ⁻³	10 ⁻²	> 10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻²	> 10 ⁻¹	> 10 ⁻¹	> 10 ⁻¹	> 10 ⁻¹
Толстолоб	<i>Enterobacteriaceae</i> (титър)	10 ⁻²	10 ⁻⁴	-	10 ⁻¹	10 ⁻¹	10 ⁻³	10 ⁻³	10 ⁻⁴	-	10 ⁻²	10 ⁻¹	10 ⁻²
	<i>Coliform</i> (титър)	10 ⁻¹	> 10 ⁻¹	-	10 ⁻¹	> 10 ⁻¹	10 ⁻¹	10 ⁻²	> 10 ⁻¹	-	> 10 ⁻¹	10 ⁻¹	10 ⁻³
	<i>Proteus, Providencia, Morganella</i> (титър)	10 ⁻²	> 10 ⁻¹	-	> 10 ⁻¹	> 10 ⁻¹	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻²	-	> 10 ⁻¹	> 10 ⁻¹	> 10 ⁻¹
Пъстърва	<i>Enterobacteriaceae</i> (log CfU/g)	2,30	-	4,76	-	-	-	2,90	-	5,04	-	-	-
	<i>Coliform</i> (титър)	> 10 ⁻¹	10 ⁻³	10 ⁻⁴	-	-	-	10 ⁻¹	10 ⁻¹	10 ⁻⁵	-	-	-

Няколко думи за *Proteus*, *Providencia*, *Morganella*. Тези родове грам-отрицателни чревни бактерии са обединени въз основа на способността да дезаминират фенилаланина като водещ диагностичен признак. Те не ферментират лактозата. Характерни са за екосистемите, свързани с богати на белтъчини субстрати. В миналото имаха водеща роля като показател при хигиенната оценка на месото и месните продукти. Очевидно е тяхното сериозно присъствие и в рибата, в случая – сладководната. Доказано е, че продуцират протеолитични ензими и такива, участващи в обмяната на аминокиселините – дезаминази, декарбоксилази, аминотрансферази. Вторични продукти на ензимната им дейност са биогенните амини, с което се свързва натрупването на хистамин и хистамино-подобни вещества в храните. Хистаминът е критерий за безопасност в рибните продукти и според Регламентите ЕО 2073/2005 и 1441/2007 следва да бъде контролиран в тях. Но микроорганизмите – инициатори на това натрупване, и най-вече *Proteus*, *Providencia*, *Morganella*, не са критерий нито за безопасност, нито за хигиена на процесите. Те останаха встрани от вниманието на изследователите и днес почти не се прилагат в практиката на микробиологичния контрол. Това очевидно е свързано и с отсъствието на удобен за текущата практика метод на диагностика. Прилагането на критерия *Enterobacteriaceae* дава възможност в него да бъдат обхванати и тези родове, което е невъзможно, ако прилагаме вместо това критерия *Coliforms*, идентифициращ само лактозо-ферментиращите родове микроорганизми с фекален произход.

АЕРОБНИ СПОРООБРАЗУВАЩИ МИКРООРГАНИЗМИ ОТ РОДА *Bacillus*.

Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *spp.mesentericus

Мотивировката на тяхното нормиране е сложна. Аеробните бацили са екзогенни за човека микроорганизми. Те не присъстват в чревната микрофлора и не са индикатори на фекално замърсяване. Това са почвени бактерии, свързани са и с екосистемите на отглеждане на животните и практически могат да се откриват във всички растителни и животински храни. Спорите им са най-устойчивите микробни форми – те устояват при обичайните термични режими на обработка, включително стерилизация. Това прави аеробните бацили основен представител на остатъчната микрофлора във всички сухи зърнени, растителни и животински храни, в хляба, в готовите ястия, гарнитюри, десерти и пр. Не са гарантирани от тяхното присъствие

сухите детски храни на млечна, зърнена и друга основа. Разпространението им е практически убиквитарно. Единствените микроорганизми, допускани като остатъчна микрофлора в стерилизираните консерви, са мезофилните аеробни представители на рода *Bacillus*. Мощни продуценти на ензими, аеробните бацили са в основата на процесите на развала – те екскретират протеази, амилази, ензими, разграждащи аминокиселините и олигозахарите, и са в основата на микробните асоциации, влияещи върху качеството на храните. Единственият техен облигатно патогенен представител е *Bacillus anthracis*, за щастие рядко откриван причинител на една от най-тежките зооантропонози – антракса. Много широко разпространен е друг техен представител, имащ отношение към човешката чревна патология и условно-патогенен причинител на хранителни заболявания - *Bacillus cereus*.

Един от критериите за хигиена на процесите, нормирани в Регламенти ЕО 2073/2005 и 1441/2007, е *Bacillus cereus*. Засега обаче неговото приложение е доста ограничено – в храните за кърмаческата възраст.

В характеристиката му като критерий за хигиена на процесите на пръв план е потенциалното му епидемично значение. *B.cereus* може да бъде внесен в ястията със зеленчуците, гъбите, кореноплодните и подправките, с брашната, ориза и макароните, по-рядко – с млякото или месото. Спорите, преживели термична обработка, могат да прорастват и да се размножават безпрепятствено в храните при неправилно съхранение – тогава рискът е най-голям. Това са растителни, месо-растителни и месни ястия, супи, сосове, ордьоври, десерти, кремове, варени оризови и грисови изделия, картофени и други комбинирани салати, желирани продукти, закуски, печени плодове, тиква, в които *B.cereus* намира благоприятна почва за размножаване до високи инфекциозни дози от порядъка на $10^5 - 10^6$ cfu/g. Обичайно обстоятелство, при които бихме очаквали размножаване на *Bacillus cereus*, е рехидратирането на сухи храни – сухо мляко, прахообразни полуфабрикати за кремове, пудинги, десерти, мюсли и пр. Престоят на такива рехидратирани храни при стайна температура е изключително рисков фактор – размножаването до инфекциозни дози може да стане много бързо. В комбинирани изделия като торти, ордьоври, сандвичи и пр. носители на *B.cereus* могат да бъдат влаганите ядки, подправки, захарни полуфабрикати, глазури, украси, сметаноподобни кремове на растителна основа, емулсионни продукти, подобрители и пр.

Според нашите препоръки за храни, които не са обекти на Регламентите, *Bacillus cereus* е уместен хигиенен критерий за следните видове храни (Таблица 11) :

Таблица 11

***Bacillus cereus* В БЪЛГАРСКИТЕ НАЦИОНАЛНИ МИКРОБИОЛОГИЧНИ
КРИТЕРИИ**

КАТЕГОРИИ ХРАНИ	План за вземане на проби		Допустими стойности, CfU/g	
	n	c	m	M
Комбинирани храни за директна консумация на зърнена основа. Сухи полуфабрикати и храни на зърнена основа за директна консумация без топлинна обработка (“Мюсли”, зърнени ядки, корн-флейкс, екструдирани зърнени закуски, други, смеси за пюрета, каши, кремове, пудинги, десерти)	5	2	<100	<1000
Закуски хлебни за директна консумация (баници, бюреци, милинки, солени и сладки кифли и кроасани, масленки, бухти, мекици, понички, други, без и с пълнеж)	5	2	<100	<1000
Сметани и сметанови кремове с масла на растителна основа-емулсионни и прахообразни (за чай, кафе, сосове и сладкарски кремове)	5	2	<100	<1000
Емулсионни продукти (майонези, майонезни сосове, дресинги и други)	5	2	<50	<500
Ядкови плодове за директна консумация	5	2	<100	<1000
Плодове, зеленчуци и кореноплодни, сушени пулверизационно, барабанно, чрез екструзия или лиофилизация за директна консумация и кулинарни цели (картофено пюре на прах, пелети, чипс, други)	5	2	<100	<1000
Захари за хранителни цели, захарни изделия	5	2	<100	<1000
Сладкарски изделия	5	2	<100	<1000
Полуготови и готови ястия, кулинарни десерти, комбинирани салати, сандвичи, ордьоври, гарнитури	5	2	<100	<1000
Ензимни препарати	5	2	<10	<100
Комбинирани подобрители за месни и млечни продукти	5	2	<100	<1000
Детски храни на зърнена основа за кърмаческата и ранната детска възраст	5	1	<50	<500
Сухи смеси-полуфабрикати за кърмачета над 6 месеца и деца на плодова, зеленчукова, зърнено-плодова или кореноплодна основа (за пюрета, каши, пудинги, десерти и др.)	5	1	< 10	<100

Друг микроорганизъм от рода *Bacillus*, актуален в хигиената на храните, е *Bacillus subtilis, spp. mesentericus*. Неговото разпространение в храните е наистина безгранично. Всички растителни храни, кореноплодни, зеленчуци, подправки съдържат големи количества *B.mesentericus*. Редовна остатъчна микрофлора е в пастеризираното мляко, сухите млека, яйцата на прах, сушените зеленчуци и подправки, във варивата, макаронените изделия и особено – в брашната и другите млевни продукти.

Можем да го изолираме от всички храни, преминали термична обработка - печене, варене, изсушаване и пр. Присъствието му в развалени готови ястия, супи, сосове, десерти, картофена салата и други храни е почти постоянно. Отделя мощни

амилолитични и протеолитични ензими и се използва като продуцент на ензимни препарати в промишлената микробиология.



B. mesentericus не носи съществен епидемичен риск. По-скоро неговата роля като критерий за хигиената е свързана именно с оценката на условията на съхранение и потенциалния риск от развала на храните или влошаване на тяхното качество. Нормирането на *B. mesentericus* в повечето храни е безполезно – това е представител на нормалната, естествената микрофлора, той идва от екосистемите, неразривно свързани с добива на хранителните суровини. Промислените и кулинарни технологии намаляват неговото количество, но не напълно. При много от храните не се прилагат видове обработка, които съществено да ограничат броя на вегетативните и споровите му форми. Най-специфично е значението на *B. mesentericus* в брашната – в хляба, приготвен от силно заразени партиди брашно, е възможно развитието на т.н. „картофена” болест. Условия за нейната поява има, когато хлябът е недобре изпечен, в средината му има остатъчна влага, температурите са високи – над 20°C. *Bacillus mesentericus*, който има широк температурен оптимум – примерно от 10°C до 45°C, може да се размножи, да отдели ензими и да причини картофена болест. Тя започва от средината – отначало се появява кисел мирис, който постепенно се засилва, примесва се с гнилостен, става много неприятен и отблъскващ. Средината се размеква, посивява, превръща се в разтеглива лепкава маса. Така хлябът става негоден за консумация и компрометира производителя. Мерките, които се вземат в случая, са следните : на първо място се изяснява степента на заразеност на брашната; отчитат се и вероятностите за вторично замърсяване на тестото по време на замесването. При брашна с висока степен на заразеност е необходимо :

- ✓ Хлебните дрожди да бъдат с високо качество и сила;

- ✓ Процесът на втасване да бъде пълноценен, да се постига необходимата киселинност на тестото, което пречи на развитието на бацилите;
- ✓ Изпичането да се проведе правилно със спазване на необходимата температура и време;
- ✓ Хлябът да не се опакова във въздухонепроницаеми опаковки – полиетилен и други;
- ✓ Хлябът да се съхранява в хладни и проветриви помещения;
- ✓ Работните помещения и съоръженията в цеха за производство на хляб да бъдат измивани и дезинфекцирани с последваща обработка с разтвор на оцет или други органични киселини, за да се предотврати инфектирането на последващи партии с *B. mesentericus*.

Има опити за нормиране на *B. mesentericus* в брашната с цел профилактика на картофената болест. Такива опити обаче са обречени на неуспех поради рестрикциите, които биха предизвикали, а присъствието на микроба там е естествено явление, което не подлежи на коригиращи действия. Последните са приложими, както изтъкнахме по-горе, в последващите етапи, т.е. в хлебопекарната практика.

Единствената група продукти, при която посочваме *B. mesentericus* като критерий за хигиената на процесите, това са брашното и различните видове грис. При случаи на отклонения от критерия се препоръчва: „Прилагат се специални технологии за добро втасване, изпичане и съхранение на хляба”.

Двата критерия - *Bacillus cereus* и *Bacillus subtilis, spp. mesentericus*, далеч не изчерпват многообразието на микроорганизмите от рода *Bacillus* в храните. Описани са много видове, които имат аналогично хигиенно значение - *B. brevis*, *B. circulans*, *B. pumilis*, *B. macerans*, *B. sphaericus* и много други. В много случаи степента на заразеност би трябвало да се отчита именно чрез целия род *Bacillus* като интегрален микробиологичен критерий в много натурални и преработени храни – плодове, зеленчуци, кореноплодни, гъби, ядки, подправки, в пчелния мед, млякото, в огромната група на зърнените храни, варивата и т.н. Основните мотиви за това са тяхната устойчивост при технологиите на преработка и мощното влияние на отделяните от тях ензими за качеството на храните. Засега изисквания за отсъствие на рода *Bacillus* се поставят само за стерилизираните консерви – в тях не се допуска присъствието на вегетативни клетки, а нормата за спорови форми е взискателна – до 10 спори в 1 g консервно съдържимо.

Тук трябва да посочим още една интересна група индикатори, прилагани само в производствения контрол на консервите – термофилните представители на рода

Bacillus - *B. stearothermophilus*, *B.coagulans*. Те са актуални в производството на зеленчукови и плодови консерви, в които, заедно с някои анаеробни термофилни клостридии, причиняват безгазови процеси на развала на съдържимото, наричани още „плоскокоисела” ферментация. Присъствието на термофилни аеробни и факултативно анаеробни представители на рода *Bacillus* в консервите не се допуска.

АНАЕРОБНИ МИКРООРГАНИЗМИ В ХРАНИТЕ.

Сулфитредуциращи клостридии. *Clostridium perfringens*

В храните присъстват разнообразни анаеробни микроорганизми, но поради спецификата на растежните изисквания, трудността на диагностичните процедури и сравнително по-рядкото разпространение, тяхното приложение като критерии за хигиената на процесите е ограничено. Независимо от широкото присъствие в организма на животните и птиците, а оттам - и в животинските храни, и доказаната епидемична роля на неспорообразуващи анаероби като рода *Campylobacter*, Регламентите ЕО 2074/2005, 1441/2007 и 365/2010 не ги поставят в листата нито на критериите за безопасност, нито в тази на критериите за хигиена на процесите. Други анаероби са например *Peptostreptococcus asacharolyticus*, описани като причинители на стомашно-чревни инфекции, те са извън вниманието на изследователите не само при текущия контрол на храните, но и при диагностиката на стомашно-чревните разстройства с предполагаем хранителен произход. Най-добре проучен и актуален сред строго анаеробните микроорганизми е родът *Clostridium*, към който принадлежи причинителят на най-тежката хранителна интоксикация – *Clostridium botulinum*. В Регламентите ЕО 2074/2005, 1441/2007 и 365/2010 този патогенен бактерия не е обозначен като критерий за безопасност, вероятно поради обстоятелството, че категории храни, в които има анаеробни условия, отсъстват от листата на храните, обект на Регламентите. Освен това разпространението на микроба е ограничено, той се доказва и проявява много рядко, като правило от домашно консервирани храни. Диагностиката на микроба е скъпа и тежка, изисква висока квалификация и не е достъпна за контролните лаборатории. Извършва се от специализирани лаборатории, ориентирани към микробиологични анализи на особено опасни инфекции.

Други представители на рода *Clostridium* имат много широко разпространение, присъстват в храните, разпространени са в околната среда чрез спорите, които са достатъчно резистентни към нейното въздействие. Повечето от тях са известни като

причинители на газовата гангрена – *C.perfringens*, *C.oedematiens*, *C.septicum*, *C.sporogenes* и др. От тях най-голямо значение в храните има *C.perfringens*. С него се свързват стомашно-чревни инфекциозни заболявания, предавани по хранителен път и протичащи по типа на токсикоинфекциите.

Клостридиите са анаеробни микроорганизми, образуващи устойчиви спори с природен биотоп чревния тракт на човека и много от животните. Попадали в почвата, а оттам – върху растенията, клостридиите могат да попадат в храните с всички растителни и животински суровини. Индикаторното им значение е свързано с фекалния произход, но и с почвено замърсяване. Отчита се и съществената им епидемична роля. Друга страна на индикаторното значение е свързана с биохимичната активност на вегетативните клетки. Попадали в благоприятна, богата на хранителни вещества среда и при отсъствие на достъп на кислород, клостридиите отделят протеолитични и амилитични ензими с висока активност, разграждайки субстратите до нискомолекулни продукти, включително въглероден диоксид, сероводород, индол и пр. газообразни продукти. Общо биохимично свойство на клостридиите е редуцирането на сулфата, което е положено в основата на съвременния бърз и достъпен метод за диагностика и изброяване в агарови среди. Така в практиката на микробиологичния контрол са се наложили два критерия, свързани с анаеробните спорообразуващи клостридии – „сулфитредуциращи клостридии” с по-широко и интегрално хигиенно значение и „*C.perfringens*” – индикатор с обособено място и изяснена епидемична роля при хранителни токсикоинфекции. Първият критерий е по-широко приложим и се прилага при хигиенната оценка на храни с растителен и животински произход, вторият има значение повече за характеристиката на епидемичния риск.

Клостридиите не само носят епидемичен риск за човека, но са и причинители на развала. Както при аеробните бацили, така и в този род бактерии може да се говори за мезофили и термофили. От термофилните значение има *C. thermosacharolyticum* – микроб със захаролитични свойства, причинител на ферментация с газообразуване, даващ бомбаж на консервите при по-високи температури на съхранение. Друг термофилен анаероб – *C. nigrificans*, продуциращ сероводород, причинява зловонна развала с почерняване на съдържимото на консервата. *C. botulinum* предизвиква развала по типа на плоскокиселата ферментация – най-често заразените с него консерви нямат бомбаж и други признаци на развала по типа на белтъчното гниене, не променят консистенцията и мириса на съдържимото и това е най-опасното. Гнилостни промени предизвикват *C. hystolyticum*, *C. sporogenes*, *C. bifermentans*, а захаролитична развала *C.*

butiricum, *C.pasteuratum*, *C. perfringens* и др. Първите са актуални най-вече за месните и рибни консерви, а вторите – за плодовете, гъбните и зеленчуковите, но това е правило с много изключения.

В националната ни нормативна практика се прилагат повсеместно два интегрални показателя, наречени „мезофилни анаеробни микроорганизми” и „термофилни анаеробни микроорганизми”. Тези индикатори се определят в стерилизираните консерви и са преки тестове за консумативната им годност. Откриването на вегетативни или спорови форми на анаероби означава грубо нарушение на промишлената стерилност. Такава продукция не се допуска за човешка консумация поради риска от *Clostridium botulinum*. Чувствителността на методите е висока, изпълнението им не е трудно, което прави диагностиката достъпна за лабораториите на производствения контрол в консервните предприятия. Контролът по тези показатели трябва да бъде постоянен и системен. Той е част от политиката на консервните заводи за недопускане на промишлен ботулизъм и за осигуряване на добро качество на консервната продукция.

В нашите препоръчителни микробиологични критерии за нестерилни продукти като правило се използва критерият „сулфитредуциращи клостридии” (Таблица 12)

Таблица 12

**СУЛФИТРЕДУЦИРАЩИ КЛОСТРИДИИ
В БЪЛГАРСКИТЕ НАЦИОНАЛНИ МИКРОБИОЛОГИЧНИ КРИТЕРИИ**

КАТЕГОРИИ ХРАНИ	План за вземане на проби		Допустими стойности, CfU/g	
	n	c	m	M
Плодове и зеленчуци сурови, измити, почистени, цели или нарязани, за директна консумация, охладени, замразени и сушени	5	2	< 100	< 1000
Плодове, зеленчуци и гъби сушени, охладени и замразени, предназначени за термична преработка	5	2	< 100	< 1000
Плодови и зеленчукови концентрати и пулпове за промишлена преработка, получени по физични методи	5	2	< 10	< 100
Доматени концентрати, асептично опаковани	3	1	< 1	< 10
Ядкови плодове за директна консумация	5	2	< 10	< 100
Плодове, зеленчуци и кореноплодни, сушени пулверизационно, барабанно, чрез екструзия или лиофилизация за директна консумация и кулинарни цели (картофено пюре на прах, пелети, чипс, други)	5	2	< 10	< 100
Сухи супи, бульони и сосове	5	2	< 10	< 100
Шоколад и шоколадови изделия	5	2	< 10	< 100

Мед пчелен и пчелни продукти	5	0	< 1	-
Ястия полуготови - полуфабрикати за термична кулинарна преработка , охладени и замразени зеленчукови , месни, рибни, смесени; полуготови тестени изделия с пълнеж - пици, пелмени, равиоли, лазаня, тортелини	5	2	< 100	< 1000
Ястия готови за директна консумация зеленчукови , месни, рибни, от птиче и друго месо, смесени:тестени изделия с пълнеж (пици, пелмени, равиоли, лазаня, тортелини)	5	2	< 10	< 100
Комбинирани ордьоври и салати, охладени, за директна консумация;(салати майонезни, млечни , други комбинирани салати, ордьоври);сандвичи комбинирани охладени за директна консумация	5	2	< 10	< 100
Червен пипер	5	2	< 100	< 500
Растителни подправки и дроги ; комбинирани подправъчни смеси	5	2	< 10	< 100
Комбинирани подобрители за влагане в месни и млечни продукти	5	2	< 10	< 100
Стартерни култури за месната промишленост	5	2	< 10	< 100
Стартерни култури за производството на туршии	5	2	< 10	< 100
Сухи смеси-полуфабрикати за кърмачета над 6 месеца и деца на плодова, зеленчукова, зърнено-плодова или кореноплодна основа (за пюрета, каши, пудинги, десерти и др.)	5	0	< 10	-

Всъщност тук акцентите са върху растителните продукти и готовите ястия като носители на спорообразуващи анаероби с произтичащия от тях първичен или вторичен риск, т.е. контаминиране на производни продукти. Доброволното приложение на критерия „сулфитредуциращи кластридии” в практиката на вътрешния контрол ще даде още фактически материал за неговата целесъобразност и индикаторно значение при различни групи храни.

Обръщаме внимание върху пчелния мед, който може да бъде носител не само на аеробни бацили, но и на сулфитредуциращи кластридии като почвени замърсители. Напомняме, че има описани ботулинови заболявания при деца в кърмаческата възраст, на които е даван биберон, потопен в пчелен мед, съдържащ *C.botulinum*, с развиващо се в последствие токсинообразуване в анаеробните условия на чревния тракт.

Друг акцент днес е отпадането на контрола на сулфитредуциращите кластридии и *C.perfringens* от листата на критериите за месни продукти. Това се получи след влизането в сила на Регламентите ЕО 2073/2005 и 1441/2007, в които не се съдържат критерии, свързани с анаеробните кластридии. Считаме, че за месни изделия като саздърми, кървавици, други изделия от раздробено и нераздробено месо, където са възможни анаеробни условия и първично заразяване на суровината със спори и вегетативни форми на кластридии, този проблем може да възникне. Същите въпроси

възникват и при рибата и рибните продукти, където клостридиите са нормална чревна микрофлора, но и сериозен замърсител с произтичащия от това микробиологичен риск.

МЛЕЧНОКИСЕЛИ МИКРООРГАНИЗМИ.

Lactobacillus, Lactococcus, Leuconostoc mesenteroides

Млечнокиселите микроорганизми – лактобацили, лактококи, са предмет на особено внимание в съвременната наука във връзка с широкото им промишлено приложение в състава на стартерните култури за млечни, месни продукти, туршии, напитки и др. Друга особено интересна област са проучванията върху полезните им качества и пробиотичните ефекти, което даде импулс за задълбочени познания по тяхната физиология, биохимия, генетика и пр. страни на биологията. Естествено, проучванията са върху видовете с предполагаем пробиотичен потенциал, докато други видове, изолирани от природни източници, са по-малко познати. Ще цитираме някои видове лактобацили с най-голямо значение – *L. delbrueckii* subsp.*bulgaricus*, *L.acidophilus*, *L.fermentum*, *L. plantarum*, *L.rhamnosus*, *L. casei*, *L. paracasei*, *L.brevis*, *L.gasseri*, *L. jhonsoni*, *L.helveticus*, *L.sake*. Сред млечнокиселите стрептококи (лактококи) най-широко разпространение имат *S.thermophilus*, *S.lactis*, *S.diacetylactis*, *S.cremoris*, *Leuconostoc mesenteroides* и т.н.

Природният биотоп на млечнокиселите бактерии е очевидно естествената екосистема, представляваща комбинация от растителност и фауна, сред която тревопасните животни заемат сериозно място. И днес изследователите търсят природни щамове от различни екологично чисти полупланински и планински местности, с основна цел изолиране на щамове с природно генетично детерминирани биохимични свойства, подходящи за оригинални стартерни култури или пробиотични продукти.

Млечнокиселите микроорганизми могат да бъдат убиквитарни. Някои от тях са част от нормалната чревна микрофлора на човека, преживните и други животни, в тяхното виме. Намират се във всички ферментиращи природни източници като окапали плодове, в началната фаза на производството на вино, в джибрите. Могат да бъдат изолирани от треви, храсти, от козината на домашните животни. Безусловно са главна микрофлора в киселото зеле и домашните туршии. В селски условия те спонтанно попадат в издоеното мляко и в домашното сирене, довеждайки зреенето му до желаня вкус и стабилно качество.

Най-важните биохимични свойства на млечнокиселите бактерии са свързани с разграждането на дизахаридите (лактоза, захароза, малтоза) и монозахаридите (глюкоза, галактоза, фруктоза) до органични киселини (мравчена, млечна, оцетна, пропионова и др.), алкохол, ацетоини и други промеждутъчни и крайни продукти на обмяната на въглехидратите. Тази хетерогенна ферментация може да бъде много бърза и да предизвиква развала на храните. Поради това в отделни случаи в практиката на микробиологичния контрол на храните се налага и изследването на млечнокиселата микрофлора. По същество интегралният индикаторен тест обхваща като правило рода *Lactobacillus*, без да има потребност от диференциране на видовете лактобацили, защото това няма значение за хигиенната характеристика.

Млечнокиселите микроорганизми не се свързват с епидемичен риск. Тяхното хигиенно значение се използва за характеризирание на продукти, съдържащи олигозахари, които крият риск от развала. Това е удобен критерий за хигиената на процесите на съхранение. Приложението му намира място при проследяването на динамиката на естествената микрофлора и лимитиране на трайността за плодови сокове и концентрати, домати продукти, зеленчукови консерви, преминали пред по-ниска стерилизация или пастьоризирани.

В миналото в практиката на производството на безалкохолни напитки съществуваше риск от тяхната развала под въздействието на *Leuconostoc mesenteroides*, отнасящ се също към млечнокиселите бактерии и чест контаминант в захарта. Днес този риск все повече отпада поради същественото изменение в рецептурите на напитките, масовото приложение на синтетични подсладители и консерванти, по-високата хигиена на производствата.

ПЛЕСЕНИ И ДРОЖДИ

Огромна група микроскопични гъбички, убиквитарно разпространени в околната среда и храните, изключително активни в биохимично отношение. Не се свързват с обичайната за повечето бактерии локализация в чревния тракт на човека и животните, респ. нямат фекално-индикаторно значение, но са свидетелство за биогенно замърсяване от обекти на околната среда, съдържащи органична материя. Много от микроскопичните плесени продуцират микотоксини, което представлява сериозен проблем в хигиената на храните, но не е обект на настоящето изложение. Не включваме в изложението и подробности от таксономията, номенклатурата, културалните,

биохимични, морфологични подробности поради ограничения обем на настоящия труд. Отбелязваме най-важните практически въпроси, свързани с приложението на плесените и дрождите като критерий за хигиената на процесите.

Много устойчиви към физичните параметри на околната среда и в храните, плесените и дрождите са най-честите замърсители, предизвикващи дефекти и развала. Те са осмотолерантни, издържат при много ниска водна активност, растат при широки диапазони на киселинността, при широки температурни граници, могат да бъдат психротрофни или термофилни.

Плесените са мощни продуценти на разнообразни екзоензими и са най-важните промишлени микроорганизми, използвани за производството на протеази, амилази и други ензимни препарати, предназначени и за хранителната, и за други видове промишлености. Има благородни щамове плесени, напр. *Penicillium camemberti*, *Penicillium roquefortii*, които са в основата на производството на деликатесни сирена и сурово-сушени колбаси. Дрождите са в основата на древните биотехнологични процеси като втасването на хляба, производството на вина, бира, други алкохолни напитки.

Хлябът, други зърнени и тестени изделия, маслата и емулсионните продукти, млечните, месните продукти, яйцата, плодовете, зеленчуците и продуктите от тях – всички основни храни са уязвими в присъствието на плесени и дрожди и в тях се налага системен производствен контрол. Едновременно с това Регламенти ЕО 2073/2005, 1441/2007 и 365/2010 напълно игнорират тези индикаторни микроорганизми, независимо от широкото им разпространение и дефектите, които предизвикват и в производството, и в готовите храни, изнесени на пазара.

Подходът към нормирането на плесените и дрождите в храните трябва да бъде много внимателен. В продукти с произход от екосистемите, в които има естествено голямо съдържание на плесени и дрожди, създаването на норми често е рестрикция, влизаща в противоречие с естествените природни закони. Такива примери могат да бъдат приведени по отношение на зърнените храни, брашната, хляба. В хляба например е достатъчно да се ограничи видимото плесеняване, но не и количеството на плесените, определено по посевни методи. В преработени храни, обаче, плесените и дрождите имат технологично-индикаторно значение и трябва да бъдат ограничавани с оглед предотвратяването на плесеняването и развалата. Тяхната термична устойчивост, например, е близка до тази на неспорообразуващите бактерии. В растителните подправки и дроги микроскопичните гъбички за сериозни замърсители, често източник на масивно контаминиране на производните продукти, ето защо и в

нашите национални препоръки, и в много чужди национални норми те се ограничават, за да се постави и хигиената на техния добив, и подборът до разумни, естествени за екосистемите граници.

В таблица 13 и 14 представяме препоръчителните ограничения за съдържанието на плесени и дрожди в храните, за които няма критерии в Регламентите ЕО.

Таблица 13

ПЛЕСЕНИ
В БЪЛГАРСКИТЕ НАЦИОНАЛНИ МИКРОБИОЛОГИЧНИ КРИТЕРИИ

КАТЕГОРИИ ХРАНИ	План за вземане на проби		Допустими стойности, CfU/g	
	n	c	m	M
Хляб	Видими плесени – не се допускат			
Сухи полуфабрикати и комбинирани храни на зърнена основа за директна консумация без топлинна обработка (смеси за пюрета, каши, кремове, пудинги, десерти, “Мюсли”, зърнени ядки, корн-флейкс, екструдирани зърнени закуски, други)	5	2	1,0.10 ³	1,0.10 ⁴
Маргарини за директна консумация	5	2	< 200	< 500
Сметани и сметанови кремове с масла на растителна основа-емулсионни и прахообразни (за чай, кафе, сосове и сладкарски кремове)	5	2	< 200	< 500
Емулсионни продукти	5	2	< 200	< 500
Плодови и зеленчукови концентрати и пулпове за промишлена преработка, получени по физични методи	5	2	< 10	< 100
Доматени концентрати, асептично опаковани – плесени по Ховард, % положителни полета	3	0	< 50	-
Стерилизирани плодови и зеленчукови консерви, стерилизирани сокове и нектари	3	0	< 10	-
Ядкови плодове за директна консумация	5	2	1000	10000
Конфитюри, джемове и мармелади пастъризиранни в асептични опаковки, сладка	3	0	< 10	-
Плодове, зеленчуци и кореноплодни, сушени пулверизационно, барабанно, чрез екструзия или лиофилизация за директна консумация и кулинарни цели (картофено пюре на прах, пелети, чипс, други)	5	2	500	5 000
Солени и солено-мариновани плодове, зеленчуци и гъби (туршии)	Видими плесени – не се допускат			
Сухи супи, бульони и сосове	5	2	500	10 000
Захар, захарни изделия, бонбони нешоколадови	5	2	100	500
Сухи сладкарски изделия	5	2	100	500
Нетрайни сладкарски изделия	Видими плесени – не се допускат			
Какао, какаова маса, шоколад, шоколадови изделия	5	2	100	1000
Ястия полуготови, десерти кулинарни	Видими плесени – не се допускат			

Ястия готови	5	2	< 100	< 500
Комбинирани салати, ордьоври, гарнитури, сандвичи	Видими плесени – не се допускат			
Кафе печено, кафе екстракт, чай разтворим	5	2	< 100	< 500
Чай (черен, зелен, жълт, червен)	5	2	< 1,0.10 ⁴	< 1,0.10 ⁵
Червен пипер	5	2	1,0.10 ⁵	5,0.10 ⁵
Сушени листни и други подправки, дроги	5	2	1,0.10 ⁴	5,0.10 ⁴
Концентрати за безалкохолни напитки	5	2	< 10	< 100
Напитки безалкохолни	5	2	< 5	< 10
Боза	5	2	< 10	< 100
Хранителни добавки	5	2	< 100	< 500
Ензимни препарати	5	2	< 10	< 50
Комбинирани подобрители за влагане в месни и млечни продукти	5	2	< 100	< 500
Комбинирани подобрители за хлебопекарната промишленост	5	2	< 1,0.10 ³	< 5,0.10 ³
Пиво	5	2	< 10	< 100
Стартерни култури	5	2	< 10	< 100
Дрожди хлебопекарни	5	2	< 100	< 1000
Млека сухи за кърмачета и сухи диетични храни за специални медицински цели за кърмачета над 6 месеца	5	2	<100	<200
Комбинирани детски храни на зърнена основа за директна консумация за кърмачета до 6 месеца и над 6 месеца	5	2	<100	<200
Суши смеси-полуфабрикати за кърмачета над 6 месеца и деца на плодова, зеленчукова, зърнено-плодова или кореноплодна основа (за пюре, каша, пудинги, десерти и др.)	5	2	<100	<200

Таблица 14

ДРОЖДИ
В БЪЛГАРСКИТЕ НАЦИОНАЛНИ МИКРОБИОЛОГИЧНИ КРИТЕРИИ

КАТЕГОРИИ ХРАНИ	План за вземане на проби		Допустими стойности, CfU/g	
	n	c	m	M
Маргарини за директна консумация	5	2	< 200	< 500
Сметани и сметанови кремове с масла на растителна основа-емулсионни и прахообразни (за чай, кафе, сосове и сладкарски кремове)	5	2	< 200	< 500

Емулсионни продукти	5	2	< 200	< 500
Плодови и зеленчукови концентрати и пулпове за промишлена преработка, получени по физични методи	5	2	< 10	< 100
Стерилизирани плодови и зеленчукови консерви, стерилизирани сокове и нектари	3	0	< 10	-
Конфитюри, джемове и мармелади пастъоризирани в асептични опаковки, сладка	3	0	< 10	-
Сухи супи, бульони и сосове	5	2	500	10 000
Захарни изделия, бонбони нешоколадови	5	2	100	500
Сухи сладкарски изделия	5	2	100	500
Какао, какаова маса, шоколад, шоколадови изделия	5	2	100	1000
Ястия готови	5	2	< 100	< 500
Червен пипер	5	2	$1,0 \cdot 10^5$	$5,0 \cdot 10^5$
Сушени листни и други подправки, дроги	5	2	$1,0 \cdot 10^4$	$1,0 \cdot 10^5$
Концентрати за безалкохолни напитки	5	2	< 10	< 100
Напитки безалкохолни	5	2	< 5	< 10
Хранителни добавки	5	2	< 100	< 500
Ензимни препарати	5	2	< 10	< 50
Комбинирани подобрители за влагане в месни и млечни продукти	5	2	< 100	< 500
Комбинирани подобрители за хлебопекарната промишленост	5	2	< $1,0 \cdot 10^3$	< $5,0 \cdot 10^3$
Стартерни култури	5	2	< 10	< 100
Комбинирани детски храни на зърнена основа за директна консумация за кърмачета до 6 месеца и над 6 месеца	5	2	< 100	< 200
Сухи смеси-полуфабрикати за кърмачета над 6 месеца и деца на плодова, зеленчукова, зърнено-плодова или кореноплодна основа (за пюрета, каши, пудинги, десерти и др.)	5	2	< 100	< 200

В тези масиви от препоръчителни критерии и норми отсъстват обаче изисквания към плесените и дрождите за животинските храни – месни, млечни, яйчни, рибни, поради изтъкнати вече причини – Европейските Регламенти не третират тази материя.

Плесените и дрождите са особено важни при определянето на сроковете на трайност. Тези срокове нерядко съвпадат с тяхното генерационно време, което се оказва лимитиращ фактор. Ограничаването на попадането им в готовата продукция е от решаващо значение за трайността. С елиминиранието на вторичното пост-

пастъоризационно контаминиране на киселото мляко с дрожди и плесени у нас срокът на трайност на продукта нарасна от 3 на 20 – 30 дни.

Неизбежното присъствие на плесени и дрожди в някои храни пороци потребността от по-интензивно приложение на консерванти, ефективни спрямо микроскопичните гъбички. Така сроковете на трайност на комбинирани салати, например – „Руска”, „Снежанка” и пр. се удължиха до 10 и повече дни.

Приложението на критерия при експериментално определяне на трайността е удобно и сигнификантно отразява евентуалните микробиологични в съпоставка с органолептичните и физико-химични промени в храните като важен фактор, лимитиращ срока на съхранение.

В ЗАКЛЮЧЕНИЕ :

Новата философия на вътрешния производствен контрол трябва да бъде разбрана от контролните органи, да ограничи налагането на неоправдани наказателни мерки или вземането на неправилни управленчески решения, да подпомогне навременното прилагане на адекватни коригиращи мерки.

Тази философия трябва добре да бъде разбрана и от бизнес-операторите, които в старанието си да прилагат Регламентите допускат груби методологични грешки:

- ✚ използват критериите за безопасност за решаване на чисто производствени проблеми като ефективност на технологиите, срокове на трайност и др.
- ✚ поставят изисквания към готовите си продукти, ползвайки критериите за хигиена на процесите,

с което сами ограничават възможностите си за навременни и оперативни корективни процедури, обричайки продукцията си на неоправдано изземване от пазара и икономически загуби при най-малки отклонения от тези критерии.

Другата слаба страна на дейността на бизнес-операторите е непрофесионалното извършване на производствения контрол вътре в рамките на технологичната верига, а по-точно – неумението да ползват по същество богатия арсенал от микробиологичен инструментариум за адекватно и навременно проследяване на ефективността на технологичните и хигиенни действия. А това е същността на превантивния контрол върху безопасността на храните.

Смисълът на критериите за хигиена на процесите е приложението им при проследяване на суровините, на производствената верига, отчасти на транспорта,

отчасти на съхранението. Когато продуктът вече е на пазара, изследванията на критериите за хигиена на процесите са безсмислени. Резултатите няма да имат действителната сила за извършване на необходимите корекции. Може да се приложи единствено крайната мярка – изтегляне на продукцията от пазара и нейното унищожаване. Но това е скъпо и не винаги оправдано от гледна точка на степента на риск.

В Технологичните документации и други стандарти за производство на храни мястото на индикаторните микроорганизми не е в раздела за качествена характеристика на продукта, а в раздела “Производствен контрол”. Именно в този раздел трябва да бъдат включени критериите и нормативите към тях, които да подлежат на периодичен анализ, контрол и интерпретация на данните за ефекта на технологичните и хигиенни действия за обезвреждане на нежеланата микрофлора. На практика микробиологичните критерии за хигиена на процесите не са част от качествените и здравни показатели на Технологичните документации, а служат изключително само на вътрешния производствен контрол.

В началото поставихме три ключови въпроса :

- ✚ Кои са микробиологичните критерии (индикаторни показатели), най-подходящи за адекватна оценка на хигиената на конкретното производство?
- ✚ Къде, в кой момент на хранителната верига да изследваме индикаторните микроорганизми, т.е. критериите за хигиена на процесите ?
- ✚ Трябва ли да бракуваме, унищожаваме или преработваме продукцията, когато намерим отклонения от индикаторните критерии ?

Отговорът на първия въпрос (за адекватните критерии) е сложен и изисква висок професионализъм. Критерии могат да бъдат официално представените в Регламентите или в Методичното указание, но и други специфични индикаторни микроорганизми, характерни за конкретния продукт в конкретните условия на неговото производство. Непрофесионалната намеса в този процес е изключително неблагоприятна. Още по-неблагоприятно е поставянето на критерии за хигиената на процесите на мястото на критериите за безопасност.

Отговорът на втория въпрос : “Къде, в кой момент на хранителната верига да изследваме индикаторните микроорганизми, т.е. критериите за хигиена на процесите” е следният :

Мястото на приложение на критериите за хигиена на процесите, т.е. на индикаторните микроорганизми, е производственото предприятие, когато храните не са предоставени на потребителя за директна или индиректна консумация. Могат да бъдат изследвани :

- ✚ суровините,
- ✚ спомагателните материали,
- ✚ полупродуктите след първи етап на обработката,
- ✚ полупродуктите след най-важния етап на обработката (например термичната обработка);
- ✚ производствената среда и оборудването;
- ✚ готовата продукция преди пакуване;
- ✚ продукцията преди изнасянето ѝ на пазара
- ✚ и т.н. – в зависимост от конкретните особености

Трябва да бъде изследвано това, което е най-важно за микрофлората на конкретния готов продукт. Тук стандарти няма, изискват се конкретни решения за конкретни производства.

Отговорът на третия въпрос също е много труден :

Какво да правим, когато установим отклонения от установените норми за индикаторните микроорганизми ? Трябва ли да бракуваме, да изхвърляме продукцията, това задължително ли е ? :

Регламенти 2073/2005 ; 1441/2007; 365/2010 са категорични : извършват се коригиращи действия :

- ✚ контрол на суровините
- ✚ подобрене на хигиената
- ✚ преглед на контролните мерки,
- ✚ преглед на управлението на процесите,
- ✚ преглед на качеството на процесите,
- ✚ преглед на личната хигиена
- ✚ преглед на производствената дисциплина,
- ✚ мерки за биосигурност,
- ✚ специфични мерки.....

Отклоненията от установените норми рядко изискват бракуване или унищожаване на продукцията. Това е много скъпо за производителя и се прилага в краен случай. Индикаторните микроорганизми рядко могат да носят директен риск.

Този риск най-често е пренебрежим, но ситуацията изисква оздравяване на процесите на производството.

Например, при отклонение от изискванията за *Enterobacteriaceae* към пастьоризирани течни млечни продукти Регламент 365/2010 препоръчва : “Проверка на ефективността на топлинната обработка и предотвратяване на повторно замърсяване, както и на качеството на суровините “

Колкото и съвършен да бъде един нормативен документ, той не може да обхване цялото многообразие от храни, технологии, производствени условия, екологична характеристика, човешкия фактор, да даде указания за всеки конкретен случай.

Коригиращите действия означават не изхвърляне на продукцията, а :

- ✚ пестеливо, но адекватно поставяне на контрола на индикаторните микроорганизми в схемата на вътрешния производствен контрол на всяко производство на храни,
- ✚ периодичното им изследване,
- ✚ анализ и оценка на данните,
- ✚ оперативни и дългосрочни решения на корективните действия,
- ✚ формиране на цялата фирмена политика в областта на хигиената в контекста на опазване микробиологичната чистота на процесите и продукцията.

Подценяването на тези проблеми може да доведе до много тежки последствия :

- ✚ епидемични ситуации,
- ✚ компрометиране на качеството,
- ✚ икономически загуби

Чрез приложението на индикаторните критерии се постига основната цел – превантивни действия за опазване безопасността и качеството на храните в пълен синхрон с философията на Регламенти 2073/2005, 1441/2007 и 365/2010.

ЛИТЕРАТУРА :

1. *AFSSA Recommendations por l'elaboration de criteres microbiologiques d'hugiene des processés, 2008, Republique Francaise.*
2. *Arie H.Halevaar, Edic G.Evers, Maarten J.Hauta.* Challenges of quantative microbial risk assessment at EU level. Trends in Food Science & Thechnology 19 (2008) S26-S33
3. **Bacteria Associated with Foodborn Diseases – Scientific Status Summary.** Institut Food Technologists, USA, august 2004
4. *Critères microbiologiques applicables a partir de 2010 aux marques de distributeurs, marques premières prix et matières premières dans leur coditionnement initial industriel. Fédération de entreprises du commerce et de la distribution, Paris, FCD 31.10.2009.*
5. **CAC/GL 21-1997. Principles for the establishment and application of microbial criteria for foods.**
6. **CAC/GL 61 – 2007 Guidelines on the application of general principles of food hygiene to the control of Listeria monocytogenes in foods.**
7. **CE.** Direction D-Sécurité alimentaire : chaines de production et de distribution, D2 – Risques biologiques **Dégré d'harmonisation des critères microbiologiques, maintien de critères nationaux.** Bruxelles, D(2005) ACR/eg/420953, 12.10.2005
8. **COMMISSION REGULATION (EC) No 2073/2005 of 15 November 2005 on microbiological criteria for foodstuffs;** Official Journal of the European Union ;22.12.2005; L 338/1 - L 338/26
9. **COMMISSION REGULATION (EC) No 1441/2007 of 5 December 2007 amending Regulation (EC) No 2073/2005 on microbiological criteria for foodstuffs;** Official Journal of the European Union; 12.2007;L 322/12 - L 322/29
10. **EFSA Special measures to reduce the risk for consumers through Salmonella in table eggs SCIENTIFIC OPINION** The EFSA Journal (2009) 957, 1-29
11. **EFSA. The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents, Antimicrobial resistance and Foodborne outbreaks in the European Union in 2005,** The EFSA Journal 2006-94, 3-288
12. **EFSA. The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents, Antimicrobial resistance and Foodborne outbreaks in the European Union in 2006,** The EFSA Journal 2007-130, 3-352
13. **Enikova R. Bulgarian national microbiological limits for foods cn.** Advances in Bulgarien Science, 4, 2006, p. 34-41
14. **European Spice Association. (ESA) Quality Minima Document.** Adopted at the Business and Technical Meeting, Bonn, 19 november 2004
15. **European Comission Directorate B - Scientific Health Opinions Unit B3 - Management of scientific committees II. Opinion of the scientific committee on veterinary measures relating to public health on Listeria monocytogenes, 1999**
16. **En evaluation of the role of microbiological criteria for foods and food ingredients.** Subcommittee on microbiological criteria for foods and food ingredients, 1985, Washington, Nat.Acad.Press.
17. **Extended Shelf Life Refrigerated Foods : Microbiological Quality and Safety.** A publication of the Institute of Food Technologist expert panel on Food Safety and Nutrition. Food Technology, Vol.52, № 2, Feb.1998, p. 57-62
18. **European Herbal Infusions Association (EHIA) Microbiological Status of Intreated Herbal Materials** Microbiological Working Group of the European Herbal Infusions Association (EHIA),Hamburg, 2006.
19. **FAO/WHO Microbiological Specifications for Foods.** Report of the Second Joint FAO/WHO Expert Consultation held in Geneve, 21 February-2 March 1977
20. **FAO/WHO Food safety risk analysis. A guide for national food safety authorities.** Food and Nutrition Paper., Rome, 2006
21. **On strategy for setting microbiological criteria for foodstuffs in Commity legislation** European Commission Health & Consumer protection. D-Food Safety, D2 – Biolgical risks.(Discussion paper), Brussels.8.3.2005
22. **Principles and guidelines for incorporating microbiological risk assessment in the development of food safety standards, guidelines and related texts.** Report FAO/WHO Consultation, Kiel, Germany, 18-22 March 2002.
23. **WHO/FAO. Risk assesement of Listeria monocytogenes in ready-to-eat foods, 2004, Interpretative Summary.** Geneve
24. **WHO/FAO Enterobacter sakazakii in powdered follow-up formulae, 2004, Microbiological risk assessment series 6 Meeting report**
25. **WHO/FAO Safe preparation, storage and handling of powdered infant formula. Guideling.** Rome, 2007

26. *WHO/FAO Enterobacter sakazakii (Cronobacter spp.) in powdered follow-up formula*, 2008, *Microbiological risk assessment series 15 Meeting report*
27. *WHO/FAO Risk assessments of Salmonella in eggs and broiler chickens*, 2002, *Interpretative summary. Microbiological risk assessment series 1*
28. *WHO/FAO Hazard Characterization for Pathogens in Food and Water. Guidelines*, 2003. *Microbiological risk assessment series 3*
29. *WHO/FAO Exposure assessment microbiological hazards in foods. Guideling*. 2008. *Microbiological risk assessment series 7, Rome*,
30. *WHO/FAO Risk assessments of Listeria monocytogenes in ready-to-eat foods*, 2004, *Microbiological risk assessment series 4*
31. *WHO/FAO Enterobacter sakazakii and Salmonella in powdered infant formula*, 2007, *Microbiological risk assessment series 10 Meeting report*
32. **Еникова Р.** Микробиологични рискове и контрол на преработени плодове и зеленчуци. В „Наръчник за управление на безопасността на храните при преработката на плодове и зеленчуци”, 2007, С., Съюз на преработвателите на плодове и зеленчуци, Изд. Къща „ХВП”, с. 35-69
33. **Еникова Р.** МЕТОДИЧНО УКАЗАНИЕ за националните микробиологични критерии за хранителни продукти, които не са обект на Регламент ЕС 2073/2005 и Регламент ЕС 1441/2007. С., НЦООЗ, 2009, www.foodsafety.bg/images/files_1/all.pdf
34. **Еникова Р.** Български национални критерии за микробиологична безопасност на храните. Български национален фокален център на EFSA, София, 2009 г., <http://focalpoint.foodsafety.bg/>
35. **Еникова Р.** Микробиологични процеси и безопасност на българското бяло саламурено сирене. Български национален фокален център на EFSA, София, 2010 г., <http://focalpoint.foodsafety.bg/>
36. **Еникова Р.** Определяне срока на трайност на храните (монография). 2010, София, Minerva, с.127; ISBN 978-954-8702-19-5.
37. **Херсум А.С., Е.Д.Халланд.** Консервированные пищевые продукты. Термическая стерилизация и микробиология. М., „Легкая и пищевая промышленность”, 1983, 319 с.