

Challenge-testide kasutamine toidu mikrobioloogias

Julia Koskar

Eesti Maaülikool, veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut,
toiduhügieeni ja rahvatervise õppetool

Veterinaar- ja Toidulaboratoorium, toidumikrobioloogia osakond



Eesti Maaülikool
Estonian University of Life Sciences

www.emu.ee

Toote säilimisaeg

- “Parim enne” - toidukauba minimaalne säilimisaeg. Selline tähistus viitab eelkõige toidu kvaliteedile (toidukaup võib kaotada oma lõhna- ja maitseomadusi, muutuda tekstuurilt või konsistentsilt ja väheneda võib toote vitamiinide sisaldus). Nii on tähistatud näiteks leib, sai, küpsised, maiustused, maitseained, jahu, karastusjoogid ja konservtooted.
- “Kõlblik kuni” - realiseerimise ja tarbimise lõpptähtaeg. Selline märgistus on kiiresti rikneval toidukaubal (liha, kala- ja piimatooted, salatid), mis oma koostise tõttu on soodne keskkond rikkumist põhjustavate mikroorganismide kasvuks ja paljunemiseks.



Eesti Maaülikool
Estonian University of Life Sciences

www.emu.ee

Euroopa Parlamendi ja nõukogu määrus (EÜ) nr 178/2002

- Sätestatakse toidualaste õigusnormide üldised põhimõtted ja nõuded, asutatakse Euroopa Toiduohutusamet ja kehtestatakse toidu ohutusega seotud menetlused.

Artikkel 14

Toiduohutusnõuded

1. Toitu ei tohi turule viia, kui see ei ole ohutu.
2. Ohutuks ei saa pidada toitu, mis on
 - a) tervisele kahjulik;
 - b) inimtoiduks kõlbmatu.

<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/ET/TXT/PDF/?uri=CELEX:32002R0178&from=EN>



Eesti Maaülikool
Estonian University of Life Sciences

www.emu.ee

Komisjoni Määrus (EÜ) nr 2073/2005

Toiduainete mikrobioloogiliste kriteeriumide kohta. Lisa 1

Toiduliik	Mikroorganismid/nende toksiinid, metaboliidid
1.1 Imikute valmistoit ja valmistoit meditsiiniliseks eriotstarbeks (*)	<i>Listeriamonocytogenes</i>
1.2 Muud valmistoidud kui imikutele ja meditsiiniliseks eriotstarbeks ettenähtud valmistoidud, milles võib paljuneda <i>L. monocytogenes</i>	<i>Listeriamonocytogenes</i>
1.3 Muud valmistoidud kui imikutele ja meditsiiniliseks eriotstarbeks ettenähtud valmistoidud, milles ei paljune <i>L. monocytogenes</i> (*), (°)	<i>Listeriamonocytogenes</i>

- Söömiseks valmis (*ready-to-eat*, RTE) tooted võivad kergesti saastuda *L. monocytogenes*' ga.
- RTE tooted võivad olla *L. monocytogenes*' e kasvu toetavad.
- RTE tooteid süüakse ilma kuumtöötlemata või mõnel muul efektiivsel patogeeni hävitaval moel töötlemata.

<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/ET/TXT/PDF/?uri=CELEX:32005R2073&from=EN>



Eesti Maaülikool
Estonian University of Life Sciences

www.emu.ee

Toiduohutuskriteeriumid

Toiduliik	Mikroorganismid/nende toksiinid, metaboolid	Proovi võtukava (°)		Piirmäär (°)		Analiitiline standardmeetod (°)	Kriteeriumi kohaldamise et
		n	C	m	M		
1.1 Imikute valmistoit ja valmistoit meditsiiniliseks eriotstarbeks (°)	<i>Listeriamonocytogenes</i>	10	0	Puudub 25 g-s		EN/ISO 11290-1	Kõlblikkusajal turule viidud to
1.2 Muud valmistoidud kui imikutele ja meditsiiniliseks eriotstarbeks ettenähtud valmistoidud, milles võib paljuned <i>L. monocytogenes</i>	<i>Listeriamonocytogenes</i>	5	0	100 cfu/g (°)		EN/ISO 11290-2 (°)	Kõlblikkusajal turule viidud to
		5	0	Puudub 25 g-s (°)		EN/ISO 11290-1	Enne, kui toit on viidud sell tootnud toidukäitleja vahetu l rolli alt välja
1.3 Muud valmistoidud kui imikutele ja meditsiiniliseks eriotstarbeks ettenähtud valmistoidud, milles ei paljune <i>L. monocytogenes</i> (°), (°)	<i>Listeriamonocytogenes</i>					/ISO 11290-2 (°)	Kõlblikkusajal turule viidud to

Tooted, mille pH on $\leq 4,4$ või a_w on $\leq 0,92$.
Tooted, mille pH on $\leq 5,0$ ja a_w on $\leq 0,94$.
Tooted säilimisajaga vähem kui 5 päeva.

<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/ET/TXT/PDF/?uri=CELEX:32005R2073&from=EN>

Kontrolli tulemuste tõlgendamine

Tulemused näitavad kontrollitud partii mikrobioloogilist kvaliteeti.

L. monocytogenes'e esinemine valmistoitides, kus võib areneda *L. monocytogenes* enne, kui toiduaine on viidud toidukäitleja vahetu kontrolli alt välja, juhul kui toidukäitleja ei suuda pädevale asutusele piisavalt tõendada, et toode ei ületa kõlblikkusaja jooksul 100 cfu/g piirmäära, on:

- rahuldav, kui kõik mõõdetud väärtused näitavad bakteri puudumist,
- mitterahuldav, kui bakter on avastatud ükskõik millises prooviühikus.

L. monocytogenes'e esinemine teistes valmistoitides:

- rahuldav, kui kõik mõõdetud väärtused on piirmäärast väiksemad või sellega võrdsed,
- mitterahuldav, kui ükskõik milline väärtus on piirmäärast suurem.

Miks just *Listeria monocytogenes*?

PROOV	Positiivseid proove/proovide üldarv (% positiivseid)					
	2012	2013	2014	2015	2016	Kokku
Lihatooted	23/1871 (1,2)	15/1781 (0,8)	18/1885 (1,0)	2/1288 (0,2)	17/1509 (1,1)	75/8334 (0,9%)
Kalatooted	54/701 (7,7)	389/1742 (22,3)	286/2086 (13,7)	76/1738 (4,4)	80/1385 (5,8)	885/7652 (11,6%)
Piimatooted	2/1335 (0,2)	16/1444 (1,1)	8/1229 (0,7)	4/1020 (0,4)	3/1259 (0,2)	33/6287 (0,5%)
Kulinaartooted	5/307 (1,6)	4/270 (1,5)	3/221 (1,4)	0/262 (0,0)	16/308 (5,2)	28/1368 (2,1%)
Kastmed	0/37 (0,0)	0/53 (0,0)	0/38 (0,0)	0/37 (0,0)	0/35 (0,0)	0/200 (0,0%)
Kondiitri- ja pagaritooted	0/78 (0,0)	0/75 (0,0)	0/132 (0,0)	1/116 (0,9)	0/60 (0,0)	1/461 (0,2%)
Puu- ja köögiviljatooted	1/163 (0,6)	17/150 (11,3)	0/38 (0,0)	4/84 (4,8)	0/130 (0,0)	22/565 (3,9%)
Salatid	0/95 (0,0)	0/75 (0,0)	0/35 (0,0)	7/75 (9,3)	0/32 (0,0)	7/312 (2,2%)
Valmistoidud jaekaubandusest	1/885 (0,1)	14/1086 (1,3)	1/763 (0,1)	11/884 (1,2)	2/581 (0,3)	29/4199 (0,7%)
Eritoit	0/55 (0,0)	0/40 (0,0)	0/40 (0,0)	0/20 (0,0)	0/40 (0,0)	0/195 (0,0%)
Muud RTE tooted	0/60 (0,0)	6/84 (7,1)	0/52 (0,0)	0/116 (0,0)	0/131 (0,0)	6/443 (1,4%)
KOKKU	86/5587 (1,5%, CI ₉₅ 1,2–1,9%)	461/6800 (6,8%, CI ₉₅ 6,2–7,4%)	316/6519 (4,9%, CI ₉₅ 4,4–5,4%)	105/5640 (1,9%, CI ₉₅ 1,5–2,3%)	118/5470 (2,2%, CI ₉₅ 1,8–2,6%)	1086/30016 (3,6%)

Komisjoni Määrus (EÜ) nr 2073/2005 (1)

- Artikkel 3:

2. Toote valmistamise eest vastutavad toidukäitlejad korraldavad vajadusel uuringuid II lisa kohaselt, et uurida kriteeriumidele vastavust kogu kõlblikusaja jooksul. Eriti kehtib see valmistoitude kohta, mille puhul on soodustatud *Listeria monocytogenes*'e bakterite teke, mis võib põhjustada ohtu rahva tervisele.

Lisa II:

Nimetatud uuringud hõlmavad:

- toote füüsikaliste ja keemiliste omaduste erisusi, näiteks pH, a_w , soolasisaldus, säilitusainete kontsentratsioon ja pakendi liik, võttes arvesse säilitamis- ja töötlemistingimusi, saastumisvõimalusi ja kõlblikusaega,
- tutvumist kättesaadava teaduskirjanduse ja uuringuandmetega asjaomaste mikroorganismide kasvu ja ellujäämise tingimuste kohta.



Eesti Maaülikool
Estonian University of Life Sciences

www.emu.ee



Komisjoni Määrus (EÜ) nr 2073/2005 (2)

- Vajadusel korraldab toidukäitleja eespool nimetatud uuringute põhjal lisauuringud, mis võivad hõlmata:
 - kõnealuse toidu kohta koostatud matemaatilist prognoosmudelit, kasutades asjaomases tootes mikroorganismide kriitilise kasvu või ellujäämise tegureid (*predictive microbiology*);
 - katseid uurida asjaomase inokuleeritud mikroorganismi võimet tootes erinevates põhjendatult eeldatavates ladustamistingimustes kasvada või ellu jääda (*challenge-tests*);
 - uuringuid, et hinnata tootes kõlblikusaja jooksul esineda võivate asjaomaste mikroorganismide kasvu või ellujäämist põhjendatult eeldatavates jaotamis-, ladustamis- ja kasutamistingimustes (*durability studies*).
- Eespool nimetatud uuringute tegemisel arvestatakse toote loomulikku muutuvust, kõnealuseid mikroorganisme ning töötlemis- ja ladustamistingimusi.



Eesti Maaülikool
Estonian University of Life Sciences

www.emu.ee



Kuidas valida sobilik lähenemine?

Kuidas taolisi uuringuid läbi viia?

Juhenddokumendid

1) "Guidance Document on *Listeria monocytogenes* shelf-life studies for ready-to-eat foods, under Regulation (EC) No 2073/2005 of November 2005 microbiological criteria for foodstuffs", 2008

Suunatud toidutootjatele – millal ja milliseid toidu säileaaja katseid on vajalik läbi viia?

2) "EURL Lm Technical guidance document for conducting shelf-life studies on *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods (version 3 – 2014)"

Suunatud laboratooriumitele – kasvupotentsiaali hindav *challenge*-test; mikroobi maksimaalsele kasvumäärale keskenduv *challenge*-test; teised toidu kestvuskatsed.

EURL *Lm Technical Guidance Document* - 2014

Sisukord:

- 1.Sissejuhatus
- 2.Käsitlusala
- 3.Challenge-testid**
- 4.Kestvuskatsed
- 5.Viited
- 6.Sõnaraamat
- 7.Lisad

Challenge-test

- Teatud toodete praktiline uuring nendes esinevate mikroorganismide kasvupotentsiaali kindlakstegemiseks ohutuse ja säilimisaja määramise eesmärgil.
- Näitab, mis võib mikrobioloogiliselt juhtuda tootega turustamise ja järgneva käitlemise ajal juhul, kui see oleks mikroorganismiga saastunud.
- Kasulik vahend määramaks kindlaks toiduainete võimet toetada patogeenide või riknemist põhjustavate mikroorganismide kasvu.



Challenge-testi läbiviimisel tuleb arvesse võtta (1):

- toode ei tohi erineda tarbijale müüdavast;
- valima peab konkreetses tootes potentsiaalselt esinevat mikroorganismi;
- toitu viidavate patogeenide arv peab olema kooskõlas uuringu eesmärgiga;
- bakterite toitu külvamise meetod peab peegeldama toidu saastumise tavapäraseid viise;
- kunstliku nakatamise järgselt tuleb toode sulgeda jäljendades toidu tavapärast pakendamist ja jaekaubandusmüügi viisi;

Challenge-testi läbiviimisel tuleb arvesse võtta (2):

- tooteid tuleb säilitada toote tavapäraustes säilitamistingimustes (külmaahel ja võimalikud rikkumised);
- katse kestvuse määramisel lähtutakse toote eeldatavast säilimisajast ning analüüside arv sõltub omakorda selle pikkusest;
- toodete puhul, milledes võivad kasvada olulisel määral rikkumist põhjustavad mikroorganismid, tuleks määrata ka nende arvukuse, kuna nende kasv võib oluliselt mõjutada patogeenide kasvu;

Challenge-testi disainimine (1)

1. Kas mikroob on konkreetses tootes võimeline kasvama?

$\delta > 0.5 \log \text{cfu/g}$ ✓ (1.2)

$\delta < 0.5 \log \text{cfu/g}$ ✗ (1.3)

2. Mis on potentsiaalne kasvuvahemik?

Kasvupotentsiaal (δ) sõltub:

- toote sisemistest omadustest (pH, a_w , NaCl sisaldus, säilitusained, mikrofloora, struktuur jms);
- välistest omadustest (säilitamistingimused, gaasikeskkond);
- inokuleeritud tüvedest (kasv varieerub)
- mikroobi füsioloogilisest seisundist (külmašokk, osmootne stress)

Challenge-testi disainimine (2)

Arvestada tuleb konkreetse toote eripäradega:

- füüsikalised-keemilised omadused (pH ja a_w);
- pakendamisviis ja -keskkond (võimalik saastumine);
- töötlemisviis (nt kuumtöötlus, pastöriseerimine, töötlemine kõrgrõhul);
- toote hoiustamistingimused (külmaahel);
- säilitusainete sisaldus;
- eelnev kontroll *L. monocytogenes*'e leiduvuse suhtes.

Challenge-testi "+" ja "-"

- Vajalik on küllalt väike analüüsitava osaproovide arv.
- Tulemused kehtivad vaid konkreetsetel (katse käigus rakendatud) temperatuuridel.

Kokkuvõte

- *Challenge*-testid võivad toidukäitlejatele anda väärtuslikku teavet toiduainete ohutuse ja kvaliteedi kohta.
- Nende abil on võimalik pikendada toote säilimisaega ning ennetada mikrobioloogiliselt ebastabiilse toodangu müüki jõudmist.
- Mikrobioloogiliste *challenge*-testide kavandamine, rakendamine ja hindamine on kompleksne ülesanne, mis sõltub suuresti toote valmistamisest, pakendamisest, turustamisest ja tarbimisest.
- Ekspert peab kaaluma asjakohaseid aspekte ja koostama katse, mis kõige paremini hindaks toodet ohutuse seisukohast.

Täna tähelepanu eest!

