



Germinace a růst *Clostridium perfringens* v hovězím burgeru a rybím filé



Germination and growth of *Clostridium perfringens* in the beef burger and fish file

Zouharová Alena – Dušková Marta – Čutová Michaela – Králová Michaela – Macharáčková Blanka – Kameník Josef

ABSTRACT

Foodborne diseases caused by toxigenic sporogenic bacteria with a higher potential for survival in unfavorable temperature conditions pose a serious problem for public health. In this study, we investigated the germination and growth of spore-forming and toxigenic *Clostridium perfringens* bacteria in deliberately contaminated foods. Beef burgers and fish fillets were prepared for the study, and their pH, water activity (aw), and NaCl content were determined, as these parameters influence spore germination and bacterial growth. The prepared meals were then contaminated with a *C. perfringens* spore suspension and stored at different temperatures (60 °C; 50 °C; 40 °C) for varying lengths of time (0.0 h; 1.0 h; 2.0 h; 2.5 h; 3.0 h; 4.0 h; 6.0 h). The methodology according to ČSN EN ISO 15213-2:2024 was used for the quantitative determination of *C. perfringens* bacteria in the dishes. Our results show that when meals are stored at 40 and 50 °C, *C. perfringens* spores germinate, but only after at least 2 hours of storage in the case of beef burgers and 2.5 hours in the case of fish fillets. In the following hours of storage, the vegetative cells continue to multiply to values of 6.5 log CFU/g in the case of beef burgers and 3 log CFU/g in the case of fish fillets. If the meals were stored at 60 °C, no spore germination occurred during the entire storage period. The results clearly show that the possibility of spore germination and subsequent growth of *C. perfringens* in hot meals is a real risk, especially if the hot meal is not kept at the recommended minimum temperature of 60 °C.

ÚVOD

Bakterie *Clostridium perfringens* jsou anaerobní (aerotolerantní) grampozitivní tyčinky se schopností produkovat toxiny vyvolávající alimentární onemocnění (Duan et al., 2016). Díky schopnosti produkovat spory jsou hojně rozšířeny v životním prostředí i ve střevech lidí a zvířat (Park et al., 2019). V současné době je tento patogen jednou z nejčastějších příčin bakteriálních alimentárních onemocnění (Park et al., 2019). Pro prevenci růstu mikroorganismů v potravinách je obecně uznávané pravidlo „40-140“, které doporučuje potraviny uchovávat buď při teplotách pod 40 °F (4,4 °C), nebo naopak nad 140 °F (60 °C) (Matthews et al., 2017). Teplé pokrmy se uvádějí do oběhu tak, aby se dostaly ke spotřebiteli co nejdříve, a to za teploty nejméně 60 °C (Vyhláška č. 137/2004 Sb). Protože spory *C. perfringens* dokáží přežít tepelnou úpravu potravin (Juneja et al., 2003 uvádějí hodnotu D100 °C mezi 15,5 - 21,4 min), rozhodující roli pro teplé pokrmy hraje jejich teplota a doba od přípravy do konzumace. Cílem této studie bylo posoudit germinaci a růst *C. perfringens* v hovězím burgeru a rybím filé. Součástí této studie bylo také zjistit, zda různá doba a teplota skladování ovlivní detekci *C. perfringens* v teplém pokrmu a potvrdit nebo vyloučit možné riziko při transportu pokrmů kurýrními službami.

METODIKA

1. Příprava pokrmů – hovězí burger a rybí filé



2. Fyzikálně chemické analýzy u pokrmů

- hodnota pH pomocí kombinované elektrody a pH metru 211
- aktivita vody (aw) pomocí LabMaster aw-metru
- obsah sodíku stanoven atomovou absorpční spektrometrií

3. Kontaminace pokrmu suspenzí spor *Clostridium perfringens*

- komerční směs spor BIOBALL - *Clostridium perfringens* NCTC 8798
- pokrm kontaminován na hladinu 40 spor/g pokrmu
- aktivace spor proběhla tepelným záhřevem (80 °C/15 min)

4. Balení kontaminovaných pokrmů a temperování v termostatech na teploty 40; 50 a 60 °C

5. Odběry vzorků k mikrobiologickému vyšetření

- vzorky odebrány bezprostředně po zabalení a dále po 1,0; 2,0; 2,5; 3,0; 4,0 a 6,0 h z nastavených teplot
- Stanovení *C. perfringens* provedeno podle **ČSN EN ISO 15213-2:2024** při 37 °C/48 h anaerobně

VÝSLEDKY

- Žádný ze sledovaných fyzikálně chemických ukazatelů nedosahoval hodnot, které by byly limitní pro růst *C. perfringens*

Tabulka 1: Růst *Clostridium perfringens* po umělé kontaminaci hovězího burgeru při 40, 50 a 60 °C po dobu 0–6 hodin (průměrné hodnoty v log KTJ/g).

teplota	kmen	0 h	1 h	2 h	2,5 h	3 h	4 h	6 h
40	kontrola	<1,7	<1,7	<1,7	<1,7	<1,7	<1,7	<1,7
	NCTC 8798	<1,7	<1,7	<1,7	1,7 ± 0,4	2,3 ± 1,3	4,8 ± 1,6	5,8
50	kontrola	<1,7	<1,7	<1,7	<1,7	<1,7	<1,7	<1,7
	NCTC 8798	<1,7	<1,7	2,0 ± 0,8	2,5 ± 0,4	2,3 ± 0,8	4,5 ± 0,9	6,5
60	kontrola	<1,7	<1,7	<1,7	<1,7	<1,7	<1,7	<1,7
	NCTC 8798	<1,7	<1,7	<1,7	<1,7	<1,7	<1,7	<1,7

Tabulka 2: Růst *Clostridium perfringens* po umělé kontaminaci rybího filé při 40, 50 a 60 °C po dobu 0–6 hodin (průměrné hodnoty v log KTJ/g).

teplota	kmen	0 h	1 h	2 h	2,5 h	3 h	4 h	6 h
40	kontrola	<1,7	<1,7	<1,7	<1,7	<1,7	<1,7	<1,7
	NCTC 8798	<1,7	<1,7	<1,7	<1,7	2,1 ± 0,9	2,2 ± 1,1	3,0
50	kontrola	<1,7	<1,7	<1,7	<1,7	<1,7	<1,7	<1,7
	NCTC 8798	<1,7	<1,7	<1,7	2,1 ± 0,9	3,0 ± 0,1	2,0 ± 0,4	<1,7
60	kontrola	<1,7	<1,7	<1,7	<1,7	<1,7	<1,7	<1,7
	NCTC 8798	<1,7	<1,7	<1,7	<1,7	<1,7	<1,7	<1,7

ZÁVĚR

Výsledky této studie potvrzují, že teplota je pro germinaci spor *C. perfringens* zásadní. Pokud teplota pokrmu neklesla pod 60 °C, nedošlo v této studii ke germinaci spor po celou dobu skladování (6 hodin). Při skladování pokrmů v nižších teplotách (40 a 50 °C) došlo k vyklíčení spor a následnému množení vegetativních buněk ve všech experimentech. Minimální čas potřebný pro vyklíčení spor byl 2 hodiny v teplotě 50 °C a 2,5 hodin v teplotě 40 °C. Závěrem lze tedy konstatovat, že distribuce pokrmů kurýrními službami je potenciálním nebezpečím, pokud není pokrm ihned zkonsumován nebo rychle zchlazen.