



Hrvatska agencija za  
poljoprivredu i hranu

Croatian Agency for  
Agriculture and Food

L'Agence Croate pour  
l'Agriculture et l'Alimentation



KLASA: 641-01/20-01/00001  
URBROJ: 396-08-03/02-23-26  
Osijek, 25. travnja 2023. godine

**ZNANSTVENO MIŠLJENJE**  
**POJAVNOST MIKROORGANIZAMA U SLASTIČARSKIM KOLAČIMA**  
**U REPUBLICI HRVATSKOJ**

dopunjeno i izmijenjeno izdanje

Brigita Hengl, Jasenka Petrić, Ksenija Markov, Đurđica Ačkar,  
Diana Brlek Gorski, Ivančica Kovaček, Andrea Benussi Skukan, Dražen Knežević

**CENTAR ZA SIGURNOST HRANE**

Ivana Gundulića 36b, 31000 Osijek, tel: +385 31 214 900, e-mail: [csh@hapih.hr](mailto:csh@hapih.hr), [www.hapih.hr](http://www.hapih.hr)

MB:2528614, OIB: 35506269186, IBAN: HR1210010051863000160

Dokument izrađen temeljem zahtjeva Centra za sigurnost hrane.  
Usvojeno: 02.12.2021  
Dopunjeno i izmijenjeno: 25.04.2023.  
Usvojila: *ad hoc* radna grupa za evaluaciju i usvajanje znanstvenog mišljenja  
Dostupno na: <https://www.hapih.hr/en/csh/upisnik-znanstvenih-misljenja/>  
DOI: 10.5281/zenodo.7851987  
Korespondencija: [info.chs@hapih.hr](mailto:info.chs@hapih.hr)

## ČLANOVI AD HOC RADNE GRUPE ZA EVALUACIJU I USVAJANJE ZNANSTVENOG MIŠLJENJA

1. dr. sc. Dražen Knežević, Centar za sigurnost hrane, Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu
2. dr. sc. Brigita Hengl, Centar za sigurnost hrane, Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu
3. dr. sc. Jasenka Petrić, Centar za sigurnost hrane, Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu
4. prof. dr. sc. Ksenija Markov, Prehrambeno biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu
5. izv. prof. dr. sc. Đurđica Ačkar, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku
6. Diana Brlek Gorski, dr. med. spec. mikrobiolog., Odjel za zdravstvenu ispravnost hrane, Hrvatski zavod za javno zdravstvo

### Izjave o sukobu interesa:

Autori nisu bili u izravnom ili neizravnom, financijskom, gospodarskom ili bilo kojem drugom osobnom interesu koji bi se mogao smatrati štetnim za njihovu nepristranost i neovisnost u kontekstu izrade ovog dokumenta.

### Zahvale:

Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu, Centar za sigurnost hrane zahvaljuje se dr. sc. Ivančici Kovaček, dr. med. iz Nastavnog zavoda za javno zdravstvo „Dr. Andrija Štampar“ i dr. sc. Andrei Benussi Skukan iz Centra za kontrolu namirnica Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu na sudjelovanju u istraživačkom dijelu projekta.

### Predloženo citiranje:

HAPIH (Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu), *Ad hoc* radna grupa, Hengl B, Petrić J, Markov K, Ačkar Đ, Brlek Gorski D, Kovaček I, Benusi Skukan A, Knežević D (2021): Znanstveno mišljenje o pojavnosti mikroorganizama u slastičarskim kolačima u Republici Hrvatskoj.

## Sažetak

Slastičarski kolači su proizvodi dobiveni miješanjem, oblikovanjem, pečenjem ili drugim odgovarajućim postupcima obrade smjese dva ili više sastojaka, čime se postižu karakteristična senzorska svojstva proizvoda. Mogu biti punjeni ili preliveni voćnim, čokoladnim i drugim kremama ili preljevima. Kemijski sastav i visoki udio vode čine slastičarske kolače pogodnim medijem za rast i razmnožavanje različitih mikroorganizama. Budući da do kontaminacije može doći u svim fazama proizvodnog procesa, pridržavanje dobre higijenske prakse nužan je preduvjet kako bi proizvod bio siguran za konzumaciju.

Da bi se dobio uvid u kontaminaciju slastičarskih kolača u RH potencijalno patogenim mikroorganizmima i mikroorganizmima pokazateljima higijene proizvodnje, u uzorcima kolača koji su uzorkovani 2017. godine provedene su analize u skladu s mikrobiološkim kriterijima prema Uredbi komisije (EZ) br. 2073/2005 od 15. studenoga 2005. o mikrobiološkim kriterijima za hranu i preporukama Vodiča o mikrobiološkim kriterijima (Ministarstvo poljoprivrede, 2011). Istraživanjem nisu utvrđene patogene bakterije čije bi prisustvo moglo imati štetan utjecaj na zdravlje te nije bilo potrebe za izradom karakterizacije rizika za dobivene rezultate. Nastavak istraživanja usmjeren je na detaljniju analizu vrsta enterobakterija.

U 2018. godini ponovljeno je uzorkovanje kolača na području Grada Zagreba pri čemu je utvrđena prisutnost sljedećih vrsta enterobakterija: *Enterobacter kobei*, *Enterobacter cloacae*, *Pantoea agglomerans*, *Serratia liquefaciens*, *Enterobacter asburiae*, *Klebsiella oxytoca*, *Buttiauxella gaviniae*, *Buttiauxella warmboldiae*, *Raoultella* i *Cedecea neteri*. Budući da su za neke od njih utvrđeni slučajevi izazivanja bolesti, ali pod okolnostima koje su drugačije od prijenosa mogućeg slastičarskim kolačima, ili hranom općenito, te su bakterije opisane kao potencijalno patogene i rizik nije prikazan kroz štetni utjecaj na zdravlje, već kao rizik od moguće izloženosti tim bakterijama u slučaju konzumacije slastičarskih kolača.

Niti u jednom uzorku slastičarskih kolača nisu bili prisutni patogeni mikroorganizmi za koje je propisano ispitivanje sukladno zahtjevima Uredbe 2073/2005.

**Ključne riječi:** Slastičarski kolači, kontaminacija, potencijalno patogeni mikroorganizmi, higijena

## Summary

Confectionery cakes are products obtained by mixing, shaping, baking, or other suitable processing procedures of two or more ingredients, giving the characteristic sensory properties of the product. They can be filled or topped with fruit, chocolate and other creams or toppings. The chemical composition and high content of water make the confectionery cakes suitable for growth and multiplication of various microorganisms. Since contamination can occur at all stages of the production process, conducting good hygiene practices is necessary to obtain a product safe for consumption.

The aim of this study was to provide insight into the contamination of confectionery cakes in the Republic of Croatia by potentially pathogenic microorganisms and microorganisms as indicators of hygienic production. The cakes were sampled in 2017. and analysed according to the microbiological criteria prescribed by Commission Regulation (EC) No 2073/2005 of 15 November 2005 on microbiological criteria for foodstuffs and as recommended by the Guideline of Microbiological Criteria (Ministry of Agriculture, 2011). As a result of the study no pathogenic bacteria whose presence could have an adverse health effects, were identified in confectionery cakes and there was no need to make a risk characterization for the results obtained.

Continuation of the research was focused on a more detailed study of enterobacterial species. In 2018, sampling of cakes was repeated in the area of the City of Zagreb and the following types of enterobacteria were identified: *Enterobacter kobei*, *Enterobacter cloacae*, *Pantoea agglomerans*, *Serratia liquefaciens*, *Enterobacter asburiae*, *Klebsiella oxytoca*, *Buttiauxella gaviniae*, *Buttiauxella warmboldiae*, *Raoultella* and *Cedecea neteri*. Some of them were reported as a cause of disease, but under circumstances other than possible transmission by confectionery cakes or food in general, and these bacteria have been described as potentially pathogenic but the risk was not shown through adverse health effects. It was described as a risk of possible exposure to these bacteria in the case of consumption of confectionery cakes.

No pathogenic microorganisms for which testing was prescribed in accordance with the requirements of Regulation 2073/2005 were present in any sample of confectionery cakes.

**Key words:** Confectionery cakes, contamination, potentially pathogenic microorganisms, food production hygiene

## SADRŽAJ

1. Uvod.....	4
1.1. Pozadina slučaja.....	5
1.2. Zakonski okvir.....	5
2. Procjena rizika .....	8
2.1. Identifikacija opasnosti.....	8
2.2. Karakterizacija opasnosti .....	9
2.2.1. <i>Salmonella</i> spp.....	9
2.2.2. <i>Listeria monocytogenes</i> .....	11
2.2.3. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	11
2.2.4. Aerobne mezofilne bakterije .....	12
2.2.5. <i>Enterobacteriaceae</i> .....	13
2.2.6. Bakterije iz obitelji <i>Enterobacteriaceae</i> utvrđene u uzorcima kolača u ovom istraživanju .....	14
2.2.7. Plijesni.....	19
2.3. Procjena izloženosti.....	19
2.3.1. Materijali i metode .....	19
2.3.1.1. Ispitivanje ispravnosti slastičarskih kolača u RH s obzirom na mikrobiološke kriterije u 2017. godini.....	19
2.3.1.2. Ispitivanje ispravnosti slastičarskih kolača u RH obzirom na broj i vrstu enterobakterija u 2018. godini.....	20
2.3.1.3. Prehrambene navike .....	21
2.3.2. Rezultati .....	21
4.3.2.1. Ispitivanje ispravnosti slastičarskih kolača u RH s obzirom na mikrobiološke kriterije - 2017. ....	22
4.3.2.2. Ispitivanje ispravnosti slastičarskih kolača u RH obzirom na broj i vrstu enterobakterija - 2018. ....	24
2.4. Karakterizacija rizika .....	28
3. Zaključci.....	33
4. Preporuke.....	34
Literatura .....	35

## 1. Uvod

Mikrobiološke opasnosti u hrani predstavljaju jedan od glavnih uzročnika bolesti uzrokovanih hranom kod ljudi. Uredbom (EZ) br. 178/2002 Europskog parlamenta i vijeća od 28. siječnja 2002. o utvrđivanju općih načela i uvjeta zakona o hrani, osnivanju Europske agencije za sigurnost hrane te utvrđivanju postupaka u područjima sigurnosti hrane, u članku 14., utvrđuju se opći zahtjevi sigurnosti hrane, prema kojima se hrana ne smije staviti na tržište ukoliko nije sigurna. Sigurnost hrane osigurava se prvenstveno preventivnim pristupom, kao što je provedba dobre higijenske prakse (DHP) i kontrola opasnosti i kritičnih kontrolnih točaka (HACCP). Kako bi se doprinijelo zaštiti zdravlja potrošača i spriječila različita tumačenja, utvrđeni su kriteriji sigurnosti hrane, posebno u pogledu prisutnosti određenih patogenih mikroorganizama (Uredba 2073/2005).

Mikrobiološki kriteriji, prema Uredbi Komisije (EZ) br. 2073/2005 od 15. studenog 2005. o mikrobiološkim kriterijima za hranu, predstavljaju granične vrijednosti prema kojima se utvrđuje prihvatljivost nekog proizvoda, serije hrane ili procesa, na temelju odsutnosti, prisutnosti ili broja mikroorganizama i/ili količine njihovih toksina/metabolita po jedinici mase, volumena, površine ili serije. Uredbom 2073/2005 utvrđeni su mikrobiološki kriteriji kojima se definira prihvatljivost procesa (tzv. kriteriji higijene procesa), kao i mikrobiološki kriteriji sigurnosti hrane kojima se postavlja granica iznad koje se hranu treba smatrati potencijalno štetnom za zdravlje ljudi.

Subjekti u poslovanju s hranom (SPH) trebaju osigurati sukladnost hrane s propisanim mikrobiološkim kriterijima (Uredba 2073/2005). U tu svrhu, SPH u svakoj fazi proizvodnje, prerade i distribucije hrane, uključujući maloprodaju, poduzimaju mjere, kao dio svojih postupaka temeljenih na načelima HACCP-a, zajedno s provedbom DHP, kako bi osigurali da se opskrba, rukovanje i prerada sirovina i hrane pod njihovom kontrolom provodi tako da su zadovoljeni kriteriji higijene procesa te da se može udovoljiti kriterijima sigurnosti hrane primjenjivima tijekom roka trajanja proizvoda, pod odgovarajućim uvjetima distribucije, skladištenja i upotrebe.

Prema Pravilniku o žitaricama i proizvodima od žitarica (NN 81/2016), kolači su proizvodi dobiveni miješanjem, oblikovanjem, pečenjem ili drugim odgovarajućim postupcima obrade smjese dva ili više sastojaka, čime se postižu karakteristična senzorska svojstva proizvoda. Mogu biti punjeni ili preliveni voćnim, čokoladnim i drugim punilima ili preljevima. Pod slastičarskim kolačima, u ovom znanstvenom mišljenju, podrazumijevali su se kremasti kolači, čokoladni kolači i kolači s voćem.

Zbog svog kemijskog sastava i visokog udjela vode, slastičarski kolači pogodan su medij za rast i razmnožavanje različitih mikroorganizama. Do kontaminacije slastičarskih kolača može doći u svim fazama proizvodnog procesa: uslijed korištenja kontaminirane sirovine, posebice ukoliko se kolači termički ne obrađuju prije konzumacije, nakon termičke obrade, tijekom neodgovarajućeg skladištenja i/ili transporta te uslijed nehigijenskog rukovanja (Kumar i sur, 2001; Shahbaz i sur, 2013; Chaudhari i sur, 2017; El- Kadi i sur, 2018).

Glavni cilj ovog istraživanja bio je utvrditi pojavnost potencijalno patogenih mikroorganizma i mikroorganizma pokazatelja higijene proizvodnje u slastičarskim kolačima u RH. Na dobivene

rezultate uzorkovanih kolača primjenjivali su se mikrobiološki kriteriji propisani Uredbom 2073/2005 i preporučeni Vodičem o mikrobiološkim kriterijima (Ministarstvo poljoprivrede, 2011). Također, u uzorcima u kojima je kultivacijom na hranjivim mikrobiološkim podlogama utvrđen broj enterobakterija iznad  $10^2$  CFU/g, naknadno su određene vrste enterobakterija.

### 1.1. Pozadina slučaja

Tijekom 2016. godine provedeno je uzorkovanje i analiza raznih vrsta uzoraka gotove hrane, uključujući slastičarske kolače na području Grada Zagreba, sukladno planu gradskog ureda za zdravstvo. Rezultati mikrobioloških analiza ukazali su na činjenicu da je utvrđen značajan broj uzoraka gotove hrane, uključujući slastičarske kolače, koji ne udovoljava preporučenim mikrobiološkim kriterijima nacionalnog Vodiča za mikrobiološke kriterije.

Temeljem tih informacija Znanstveni odbor za biološke opasnosti Hrvatske agencije za hranu (HAH) predložio je provedbu istraživanja pod nazivom „*Ispitivanje ispravnosti slastičarskih kolača u RH obzirom na mikrobiološke kriterije*“. Istraživanje je provedeno tijekom 2017. godine i obuhvatilo je 230 uzorka slastičarskih kolača na području Republike Hrvatske (sjeverozapadna i istočna Hrvatska, Primorje i sjeverna Dalmacija). Slastičarski kolači analizirani su na prisutnost aerobnih mezofilnih bakterija, *Salmonella* spp., *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* i plijesni.

Budući da obitelj enterobakterija obuhvaća i patogene mikroorganizme (npr. *Cronobacter*, *Escherichia*, *Salmonella*, *Yersinia*, *Shigella*), u slučaju pozitivnog nalaza enterobakterija, hrana se mora dodatno analizirati kako bi se isključila prisutnost patogena i mogućnost štetnog djelovanja na zdravlje. Stoga je tijekom 2018. godine Hrvatska agencija za hranu provela novo istraživanje „*Ispitivanje ispravnosti slastičarskih kolača u RH obzirom na broj i vrstu enterobakterija*“, na 201 uzorku, kako bi se utvrdilo koje se sve vrste enterobakterija mogu pronaći. Rezultati istraživanja provedenog 2017. i 2018. godine prikazani su u ovom Znanstvenom mišljenju.

### 1.2. Zakonski okvir

U Republici Hrvatskoj (RH) primjenjuje se Uredba Komisije (EZ-a) br. 2073/2005 od 15. studenog 2005. o mikrobiološkim kriterijima za hranu u kojoj su propisani kriteriji sigurnosti hrane i kriteriji higijene procesa za različite kategorije hrane. Također, u RH postoji Vodič za mikrobiološke kriterije za hranu (Ministarstvo poljoprivrede, 2011) koji nije zakonski obvezujući, a navodi preporučene kriterije higijene procesa proizvodnje za određene kategorije hrane, između ostalih i za slastice (slastičarski kolači) s punjenjem i gotove kreme (Tablica 1).

Slastičarski kolači pripadaju kategoriji gotove hrane (*ready-to-eat food*, eng. RTE), koja je prema Uredbi komisije (EZ) br. 2073/2005 od 15. studenoga 2005. o mikrobiološkim kriterijima za hranu definirana sljedećim navodom: „Gotova hrana“ znači hrana koju je proizvođač namijenio izravnoj prehrani ljudi bez potrebe za kuhanjem ili nekom drugom obradom učinkovitom za uklanjanje ili smanjivanje na prihvatljivu razinu mikroorganizama od interesa. Prema Uredbi 2073/2005 slastičarski kolači svrstavaju se u kategoriju hrane 1.2. Gotova hrana koja pogoduje rastu bakterije *L. monocytogenes*, osim hrane za dojenčad i za posebne medicinske potrebe, za koju je propisan obvezni kriterij sigurnosti hrane koji iznosi  $10^2$  CFU/g.



Prema Vodiču za mikrobiološke kriterije za hranu, za slastičarske kolače navedeni su preporučeni kriteriji higijene u procesu proizvodnje, koji se primjenjuju prvenstveno na kraju proizvodnog procesa, ali njihove granične vrijednosti isti Vodič preporučuje i tijekom cijelog roka trajanja proizvoda te za korištenje pri definiranju mikrobioloških kriterija kod izrade proizvođačkih specifikacija za sirovine.

Vodič, za razliku od Uredbe 2073/2005, nije zakonski obvezujući, a prvenstveno je namijenjen subjektima u poslovanju s hranom (SPH) te osobama ovlaštenim za provođenje službenih kontrola u smislu kontrole primjene mikrobioloških kriterija i mikrobioloških zahtjeva pri procjeni učinkovitosti sustava samokontrole uspostavljenog od strane SPH.

Tako su u Vodiču pod kategorijom 4.2. Konditorski proizvodi, potkategorija 4.2.6. Slastice (Slastičarski kolači) s punjenjem i gotove kreme, navedeni preporučeni mikrobiološki kriteriji kao i granične vrijednosti za svaki preporučeni kriterij (Tablica 1).

**Tablica 1.** Preporučeni mikrobiološki kriteriji za slastičarske kolače (Vodič za mikrobiološke kriterije za hranu, Ministarstvo poljoprivrede, 2011.)

	Hrana	Mikroorganizmi/njihovi toksini i metaboliti	Plan uzorkovanja		Kriteriji
4.2.6.	Slastice (slastičarski kolači) s punjenjem i gotove kreme	<b>Preporučeni</b>			
		Aerobne mezofilne bakterije	5	2	m = 10 <sup>4</sup> cfu/g M = 10 <sup>5</sup> cfu/g
		<i>Salmonella</i> spp.	5	0	n.n. 25 g
		<i>Enterobacteriaceae</i>	5	2	m = 10 <sup>2</sup> cfu/g M = 10 <sup>3</sup> cfu/g
		Koagulaza pozitivni stafilocoki/ <i>Staphylococcus aureus</i>	5	1	m = 10 cfu/g M = 10 <sup>2</sup> cfu/g
		Plijesni	5	1	m = 10 cfu/g M = 10 <sup>2</sup> cfu/g

Uspoređujući preporučene mikrobiološke kriterije iz vodiča RH s kriterijima iz vodiča drugih zemalja za RTE hranu (FSANZ, 2016; FEHD, 2014; FSAI, 2016; CDPH, 2000; HC, 2013; NSWFA, 2009; HPA, 2009), utvrđeno je da za *Salmonella* spp. vrijedi kriterij koji se odnosi na odsutnost bakterije u 25 g. Nasuprot tome, za ostale mikrobiološke parametre kriteriji u RH se nešto razlikuju u odnosu na druge zemlje (Tablica 2).

**Tablica 2.** Mikrobiološki kriteriji za gotovu hranu prema vodičima Republike Hrvatske i drugih zemalja

MIKROORGANIZAM	Interpretacija (CFU/g)			Izvor
	Zadovoljavajuće	Prihvatljivo	Nezadovoljavajuće	
Aerobne mezofilne bakterije	<10 <sup>5</sup>	10 <sup>5</sup> - <10 <sup>6</sup>	>10 <sup>6</sup>	Gilbert i sur, 2000
	<10 <sup>5</sup>	10 <sup>5</sup> - <10 <sup>7</sup>	≥10 <sup>7</sup>	FEHD, 2014
	<10 <sup>5</sup>	10 <sup>5</sup> - <10 <sup>7</sup>	≥10 <sup>7</sup>	FSAI, 2016
	<10 <sup>6</sup>	<10 <sup>7</sup>	≥10 <sup>7</sup>	HC, 2013
	<10 <sup>5</sup>	10 <sup>5</sup> - <10 <sup>7</sup>	≥10 <sup>7</sup>	HPA, 2009
	<10 <sup>6</sup>	<10 <sup>7</sup>	≥10 <sup>7</sup>	NSWFA, 2009
	<b>&lt;10<sup>4</sup></b>	<b>10<sup>4</sup> - &lt;10<sup>5</sup>*</b>	<b>&gt;10<sup>5</sup></b>	<b>HR Vodič za mikrobiološke kriterije za hranu, 2011</b>
<i>Enterobacteriaceae</i>	<10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup> <10 <sup>4</sup>	≥10 <sup>4</sup>	Gilbert i sur, 2000
	<10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup> ≤10 <sup>4</sup>	>10 <sup>4</sup>	FEHD, 2014
	<10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup> ≤10 <sup>4</sup>	>10 <sup>4</sup>	FSAI, 2016
	<10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup> ≤10 <sup>4</sup>	>10 <sup>4</sup>	HPA, 2009
	<10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup> <10 <sup>4</sup>	≥10 <sup>4</sup>	NSWFA, 2009
	<b>&lt;10<sup>2</sup></b>	<b>10<sup>2</sup> &lt;10<sup>3</sup>*</b>	<b>&gt;10<sup>3</sup></b>	<b>HR Vodič za mikrobiološke kriterije za hranu, 2011</b>
Koagulaza pozitivni stafilocoki/ <i>Staphylococcus aureus</i>	<20	20 - <10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup> - <10 <sup>4</sup>	Gilbert i sur, 2000
	<10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup> - <10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup> - <10 <sup>4</sup>	FSANZ, 2018
	<10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup> - <10 <sup>6</sup>	>10 <sup>6</sup>	FSAI, 2016
	< 20	20 - <10 <sup>4</sup>	>10 <sup>4</sup>	FEHD, 2014
	<20	<10 <sup>2</sup>	>10 <sup>2</sup>	HC, 2013
	< 20	20 - ≤10 <sup>4</sup>	>10 <sup>4</sup>	HPA, 2009
	<10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup> - <10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup> - <10 <sup>4</sup>	NSWFA, 2009
	<b>&lt; 10</b>	<b>10 - &lt;10<sup>2</sup>*</b>	<b>&gt;10<sup>2</sup></b>	<b>HR Vodič za mikrobiološke kriterije za hranu, 2011</b>

<i>L. monocytogenes</i>	<20	20- < 100	≥ 100	Gilbert i sur, 2000
	< 10	10 - ≤ 100	> 100	FEHD, 2014
	< 10	10 - ≤ 100	>100	FSAI, 2016
	Nije detektirano	10- ≤ 100	≥ 100	HC, 2013
	< 10	10 - ≤ 100	> 100	HPA, 2009
	Nije detektirano	10- < 100	≥ 100	NSWFA, 2009
U Vodiču za mikrobiološke kriterije za hranu propisan je kriterij za <i>L. monocytogenes</i> , u skladu s točkom 1.2 Uredbe 2073/2005			<b>HR Vodič za mikrobiološke kriterije za hranu, 2011</b>	

\*odnosi se na tumačenje rezultata analize uzorka ukoliko se uzorkovalo 5 elementarnih jedinica

## 2. Procjena rizika

### 2.1. Identifikacija opasnosti

Zbog visokog sadržaja ugljikohidrata, masti i proteina, kolači su prehrambeni proizvodi osjetljivi na kvarenje. Do kvarenja kolača može doći ukoliko su sastojci kolača kontaminirani mikroorganizmima. Kreme, koje su podložne kontaminaciji bakterijama, osim visokog aktiviteta vode ( $a_w$ ) i neutralnog pH, najčešće sadrže visoko rizične proteinske sastojke kao što su jaja ili mlijeko. Temperatura okoline, pH vrijednost proizvoda između 5,4 i 7,5, te  $a_w$  u rasponu 0,75–0,98 također pogoduju rastu plijesni, kvasca i sporulirajućih bakterija na kolačima. Budući da kremasti kolači imaju  $a_w$  iznad 0,94, ovaj parametar predstavlja važan čimbenik koji utječe na njihovo kvarenje. Toplinski obrađene kreme mogu sadržavati bakterijske spore koje su otporne na temperature kuhanja (El-Fadaly i sur, 2016; El-Kadi i sur, 2018).

Kod kolača koji su termički obrađeni do kontaminacije mikroorganizmima može doći dodavanjem i/ili ukrašavanjem (npr. orasi, preljevi, vrhnje) i/ili tijekom čuvanja, transporta i nehigijenskog rukovanja (Kumar i sur, 2001; Dar i sur, 2014; El-Fadaly i sur, 2016). Neodgovarajuća temperatura i vrijeme čuvanja krema ili kolača mogu doprinijeti rastu i razmnožavanju patogenih bakterija i tvorbi enterotoksina (Bryan, 1976). Jedan od važnih izvora koji mogu pridonijeti kontaminaciji kolača su ruke radnika koji sudjeluju u proizvodnji, osobito ukoliko boluju od zaraznih bolesti, ili ukoliko imaju rane ili upalne procese na rukama te ako zanemaruju osobnu higijenu.

Osim ruku radnika, radne površine i pribor, koji dolaze u dodir s hranom, mogu također doprinijeti mikroboj kontaminaciji tijekom punjenja, premazivanja i ukrašavanja (Bryan, 1976; Al-Jafaeri i sur, 2013).

S ciljem zaštite zdravlja potrošača, slastičarski kolači trebaju biti proizvedeni i prodavani u skladu s načelima dobre proizvođačke i higijenske prakse (Al-Jafaeri i sur, 2013). Ukoliko načela nisu poštivana, slastičarski kolači su izloženi mikroboj kontaminaciji, među kojima su

*Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Escherichia coli*, kvasci i plijesni (Sharifzadeh i sur, 2016).

## 2.2. Karakterizacija opasnosti

### 2.2.1. *Salmonella* spp.

Salmonele su gram negativne, mezofilne bakterije. Mogu rasti na temperaturi hladnjaka od 4 °C do 10 °C, a dobro rastu na temperaturi od 25 °C do 43 °C, dok su osjetljive na temperaturu iznad 55 °C. Odgovara im pH od 3,6 do 9,5, a najviše približno neutralni pH (D'Aoust, 2001). U namirnicama s niskim  $a_w$  mogu preživjeti duži vremenski period, npr. u orasima 32 tjedna ili u maslacu od kikirikija 24 tjedna. D'Aoust (2001) navodi kako *Salmonella* spp. rastu pri  $a_w \geq 0,93$ , dok je optimalni  $a_w$  0,99.

Poznato je više od 2400 serotipova *Salmonella enterica* subsp. *enterica* koji mogu uzrokovati bolest u ljudi (Marinculić i sur, 2009). Salmoneloze se ubrajaju u vodeće bolesti probavnog sustava čiji se simptomi kreću od blagih gastroenteritisa do sistemskih bolesti poput septikemija i drugih ozbiljnijih bolesti. Hrana životinjskog podrijetla (meso, jaja i mlijeko) smatra se značajnim izvorom salmoneloza u ljudi. Prenose se fekalno - oralnim putem, s osobe na osobu, putem hrane, vode i indirektno preko zaraženih životinja (FSANZ, 2009). Simptomi bolesti mogu se podijeliti na enterokolitis i enteričku groznicu. Enterokolitis se javlja 8-72 sata nakon infekcije i ima samolimitirajući karakter, uz čestu remisiju nakon 4-5 dana. Karakterizira ga ozbiljna bol u abdomenu, proljev, povraćanje i groznica. Velike su razlike u individualnoj osjetljivosti na salmonele koja ovisi o već postojećem imunitetu, načinu prehrane, dobi, sposobnosti imunološkog odgovora, funkcionalnim i strukturalnim anomalijama u probavnom traktu, ili postojanju neke druge bolesti (Gerba i sur., 1996; Jay i sur., 2003). Ipak veći rizik od infekcije i razvoja težih oblika bolesti nakon izlaganja *Salmonella* spp. može se javiti kod jako mladih, starijih, trudnica i imunokompromitiranih osoba (transplantacija organa, osobe oboljele od raka i AIDS-a (Gerba i sur., 1996). Prema Kothary i Babu (2001), infektivna doza za većinu salmonela iznosi  $>10^5$  stanica. Međutim, iz epidemioloških podataka utvrđeno je da i unos manjeg broja salmonela putem hrane, ovisno o načinu unosa bakterija u probavni trakt, može uzrokovati infekciju. To je posebno zapaženo kod hrane bogate mastima s niskim aktivitetom vode, u kojima bakterije mogu preživjeti duže vrijeme (npr. čokolada, fermentirani mesni proizvodi, sir i snack proizvodi) (HPA, 2009). Kako bi se spriječila kontaminacija hrane salmonelama, preporuča se termička obrada hrane u minimalnom trajanju od 10 minuta na 75 °C, tako da središte hrane dostigne tu temperaturu (Easa, 2010).

Izbijanje bolesti (najčešće se radilo o salmonelozama) uzrokovano konzumacijom slastičarskih kolača zabilježeno je više puta tijekom posljednjih dvadesetak godina u različitim zemljama. Tako je velika epidemija salmoneloze zabilježena 1996. godine u psihijatrijskoj bolnici u Dublinu gdje je 198 ljudi oboljelo (od kojih su 183 pacijenti), a kao izvor zaraze navode se kolači s čokoladnom kremom (Grein i sur, 1997). Također, velika epidemija gastroenteritisa zabilježena je Kataloniji u lipnju 2002. sa 1435 slučajeva oboljelih, od kojih je 117 hospitalizirano. Istragom je utvrđeno kako je konzumiranje kolača s kremom od vanilije povezano s oboljenjem, a u 154 slučaja izolirana je bakterija *Salmonella* Enteritidis (Camps i sur, 2005). Tijekom ljeta 2006. godine na sjeverozapadu Engleske, petnaest osoba oboljelo je od salmoneloze, od kojih je jedna završila smrću. Epidemiološki dokazi pokazali su vrlo jaku

povezanost između infekcije i konzumacije kremastog kolača (tiramisu) pripremljenog sa sirovim jajima (Calvert i sur, 2006). Tijekom kolovoza iste godine prijavljeno je 111 slučajeva salmoneloze u staračkom domu u Hamburgu. Većina oboljelih (njih 84) bili su stanari doma, a ostatak članovi osoblja. Istraga je utvrdila da je većina oboljelih konzumirala tortu tijekom više dana, te se pretpostavlja da je konzumacija torte bila izvor infekcije (Frank i sur, 2007). U Singapuru je krajem 2007. godine zabilježeno 216 slučajeva gastroenteritisa, a kao uzročnik je identificirana bakterija *Salmonella* Enteritidis u 14 od 20 testiranih slučajeva. Pretpostavlja se da su izvor zaraze bili kremasti kolači proizvedeni i prodavani u pekari (Solhan i sur, 2011).

U Republici Hrvatskoj, prema podacima iz Epidemioloških vjesnika Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo, prijavljene epidemije uzrokovane salmonelama zbog konzumacije kolača su se u većini slučajeva odnosile na kolače pripremljene u domaćinstvu (ne na slastičarske kolače), a kao najčešći uzročnik epidemija navedena je *Salmonella* spp. (Tablica 3).

**Tablica 3.** Prijavljene epidemije uzorkovane konzumacijom kolača u RH u razdoblju 2014. – 2020. godine (Epidemiološki vjesnici, HZJZ)

Godina	Broj epidemija uzrokovanih konzumacijom kolača	% ukupnog broja svih epidemija	Broj oboljelih	Uzročnik izoliran iz ljudi
2014.	8	10,0	48	7 slučajeva uzročnik <i>Salmonella</i> spp. 1 slučaj uzročnik <i>Campylobacter</i> spp.
2015.	3	3,6	16	2 slučaja uzročnik <i>Salmonella</i> spp. 1 slučaj uzročnik nepoznat
2016.	7	8,6	33	7 slučajeva uzročnik <i>Salmonella</i> spp.
2017.	8	7,4	38	8 slučajeva uzročnik <i>Salmonella</i> spp.
2018.	2	1,8	21	1 slučaj uzročnik <i>Salmonella</i> spp. 1 slučaj utvrđeno prisutnost noro virusa, fekalnih streptokoka, stafilokoka i enterobakterija
2019.	4	2,6	20	4 slučaja <i>Salmonella</i> spp.
2020.	0	0	0	Nema utvrđenih slučajeva.

### 2.2.2. *Listeria monocytogenes*

*L. monocytogenes* je gram pozitivna aerobna ili fakultativno anaerobna, nesporogena bakterija koja se prenosi hranom, a može se naći u različitom okolišu. Bolest (listerioza) nastaje kao posljedica konzumacije hrane kontaminirane živim bakterijama, a može vrlo ozbiljno ugroziti zdravlje i potencijalno ljudski život (Posfay-Barbe i Wald, 2004; HPA, 2009). Najveći rizik za prijenos bolesti predstavlja rast ove bakterije nakon kontaminacije hrane po završenom procesu kuhanja ili proizvodnje, ili u sirovoj hrani (HPA, 2009).

Tijekom trudnoće, bakterije iz roda listerija mogu proći kroz placentu i inficirati plod, a do infekcije novorođenčeta može doći i tijekom poroda u porođajnom kanalu (Viltrop i Roasto, 2013). Svi pripadnici bakterija roda *Listeria* rasprostranjeni su u okolišu i izolirani iz tla, vegetacije, vode, otpadnih voda, hrane za životinje, svježeg i zamrznutog mesa, sirovog mlijeka, klaoničkog otpada i fecesa zdravih životinja. Upravo farmски držane životinje kao i njihov okoliš značajan su izvor kontaminacije hrane i infekcije ljudi. U literaturi se često spominju u proizvodima kao što su sirovo mlijeko, meki sirevi proizvedeni od sirovog mlijeka, proizvodi od sirovog mesa i salate (Jemmi i Stephan, 2006). Hrana koja nije ohlađena na temperaturu hladnjaka, kao i ona čije je hlađenje trajalo dulje vrijeme, izložena je povećanom riziku od razmnožavanja listerije, posebice ako se radi o temperaturi hlađenja ispod optimalne. Važan način kontaminacije iz okoliša i opreme je križna kontaminacija, posebno u preradi hrane. Listerije se mogu zadržati i preživjeti na različitim proizvodnim površinama, jedan od razloga za to je i mogućnost stvaranja biofilma koji ih štiti. Rastu na temperaturama između 1 i 45 °C (dakle rastu na uobičajenim temperaturama u hladnjaku; do 8 °C), a optimalna im je temperatura rasta 30-37 °C (Wemekamp-Kamphuis i sur. 2004). Uništava ih temperatura od 64 °C za nešto manje od 10 minuta, a 70 °C za 2 minute (FDA, 2011).

Nije bilo prijavljenih epidemija uzrokovanih *L. monocytogenes* zbog konzumacije kolača u RH u razdoblju 2014. – 2020. godine (Epidemiološki vjesnici, HZJZ).

### 2.2.3. *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) jedan je od čestih uzročnika bakterijskog otrovanja hranom. Taj prilagodljivi patogen u ljudi i životinja dovodi do različitih bolesnih stanja od lakših kožnih infekcija do teških oboljenja poput upale pluća ili septikemije. Bolest povezana s bakterijom *S. aureus* uzrokovana je njenim enterotoksinima čija tvorba počinje u hrani (HPA; 2009). *S. aureus* najbolje raste i proizvodi enterotoksin uz prisutnost kisika, ali može rasti i u anaerobnim uvjetima. Odgovara mu temperatura 37 °C (raspon 6-48 °C), pH 7-7,5 (raspon od 4,2 do 9,3). Dobro podnosi isušivanje tako da donja granica za aktivitet vode ( $a_w$ ) iznosi 0,85. Podnosi dodatak NaCl do 25 %, kao i zamrzavanje. Uništavaju ga uobičajene temperature kuhanja i pasterizacije. *S. aureus* proizvodi različite enterotoksine (A -E, G- V), vrlo često i nekoliko istodobno, ali u 95 % slučajeva radi se o A, B, C, D i E enterotoksinima (Pelisser i sur., 2009).

Neki stafilokokni enterotoksini su toplinski stabilni i mogu preživjeti uobičajene procese kuhanja (uključujući vrenje), a aktivni toksini mogu biti prisutni u hrani u odsutnosti živih bakterija (HPA, 2009). Proizvodnja toksina počinje pri 10 °C pa bi čuvanje hrane na nižim temperaturama od ove trebalo spriječiti njihov razvoj (HPA; 2009). Intoksikacija nastaje nakon

unosu više od 20 ng toksina (kad broj *S. aureus* prijeđe  $10^5$  CFU/g prisutnost toksina je u količini oko 1 µg). Simptomi se javljaju nakon nekoliko sati (1-6) od unosa kontaminirane hrane, što ovisi o unesenoj količini i individualnoj osjetljivosti. Simptomi koji se javljaju su mučnina, povraćanje, grčevi u želucu i proljev, koji traju 24-48 sati. Iako vrlo rijedak, u male djece i starijih moguć je i smrtni ishod (Normanno i sur., 2007).

Mlijeko predstavlja dobar supstrat za rast *S. aureus*, kao i njegovi proizvodi, iz kojih ga se učestalo izolira (Normanno i sur., 2007; Pelisser i sur., 2009). Nadalje, trećina ljudi su asimptomatski nositelji, te se preko ruku (ranama ili ozljedama), kihanjem ili kašljanjem *S. aureus* može širiti. U slučaju neadekvatne higijene za vrijeme proizvodnog procesa, posebno u slučajevima neposrednog rukovanja s hranom u proizvodnji, otvaraju se mogućnosti za kontaminaciju bakterijom *S. aureus*, te se ona može očekivati i u mliječnim proizvodima od pasteriziranog i nepasteriziranog mlijeka (Medvedová i sur., 2014).

Također, stafilokokno trovanje hranom je prema literaturnim navodima tijekom posljednjih desetljeća često zabilježeno u Brazilu (Pereira i sur, 1994). Tako su Pereira i suradnici (1994) naveli slučaj stafilokoknog trovanja dvanaest osoba nakon konzumacije kremaste torte. Tom prilikom je bakterija *S. aureus* koja proizvodi enterotoksin A izolirana iz torte te nosa, noktiju i liječene rane na vratu osobe koja je rukovala hranom.

Sukladno podacima iz Epidemioloških vjesnika Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo, u RH nije bilo prijavljenih slučajeva isključivog trovanja stafilokokima porijeklom iz kolača u razdoblju 2014.-2020., ali je prijavljen slučaj u kojem je, uz stafilokoke, utvrđena prisutnost i noro virusa, fekalnih streptokoka i enterobakterija.

#### 2.2.4. Aerobne mezofilne bakterije

Aerobne mezofilne bakterije (AMB) su indikator higijene proizvodnog procesa i mikrobiološke kvalitete proizvoda, ili njegovog preostalog roka trajanja (El-Fadaly i sur, 2016; FSAI, 2016). Određivanje AMB u hrani ne može se koristiti za procjenu sigurnosti hrane, a ukupan broj AMB ovisi o vrsti i trajanju proizvodnog procesa te o načinu na koji se s hranom rukuje i pohranjuje. Do kontaminacije hrane mikroorganizmima može doći tijekom rezanja, pakiranja, porcioniranja i drugih postupaka rukovanja hranom. Stoga je važno provođenje dobre proizvođačke i higijenske prakse kako bi se mogućnost kontaminacije smanjila na minimum. Temperatura hlađenja za proizvode koji se moraju držati u hladnjaku, također utječe na rast mikroorganizama. Čuvanje hrane ispod 8 °C će u određenoj mjeri usporiti daljnji rast mikroorganizama i produžiti rok uporabe. Kako se vrijeme pohrane nastavlja, broj aerobnih bakterija se povećava, a do povećanja AMB će doći i ukoliko su temperature hlađenja slabo kontrolirane ili ako se hrana često vadi i ponovno vraća na hlađenje (HPA, 2009).

Stoga je kod prisustva većeg broja AMB važno identificirati tip mikroorganizma koji prevladava kako bi se u potpunosti moglo protumačiti značenje tako visokog broja bakterija. Laboratorijski testovi kao što su katalaza test, oksidaza test, kao i bojenje po Gramu, obično su dovoljni kako bi se postigla diferencijacija potrebna za interpretaciju rezultata (HPA, 2009).

### 2.2.5. *Enterobacteriaceae*

Obitelj *Enterobacteriaceae* (enterobakterije) pripadaju grupi gram negativnih bakterija koje ne tvore spore. Fakultativni su anaerobi (uz iznimku *Saccharobacter*, nekih sojeva *Yersinia* i *Erwinia*) i reduciraju nitrate u nitrite. U enterobakterije se ubraja veliki broj rodova: *Alterococcus*, *Arsenophonus*, *Brenneria*, *Buchnera*, *Budvicia*, *Buttiauxsella*, *Candidatus*, *Cedecea*, *Citrobacter*, *Cosenzaea*, *Cronobacter*, *Dickeya*, *Edwardsiella*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Escherichia*, *Ewingella*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Kluyvera*, *Leclercia*, *Leminorella*, *Moellerella*, *Morganella*, *Obesumbacterium*, *Pantoea*, *Pectobacterium*, *Photorhabdus*, *Plesiomonas*, *Pragia*, *Proteus*, *Providencia*, *Rahnella*, *Saccharobacter*, *Salmonella*, *Samsonia*, *Serratia*, *Shigella*, *Shimwellia*, *Sodalis*, *Tatumella*, *Thorsellia*, *Trabulsiella*, *Wigglesworthia*, *Xenorhabdus*, *Yersinia*. Ova obitelj uključuje i neke vrste koje se pojavljuju u okolišu u kojem se proizvodi hrana te ne predstavljaju nikakvu opasnost po ljudsko zdravlje. Od bakterija koje pripadaju ovoj obitelji kao uzročnici probavnih infekcija i intoksikacija značajni su: vrsta *Escherichia coli* te pripadnici rodova *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Citrobacter*, *Aerobacter*, *Providencia* i *Serratia*. Osim navedenih također postoje i drugi rodovi iz obitelji *Enterobacteriaceae* čiji se predstavnici mogu povezati s patogenim djelovanjem na ljude.

Inicijalna kontaminacija enterobakterijama u sirovoj hrani posljedica je kontaminacije u primarnoj proizvodnji. Daljnja kontaminacija enterobakterijama tijekom lanca proizvodnje hrane, može se i mora spriječiti provođenjem jednog od sustava osiguranja kvalitete i/ili sigurnosti hrane, kao što su dobra proizvođačka praksa (DPP) i HACCP (ILSI, 2011). Enterobakterije imaju sposobnost razmnožavanja u pojedinoj hrani, čak i za vrijeme pohrane u hladnom lancu, što otežava procjenu jer ne mora nužno značiti da je ta hrana inicijalno bila kontaminirana s tom količinom enterobakterija, odnosno da je njihov broj posljedica neadekvatne pohrane ili temperaturnog režima.

Zato praćenje enterobakterija u proizvodnom procesu predstavlja dobar indikator za cjelokupnu DPP kod same proizvodnje, ali analiza za vrijeme ili na kraju roka trajanja ne može se povezati s procesom proizvodnje.

Enterobakterije mogu dovesti do kvarenja različite hrane kao što su mlijeko, mliječni proizvodi, meso, meso peradi, riba, morski plodovi, povrće i drugo. Rast i metabolička aktivnost enterobakterija u hrani mogu dovesti do nastanka neprikladnih okusa, mirisa, promjena boje i drugih organoleptičkih promjena. One mogu biti posljedica enzimatske razgradnje proteina ili lipida, proizvodnje hlapljivih komponenti ili proizvodnje plinova (ILSI, 2011).

Analiza hrane na *Enterobacteriaceae* koristi se za procjenu statusa higijene hrane. Ova skupina bakterija uključuje vrste koje potječu iz crijevnog trakta životinja i ljudi, objekata i okoliša. Sve *Enterobacteriaceae* uništava termička obrada koja se koristi u proizvodnji hrane, ali i primjena odgovarajućih postupaka čišćenja koji učinkovito uklanjaju enterobakterije iz objekata, s opreme i radnih površina. Tako se u mliječnoj industriji za pasterizaciju koristi minimalna kombinacija vremena / temperature od 30 minuta na 63 °C, što uništava sve prisutne *Enterobacteriaceae* (ILSI, 2011). Njihova prisutnost u hrani koja je termički obrađena ukazuje na neadekvatno čišćenje i sanitaciju proizvodnog prostora, lošu kontrolu temperature

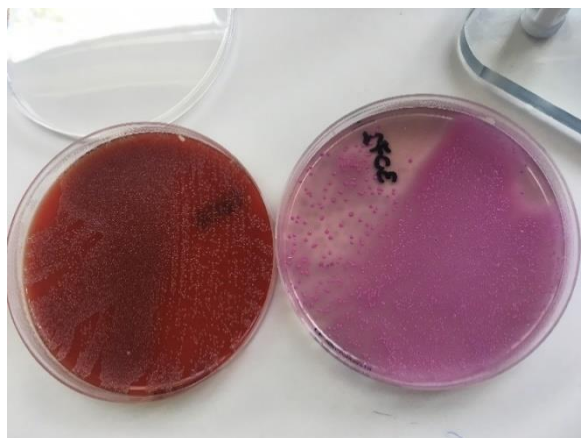


i vremena proizvodnje, neadekvatnu termičku obradu i/ili naknadnu kontaminaciju (FSAI, 2016), a može upućivati i na lošu osobnu higijenu radnika.

## 2.2.6. Bakterije iz obitelji *Enterobacteriaceae* utvrđene u uzorcima kolača u ovom istraživanju

### 2.2.6.1. *Klebsiella oxytoca*

Bakterije koje pripadaju rodu *Klebsiella* poznate su kao česti uzročnik bolničkih infekcija. Kao oportunistički patogeni, *Klebsiella* spp. primarno napadaju imunokompromitirane pojedince koji su hospitalizirani i boluju od teških bolesti kao što su dijabetes melitus ili kronična plućna opstrukcija (Podschn i Ullmann, 1998). Medicinski najvažnija vrsta *Klebsiella* je *Klebsiella pneumoniae* koja čini značajan udio bolničkih infekcija mokraćnog sustava, upale pluća, septikemije i infekcije mekih tkiva (Duraković i Duraković, 2001). U puno manjoj mjeri, iz humanih kliničkih uzoraka izolirana je bakterija *Klebsiella oxytoca* (Slika 1). *Klebsiella oxytoca* je gram-negativna, nekapsulirana, nepokretna štapičasta bakterija koja može rasti na 4 °C i 42 °C (Sakazaki i sur, 1989). Pronađena je u bolesnika s hemoragijskim kolitisom povezanim s antibioticima, ali se također mogla naći u stolici zdravih ispitanika (Högenauer i sur, 2006). Jedan je od čestih uzročnika infekcije mokraćnog sustava u bolesnika s transplantiranim bubregom (Ćosić i Ćosić, 2016). Procjenjuje se da *Klebsiella* spp. uzrokuju 8 % svih bolničkih bakterijskih infekcija u SAD-u i Europi. Do nedavno su se *K. pneumoniae* i *K. oxytoca* smatrale jedinim patogenim vrstama iz roda *Klebsiella*. Međutim, pokazalo se da se vrste *K. terrigena* i *K. planticola*, koje su se ranije smatrale "ekološkim" vrstama, pojavljuju u kliničkim uzorcima kod ljudi. Zbog opsežnog širenja sojeva otpornih na antibiotike, osobito beta laktamaze proširenog spektra ("extended spectrum betalactamases", eng. ESBL), ponovno se javlja zanimanje za infekcije uzrokovane ovim bakterijama (Podschn i Ullmann, 1998).



Slika 1. Porast bakterije *Klebsiella oxytoca* na krvnom i ljubičasto-crvenom žučno glukoznom agaru (Violet Red Bile Glucose Agar, VRBG agar)

(Izvor: Nastavni zavod za javno zdravstvo „Dr. Andrija Štampar“)

### 2.2.6.2. *Enterobacter asburiae*

Bakterije koje pripadaju rodu *Enterobacter* spp. su pokretne, aerobne, gram negativne, štapičaste bakterije. Mogu se lako izolirati iz kliničkih uzoraka, a biokemijski testovi ih lako razdvajaju od ostalih članova obitelji *Enterobacteriaceae*.

Poznate su kao patogeni od 1976. godine, kada je nakon izbijanja septikemije u 378 bolesnika iz 25 bolnica utvrđena njihova prisutnost u intravenskim otopinama (Maki i sur, 1976). Budući da se mogu razmnožavati u tekućinama koje sadrže glukozu, nastavljaju uzrokovati sporadične epidemije ovog tipa (Verschraegen i sur, 1988). Sveprisutne su u okolišu i mogu preživjeti na koži i suhim površinama te se razmnožavati u kontaminiranim tekućinama (Simmons i sur, 1989). *Enterobacter* spp. uzrokuju širok raspon bolničkih infekcija, uključujući one koje pogađaju pluća, urinarni trakt i intraabdominalnu šupljinu, a mogu se proširiti s pacijenta na pacijenta zbog nedovoljnog provođenja mjera kontrole infekcije, posebno pranja ruku. Opisana su brojna izbijanja bolesti, uključujući infekcije zbog kontaminiranih enteralnih obroka, ovlaživača i opreme za respiratornu terapiju (Villegas i sur, n.d.).

*Enterobacter asburiae* je pokretljiva, fakultativno anaerobna, nesporulirajuća gram negativna štapičasta bakterija (Hoffman i sur, 2005; Mardaneh i sur, 2014). Pripada novoj vrsti bakterija iz roda *Enterobacter*, a naziv je dobila u čast američkoj bakteriologinji Mary Alyce Fife Asbury, koja je dala važan doprinos taksonomiji obitelji *Enterobacteriaceae*. Oportunistički je patogen i uzrokuje različite bolesti u ljudi kao što su pneumonija, infekcije mekih tkiva, rana i druge infekcije. Može uzrokovati oportunističke infekcije kod imunokompromitiranih (obično hospitaliziranih) domaćina, a neki od izolata *E. asburiae* identificirani su kao humani patogeni (Mardaneh i sur, 2014).

Sojevi *E. asburiae* izolirani su iz različitih kliničkih i okolišnih uzoraka, kao što su urin, dišni putevi, stolica, rana, krv, endometrij, žučni mjehur, tlo i voda (Mardaneh i sur, 2014). Ovaj mikroorganizam također je izoliran i iz raznih usjeva poput pamuka, krastavca, graha i riže (Cooley i sur, 2003; Mardaneh i sur, 2014).

### 2.2.6.3. *Enterobacter cloacae*

Uobičajeni endogeni rezervoari za *E. cloacae* uključuju gastrointestinalni trakt kod zdravih odraslih osoba, a kod bolesnih i mokraćni i respiratorni trakt, kao i opekotine i kirurške rane. Ova bakterija je uz bakteriju *E. aerogenes* najčešći ljudski patogen koji uzrokuje infekcije kod imunokompromitiranih i hospitaliziranih bolesnika (Bejuk i sur, 2013). Također, jedan je od čestih uzročnika infekcije mokraćnog sustava u bolesnika s transplantiranim bubregom (Ćosić i Ćosić, 2016). *E. cloacae* izolirana je i iz fecesa novorođenčadi te je postala važna bolnička infekcija na neonatalnim i pedijatrijskim odjelima, osobito kod imunokompromitirane dojenčadi (Harbarth i sur, 1999). Može se naći u vodi, kanalizaciji, tlu i hrani (Duraković i Duraković, 2001; Shaker i sur, 2007; Nyenje i sur, 2012).

#### 2.2.6.4. *Enterobacter kobei*

*Enterobacter kobei* je pokretljiva, fakultativno anaerobna, gram negativna, oksidaza-negativna, fermentativna bakterija (Slika 2). Dobro raste na hranjivom i MacConkey agaru.

Fenotipske karakteristike *E. kobei* vrlo su slične onima *E. cloacae*, a jedini test za razlikovanje ovih bakterija je Voges Proskauer test (Kosako i sur, 1996).

Njeni sojevi izolirani su iz krvi, sekreta iskašljaja, grla i urina, a može se naći i u hrani. Međutim, nije sigurno postoji li klinički značaj ove bakterije (Kosako i sur, 1996).



Slika 2. Porast bakterije *E. kobei* na krvnom i *ljubičasto-crvenom* žučno glukoznom agaru (Violet Red Bile Glucose Agar, VRBG agar)

(Izvor: Nastavni zavod za javno zdravstvo „Dr. Andrija Štampar“)

#### 2.2.6.5. *Serratia liquefaciens*

*Serratia liquefaciens* prvotno je nazvana *Aerobacter liquefaciens*, a potom *Enterobacter liquefaciens* (Slika 3). Zbog svoje sličnosti s bakterijom *Serratia marcescens*, *E. liquefaciens* preimenovana je u *Serratia liquefaciens*. Iako je vrlo rijetko izolirana iz kliničkih uzoraka, *Serratia liquefaciens* uz *Serratia marcescens* čest je uzročnik bolničkih infekcija i infekcija kirurških rana (Eberl i sur, 1999; Mahlen, 2011).

Poznatiju bakteriju iz istog roda, *Serratia marcescens* povezuju s bolničkim infekcijama jer je nalaze u kateterima, otopinama soli za ispiranje i drugim otopinama koje se upotrebljavaju u bolnicama. Uzrokuje infekcije dišnih i mokraćnih puteva (Duraković S. i Duraković L., 2001).



Slika 3. Porast bakterije *Serratia liquefaciens* na krvnom i ljubičasto-crvenom žučno glukoznom agaru (Violet Red Bile Glucose Agar, VRBG agar)

(izvor: Nastavni zavod za javno zdravstvo „Dr. Andrija Štampar“)

#### 2.2.6.6. *Cedecea neteri*

Rod *Cedecea* je iznimno rijedak rod enterobakterija, a obuhvaća fakultativno anaerobne, nesporogene, gram negativne bacile koji pripadaju obitelji *Enterobacteriaceae*. Ime roda izvedeno je iz skraćenice Centra za kontrolu bolesti (CDC) gdje je rod prvi puta otkriven (Abate i sur, 2011). Ranije je klasificiran kao CDC Enterička skupina 15, a trenutno sadrži tri imenovane vrste (*Cedecea neteri*, *Cedecea lapagei* i *Cedecea davisae*) i dva neimenovane vrste (*Cedecea sp. 3* i *Cedecea sp. 5*) (Ginn i sur, 2018). Ovaj rod usko je povezan s rodom *Serratia*, ali članovi *Cedecea* ne hidroliziraju DNA ili želatinu (Biswai i sur, 2015). Pripadnici ovog roda rastu na hranjivom agaru pri 37 °C, formirajući konveksne kolonije promjera 1,5 mm. Mogu se naći u vodenom okolišu i u poljoprivrednoj prašini, zajedno s ostalim bakterijama iz obitelji *Enterobacteriaceae* (Liu, 2011). Nisu prijavljene da uzrokuju invazivnu infekciju zdravih pojedinaca, ali se smatraju oportunističkim patogenom zbog njihove kliničke izolacije kod ozbiljno imunokompromitiranih pacijenata (Ginn i sur, 2018).

Uglavnom se izoliraju iz kliničkog materijala, kao što su krv, sekret iskašljaja i bris rana. Klinički značaj im je još uvijek nepoznat, kao i uloga koju ovi sojevi mogu imati u humanim infekcijama (Liu, 2011). Infekcije uzrokovane rodom *Cedecea* teško se liječe zbog otpornosti na antimikrobne lijekove (Abate i sur, 2011).

Bakteriju *Cedecea neteri* najčešće povezuju s bakterijemijom, infekcijama rana i dišnih puteva (Berger, 2019). Do sada nisu dokazane infekcije u zdravih pojedinaca uzrokovane bakterijom *Cedecea neteri*. Ova bakterija ima patogeno djelovanje samo u teškim slučajevima imunodeficijencije te je kao uzročnik infekcija dokazana u samo tri klinička slučaja: kod bolesnika s valvularnom bolesti srca, kod pojedinca sa sistemskim eritemskim lupusom koji je

razvio akutni napad s bakterijemijom zbog *C. neteri* i pacijenta s infekcijom peritonitisa nakon abdominalne kirurgije. U onim slučajevima koji uključuju *C. neteri*, infekcija se brzo širi i izaziva životno ugrožavajuću situaciju. Ova bakterija pokazuje otpornost prema cefalosporinima druge generacije i penicilinu (Ginn i sur, 2018).

#### 2.2.6.7. *Buttiauxella warmboldiae* i *Buttiauxella gaviniae*

*Buttiauxella* spp. su gram-negativne, psihrotolerantne, fakultativno anaerobne, pokretljive štapićaste bakterije koje možemo naći u različitim staništima (Brenner i sur, 2007; Marzban i sur, 2016; Lauková i sur, 2018). Bakterije iz roda *Buttiauxella* dobro rastu na običnim podlogama pri temperaturama od 4 do 37 °C, a optimalna temperatura za rast im je između 30 i 36 °C (Falkow i sur, 2006). Rod *Buttiauxella* sadrži sedam vrsta: *B. agrestis*, *B. brennerae*, *B. ferragutiae*, *B. gaviniae*, *B. izardii*, *B. noackiae* i *B. warmboldiae*. Primarno stanište za većinu vrsta su školjke i puževi. Izolirane su i iz pitke vode, tla i glista (Falkow i sur, 2006; Brenner i sur, 2007), ali i iz slijepog crijeva, probavnog trakta (Lauková i sur, 2018), respiratornog trakta i rana (Falkow i sur, 2006), te iz morskih konzumnih riba (Macé i sur., 2021; Kolda i sur, 2020).

Ove bakterijske vrste povezuju se sa slučajevima infekcije urinarnog trakta (Berger, 2019). Međutim, klinički značaj *Buttiauxella* spp. još nije potpuno poznat (Lauková i sur, 2018).

#### 2.2.6.8. *Pantoea agglomerans*

*Pantoea agglomerans* je žuto pigmentirana, gram negativna, aerobna, štapićasta bakterija (Gavini i sur, 1989; Cruz i sur, 2007). U početku je prepoznata kao biljni patogen, a potom je identificirana i kao komenzalni i oportunistički patogen u ljudi i životinja. Najznačajnija je vrsta roda *Pantoea*, a najčešće je izolirana vrsta kod ljudi, što rezultira infekcijama mekih tkiva ili kostiju (zglobova). Neuobičajeni je uzrok infekcije u djece te je također česti uzročnik brojnih profesionalnih bolesti uzrokovanih djelovanjem proteina alergena i endotoksina koje proizvodi ovaj patogen (Cruz i sur, 2007; Büyükcem, 2017).

#### 2.2.6.9. *Raoultella*

Bakterije koje pripadaju rodu *Raoultella* su gram-negativne, aerobne, oksidaza-negativne i katalaza-pozitivne štapićaste patogene bakterije. Do 2001. godine ovaj rod je bio označen kao rod *Klebsiella* (klaster II; npr. *K. ornithinolytica*), ali nakon napretka u filogenetskim metodama, rod *Klebsiella* je revidiran u neovisni rod *Raoultella*, nazvan prema Didieru Raoultu, francuskom bakteriologu (Gajdács, 2019).

Rod *Raoultella* dijeli mnoge ekološke, biokemijske, kliničke i mikrobiološke značajke s rodom *Klebsiella*. S obzirom na nedostatak dostupne tehnologije za identifikaciju vrsta u kliničkoj mikrobiologiji, ove dvije vrste enterobakterija praktički se nije moglo razlikovati. Od kraja 2000-ih zabilježeno je u izvješćima povećanje broja infekcija ljudi s vrstama bakterija iz ovog roda, što se povezuje s uvođenjem preciznijih tehnika identifikacije u mikrobiološke laboratorije.

Osim navedenog porasta slučajeva ljudskih infekcija uzrokovanih bakterijama roda *Raoultella*, o epidemiologiji ovih infekcija zna se malo. Postoji tek manji broj dostupnih literaturnih podataka, prema kojima se uz ovu bakteriju povezuju slučajevi infekcije krvožilnog, urinarnog, probavnog i respiratornog sustava i/ili žučovoda (Gajdács, 2019; Appel i sur., 2021.).

*Raoultella planticola* utvrđena je u jednom uzorku mljevenog mesa koje je uzorkovano u trgovini u Etiopiji (Khater i sur., 2021), dok su u uzrocima salate spremne za konzumaciju uzorkovane u trgovini u istraživanju provedenom u Mozambiku pronađene *R. ornithinolytica* i *R. terrigena* (Manhique i sur. 2020.)

Rezultati višegodišnjeg istraživanja kliničkih uzoraka u centru za tercijarnu skrb u Mađarskoj, utvrdili su prosječno jednu izolaciju bakterija iz roda *Raoultella* svaka tri mjeseca u raznim kliničkim uzorcima (Gajdács, 2019). U istraživanju iz Etiopije, bakterija *Raoultella terrigena* izolirana je u 8,38 % slučajeva bolesnika iz urina, dok su *Raoultella planticola* i *Raoultella ornithinolytica* izolirane u 0,3 % i 0,15 % slučajeva bakterijemije u bolnici u Južnoj Koreji (Appel i sur., 2021). Gajdács (2019) navodi da su vrste bakterija iz roda *Raoultella* osjetljive na većinu antibiotika koji djeluju na gram-negativne bakterije, dok se  $\beta$ -laktamski antibiotici navode kao sigurna alternativa za terapiju.

### 2.2.7. Plijesni

Plijesni su mikroskopske micelijske gljivice koje žive na biljnom ili životinjskom materijalu. Procjenjuje se da postoji od desetak tisuća do 300 000 ili više vrsta plijesni. Proizvodnja spora je karakteristična općenito za gljive, a spore se mogu prenositi zrakom, vodom ili insektima (USDA, 2013).

Za razliku od bakterija koje su jednostanične, plijesni su višestanični eukarioti i često se mogu vidjeti kao paučinasta ili prašnjava prevlaka, ili u obliku velikih razgranatih vlaknastih stanica. Hrana kontaminirana plijesnima također može sadržavati i bakterije koje rastu zajedno s plijesnima. Neke plijesni uzrokuju alergijske reakcije i respiratorne probleme, a neke u odgovarajućim uvjetima proizvode mikotoksine koji mogu imati štetno djelovanje na zdravlje ljudi i životinja. Iako većina plijesni preferira toplije temperature, mogu rasti i na hladnijim temperaturama, a uglavnom rastu u temperaturnom rasponu 10-40 °C. Tolerantne su na sol i šećer, mogu preživjeti i u kiselom mediju, pa se mogu naći i u namirnicama poput džemova, želea, kiselih krastavaca, voća i rajčica (USDA, 2013).

## 2.3. Procjena izloženosti

### 2.3.1. Materijali i metode

2.3.1.1. Ispitivanje ispravnosti slastičarskih kolača u RH s obzirom na mikrobiološke kriterije u 2017. godini

#### Uzorkovanje

Istraživanje provedeno 2017. godine obuhvatilo je 230 pojedinačnih uzoraka slastičarskih kolača uzorkovanih na području Republike Hrvatske (100 uzoraka iz sjeverozapadne i istočne Hrvatske, 100 uzoraka iz Primorja i sjevernog dijela Dalmacije i 30 uzoraka iz grada Zagreba). Uzorkovanje slastica provedeno je od strane djelatnika Nastavnog zavoda za javno zdravstvo „Dr. Andrija Štampar“ i Centra za kontrolu namirnica Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, poštujući lanac hladnog transporta.

### Mikrobiološke analize

Svi uzorci slastičarskih kolača analizirani su na prisutnost *Salmonella* spp., *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* i plijesni, dok je 225 uzoraka analizirano na prisutnost AMB. Mikrobiološka ispitivanja provedena su u Nastavnom zavodu za javno zdravstvo „Dr. Andrija Štampar“ i Centru za kontrolu namirnica Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, koristeći međunarodno priznate ISO metode navedene u Tablici 4.

**Tablica 4.** Međunarodno priznate ISO metode korištene u istraživanju 2017. godine

Mikroorganizmi	Metoda
<b>Aerobne mezofilne bakterije</b>	HRN EN ISO 4833-1:2013 ili HRN EN ISO 4833-2:2013
<b><i>Enterobacteriaceae</i></b>	HRN ISO 21528-2:2017
<b><i>Salmonella</i> spp.</b>	HRN EN ISO 6579-1:2017
<b><i>Listeria monocytogenes</i></b>	HRN ISO 11290-2:2017
<b><i>Staphylococcus aureus</i></b>	HRN EN ISO 6888-1:2004
<b>Plijesni</b>	HRN ISO 21527-1:2012 i HRN ISO 21527-2:2012

2.3.1.2. Ispitivanje ispravnosti slastičarskih kolača u RH obzirom na broj i vrstu enterobakterija u 2018. godini

### Uzorkovanje

Istraživanje provedeno 2018. godine obuhvatilo je 201 uzorak slastičarskih kolača uzorkovanih na području grada Zagreba. Uzorkovanje slastičarskih kolača na području grada Zagreba provedeno je od strane Gradskog ureda za zdravstvo uz pomoć djelatnika Nastavnog zavoda za javno zdravstvo „Dr. Andrija Štampar“, poštujući hladni lanac transporta. Analiza slastičarskih kolača provedena je u Nastavnom zavodu za javno zdravstvo „Dr. Andrija Štampar“ i Centru za kontrolu namirnica Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

### Mikrobiološke analize

Slastičarski kolači analizirani su na prisutnost *Enterobacteriaceae* u skladu s međunarodno priznatom normom HRN ISO 21528-2:2017. U slučajevima kada su uzorci sadržavali broj enterobakterija veći od  $10^2$  CFU/g, uzeto je 5 nasumično odabranih poraslih bakterijskih kolonija koje su se pripremile za analizu MALDI-TOF metodom (VITEK<sup>®</sup> MS, Biomeriux)

pripremom lizata stanica i izolacijom proteina. MALDI-TOF metodom utvrđene su specifične vrste enterobakterija koje su bile prisutne u tom uzorku.

Ukoliko bi u takvom slučaju bila utvrđena samo jedna vrsta enterobakterija, pretpostavilo se da je to dominantna vrsta u uzorku.

Priprema uzorka za MALDI-TOF metodu započinje miješanjem ili oblaganjem uzorka kulture bakterija otopinom energetski apsorpcijskog organskog spoja zvanog matrica. Matrica se sušenjem kristalizira zajedno s uzorkom. Laserskom zrakom uzorak unutar matrice je ioniziran, a desorpcija i ionizacija stvaraju pojedinačne protone analita. Protoni se tada ubrzavaju pri fiksiranom potencijalu što uzrokuje njihovo razdvajanje na temelju mase i naboja. Zatim se nabijeni analit detektira i mjeri pomoću vremena koje je potrebno da ion pređe duljinu cijevi. Na temelju TOF podataka izrađuje se karakteristični spektar distribucije koji se interpretira pomoću baze podataka i preko 25000 opisanih spektara. Identifikacija mikroorganizama može se odrediti ne samo do roda, već i do razine vrste pa čak i soja.

### 2.3.1.3. Prehrambene navike

Podaci o potrošnji hrane u Republici Hrvatskoj dobiveni su iz istraživanja koje je provela Hrvatska agencija za hranu tijekom 2011. i 2012. godine, i to na nacionalnom, po dobi, spolu i regiji reprezentativnom uzorku. Istraživanje je obuhvatilo 2002 ispitanika u dobi od 18 do 64 godine. Koristio se intervju „licem u lice“ i metoda 24-satnog prisjećanja, u trajanju od 3 dana (dva radna dana i jedan dan vikenda), a podaci o učestalosti potrošnje pojedine hrane dobiveni su putem Upitnika o učestalosti konzumacije.

Podaci o potrošnji hrane izraženi su u gramima po danu (g/dan).

### 2.3.2. Rezultati

Rezultati istraživanja obrađeni su na način da su uzorci kolača podijeljeni na tri kategorije ovisno o sastavu: čokoladni, voćni i kremasti (Tablica 5). U čokoladne kolači ubrojili su se kolače koji su u svom sastavu sadržavali čokoladu, kao što su čokoladna torta, kolač od čokolade, brownie torta, Zagreb torta, sacher torta, mađarica itd. U voćne kolače svrstani su kolači koji su u svom sastavu ili preljevu sadržavali jednu ili više vrsta voća, kao što su Schwarzwald torta, voćna torta, torta od jagoda, cheesecake sa šumskim voćem, voćna beze torta, ledeni vjetar itd. Svi ostali kolači svrstani su u kategoriju kremastih kolača, kao što su krempita, tiramisu, cheesecake, jaffa torta, orah torta, lješnjak torta itd.

**Tablica 5.** Kategorizacija slastičarskih kolača obuhvaćenih tijekom istraživanja 2017. i 2018. godine

KOLAČI	2017. godina	2018. godina
Ukupan broj uzoraka	230	201
Čokoladni	54 (23,5 %)	31 (15,4 %)
Voćni	62 (27,0 %)	32 (15,9 %)
Kremasti	114 (49,6 %)	138 (68,7 %)



#### 4.3.2.1. Ispitivanje ispravnosti slastičarskih kolača u RH s obzirom na mikrobiološke kriterije - 2017.

U istraživanju provedenom 2017. godine analizirano je ukupno 230 uzoraka slastičarskih kolača (Tablica 5). Sa stajališta sigurnosti hrane, kolači su analizirani na prisutnost patogenih mikroorganizama te je utvrđeno da niti u jednom uzorku nisu bili prisutni patogeni mikroorganizami.

Sa stajališta higijene proizvodnje, kolači su analizirani na prisutnost AMB, enterobakterija, koagulaza pozitivnih stafilocoka (*Staphylococcus aureus*) i plijesni. Rezultati analiza utvrdili su da je 35,21 % uzoraka kolača imalo nezadovoljavajući rezultat s obzirom na broj AMB, a 33,04 % uzoraka s obzirom na broj enterobakterija. Također, 12,61 % uzoraka kolača imalo je nezadovoljavajući rezultat s obzirom na broj koagulaza pozitivnih stafilocoka (*Staphylococcus aureus*), a 4,37 % uzoraka s obzirom na broj plijesni.

Prema Vodiču o mikrobiološkim kriterijima (Ministarstvo poljoprivrede, 2011), nezadovoljavajući rezultat s obzirom na broj AMB se odnosio na uzorke u kojima je utvrđeno  $10^4$  CFU/g ili više bakterija (Tablica 6), a nezadovoljavajući rezultat s obzirom na broj enterobakterija odnosio se na kolače koji su sadržavali  $10^2$  CFU/g ili više bakterija (Tablica 7). Ukoliko je u uzorcima utvrđeno  $10$  CFU/g ili više koagulaza pozitivnih stafilocoka (*Staphylococcus aureus*) i plijesni, uzorci su se smatrali nezadovoljavajućima (Tablica 8, Tablica 9).

Rezultati analiza slastičarskih kolača na pojedine analizirane mikroorganizme s obzirom na kategorije kolača prikazani su u Tablicama 6 - 9.

**Tablica 6.** Rezultati ispitivanja na prisutnost aerobnih mezofilnih bakterija (%) u slastičarskim kolačima u 2017. g

Aerobne mezofilne bakterije (CFU/g)	<math>10^4</math>		<math>10^4-10^5</math>		<math>10^5-10^6</math>		<math>10^6-10^7</math>		<math>10^7-10^8</math>		<math>10^8-10^9</math>	
	*n	%	*n	%	*n	%	*n	%	*n	%	*n	%
Interpretacija	Zadovoljavajuće		Nezadovoljavajuće									
	*n	%	*n	%	*n	%	*n	%	*n	%	*n	%
Čokoladni	31	57,4	11	20,3	6	11,1	5	9,3	1	1,9	0	0
Voćni	30	48,4	10	16,1	11	17,7	6	9,7	4	6,5	1	1,6
Kremasti	66	58,0	17	14,9	12	10,5	14	12,3	3	2,6	2	1,7

\*n– broj uzoraka

**Tablica 7.** Rezultati ispitivanja na prisutnost *Enterobacteriaceae* (%) u slastičarskim kolačima u 2017. g

<i>Enterobacteriaceae</i> (CFU/g)	<10 <sup>2</sup>		10 <sup>2</sup> -10 <sup>3</sup>		10 <sup>3</sup> -10 <sup>4</sup>		10 <sup>4</sup> -10 <sup>5</sup>		10 <sup>5</sup> -10 <sup>6</sup>		10 <sup>6</sup> -10 <sup>7</sup>	
Interpretacija	Zadovoljavajuće		Nezadovoljavajuće									
	*n	%	*n	%	*n	%	*n	%	*n	%	*n	%
Čokoladni	32	59,3	7	13	8	14,8	2	3,7	5	9,3	0	0
Voćni	35	56,5	5	8,1	8	12,9	10	16,1	4	6,5	0	0
Kremasti	68	59,7	10	8,8	12	10,5	16	14,0	6	5,3	2	1,8

\*n – broj uzoraka

**Tablica 8.** Rezultati ispitivanja na prisutnost na *S. aureus* (%) u slastičarskim kolačima u 2017. g

<i>S. aureus</i> (CFU/g)	<10		10-10 <sup>2</sup>		10 <sup>2</sup> -10 <sup>3</sup>		10 <sup>3</sup> -10 <sup>4</sup>		>10 <sup>4</sup>			
Interpretacija	Zadovoljavajuće		Nezadovoljavajuće									
	*n	%	*n	%	*n	%	*n	%	*n	%		
Čokoladni	47	86,8	1	1,9	4	7,5	2	3,8	0	0		
Voćni	50	80,7	3	4,8	7	11,3	2	3,2	0	0		
Kremasti	102	89,5	0	0	11	9,6	1	0,9	0	0		

\*n – broj uzoraka

**Tablica 9.** Rezultati ispitivanja na prisutnost plijesni (%) u slastičarskim kolačima u 2017. g

Plijesni (CFU/g)	<10		10-10 <sup>2</sup>		10 <sup>2</sup> -10 <sup>3</sup>		10 <sup>3</sup> -10 <sup>4</sup>		>10 <sup>4</sup>	
	*n	%	*n	%	*n	%	*n	%	*n	%
Interpretacija	Zadovoljavajuće		Nezadovoljavajuće							
	*n	%	*n	%	*n	%	*n	%	*n	%
Čokoladni	49	90,6	0	0	4	7,5	1	1,9	0	0
Voćni	58	93,6	1	1,6	1	1,6	2	3,2	0	0
Kremasti	100	87,7	6	5,3	7	6,1	1	0,9	0	0

\*n – broj uzoraka

#### 4.3.2.2. Ispitivanje ispravnosti slastičarskih kolača u RH obzirom na broj i vrstu enterobakterija - 2018.

U istraživanju provedenom 2018. godine analizirano je ukupno 201 uzorak slastičarskih kolača te je u 24,4 % uzoraka utvrđen nezadovoljavajući rezultat s obzirom na broj enterobakterija. Iako su kremasti kolači bili zastupljeni u najvećem broju analiziranih uzoraka (tj. u 68,7 %), najviše nezadovoljavajućih rezultata s obzirom na broj enterobakterija utvrđeno je u uzorcima voćnih kolača (u 34,4 % uzoraka), te nešto manje u uzorcima čokoladnih (22,6 %) i kremastih kolača (22,5 %) (Tablica 10).

Unutar roda enterobakterija utvrđena je prisutnost 10 različitih vrsta (Tablica 11), od kojih je najčešće bilo utvrđeno prisustvo bakterije *Enterobacter kobei* (u 4,0 % uzoraka) (Tablica 12). Slijede *Enterobacter cloacae*, *Pantoea agglomerans* i *Serratia liquefaciens* koji su bili prisutni u 3,5 % uzoraka, te *Enterobacter asburiae* (2,5 %), *Klebsiella oxytoca* (2,5 %), *Buttiauxella gaviniae* (2,0 %) i *Buttiauxella warmboldiae* (1,5 %). *Raoultella* i *Cedecea neteri* bile su detektirane u najmanjem broju uzoraka tj. u 1,0 % odnosno 0,5 % uzorka (Tablica 12).

**Tablica 10.** Rezultati ispitivanja na prisutnost *Enterobacteriaceae* (%) u slastičarskim kolačima u 2018. g

<i>Enterobacteriaceae</i> (CFU/g)	<10 <sup>2</sup>		10 <sup>2</sup> -10 <sup>3</sup>		10 <sup>3</sup> -10 <sup>4</sup>		10 <sup>4</sup> -10 <sup>5</sup>		10 <sup>5</sup> -10 <sup>6</sup>		10 <sup>6</sup> -10 <sup>7</sup>		10 <sup>7</sup> -10 <sup>8</sup>		10 <sup>8</sup> -10 <sup>9</sup>		10 <sup>9</sup> -10 <sup>10</sup>		
	*n	%	*n	%	*n	%	*n	%	*n	%	*n	%	*n	%	*n	%	*n	%	
Interpretacija	Zadovoljavajuće		Nezadovoljavajuće																
	*n	%	*n	%	*n	%	*n	%	*n	%	*n	%	*n	%	*n	%	*n	%	
Čokoladni	24	77,4	0	0	4	12,3	2	6,5	0	0	0	0	0	0	0	1	3,2	0	0
Voćni	21	65,6	0	0	2	6,3	8	25	0	0	0	0	0	0	0	1	3,1	0	0
Kremasti	107	77,5	2	1,5	11	8,0	12	8,6	0	0	2	1,5	2	1,5	1	0,7	1	0,7	

\*n – broj uzoraka

**Tablica 11.** Povezanost vrsta enterobakterija, utvrđenih u ovom istraživanju, s pojavom infekcija

Vrsta bakterije	Vrsta infekcije	Izolirana iz hrane	Izolirana iz ljudi	Humani patogen	Literaturni izvor
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Bolnička infekcija	Da	Da	Da	Adegoke i Babalola, 1988; Sakazaki i sur, 1989; Högenauer i sur, 2006; Ćosić i Ćosić, 2016
<i>Enterobacter asburiae</i>	Bolnička infekcija	Da	Da	Da	Mardaneh i sur, 2014; Cooley i sur, 2003
<i>Enterobacter cloacae</i>	Bolnička infekcija	Da (voda)	Da	Da	Harbarth i sur, 1999; Duraković i Duraković, 2001; Shaker i sur, 2007; Nyenje i sur, 2012; Bejuk i sur, 2013
<i>Enterobacter kobei</i>	Nije opisano	Da	Da	Nije opisano	Kosako i sur, 1996
<i>Serratia liquefaciens</i>	Bolnička infekcija	Da	Da	Da	Gram i sur, 1999; Eberl i sur, 1999; Mahlen, 2011; Duraković i Duraković, 2001
<i>Cedecea neteri</i>	Bolnička infekcija (imunokompromitiranih pacijenata)	Nije opisano	Da	Da	Liu, 2011; Ginn i sur, 2018; Berger, 2019
<i>Buttiauxella warmboldiae</i>	Nije opisano	Da (voda, školjke, puževi)	Da	Nije opisano	Falkow i sur, 2006; Brenner i sur, 2007; Lauková i sur, 2018
<i>Buttiauxella gaviniae</i>	Nije opisano	Da	Da	Nije opisano	Macé i sur, 2011; Berger, 2019; Lauková i sur, 2018
<i>Pantoea agglomerans</i>	Nije opisano	Da	Da	Da	Asis i Adachi, 2003; Cruz i sur, 2007; Büyükcem, 2017
<i>Raoultella</i>	Bolnička infekcija	Da	Da	DA	Gajdács, 2019 Manhique i sur. 2020 Khater i sur., 2021 Appel i sur., 2021

Tablica 12. Vrste enterobakterija utvrđene u pojedinim kategorijama kolača

Vrsta enterobakterija	Udio u odnosu na ukupan broj uzoraka		Udio u odnosu na ukupan broj uzoraka					
			Čokoladni		Voćni		Kremasti	
	*n	%	*n	%	*n	%	*n	%
<i>Enterobacter kobei</i>	8	4,0	0	0	1	3,1	7	5,1
<i>Enterobacter cloacae</i>	7	3,5	0	0	2	6,3	5	3,6
<i>Pantoea agglomerans</i>	7	3,5	1	3,2	1	3,1	5	3,6
<i>Serratia liquefaciens</i>	7	3,5	1	3,2	2	3,1	4	2,9
<i>Enterobacter asburiae</i>	5	2,5	2	6,4	1	6,3	2	1,5
<i>Klebsiella oxytoca</i>	5	2,5	2	6,4	0	0	3	2,2
<i>Buttiauxella gaviniae</i>	4	2,0	0	0	3	9,4	1	0,7
<i>Buttiauxella warmboldiae</i>	3	1,5	0	0	1	3,1	2	1,5
<i>Raoultella</i>	2	1,0	0	0	0	0	2	1,5
<i>Cedecea neteri</i>	1	0,5	1	3,2	0	0	0	0

\*n – broj uzoraka

U uzorcima kolača s povećanim brojem enterobakterija MALDI-TOF metodom utvrđena je po jedna vrsta enterobakterija što upućuje na pretpostavku kako je baš ta vrsta bila dominantna u tom uzorku, ali ne nužno i jedina vrsta (Tablica 13). U Tablici 13. prikazan je raspon rezultata utvrđenih CFU/g za enterobakterije u kojima je određena pojedina vrsta enterobakterija. Iz dobivenih se rezultata može zaključiti da se pri podjednakim vrijednostima za ukupni broj enterobakterija mogu utvrditi različite vrste, odnosno da ukupan broj ne ukazuje o kojoj se dominantnoj vrsti radi.

**Tablica 13.** Vrste enterobakterija određene u slučaju povećanog broja enterobakterija

Vrsta enterobakterija	Broj enterobakterija (CFU/g)
<i>Enterobacter kobei</i>	$5 \times 10^2 - 10^9$
<i>Enterobacter cloacae</i>	$1,5 \times 10^3 - 4 \times 10^4$
<i>Pantoea agglomerans</i>	$2 \times 10^3 - 10^6$
<i>Serratia liquefaciens</i>	$2 \times 10^3 - 10^8$
<i>Enterobacter asburiae</i>	$8 \times 10^3 - 5 \times 10^4$
<i>Klebsiella oxytoca</i>	$4 \times 10^2 - 6 \times 10^4$
<i>Buttiauxella gaviniae</i>	$3,8 \times 10^4 - 10^8$
<i>Buttiauxella warmboldiae</i>	$3 \times 10^3 - 3,5 \times 10^4$
<i>Raoultella</i>	$4 \times 10^3 - 10^4$
<i>Cedecea neteri</i>	$2,5 \times 10^3$

#### 2.4. Karakterizacija rizika

Istraživanje kontaminacije slastičarskih kolača s obzirom na mikrobiološke kriterije obuhvatilo je analize slastičarskih kolača na prisutnost AMB, *Salmonella* spp., *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* i plijesni. Slastičarski kolači su zbog različitog sastava podijeljeni na tri kategorije: voćni, čokoladni i kremasti (Tablica 5).

Analizom kolača provedenom 2017. godine nisu bile utvrđene prisutnosti bakterija iz roda *Salmonella* kao ni bakterija *L. monocytogenes* ni u jednoj kategoriji kolača. Utvrđeno je prisustvo AMB, enterobakterija, koagulaza pozitivnih stafilokoka (*Staphylococcus aureus*) i plijesni (Tablica 6 – 9). Prisutnost AMB (Tablica 6) iznad  $10^4$  CFU/g utvrđena je u 42,6 % čokoladnih, 51,6 % voćnih i 43 % kremastih kolača. Broj AMB se ne koristi za procjenu

sigurnosti proizvoda, već se koristiti kao kriterij za donošenje zaključka o higijeni proizvodnog procesa. Stoga bi SPH trebao istražiti uzrok povećanog broja ovih bakterija i poduzeti mjere kao dio svojih postupaka temeljenih na HACCP i DHP kao što su, primjerice, adekvatne higijenske mjere, kontrola vremena / temperature kuhanja i hlađenja kolača, održavanje hladnog lanca tijekom transporta s ciljem osiguranja odgovarajuće toplinske obrade tj. odgovarajućeg hlađenja kako broj AMB ne bi prelazio  $10^4$  CFU/g.

Prisustvo nezadovoljavajućeg broja enterobakterija utvrđeno je u manjem broju uzoraka 2018. godine u odnosu na 2017. godinu, najčešće u voćnim kolačima. Kako su u 2018. godini uzorkovanja provedena u Zagrebu, može se zaključiti da je postupanje u skladu s DHP u tom dijelu Hrvatske nešto bolje u odnosu na prosječne rezultate dobivene iz različitih dijelova RH u istraživanju iz 2017. U sve tri kategorije kolača nije primijećeno značajnije odstupanje u odnosu na utvrđeni broj enterobakterija, iz čega se ne može zaključiti je li pojedini sastojak po kojem se kolači razlikuju, više odnosno manje doprinio kontaminaciji (Tablica 7, Tablica 10).

Analiza rezultata istraživanja utvrdila je da kontaminacija kolača bakterijom *S. aureus* nije prelazila  $10^5$  CFU/g, stoga se rizik od nastanka enterotoksina u količini dovoljnoj za uzrokovanje simptoma bolesti može smatrati zanemarivim (HPA, 2009). Broj bakterija *S. aureus* nije dokazan ( $< 10$  CFU/g) u 87 % čokoladnih, 80,6 % voćnih i 89,5 % kremastih kolača (Tablica 8). U 90,7 % čokoladnih, 93,5 % voćnih i 87,7 % kremastih kolača nisu utvrđene plijesni ( $< 10$  CFU/g; Tablica 9).

U istraživanju provedenom 2017. godine, u slastičarskim kolačima nisu utvrđene patogene bakterije čije bi prisustvo moglo imati štetan utjecaj na zdravlje te nije bilo potrebe za izradom karakterizacije rizika za dobivene rezultate. Nastavak istraživanja usmjeren je na detaljniju analizu vrsta enterobakterija, budući da je u nekim uzorcima utvrđen njihov prilično visok broj. Tako je u 2018. godini ponovljeno uzorkovanje kolača na području Grada Zagreba i, u slučaju povećanog broja enterobakterija u slastičarskim kolačima, napravljena determinacija vrsta iz obitelji *Enterobacteriaceae* te je pregledom literature utvrđeno postoji li podatak o njihovoj patogenosti. Budući da su za neke od njih utvrđeni slučajevi izazivanja bolesti, ali pod okolnostima koje su drugačije od prijenosa mogućeg slastičarskim kolačima, ili hranom općenito, te su bakterije opisane kao potencijalno patogene i rizik nije prikazan kroz štetni utjecaj na zdravlje, već kao rizik od moguće izloženosti tim bakterijama u slučaju konzumacije slastičarskih kolača.

Prema podacima istraživanja o prehranbenim navikama (HAPIH, 2011.-2012.), kremasti kolači su ujedno i kategorija kolača koja se najčešće konzumira u RH. Rezultati istraživanja također su utvrdili da žene češće konzumiraju kremaste kolače od muškaraca te da sve dobne skupine odrasle populacije podjednako konzumiraju kremaste kolače. Također, muškarci i žene konzumiraju podjednaku prosječnu količinu kremastih kolača, a dobna skupina koja ih konzumira u najvećoj količini je od 50 do 64 godine (Tablica 11). Prema podacima istog istraživanja, muškarci konzumiraju voćne kolače u najvećem prosječnom unosu, iako se ova vrsta kolača najrjeđe konzumira u RH. Veći postotak žena konzumira kremaste, voćne i čokoladne kolače u odnosu na muškarce, dok s druge strane muškarci imaju veći prosječni unos kolača od žena, osim kremastih. Kremaste i čokoladne kolače najčešće i u najvećoj količini konzumira dobna skupina od 18 do 33 godina, dok voćne kolače najčešće konzumira ista dobna skupina, ali se najveća količina konzumira u dobnoj skupini od 34 do 49 godina.



Kremaste kolače konzumira 4,8 % žena i 3,7 % muškaraca u populaciji, dok se voćni i čokoladni konzumiraju manje od 2 % i u populaciji žena i muškaraca. Kremasti kolači se podjednako konzumiraju u sve tri dobne skupine (2,7-2,9 % populacije), a voćni i čokoladni najviše u dobnoj skupini 18-33 godine (1,0 tj. 1,5 %). S obzirom na mali broj rezultata za trudnice (ukupno šest) oni se ne mogu smatrati značajnima za statističku obradu (Tablica 14).

**Tablica 14.** Prosječna dnevna konzumacija kolača u RH\*

Vrsta kolača	% konzumenata u populaciji (**) / prosječna konzumacija (g)					
	Ukupno	Prikaz po spolu		Prikaz po dobi		
		Muškarci	Žene	18-33 god	34-49 god	50-64 god
Kremasti	8,6 / 173,6	3,7 (7,6) / 171,4	4,8 (9,5) / 175,2	2,9 (8,8) / 174,2	2,8 (8,6) / 162,0	2,7 (8,3) / 185,1
Voćni	2,6 / 209,2	0,8 (1,5) / 259,0	1,8 (3,4) / 187,9	1,0 (3,2) / /191,8	0,8 (2,4) / 257,5	0,6 (2,0) / 178,1
Čokoladni	3,3 / 171,1	1,3 (2,7) / 210,5	1,9 (3,8) / /144,7	1,5 (4,6) / /187,9	0,8 (2,4) / 163,4	0,9 (2,7) / 148,9

\*HAPIH, Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu (2011; 2012): Prehrambene navike odrasle populacije u RH (interna baza podataka)

(\*\*) = udio konzumenata u specficiranoj populaciji

Rezultati analiza slastičarskih kolača na broj i vrstu enterobakterija u 2018. godini ukazali su na prisutnost određenih vrsta bakterija iz obitelji enterobakterija, koje nisu navedene u Uredbi 2073/2005. U 22,5 % kremastih i 22,6 % čokoladnih, te u 34,4 % voćnih kolača detektiran je broj enterobakterija iznad  $10^2$  CFU/g (Tablica 13), i u tim su uzorcima identificirane bakterijske vrste MALDI-TOF metodom. Utvrđene bakterijske vrste navedene su u Tablicama 11, 12 i 13.

*K. oxytoca* nije utvrđena u voćnim kolačima, dok je u čokoladnim bila prisutna u 6,4 %, a u kremastim u 2,2 % slučajeva (Tablica 12). Ova se bakterija ubraja u humane patogene, i opisuje kao uzročnik bolničkih infekcija, a pronađeni su podaci da je izolirana iz dvije vrste nigerijskih jela (Adegoke i Babalola, 1988). Međutim, nisu pronađeni podaci da je hrana bila izvor infekcije.

*E. asburiae* utvrđen je u čokoladnim (6,4 %), voćnim (3,1 %) i kremastim (1,5 %) kolačima. *E. kobei* i *E. cloacae* nisu utvrđeni u čokoladnim kolačima, ali su bile prisutne u 3,1 i 6,3 % voćnih te 5,1 i 3,6 % kremastih kolača (Tablica 12). Ove se bakterije ubrajaju u humane patogene, te se *E. asburiae* i *E. cloacae* opisuju kao uzročnici bolničkih infekcija. *E. asburiae*, *E. kobei* i *E. cloacae* izolirani su iz hrane, a *E. cloacae* i iz vode, adaptiranog mlijeka i RTE hrane, ali nema podataka da je hrana odnosno voda bila izvor infekcije.

*S. liquefaciens* utvrđena je u čokoladnim (3,2 %), voćnim (6,3 %) i kremastim (2,9 %) kolačima (Tablica 12). Ova se bakterija ubraja u humane patogene i opisuje kao uzročnik bolničkih infekcija. Pronađen je podatak da je izolirana iz vakumiranog ohlađenog mesa (Gram i sur, 1999), ali nema podataka da je hrana bila izvor infekcije.

*C. neteri* utvrđena je samo u čokoladnim kolačima u 3,2 % slučajeva (Tablica 12). Ova se bakterija ubraja u humane patogene i opisuje kao uzročnik bolničkih infekcija, uglavnom kod imunokompromitiranih osoba. Nisu pronađeni podaci da je izolirana iz hrane niti da je hrana bila izvor infekcije.

*B. warmboldiae* i *B. gaviniae* nisu utvrđene u čokoladnim kolačima, a u voćnim su bile prisutne u 3,2 % i 9,4 %, te u kremastim u 1,5 % i 0,7 % slučajeva (Tablica 12). Za ove bakterije nisu pronađeni podaci o patogenosti za ljude, ali postoje podaci da su izolirane iz ljudi. Također nisu opisane bolničke infekcije uzrokovane ovim bakterijama. Za *B. gaviniae* pronađen je podatak da je izolirana iz sirovog lososa (Macé i sur, 2011), dok je *B. warmboldiae* izolirana iz vode, školjaka i puževa, međutim nema podataka da su hrana ili voda bili izvor infekcije ovim vrstama bakterija.

*P. agglomerans* utvrđena je u čokoladnim (3,2 %), voćnim (3,1 %) i kremastim (3,6 %) kolačima (Tablica 12). Ova se bakterija ubraja u humane patogene, ali nije opisana kao uzročnik bolničkih infekcija. Izolirana je iz ljudi. Pronađen je podatak da je izolirana iz korijena japanskog slatkog krumpira (Asis i Adachi, 2003), ali nisu pronađeni podaci da je hrana bila izvor infekcije.

Bakterije iz roda *Raoultella* utvrđene su u 1,5 % kremastih kolača (Tablica 12). Bakterije iz ovog roda opisane su kao humani patogeni u bolničkim infekcijama, te su utvrđeni u uzorcima hrane, mljevenom mesu i salatama spremnim za konzumaciju (Gajdács, 2019; Manhique i sur. 2020; Khater i sur., 2021; Appel i sur., 2021).

S obzirom da za pojedine vrste enterobakterija nisu pronađeni podaci o njihovoj prisutnosti u hrani ili da je hrana bila izvor infekcije za ljude, čak i uz pretpostavku da takve situacije ipak postoje, može se zaključiti da se radi o iznimno rijetkim slučajevima.

S obzirom na prisustvo enterobakterija i udio populacije koja konzumira slastičarske kolače, napravljena je kvalitativna kategorizacija rizika od eventualnog štetnog utjecaja na zdravlje nakon njihove konzumacije (Tablica 15). U smislu ove kategorizacije, enterobakterije se odnose na vrste koje su utvrđene ovim istraživanjem.

**Tablica 15.** Rizik od izloženosti enterobakterijama u slastičarskim kolačima

VJEROJATNOST KONZUMACIJE U POPULACIJI	PRISUTNOST ENTEROBAKTERIJA			
	ZANEMARIV	NIZAK	SREDNJI	VISOK
ZANEMARIV	ZANEMARIV	NIZAK	NIZAK	NIZAK
NIZAK	ZANEMARIV	NIZAK	SREDNJI	SREDNJI
SREDNJI	ZANEMARIV	SREDNJI	SREDNJI	VISOK
VISOK	ZANEMARIV	SREDNJI	VISOK	VISOK

**Kategorija prisutnosti utvrđenih enterobakterija (uzoraka kolača sadrži enterobakterije u odnosu na ukupan broj uzoraka prema Tablici 12):**

Zanemariv ... 0-0,1 %

Nizak ... 0,11-1%

Srednji ... 1,1-5%

Visok ... >5 %

**Kategorija vjerojatnosti konzumacije u populaciji (udio populacije koji konzumira slastičarske kolače prema Tablici 14):**

Zanemariv ... 0-0,1 %

Nizak ... 0,11-1%

Srednji ... 1,1-5%

Visok ... >5 %

### Procjena izloženosti enterobakterijama u slastičarskim kolačima

S obzirom na udio konzumenata čokoladnih kolača u populaciji, za osobe dobne kategorije 34-49 i 50-64 godina prisutna je niska vjerojatnost konzumacije, dok je za žene i muškarce, te dobnu kategoriju 18-33 godina srednja vjerojatnost konzumacije. Od utvrđenih vrsta enterobakterija zanemariva prisutnost patogena utvrđena je za *E. kobei*, *E. cloacae*, *B. gaviniae*, *B. warmboldiae* i bakterije iz roda *Raoultella*, te je rizik izloženosti zanemariv. Prisutnost za *P. agglomerans*, *S. liquefaciens*, *C. neteri* je srednja, te je izloženost srednja, dok je za ostale vrste enterobakterija prisutnost visoka, te je i rizik izloženosti srednji do visok (Tablica 12, 14 i 15).

S obzirom na udio konzumenata voćnih kolača u populaciji, koji se za muškarce, te u svim dobnim kategorijama kreće od 0,6 do 1,0 %, dakle do granice od 1,1 %, za taj udio predviđena je niska vjerojatnost konzumacije, dok je u populaciji žena udio konzumacije voćnih kolača 1,8 %, te je vjerojatnost konzumacije srednja. Od utvrđenih vrsta enterobakterija zanemariva prisutnost patogena utvrđena je za *K. oxytoca*, *C. neteri* i bakterije iz roda *Raoultella*, te je rizik izloženosti zanemariv. Prisutnost za *E. kobei*, *E. asburiae*, *P. agglomerans*, *B. warmboldiae* je srednja, te je izloženost srednja, dok je za ostale vrste enterobakterija prisutnost visoka, te je i rizik izloženosti srednji do visok (Tablica 12, 14 i 15).

S obzirom na udio konzumenata kremastih kolača u populaciji, koji se za žene i muškarce, te u svim dobnim kategorijama kreće od 2,8 do 4,9 %, dakle ispod granice od 5 %, za taj udio predviđena je srednja vjerojatnost konzumacije. Od utvrđenih vrsta enterobakterija zanemariva prisutnost patogena utvrđena je za *C. neteri*, te je rizik izloženosti zanemariv. Prisutnost za *B. gaviniae* je niska, te je izloženost srednja, za *E. kobei* je visoka i rizik izloženosti je visok, dok je za ostale vrste enterobakterija prisutnost srednja, te je i rizik izloženosti srednji (Tablica 12, 14 i 15).

### 3. Zaključci

Rezultati mikrobioloških analiza slastičarskih kolača pokazali su da niti u jednom uzorku slastičarskih kolača analiziranih 2017. i 2018. godine nije dokazana prisutnost patogenih mikroorganizama, dok je u većem broju kolača 2017. godine utvrđena prisutnost nezadovoljavajućeg broja AMB, enterobakterija i bakterije *S. aureus*. Rezultati istraživanja za bakterije *S. aureus* nisu prelazili  $10^5$  CFU/g, pa se rizik od nastanka količine enterotoksina dovoljne za uzrokovanje simptoma bolesti može smatrati zanemarivim.

Prisutnost povećanog broja enterobakterija, AMB i bakterije *S. aureus* u ovom istraživanju upućuju na nezadovoljavajuće provođenje dobre higijenske prakse, kao što je korištenje onečišćene sirovine ili nezadovoljavajuća obrada i neprikladna kontrola vremena/temperature tijekom skladištenja i distribucije.

Rezultati analiza slastičarskih kolača utvrdili su u 22,5 % kremastih, 22,6 % čokoladnih, te 34,4 % voćnih kolača prisutnost broja enterobakterija iznad  $10^2$  CFU/g, a MALDI-TOF metodom identificirano je prisustvo deset vrsta iz obitelji enterobakterija, od kojih je nešto više od polovine, u znanstvenoj literaturi opisano kao humani patogeni. Sposobnost izazivanja bolničkih infekcija opisana je kod *E. cloacae*, *S. liquefaciens*, *E. asburiae*, *K. oxytoca*, *C. neteri* i bakterija iz roda *Raoultella*.

Pregledom postojeće literature, kako je opisano u poglavlju Karakterizacija opasnosti, uočeno je kako su vrste enterobakterija, utvrđene u ovom istraživanju, izolirane iz ljudi, dok su iz hrane (voda) izolirane *E. kobei*, *E. cloacae*, *P. agglomerans*, *E. asburiae*, *B. warmboldiae* i bakterije iz roda *Raoultella*. Međutim, niti za jednu od vrsta enterobakterija utvrđenih u ovom istraživanju nije pronađen literaturni navod prema kojem je bolest uzrokovana ovim patogenima bila porijeklom iz hrane. Čak i uz pretpostavku da takve situacije ipak postoje, može se zaključiti da se radi o iznimno rijetkim slučajevima.

Srednji do visok rizik izloženosti utvrđen je za enterobakterije *E. asburiae* i *K. oxytoca* u čokoladnim kolačima, za *E. cloacae*, *S. liquefaciens* i *B. gaviniae* u voćnim kolačima i za *E. kobei*, *E. cloacae*, *P. agglomerans*, *S. liquefaciens*, *E. asburiae*, *K. oxytoca*, *B. warmboldiae* i bakterije iz roda *Raoultella* u kremastim kolačima. Rizik izloženosti ne znači i rizik od oboljenja jer kako je navedeno u odjeljku iznad, nije pronađen literaturni navod da su ovi patogeni preneseni hranom tj. nije bila porijeklom iz hrane. Za neke vrste enterobakterija koje su u ovom istraživanju utvrđene u kolačima (hrani), nije pronađen literaturni navod koji bi potvrdio njihovu prisutnost u hrani. To se odnosi na *P. agglomerans*, *S. liquefaciens*, *K. oxytoca*, *B. gaviniae*, bakterije iz roda *Raoultella* i *C. neteri*.

#### 4. Preporuke

U slučaju povećanog broja enterobakterija, hranu je potrebno dodatno analizirati na prisutnost patogena i nakon toga procijeniti njezinu sigurnost.

Procjena rezultata testiranja na enterobakterije mora se provoditi s obzirom na vrstu hrane koja je testirana (osobito važno za hranu biljnog podrijetla zbog prirodne povezanosti koja postoji s enterobakterijama).

SPH morali bi utvrditi razlog nastanka nezadovoljavajućeg rezultata i provesti nužne aktivnosti kojima se osigurava da broj enterobakterija u sljedećim proizvodnim lotovima bude zadovoljavajući (pregledati vrijeme i temperaturu kuhanja, pregledati vrijeme i temperaturu hlađenja, pregledati izbor i porijeklo ulazne sirovine, pregledati procese čišćenja i dezinfekcije, pregledati higijenu osoblja, pregledati provođenje edukacije zaposlenika, revidirati procedure DHP i HACCP-a i slično).

Potrebno je kontinuirano provoditi edukacije djelatnika, te pratiti tehnološka dostignuća za tu vrstu proizvodnje.

Kako bi se utvrdila povezanost prisutnosti enterobakterija utvrđenih u ovom istraživanju i njihovog štetnog utjecaja na zdravlje ljudi, potrebno je u slučajevima obolijevanja ljudi prijavljivati i evidentirati rezultate mikrobioloških analiza te provoditi epidemiološke istrage.

## Literatura

Abate G, Qureshi S, Mazumder SA (2011): *Cedecea davisae* bacteremia in a neutropenic patient with acute myeloid leukemia. *Journal of Infection*, 63:83–85.

Adegoke GO, Babalol AK (1988): Characteristics of micro-organisms of importance in the fermentation of fufu and ogi-two Nigerian foods. *Journal of Applied Bacteriology*, 65:449-453.

Al-Jafaeri SM, Madi NS, Nahaisi MH (2013): Incidence of Pathogenic Bacteria in Cakes and Tarts Displayed for Sale in Tripoli, Libya. *International Journal of Nutrition and Food Engineering*, 7.

Appel TM, Quijano-Martínez N, De La Cadena E, Mojica MF and Villegas MV (2021) Microbiological and Clinical Aspects of *Raoultella* spp. *Front. Public Health* 9:686789. doi: 10.3389/fpubh.2021.686789

Asis CA, Adachi K (2003): Isolation of endophytic diazotroph *Pantoea agglomerans* and nondiazotroph *Enterobacter asburiae* from sweetpotato stem in Japan. *Letters in Applied Microbiology*, 38:19–23.

Bejuk D, Novkoski M, Juranko V, Prajdić-Predrijevac D, Todorić N, Mikačić I, Gužvinec M, Tambić Andrašević A (2013): Prikaz rijetko viđenog oblika otpornosti na karbapeneme u vrste *Enterobacter Cloacae*. *Liječnički vjesnik*, 135:316-321.

Berger S (2019): Guide to Medically Important Bacteria: 2019 edition, Gideon Informatics.

Brenner DJ, Krieg NR, Staley JR (2007): *Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology: Volume 2: The Proteobacteria, Part B: The Gammaproteobacteria*. Springer Science & Business Media.

Bryan FL (1976): Public Health Aspects of Cream-filled Pastries. A Review. *J. Milk Food Technol.* 39:289-296.

Büyükcama A, Tuncerb O, Gürb D, Sancakb B, Ceyhana M, Cengiza AB, Kara A (2017): Clinical and microbiological characteristics of *Pantoea agglomerans* infection in children. *Journal of Infection and Public Health*.

Calvert N, Murphy L, Smith A, Copeland D, Knowles M (2006): A hotel-based outbreak of *Salmonella* Enterica subsp. Enterica serovar Enteritidis (*Salmonella* Enteritidis) in the United Kingdom, 2006. *Eurosurveillance*, 12:44-47.

Camps N, Domínguez A, Company M, Pérez Rez M, Pardos J, Llobet T, Usera MA, Salleras L (2005): A foodborne outbreak of *Salmonella* infection due to overproduction of egg-containing foods for a festival. *Epidemiol. Infect.* 133:817-822.

CDPH, Communicable Disease and Public Health (2000): Guidelines for the microbiological quality of some ready-to-eat foods sampled at the point of sale. Communicable Disease and Public Health, London.

Chaudhari SN, Palve SB, Choudhari KR, Pawar DH, Gaikwad SS (2017): Microbial Analysis of Ragi Cake Base Stored at Room Temperature without Added Chemical Preservative. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci.* 6:3519-3525.

Cooley MB, Miller WG, Mandrell RE (2003): Colonization of *Arabidopsis thaliana* with *Salmonella enterica* and enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 and competition by *Enterobacter asburiae*. *Applied And Environmental Microbiology*, 8:4915–4926.

Cruz AT, Cazacu AC, Allen CH (2007): *Pantoea agglomerans*, a Plant Pathogen Causing Human Disease. *Journal Of Clinical Microbiology*, 1989–1992.

Ćosić I, Ćosić V (2016) Komplicirane infekcije mokraćnog sustava u odraslih. *Acta Med Croatica*, 70:249-255.

D'Aoust JY (1994): *Salmonella* and the international food trade. *International Journal of Food Microbiology*, 24:11-31.

D'Aoust JY (2001): *Salmonella*. U: *Guide to Food-borne Pathogens*. Wiley, New York.

Dar SM, Majeed D, Reshi JA (2014): Analysis of Different Pastry Samples Available in Local Market of Kashmir (India). *International Journal of Food Nutrition and Safety*, 5:146-156.

Duraković S, Duraković L (2001): Mikrobiologija namirnica: osnove i dostignuća. Kugler, Zagreb.

Easa, M. S. H. (2010). The microbial quality of fast food and traditional fast food. *Nature and Science*, 8:117-133.

Eberl L, Molin S, Givskov M (1999): Surface Motility of *Serratia liquefaciens* MG1. *J Bacteriol*, 81:1703–1712.

El-Fadaly H, El-Kadi S, El-Gayar E (2016): Microbiological examination for some chocolate cake samples. *Journal of Environmental Sciences*, 45:11-27.

El-Kadi SM, El-Fadaly HA, El-Gayar EM (2018): Examination of Pathogenic Bacteria in Some Cake Samples. *International Journal of Microbiology and Application*, 5:56-63.

Falkow S, Rosenberg E, Schleifer KH, Stackebrandt E (2006): The Prokaryotes: Vol. 6: Proteobacteria: Gamma Subclass. Springer Science & Business Media.

FEHD, Food and Environmental Hygiene Department (2014): Microbiological Guidelines for Food For ready-to-eat food in general and specific food items. Food and Environmental Hygiene Department, Hong Kong.

FSANZ, Food Standards Australia New Zealand (2009): Microbiological risk assessment of raw cow milk. Food Standards Australia New Zealand.

FSAI, Food Safety Authority of Ireland (2016): *Guidelines for the Interpretation of Results of Microbiological Testing of Ready-to-Eat Foods Placed on the Market (Revision 2)*. Food Safety Authority of Ireland, Dublin.

Frank C, Buchholz U, Maaß M, Schröder A, Bracht K, Domke PG, Rabsch W, Fell G (2007): Protracted outbreak of *S. Enteritidis* PT 21c in a large Hamburg nursing home. *BMC Public Health* 7:243.

Gajdács M (2019) Epidemiology of *Raoultella* species in the context of human infections: A 10-year retrospective study in a tertiary-care hospital in Hungary. *Trends Med* 20.doi: 10.15761/TiM.1000217

Gavini F, Mergaert JL, Bej A, Mielcarek LC, Izard D, Kersters K, De Ley J (1989): Transfer of *Enterobacter agglomerans* (Beijerinck 1888) Ewing and Fife 1972 to *Pantoea* gen. nov. as *Pantoea agglomerans* comb. nov. and Description of *Pantoea dispersa* sp. nov. *International Journal Of Systematic Bacteriology*, 337-345.

Gerba CP, Rose JB, Haas CN (1996): Sensitive populations: who is at the greatest risk? *International Journal of Food Microbiology*, 30:113-123.

Gilbert RJ, de Louvois J, Donovan T, Little C, Nye K, Ribeiro CD (2000): Guidelines for the microbiological quality of some ready-to-eat foods sampled at the point of sale. *Communicable Disease and Public Health*. 3:163-7.

Ginn PS, Tart SB, Sharkady SM, Thompson DK (2018): Urinary catheter colonization by multidrug-resistant *Cedecea neteri* in patient with benign prostatic hyperplasia. College of Pharmacy & Health Sciences, Campbell University.

Gram L, Beck Christensen A, Ravn L, Molin S, Givskov M (1999): Production of Acylated Homoserine Lactones by Psychrotrophic Members of the *Enterobacteriaceae* Isolated from Foods. *Applied And Environmental Microbiology*, 3458–3463.

Grein T, O’Flanagan D, McCarthy T and Prendergast T (1997): An outbreak of *Salmonella* enteritidis food poisoning in a psychiatric hospital in Dublin, Ireland. *Eurosurveillance* 2:188.

HAPIH, Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu (2011; 2012): Prehrambene navike odrasle populacije u RH (interna baza podataka).

Harbarth S, Sudre P, Dharan S, Cadenas M, Pittet D (1999): Outbreak of *Enterobacter cloacae* related to understaffing, overcrowding, and poor hygiene practices. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 20:598–603.

HC, Health Canada (2013): *Microbial Guidelines for Ready-to-Eat Foods – A Guide for the Conveyances Industry and Environmental Health Officers (EHO)*. Health Canada, Ottawa.

Hoffmann H, Stindlb S, Ludwigb W, Stumpfc A, Mehlenb A, Heesemannc J, Mongetd D, H. Schleiferb K, Roggenkampc A (2005): Reassignment of *Enterobacter dissolvens* to *Enterobacter cloacae* as *E. cloacae* subspecies *dissolvens* comb. nov. and emended



description of *Enterobacter asburiae* and *Enterobacter kobei*. *Systematic and Applied Microbiology*, 28:196–205.

Högenauer C, Langner C, Beubler E, Lippe IT, Schicho R, Gorkiewicz G, Krause R, Gerstgrasser N, Krejs GJ, Hinterleitner TA (2006): *Klebsiella oxytoca* as a causative organism of antibiotic-associated hemorrhagic colitis. *N Engl J Med*, 355:2418-26.

HPA, Health Protection Agency (2009): Guidelines for assessing the microbiological safety of ready-to-eat foods placed on the market. Health Protection Agency, London.

ICMSF, The International Commission on Microbiological Specification for Foods (1996): The International Commission on Microbiological Specification of Food Pathogens: Salmonellae. U: Microorganisms in foods 5: Microbiological specifications of food pathogens. Blackie Academic and Professional, London, UK.

ILSI (2011): The *Enterobacteriaceae* and their significance to the food industry. International Life Sciences Institute, ILSI Europe a.i.s.b.l., Brussels, Belgija.

Jay S, Davos D, Dundas M, Frankish E, Lightfoot D (2003): *Salmonella*. U: Foodborne microorganisms of public health significance. Australian Institute of Food Science and Technology, Food Microbiology Group, Waterloo.

Jemmi T, Stephan R (2006): *Listeria monocytogenes*: food-borne pathogen and hygiene indicator. *Scientific and Technical Review of the Office International des Epizooties (Paris)*, 25:571-580.

Khater, D.F., Lela, R.A., El-Diasty, M. (2021): Detection of harmful foodborne pathogens in food samples at the points of sale by MALDT-TOF MS in Egypt. *BMC Res Notes* 14:112. doi:10.1186/s13104-021-05533-8

Kolda A, Mujakić I, Perić L. et al. (2020): Microbiological Quality Assessment of Water and Fish from Karst Rivers of the Southeast Black Sea Basin (Croatia), and Antimicrobial Susceptibility of *Aeromonas* Isolates. *Current Microbiology*, 77: 2322–2332. <https://doi.org/10.1007/s00284-020-02081-5>

Kosako Y, Tamura K, Sakazaki R, Miki K (1996): *Enterobacter kobei* sp. nov., a New Species of the Family *Enterobacteriaceae* Resembling *Enterobacter cloacae*. *Current microbiology*, 33:261-265.

Kothary MH, Babu US.(2001): Infective dose of foodborne pathogens in volunteers: a review. *Journal of Food Safety*, 21:49-73.

Kumar H, Palaha R, Sharma D, Sharma V, Singh D, Kaur A (2011): Microbiological Quality Analysis of the Pastry sold in the Jalandhar City and Public Perception about the Pastry. *Internet Journal of Food Safety*, 13:361-366.

Lauková A, Pogány Simonová M, Kubašová I, Miltko R, Belžecki G, Stropfová V (2018): Sensitivity to antimicrobials of faecal *Buttiauxella* spp. from roe and red deer (*Capreolus capreolus*, *Cervus elaphus*) detected with MALDI-TOF mass spectrometry. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 21:543–547.

Liu D (2011:) Molecular Detection of Human Bacterial Pathogens, CRC Press.

Macé S, Cornet J, Chevalier F, Cardinal M, Pilet MF, Dousset X, Joffraud JJ (2012): Characterisation of the spoilage microbiota in raw salmon (*Salmo salar*) steaks stored under vacuum or modified atmosphere packaging combining conventional methods and PCR–TTGE, *Food Microbiology*, 30: 1, 164-172. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2011.10.013>.

Mahlen SD (2011): *Serratia* Infections: from military experiments to current practice. *Clin Microbiol Rev.* 24:755-91.

Maki DG, Rhame FS, Mackel DC, Bennett JV (1976): Nationwide epidemic of septicemia caused by contaminated intravenous products. *Amer J Med*, 60:471-485.

Manhique G.A., Hessel C.T., DU Plessis E.M., Machado Lopes S., de Oliveira Elias S., Tondo E.C., Korten L. (2020): Prevalence of Enterobacteriaceae on Ready to Eat Salads, Drinking Water and Surfaces in Food Markets of Maputo, Mozambique . *Journal of Food and Nutrition Research*, Vol. 8(1):63-73.[doi:10.12691/jfnr-8-1-9](https://doi.org/10.12691/jfnr-8-1-9)

Mardaneh J, Soltan Dallal MM (2014): Isolation and Identification *Enterobacter asburiae* from Consumed Powdered Infant Formula Milk (PIF) in the Neonatal Intensive Care Unit (NICU). *Acta Medica Iranica*, 54:39-43.

Marinculić A, Habrun B, Barbić Lj, Beck R (2009) Biološke opasnosti u hrani. Hrvatska agencija za hranu. Osijek.

Marzban A, Ebrahimipour G, Danesh A (2016) Bioactivity of a novel glycolipid produced by halophilic *Buttiauxella* sp. and improving submerged fermentation using a response surface method. *Molecules*, 21:1256.

Macé S, Cornet J, Chevalier F, Cardinal M, Pilet MF, Dousset X, Joffraud JJ (2012): Characterisation of the spoilage microbiota in raw salmon (*Salmo salar*) steaks stored under vacuum or modified atmosphere packaging combining conventional methods and PCR–TTGE. *Food Microbiology* 30:164-172.

Medvedová A, Studeničová A, Valík L, Horváthová Z (2014): Prevalence and growth dynamics of enterotoxinogenic *Staphylococcus aureus* isolates in Slovakian dairy products. *Czech Journal of Food Sciences*, 32:337-341.

Ministarstvo poljoprivrede (2011): Vodič za mikrobiološke kriterije za hranu, 3. izmijenjeno izdanje.

Ministarstvo poljoprivrede (2016): Pravilnik o žitaricama i proizvodima od žitarica, NN 81/2016.

Nyenje ME, Tanih NF, Green E, Ndip RN (2012): Current Status of Antibigrams of *Listeria ivanovii* and *Enterobacter cloacae* Isolated from Ready-To-Eat Foods in Alice, South Africa. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 9:3101-3114.

Normanno G, La Salandra G, Dambrosio A, Quaglia NC, Corrente M, Parisi A, Santagada G, Firinu A, Crisetti E, Celano GV (2007): Occurrence, characterization and antimicrobial resistance of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* isolated from meat and dairy products. *International Journal of Food Microbiology*, 115:290-296.

NSWFA, NSW Food Authority (2009): Microbiological quality guide for ready-to-eat foods. A guide to interpreting microbiological results. NSW Food Authority, Newington.

Pelisser MR, Klein CS, Ascoli KR, Zotti TR, Arisil ACM (2009): Occurrence of *Staphylococcus aureus* and multiplex PCR detection of classic enterotoxin genes in cheese and meat products. *Brazilian Journal of Microbiology*, 40:145-148.

Pereira ML, Simeão do Carmo L, dos Santos EJ, Bergdoll MS (1994): Staphylococcal food poisoning from cream-filled cake in a metropolitan area of South-Eastern Brazil. *Rev. Saúde Pública*, 28:406-409.

Podschun R, Ullmann U (1998): *Klebsiella* spp. as Nosocomial Pathogens: Epidemiology, Taxonomy, Typing Methods, and Pathogenicity Factors. *Clinical Microbiology Reviews*, 589–603.

Posfay-Barbe KM, Wald ER (2004): Listeriosis. *Pediatric Research*, 25:151-159.

Sakazaki R, Tamura K, Kosako IY, Yoshizak E (1989): *Klebsiella ornithinolytica* sp. nov., formerly known as ornithine-positive *Klebsiella oxytoca*. *Current Microbiology*, 18:201-206.

Shahbaz M, Hanif K, Masood S, Rashid AA, Bilal M, Akbar N (2013): Microbiological Safety Concern of Filled Bakery Products in Lahore. *Pak. J. Food Sci.*, 23:37-42.

Shaker R, Osaili T, Al-Omary W, Jaradat Z, Al-Zuby M (2007): Isolation of *Enterobacter sakazakii* and other *Enterobacter* sp. from food and food production environments. *Food Control* 18:1241–1245.

Sharifzadeh A, Hajsharifi-Shahreza M, Ghasemi-Dehkordi P (2016): Evaluation of Microbial Contamination and Chemical Qualities of Cream-filled Pastries in Confectioneries of Chaharmahal Va Bakhtiari Province (Southwestern Iran). *Osong Public Health Res Perspect*, 7:346-350.

Simmons BP, Gelfand MS, Haas M, Metts L, Ferguson J (1989): *Enterobacter sakazakii* infections in neonates associated with intrinsic contamination of a powdered infant formula. *Infect Control Hosp Epidemiol* 10:398-401.

Solhan S, Chan PP, Kurupatham L, Foong BH, Ooi PL, James L, Phua L, Tan AL, Koh D, KT Gohe (2011): An outbreak of gastroenteritis caused by *Salmonella enterica* serotype Enteritidis traced to cream cakes. *WPSAR* 2:1-8.

Tolvajčić M (2016): Mikroorganizmi za fermentaciju lignoceluloznih hidrolizata. Završni rad. Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb.

Uredba komisije (EZ) br. 178/2002 EUROPSKOG PARLAMENTA I VIJEĆA od 28. siječnja 2002. o utvrđivanju općih načela i uvjeta zakona o hrani, osnivanju Europske agencije za sigurnost hrane te utvrđivanju postupaka u područjima sigurnosti hrane.

Uredba komisije (EZ) br. 2073/2005 od 15. studenoga 2005. o mikrobiološkim kriterijima za hranu; sa svim izmjenama i dopunama. Službeni list Europske unije, L 338/1.

USDA, United States Department of Agriculture Food Safety and Inspection Service (2013): Molds on Food: Are They Dangerous?

Verschraegen G, Claeys G, Delanghe M, Pattyn P (1988): Serotyping and phage typing to identify *Enterobacter cloacae* contaminating total parental nutrition. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 7:306-307.

Villegas MV, Quinn JP: *Enterobacter* species. Dostupno na: <http://www.antimicrobe.org/b97.asp>

Viltrop A, Roasto M (2013): *Microbial risks to humans in Estonia in association with non-pasteurised milk consumption. Risk profile*. Estonian University of Life Sciences, Tartu.

Wemekamp-Kamphuis HH, Sleator RD, Wouters JA, Hill C, Abee T (2004): Molecular and physiological analysis of the role of osmolyte transporters BetL, Gbu, and OpuC in growth of *Listeria monocytogenes* at low temperatures. *Applied and Environmental Microbiology*, 70:2912-2918.