

# По-малко известни причинители на бактериални заболявания, предавани чрез храните

Д-р Асен Тачев, гл. ас. Екатерина Радоилска,  
доц. д-р Росица Еникова  
Отдел „Микробиологичен анализ“, НЦОЗА, София

## Резюме

Един от най-важните етапи в научнообоснованата оценка на риска от биологични контаминанти е оценката на експозицията на патогенните микроорганизми в храните. Това изисква съвременни факти за тяхното реално разпространение и актуални данни за ролята им като причинители на хранителна патология.

Хранителни заболявания могат да предизвикат и така наречените условно-патогенни микроорганизми, които са нормални обитатели на организмите на човека, животните и околната среда. Таргетните микроорганизми на настоящия обзор са *Campylobacter jejuni*, *Enterobacter sakazakii* и *Bacillus cereus*. Използвани са данни на Codex Alimentarius, СЗО/ФАО, EFSA, USFDA, както и проучвания, извършени в САЩ и страните от Европейския съюз. Пълноценната информация за разпространението, епидемиологията и механизмите на въздействие и предаване на тези бактерии е важно условие за постигане на по-добро разбиране на взаимното влияние между микроорганизмите, храните и хранителните заболявания при човека, за подобряване на клиничната и лабораторната диагностика, за адекватни превантивни действия за ограничаване на риска.

**Ключови гуми:** *Cronobacter sakazakii*, *Campylobacter jejuni*, *B. Cereus*, оценка на риска

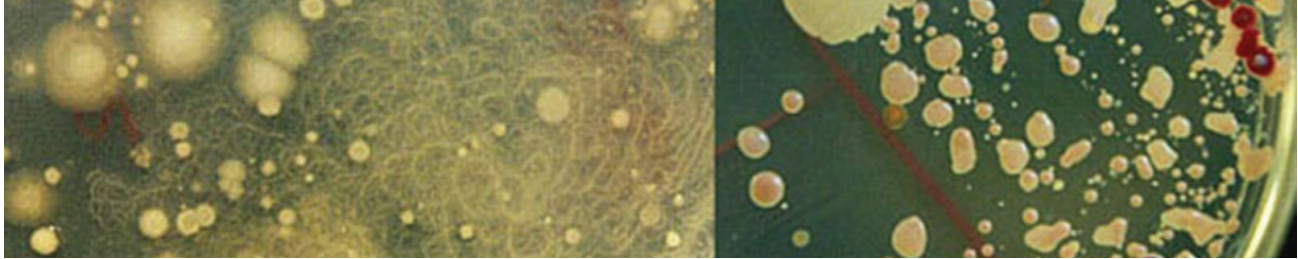
## Less-Known Causes Of Bacterial Diseases Transmitted Through Food

Assist. Tachev, Assist. prof. Ekaterina Radoilska, Assoc. Prof. Rossitza Enikova, PhD  
Department "Microbiological analysis", National Center for Public Health and Analysis, Sofia

## Abstract

One of the most important stages in science-based risk assessment of organic contaminants is the assessment of exposure to pathogens in food. This requires advanced facts about their real distribution and current data on their role as agents of nutritional pathology. Eating disorders can cause the so-called conditionally-pathogenic microorganisms that are normal inhabitants of the human body, animals and the environment. Target organisms of this review are *Campylobacter jejuni*, *Enterobacter sakazakii* and *Bacillus cereus*. Used data on the Codex Alimentarius, the WHO/FAO, EFSA, USFDA, and studies conducted in the U.S. and European Union countries. Complete information on the prevalence, epidemiology and mechanisms of impact and transmission of these bacteria is essential to achieving a better understanding of the mutual influence between organisms, food and human diseases, improve the clinical and laboratory diagnosis, adequate preventive measures for risk reduction.

**Key words:** *Cronobacter sakazakii*, *Campylobacter jejuni*, *B. Cereus*, risk assessment



Днес науката предоставя задълбочена информация за микроскопичните организми, за техния растеж, преживяване и гибел, за техния генетичен строеж, за риска, който носят за здравето на човека при съвременните гагености на производството и потреблението на храни. За разлика от химичните или токсикологични замърсители в околната среда, патогенните бактерии могат да се размножават в променящите се условия по пътя на храната „от фермата до масата“. Все още има много празноти в данните, които детерминират точността, необходима за количествена оценка на риска от възникване на хранителни заболявания. Например информацията за зависимостта между количеството на биологичните агенти и честотата и размера на неблагоприятните последици за човешкото здраве, особено когато се касае за уязвими подгрупи от населението, е ограничена. Ограничена е и информацията за оценка на експозицията – вероятността от замърсяване на различни храни, консумирани от населението, с хранителни патогени и индикаторни микроорганизми. Всички тези въпроси се задават на изследователите при анализа и оценката на риска от хранителни заболявания. Последните все още са между най-широко разпространените проблеми на общественото здраве, водейки, наред с човешките страдания, до социални и икономически неблагоприятия, и това се отнася до всички страни, независимо от степента на стопанското, социалното и културното им развитие. Характеристиките на патогенните микроорганизми, с малки изключения, са подробно проучени; изработени са международни стандартни методи за тяхното изолиране и диагностиката им в храните. Има и по-слабо проучени патогени, например *Cronobacter sakazakii*, към който през последните години има подчертан интерес.

Хранителни заболявания могат да предизвикат и така наречените условно-патогенни микроорганизми, които са нормални обитатели у човека, животните и околната среда. В малки количества и при добри защитни сили на организма те не причиняват значими здравни неблагоприятия. Болестите, предизвикани от микрофлората на хранителните продукти, трябва да се допълнят с информация за много считани до неотдавна за сапрофитна флора микроби, например родовете *Campylobacter* и *Bacillus*, и незаслужено пренебрегвани в изучаването на хранителната патология. Всъщност тяхното участие в нея е известно отдавна, но текущата диагностична практика показва, че у нас те се подценяват и не

са в ползрението на специалистите в областта на инфекциозната патология, хигиената на храненето и епидемиологията. Поради това, че те се предават почти изключително по хранителен път, считаме за необходимо да изясним някои въпроси, свързани с характеристиката на риска от храни, контаминирани с тези микроорганизми.

## Campylobacter jejuni

Признат като патогенен за животните микроорганизъм, *Campylobacter jejuni* има повече ветеринарно-медицинско значение, предимно като причинител на аборти при овцете. Чрез животински храни могат да се предават и други чревни представители на този род – *C. coli*, *C. upsaliensis*, *C. hyointestinalis* и други. *C. jejuni* е анаеробен микророзанизъм, който се развива в среда с до 5–10% кислород и до 10% възглероден диоксид. Представлява грам-отрицателна къса извита пръчица, приличаща на запетайка, с един или два флагелума в краищата на клетката, с характерно спираловидно движение. Установено е, че отделя термолabileн ентеротоксин, подобен на холерния. Устойчивостта във външната среда е в зависимост от температурата и pH на средата. Преживява във вода, мляко, фекалии и урина при 4°C в продължение на седмици, но при 25°C оцелява само няколко дни, дори часове в кисела среда. При pH под 2.3 загива за 5 минути, а при неутрална или алкална среда в жлъчка може да устои до три месеца при 37°C. Патогенността му за човека е установена през 1947 г., когато Винсент (Vinsent) и съвм. откриват *C. jejuni* в кръвта на бременна жена с инфекциозен аборт. Но едва след 1956 г. Кинг (King) обръща внимание на значението му за човека. През последните десет години вниманието към кампилобактериозата все повече нараства, тъй като тя се очертава като често срещана чревна инфекция почти във всички страни.

Основният причинител на това заболяване – *C. jejuni*, е нормален обитател на стомашно-чревния тракт на много диви и домашни животни и птици. Поради това неговото епидемично значение се свързва с консумацията на непреработени термично храни от животински произход. Някои автори свързват разпространението на *C. jejuni* в природата предимно с домашни птици (Таухе, 1992 г. Аноп, 1998, 1999, 2001а, 2006; Nadeau, 2001), но други считат като основни носители едрите преживни животни, овцете, козите, кучетата и котките (Nielsen, 1997;

Аноп, 1999, 2006b). *C. coli* се открива предимно в прасета (Rosef и гр., 1983; Nielsen, 1997; Боев и съавт., 2005; Дженсън и гр., 2006), но също така е бил изолиран от домашни птици, едри преживни животни, овце (Аноп, 1999, 2006). Например *C. jejuni* е изолиран до 35% от пуешко месо, в 64% от пилешко месо и в 5% от свинско, в 9% – от сурово мляко<sup>20</sup>. Счита се, че в епидемиологията на заболяването основно значение има кръстосаното контаминиране на готова продукция от сурови инфектирани животински продукти. Описани са случаи на заболяване от недостатъчно пастъоризирано сурово мляко, от сурово говеждо, сурови миди и дори от кејк, заразен от носител. Не се изключва и значението на заразен повърхностни води. Много рядко се предава от яйца със заразен с *C. jejuni* черупки<sup>3, 8, 16, 20</sup>.

Не е доказано, че *Campylobacter jejuni* може да се размножава в храните. Микробът е чувствителен към външни въздействия, не се развива при температура, по-ниска от 30°C, жизнеспособен е само при много ниска концентрация на кислород и не издържа на конкуренцията на други микроорганизми. Много чувствителен е към изсушаване и стайна температура, киселини, дезинфектанти и нагриване. Трудно преживява извън чревния тракт и извън животински тъкани, каквито са месните и пилешките суровини и полуфабрикати. Обичайните методи на технологична обработка в хранителната промишленост и общественото хранене (варене, печене, пържене, грил и др.) като правило водят до надеждно деконтаминиране на суровините. В САЩ и Нова Зеландия като рисков фактор е идентифицирана консумацията на месо, варено в заведения за обществено хранене (Ikram и гр., 1994; Eberhart и гр., 1997; Effler и гр., 2001; Фригман и гр., 2004). В развиващите се страни голяма роля за предаването на инфекцията имат речните водоизточници. Прекият контакт с животните и екологичните източници на хранителни продукти също се смятат за основни пътища на заразяване на хора (Georges-Courbot и гр., 1990; СЗО, 2001; Кокър и гр., 2002). Работещи в производството на животински продукти лица също могат да служат като важни източници за кампилобактериоза (Koulla-Shiro, Loe и Екое, 1995; Харви и гр., 2003)<sup>3, 8, 16, 20</sup>.

*C. jejuni* и по-рядко *C. coli* не представляват опасност в сушени пулверизационно храна, пастъоризирани, стерилизирани и термично обработени продукти. Обикновено епидемичните ситуации са следствие от особено драстични нарушения на хигиената на приготвяне на храната и вторично контаминиране от суровини или от носител, както и от консумация на сурови животински продукти<sup>1, 3, 8, 20</sup>.

Симптомите на гастроентерита са повръщане, профузна водниста или кашеобразна диария, поняко-

га с примеси на кръв, мускулни болки и спастични колики. Смъртността е ниска – до 0.1% от заболяелите, усложненията като менингити, хронични колити, остри холецистити и дргуи са редки. Клиничната картина се развива около два до седем дни след консумацията на заразени храна, инфекциозната доза е ниска – до 500 жизнеспособни клетки. Инвазивността на причинителя и отделеният ентеротоксин наподобяват тези на шигелите. Възпалителният процес засяга тънките черва, но понякога и колона. Периодът на активно носителство е свързан с наличните ентеритни *Campylobacter* прояви, но неговата продължителност, както и ролята на човека като носител не са напълно изяснени. Продължителността на заболяването е от седем до единадесет дни, пероралният прием на еритромицин силно намалява този период и профилактира усложненията<sup>1, 3, 8, 20</sup>.

*C. jejuni* и по-рядко *C. coli* са доказани причинители на бактериални гастроентерити при човека. Установява се все по-широко разпространение на кампилобактериозата в различните страни, като заболяемостта се увеличава от север към юг, особено в развиващите се страни<sup>8</sup>. Относителният дял на кампилобактериозата сред изследваните с диарийен синдром се движи от 1% до над 40% (в ЮАР). Но и в индустриално развитите страни кампилобактериозата заема почти равностойно на салмонелозите място сред заболяванията с диарийен синдром. Насочени проучвания от последното десетилетие в САЩ показват, че в страната се наблюдават около 2–4 милиона случая годишно, в Англия и Уелс например през 2000 г. са регистрирани около 25 000 заболявания. През 2008 г. в Европейския регион са докладвани 190 566 случая на заболявания от *Campylobacter*, което представлява 46.7/100 000 население, докато за същия период в България са докладвани 19 случая или 0.27/100 000 население. За сравнение салмонелозите през 2008 г. в Европейския регион са по-малко разпространени от кампилобактериозите (26.4/100 000 население). Тези съпоставки вероятно се дължат на различна насоченост на диагностиката на чревните инфекции в различните европейски страни и у нас<sup>1, 9, 16, 20</sup>.

Клиничните прояви на инфекции, предизвикани от *Campylobacter*, между развитите и развиващите се страни, също се различават както по възрастта на засегнатото население, така и по тежестта на заболяването. В развитите страни предизвиканият от *Campylobacter* ентерит често засяга по-големи деца и млади хора и може да бъде с тежка клинична картина, характеризираща се с фебрилитет, коремни спазми и кръвава диария. Кампилобактериозните инфекции в развиващите се страни сред децата на

Възраст под една година са с по-тежки симптоми на заболяването, докато при по-големите деца клиниката и симптоматиката често са по-леки. Отговорен за по-голямата част на тези инфекции и в развиващите се, и в развитите страни е *C. jejuni*, въпреки че видове като *C. coli* (В., В. Lari), *C. upsaliensis*, *C. hyointestinalis* и групи също могат да бъдат отговорни за голяма част от инфекциите в развиващите се, в сравнение с развитите страни (Georges-Courbot и др. от 1986 г.). Епидемичните прояви са характерни за чревните инфекции водни, хранителни и контактнo-битови взривове, но има и спорадично разпространение, особено граматични са взривовете в рогилни отдели – заразени новородени от майки или от контаминирано мляко. Заболяванията преобладават през лятно-есенния сезон<sup>1, 3, 8, 16, 20</sup>.

Едва ли нашата страна прави изключение от общата епидемична картина, характерна за разпространението на тази чревна инфекция в Европейския регион, но вниманието към *Campylobacter* при хранителни заболявания и контролът на храните по този критерий все още не се осъществява системно от органите на общественото здравеопазване, както показва информацията за регистрираната заболеваемост. Род *Campylobacter* не е включен и в изискванията на Регламенти 2073/2005, 1441/2007 и 365/2010, които съдържат микробиологичните критерии и норми за безопасност на храните<sup>7</sup>.

## **Cronobacter (Enterobacter) sakazakii**

През последните години особено значение в храните, предназначени за кърмачета, новородени и деца, подложени на интензивни медицински грижи, заема присъствието на опортюнистичен микроорганизъм от групата на ентеробактериите, *Cronobacter sakazakii*, предизвикващ тежко инфекциозно заболяване с висока смъртност и фатални усложнения при деца в кърмаческа и ранна възраст. Микробът е изолиран през 1961 г. от Urmenyi and Franklin от два случая на заболели и починали новородени и е наречен *Enterobacter cloacae*, като по-късно Farmer et al. (1980) променят наименованието и го назовават *Enterobacter sakazakii* в чест на японския микробиолог и изследовател Ричи Саказаку<sup>10</sup>.

*Cronobacter (Enterobacter) sakazakii* е грам-отрицателна, неспорообразуваща подвижна пръчица, отнасяща се към род *Cronobacter*, семейство *Enterobacteriaceae*. До 1980 г. е отнасян към *Enterobacter cloacae*. Расте върху обикновени хранителни среди, върху триптон-соев агар образува характерни, пигментирани в жълто колонии, което се използва днес в диагностиката. Използвайки DNA/DNA-хибридизация и

биохимични тестове, е определено, че 53 до 54% от щамовете принадлежат към родовете *Enterobacter* и *Citrobacter*. Определени са 15 биотипа, към които по-късно е добавен още един, и е предложено да се обособи отделен род *Cronobacter* с шест вида: *C. sakazakii*, subsp. *malonaticus*, *C. turicensis*, *C. muytjensii*, *C. dublinensis* и *C. genomospecies* (Iversen et al., 2006, 2007, 2008)<sup>12, 13</sup>.

До неотдавна природните резервоари на *C. sakazakii* бяха неизвестни. Сега е установено, че негови носители могат да бъдат някои гребни крилати насекоми – мухи, комари и групи, например мексиканската плодова муха или ларвите на *Stomoxys calcitrans* – хапеща муха, която чрез смучене на кръв от млекодайните животни предава патогена на кръвта, а оттам по кръвен път той попада в млякото. Носителство е установено и при пльхове и групи гризачи. Разпространението му не е много добре изяснено, микробът е изолиран в промишлени предприятия за производство на сухи храни и в домашна обстановка. Присъствието на микроорганизма в 5 от 16 частни къщи и в 8 от 9 производствени предприятия за производство на сухи храни показва, че той е много по-широко разпространен, отколкото бе известно, и това прави рискът много по-сериозен. Тези данни акцентират върху голямото значение на борбата с вредителите като мярка за ограничаване на присъствието на *C. sakazakii* в работната среда на производството на детски храни<sup>2, 3, 5, 14, 20</sup>.

*Cronobacter sakazakii* събуди интереса на медицинската общност по повод на присъствието в адаптирани млека, предназначени за кърмачета. Американската агенция по храните и лекарствата (USFDA), сериозно разтревожена от заболявания от *C. sakazakii* след консумацията на сухи детски храни, прави първи проучвания върху 141 проби детски формули, произведени в различни страни, и открива микроба в 14% от тях. Други насочени изследвания показват наличието на този микроорганизъм и в групи сухи детски храни – каши, пюрета. USFDA счита, че присъствието на микроба в сухи храни не е изключено поради това, че последните не са стерилни, и препоръчва при специални уязвими контингенти кърмачета сухите адаптирани детски формули да бъдат заменени с течни формули, подложени на същинска стерилизация, за да бъде избегнат рискът от *C. sakazakii*<sup>8</sup>.

Особеното за *Cronobacter sakazakii* е, че предизвиква тежка инфекциозна патология при кърмачета в ранна възраст, най-често недоносени, хипотрофични и имунокомпрометирани<sup>1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 18</sup>. Инфекциите с него са извънредно редки събития. Боледуват предимно деца на възраст под една година (над 83%), при което фаталният изход според докладите е



свързан с преждевременно родени недоносени деца, деца с ниско тегло при раждането, както и с бебета с компрометирана имунна система. Страдат също и деца, подложени на болнични грижи, вероятно заразени по време на престоя си в болниците. Шест от 58 докладвани случая включват и лица в напреднала възраст, средно 74 години. Случаите при възрастни са единични и много редки, като се касае преимуществено за пациенти с имунна недостатъчност. При възрастните боледуването е под формата на бактериемия и остеомиелит.

Патологиите, причинявани от *Cronobacter sakazakii*, са основно менингити (58%), бактериемия и сепсис (17%), некротични ентерити (29%) и мозъчни увреждания, главно енцефалит и мозъчни кисти. Заболяването при новородени и малки деца е тежко, леталитетът е висок – около над 50% от случаите. Наред с това има и казуси със заразени деца, при които не се развива симптоматика, а се наблюдава само здраво носителство, продължаващо до 18 седмици. При новородени клиничната картина се развива след петия ден, като симптомите бързо прогресират и състоянието рязко се влошава. Началото на инфекцията се характеризира с прояви и симптоми, типични за инфекции от групи грам-отрицателни микроорганизми. Към първите симптоми се отнасят слабостта и недостатъчно приемане на храна, раздразнителност, жълтеница, дишане с хрипове и промени в телесната температура. Инфекцията засяга централната нервна система и храносмилателния тракт. Когато инфекцията не довежда до летален изход, преболедалите деца могат да получат трайни неврологични увреждания и дефекти на развитието, но не е изключено и пълно възстановяване и оздравяване на пострадалите. Късните и по-отдалечени последици при преболедалите деца могат да бъдат мозъчни кисти, забавяне на физическото развитие, деформации и изоставане в умственото развитие и дори хидроцефалия<sup>1-5, 10, 15, 18</sup>.

Счита се, че в патогенезата на заболяването основна роля играе ентеротоксин, отделен от *C. sakazakii*. Едно проучване върху 18 щамове показва продукция на ентеротоксин при четири от тях, като при интраперитонеално инжектиране на бели мишки на дози от 10 CFU и четирите щамове са предизвикали летален ефект, докато при перорално въвеждане на същите дози летален ефект е наблюдаван само при два от щамове<sup>2, 3</sup>.

Инфекциозните дози за кърмачета са много ниски (под 1 CFU/g) и свидетелстват за висока вирулентност на микроба<sup>3, 18</sup>.

Голям интерес предизвиква начинът на попадане на *Cronobacter sakazakii* в сухите храни за кърмачета. Пастеризацията, през която преминава млякото,

предназначено за изхранване на бебета, при микробиологична проверка не показва наличие на *Cronobacter sakazakii* в остатъчната микрофлора, но при възстановяването на сухото мляко се откриват находки. През 2002 г. едно проучване подбери 22 проби от готови сухи детски формули от осем различни предприятия. Пет от пробите са били позитивни (22%) за *C. sakazakii* при най-ниското ниво на откриване – 0.36 и 0.92 MPN/g. Положителните проби са включвали четири формули за нормално родени деца и една от четири специални формули за недоносени деца. Проучването е показало, че процентът на положителните проби е еднакъв при всички методи на получаване на формулите – мокро смесване, изсушаване чрез пулверизация, сухо смесване или ако формулата е приготвена с мляко или соя. Друго наблюдение върху прахообразни детски храни от различни страни показва, че повече от 14% от пробите са били положителни за *C. sakazakii*. Това включва две от дванадесет проби от сухите детски храни, произведени в САЩ. Нивото на патогенния микроб е било по-ниско от 1/100 g в 17 от 20-те положителни проби и всички изпитвани проби са отговаряли на Codex Alimentarius по отношение на показателя колиформи<sup>5, 13, 17</sup>. Преживяването на *C. sakazakii* в прахообразните детски формули отчасти се дължи на способността на микроорганизма да остава жизнеспособен при изсушаване за продължителен период от време. Някои автори предполагат, че ролята на защитен механизъм играе натрупването на трехалоза в клетките по време на стационарната им фаза<sup>3</sup>. Предполага се също, че контаминирането на сухите детски формули с *C. sakazakii* е възможно да става вторично, т.е. след топлинната пулверизация, която се осъществява при високи температури, преди пакетиранието на продукта<sup>5, 15, 18</sup>.

Рисков момент при храненето на кърмачета с адаптирани детски формули е разтварянето на сухата храна преди храненето. Хигиенните правила за този процес са разработени подробно от СЗО<sup>19</sup>. Първото правило при разтварянето във вода на формулата, наречено „възстановяване“, е то да се извършва само за една порция храна, за да бъде избегнато съхраняването на възстановеното детско мляко при стайна температура до следващото хранене. Такъв престой крие риск от размножаване на единичните жизнеспособни клетки на *C. sakazakii* до по-големи инфекциозни дози; максималният срок на таква съхранение е два часа, след това възстановеното мляко следва да се изхвърли. Водата задължително трябва да бъде преварена. Важно е също да се отбележи, че в когото се извършва възстановяването на детските храни, да бъдат свободни от микроорганизми, което се постига чрез стерилизация в детски или

болнични заведения или чрез изваряване на флакони-те/бибероните в кипяща вода. Температурата на водата трябва да бъде около и над 70°C (това намалява общия брой на бактериите с 3.9 log) и минимизира степента на риск. Такава температура може да бъде губелна за бактериите, но пълни гаранции няма – има щамове с по-висока температурна резистентност – например със стойности на  $D_{58}$  над 600 секунди. От друга страна, тази температура влошава хранителните качества на детските храни. Допуска се приготвяне на възстановено сухо мляко за предстоящи хранения, но това става при строг контрол, бързо охлаждане до температура, не по-висока от +5°C, и съхранение в хладилник не повече от 24 часа. Тези правила ограничават не само риска от *C. sakazakii*, но и от други инфекциозни агенти – *Salmonella*, ентеропатогенни *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*<sup>5, 18</sup>.

С влизането в сила на Регламент ЕС 2073/2005 и неговите допълнения – Регламенти ЕС 1441/2007 и 365/2010, за страните членки на цяла Европа, стана задължително да се провежда редовен микробиологичен контрол на детските храни за ранната възраст за присъствие на *Cronobacter (Enterobacter) sakazakii*<sup>8</sup>. Критериите са много строги – за окачествяване на партида от сухи детски формули за ранната възраст до шест месеца се изисква отсъствието на микроба в 10 г в 30 проби от партидата. В този род детски храни се контролират също както *Salmonella*, така и индикаторните микроорганизми *Enterobacteriaceae*, които са критерий за хигиената на процесите на производство, но отсъствието им не може да гарантира напълно, че партидата е свободна от *C. sakazakii*<sup>5, 7</sup>.

## Bacillus cereus

*Bacillus cereus* е грам-положителен едър пръчковиден микроорганизъм, подвижен, аеробен, факултативно анаеробен, споруира лесно в присъствието на кислород и е широко разпространен в околната среда. Има няколко *Bacillus spp.*, тясно свързани физиологично: *B. cereus*, *B. anthracis* (причинителят на антракс), *B. thuringiensis* (ентомопатогенен, отговорен за смъртоносна за ларви на насекоми инфекция, но непатогенен за човека/) и *B. mycooides*. Род *Bacillus* е много хетерогенен: 34 различни вида са разделени в 6 групи (Логан, 1994), базирани върху морфологията на спорите. По-ранни източници класифицират *Bacillus cereus* в една група, тази на *B. subtilis*, заедно с *B. anthracis*, *B. thuringiensis* и *B. mycooides* (Priest, 1993)<sup>11, 17</sup>. Четирите вида са много тясно свързани генетично и последните данни за хомология на рРНК дават основание за предложението те да бъдат класифицирани

в един вид (Аш и гр., 1991; Lechner и гр., 1998). Ето защо много автори поставят *B. cereus*, *B. mycooides* и *B. thuringiensis* в една група. Неотдавна има предложение към групата на *B. cereus* да бъдат включени допълнително още два вида: *B. pseudomycooides* (Nakamura, 1998) и *B. weihenstephanensis* (Lechner и гр., 1998) – психотолерантни, но не мезофилни щамове *B. cereus*, които растат при 4–7°C, но не и при 43°C<sup>11</sup>. Въвеждането на този нов вид се дължи на факта, че много от изолираните от храни бацили са способни да преживяват при хладилни температури и това е особено предизвикателство за хранителната микробиология.

С изключение на *B. anthracis*, който е строго контролиран в повечето страни на развития свят, *B. cereus* и тясно свързаните с него видове са широко разпространени в околната среда. Те често се изолират от почвата и растенията. Прах, почва и сурови зеленчуци могат да се разглеждат като основни източници на замърсяване на храните. Устойчивостта на спорите към неблагоприятни условия на околната среда, както и възможността на вегетативните клетки да продуцират широка гама разграждащи хранителните съставки ензими, напр. протеази, амилази, лецитиназа, дават възможност на *B. cereus* да оцелява и да се развива добре в много различни условия, в широки температурни граници от 5 до 50°C, оптимално 30–35°C, и широк диапазон на рН: от 4.3 до 9.3. Също така е доказано, че спорите имат устойчивост към нагряване, сравнима с тази на ботулиновите спори, и че вегетативният растеж може да настъпи в широк диапазон от температури, включително хладилни. Това повдига въпроси как да се гарантира, че предварително опаковани, готови за консумация храни са безопасни за директна консумация<sup>13, 17</sup>.

Този спорообразуващ аеробен микроорганизъм е широко разпространен в околната среда, постоянен обитател е на почвите и много чест замърсител на хранителните продукти от растителен и животински произход. Предизвиканите от него заболявания се свързват с консумацията на оризови, картофени гарнитури, яйчни и нишестени кремове, сосове и десерти, консервирано месо, месни продукти от раздробено месо, зърнени ястия и др. Оптималната температура за размножаването му е 30–32°C, спорите му са устойчиви и при 125°C издържат няколко минути, а при 100°C – до 10 минути и повече. Вегетативните форми преживяват при 65°C до 30 минути. В много от термично преработените храни *Bacillus cereus* представя остатъчната микрофлора с произтичащите от това рискове от растеж и размножаване в продукта: например съдържа се в сухи млека, сухи детски формули, в яйца на прах,



в пастъоризирани млечни и растителни продукти. Спорите прорастват при температури от 30–70°C и рН 4–12. Разтвори на натриев хлорид задържат развитието на *Bacillus cereus* при концентрации, не по-ниски от 10–15%. *Bacillus cereus* може да се размножава и развива в разнообразни хранителни продукти от растителен и животински произход, практически не променяйки органолептиката им. Хладилните условия ограничават и забавят размножаването. При развитието си микробът отделя екзотоксини с характера на ентеротоксини. Под влияние на неговите ензими някои от съставките на храната могат да образуват токсични съединения<sup>1, 3, 17</sup>.

*Bacillus cereus* е описан като патоген, предизвикал хранително отравяне в единадесет регистрирани случая на гастроентерит през 1950 г.<sup>14</sup> Честотата на хранителните заболявания, причинени от *B. Cereus*, е много по-висока в Канада и особено в Северна Европа, отколкото в Англия, Уелс, Япония и САЩ. Причината за това е неизвестна, но е вероятно да се дължи на нееднаквата диагностична насоченост на лабораториите, които анализират материалите при хранителните заболявания. В САЩ този микроорганизъм е доказан в около 50% от изследваните хранителни отпадъци, като аналогичен е и броят на заболяванията, които може да са били причинени от *B. cereus*<sup>11, 17</sup>. У нас съгласно регистрирани в миналото, но непубликувани данни са наблюдавани колективни заболявания от пържени кюфтета, печена тиква и гр.

Характерно за тези спорообразуващи бактерии е оцеляването на спорите след пастъоризация на прясно мляко, като са документирани над 423 случая на развала на получена от такова мляко бита сметана. Причината за това компрометиране на крайния продукт са спори на *B. cereus*, прорасли след разрушаването на естествения стабилизиращ емулгатор в млякото – лецитина, по време на производството.

Вече е известно, че ограничен брой щамове на този микроорганизъм могат да произвеждат един или повече на брой токсини, отговорни за симптомите на хранително отравяне. Екзотоксините, отделени от микроба в храните, причиняват гагене и повръщане и/или диария приблизително 1–5 часа след консумация на замърсена храна и симптомите са много сходни със симптомите на хранителна интоксикация, причинявана от коагулазоположителни стафилококи. *Bacillus cereus* може да произвежда най-малко три различни ентеротоксини, два от които са свързани с хранителните заболявания. Най-изучаваният е HBL-ентеротоксин и това се смята за основния фактор на вирулентността. Именно diarrhoeagenic-токсин, произвеждан в стомашно-чревния тракт, причинява болки в корема и

диария, но рядко гагене и повръщане, приблизително 8–16 часа след консумацията на контаминирана храна, и наподобява симптомите, причинявани от ентеротоксина на *S. perfringens*. Екзотоксинът, предизвикващ повръщане, едва наскоро е бил изолиран и характеризирани, като единствените методи за изпитване са били или предизвикване на повръщане при примати, или вакуолизация на Нер-2 клетки в тъканна култура.

Ефективната доза за предизвикване на синдрома повръщане е в количества  $10^5$ – $10^8$  живи клетки в 1 г продукт, когато токсинът е предварително продуциран в храната, и  $10^5$ – $10^7$  живи клетки, за да бъдат инфектирани тънките черва, изразено с диаричен синдром<sup>1, 11, 17</sup>.

Два различни вида симптоматика се дължат на консумацията на храни, заразени с *B. cereus*:

1. Диаричен синдром: има инкубационен период 4–16 часа и се проявява с болки в корема и диария, която обикновено отзвучава в рамките на 12–24 часа;

2. Синдром на повръщане – с инкубационен период 1–5 часа, проявява се с гагене и повръщане, което продължава 6–24 часа.

Всеки синдром има поразителни прилики с други хранителни заболявания, например с предизвикана от *Clostridium perfringens* токсико-инфекция и интоксикация от *S. aureus*. В някои отпадъци, вероятно, синдромите на диария и повръщане явно се съчетават (Kramer & Gilbert, 1989).

Повръщането като синдром най-често се свързва с консумация на готови ястия с ориз и някои тестени храни, в която спори на *B. cereus* са оцелели след приготвяне и прораснали, ако храната е оставена достатъчно време при умерени температури за растеж и токсинообразуване. Диаричният синдром по-често се свързва с ястия като яхнии и супи, съдържащи месо, макар че зеленчуци, сосове и млечни продукти също може да бъдат причина за хранително заболяване<sup>1, 17</sup>.

*B. cereus* предизвиква заболявания, при които още не е изяснена ролята на живите микроорганизми, от една страна, и ролята на токсините – от друга, в цялостния патологичен процес. Даже при доказана продукция на екзотоксини не е правилно да се счита, че *B. cereus* предизвиква интоксикации, тъй като за възникване на клинични прояви е необходимо пероралното приемане на масивни дози живи клетки. Това дава основание заболяванията да бъдат отнесени към групата на токсикоинфекциите.

Клиниката се характеризира с леко протичане, с инкубационен период четири до шестнадесет часа и остро начало. Проявява се с коликообразни болки в корема, гагене и по-рядко повръщане, честата и водниста диария при нормална или субфебрилна темпе-

ратура. Продължителността на клиничните прояви е обикновено до едно-две денонощия, по-тежко протичане с явления на обща интоксикация се наблюдава рядко. Възстановяването е пълно в рамките на 24–48 часа и няма специфично лечение, различно от повишения прием на течности и компенсация на загубата на електролити. Случаите на летален изход са изключително редки.

Честотата на двете форми на предизвиканото от *Vacillus cereus* заболяване сериозно се подценява, тъй като симптомите в повечето случаи са относително леки и с кратка продължителност. Само при епидемичен взрив от общ източник с повече заболели е вероятно инцидентът да бъде докладван и разследван от здравните органи.

Оценката на риска от *Vacillus cereus* в някои храни представлява сериозен научен и практически интерес, например когато се касае за правилата за безопасна консумация на преработени храни, особено за деца в ранна възраст<sup>1, 3, 19</sup>. В Регламентите ЕО № 2073/2005 и № 1441/2007 нормирането му като показател за хигиената на процесите е само и единствено в сухи храни за кърмачета и сухи диетични храни за специални медицински цели, предназначени за кърмачета под шест месеца<sup>8</sup>. Считаме обаче, че това не е достатъчно за намаляване на степента на риска, поради широкото разпространение на микроба, устойчивостта на неговите спори и присъствието в остатъчната микрофлора на много готови за консумация храни, в които би могъл безпрепятствено да се размножава до високи инфекциозни дози<sup>1, 3, 7, 11, 17, 19</sup>. Необходимо е също при лабораторната диагностика на взривове с характер на токсикоинфекции един от специфичните таргетни микроорганизми да бъде *Vacillus cereus*.

#### Книгопис

1. Еникова, Р. Биологични опасности в храните. С., Изд. НЦООЗ, 2007.
2. Background Information on Enterobacter Sakazakii. April 2004, Babymilk Infant Food Information Center.

3. Bacteria Associated with Foodborne Diseases – Scientific Status Summary. Chicago, USA, Institut Food Technologists, August 2004.
4. Biering, G., S. Karlsson, N. C. Clark, K. E. Jonsdottir, P. Ludvigsson and O. Steingrimsson. Three cases of neonatal meningitis caused by Enterobacter sakazakii in powdered milk. – *J Clin Microbiol*, 27, 1989, № 9, 2054–2056.
5. Bishop, J., P. C. B. Embarek. WHO initiatives for the control of Enterobacter sakazakii. FSA Meeting on the Microbiological safety of powdered infant formula. London, UK January, 18<sup>th</sup>, 2007.
6. Center for Food Safety. Microbiological Guidelines for Ready-to-eat foods. Food and Environmental Hygiene Department Report, 2006, № 9, 1–5.
7. COMMISSION REGULATION (EC) No 2073/2005 on microbiological criteria for foodstuffs; No 1441/2007 amending Regulation (EC) No 2073/2005 on microbiological criteria for foodstuffs; No 365/2010 amending Regulation (EC) No 2073/2005 on microbiological criteria for foodstuffs as regards Enterobacteriaceae in pasteurised milk and other pasteurised liquid dairy products and Listeria monocytogenes in food grade salt.
8. EFSA, Assessing health benefits of controlling Campylobacter in the food chain. Scientific colloquium summary report, 2008, № 12.
9. EFSA. The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents, Antimicrobial resistance and Foodborne outbreaks in the European Union in 2006. – *The EFSA Journal*, 2007, № 130, 3–352.
10. Farmer, J. J., M. A. Asbury, F. W. Hickman & D. J. Brenner. The Enterobacteriaceae Study Group (USA). Enterobacter sakazakii: a new species of “Enterobacteriaceae” isolated from clinical specimens. – *Int J Syst Bacteriol*, 1980, № 30, 569–584.
11. Gibbs, P. Characteristics of spore-forming bacteria – in „Foodborne pathogens. Hazards, risk analysis and control”. Edited by Clive de W. Blackburn and Peter J. McClure Woodhead Publishing Ltd and CRC Press LLC, 2002, 423–427.
12. Iversen, C., A. Lehner, N. Mullane. Identification of „Cronobacter spp. (Enterobacter sakazakii)”. – *Journal of Clinical Microbiology*, Nov. 2007, 3814–3816.
13. Iversen, C., N. Mullane, B. McCardell. Cronobacter gen. nov., a new genus to accommodate the biogroups of Enterobacter sakazakii, and proposal of Cronobacter sakazakii gen. nov. comb. Nov., C. malonaticus sp. Nov., C. turicensis sp. Nov., C. muytjensii sp. Nov., C. dublinensis sp. Nov., C. genomospecies 1, and of three subspecies, C. dublinensis subspecies dublinensis subsp. Nov., C. dublinensis subsp. lausannensis subsp. Nov., and C. dublinensis subsp. lactaridi subsp. Nov. – *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2008, № 58, 1442–1447.
14. Marilyn, C. E. and J. Kornacki. – In: Principles of Microbiological Troubleshooting in the Industrial Food Processing Environment, Food Microbiology and Food Safety, 2010, № 20, p. 140.
15. Microbiological risks in infant formulae and follow-on formulae. Opinion of the Scientific Panel on Biological Hazards on a request from the Commission related to the microbiological risks in infant formulae and follow-on formulae (Question N° EFSA-Q-2003-111). – *The EFSA Journal*, 2004, № 113, 1–35.
16. Reij, M. W, E. D Den Aantrekker. Recontamination as a source of pathogens in processed foods. – *International Journal of Food Microbiology*, 91, 15 February 2004, № 1, 1–11.
17. Schraft, H. and M. W. Griffiths. Bacillus cereus gastroenteritis. – In: Foodborne Infections and Intoxications. Third ed. Edited by Hans P. Riemann and Dean O. Cliver. Academic Press, USA, 2006, 563–577.
18. USFDA, Center for Food Safety and Applied Nutrition. Isolation and Enumeration of Enterobacter sakazakii from Dehydrated Powdered Infant Formula, 2002.
19. WHO/FAO. Safe preparation, storage and handling of powdered infant formula. Guidelines, Switzerland, 2007.
20. WHO/FAO. Salmonella and Campylobacter in chicken meat. Meeting report. MRA, 2009, series 19.

