

Řízení alergenů v potravinářství

Nikoletta Kováčsová

Bakalářská práce
2017



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie potravin
akademický rok: 2016/2017

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Nikoletta Kováčsová**
Osobní číslo: **T15461**
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Chemie a technologie potravin**
Forma studia: **kombinovaná**

Téma práce: **Řízení alergenů v potravinářství**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Charakterizujte hlavní potravinové alergeny
2. Popište stručně principy alergických reakcí
3. Uveďte možnosti řízení a detekce alergenů v potravinovém řetězci

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

[1] MADSEN, CH. B., CREVEL, R. W. R., MILLS, C., TAYLOR, S. L. Risk Management for Food Allergy. Academic Press Inc. 2014. 312 pp. ISBN 978-0-12-381988-8.

[2] KOPPELMAN, S., HEFLE, S. Detecting allergens in food. CRC Press. 2006. 440 pp. ISBN-10: 0-8493-2574-9.

[3] HOFFMANN, B., MUNCH, S., SCHWAGELE, F., NEUSSUS, C., JIRA, W. A sensitive HPLC-MS/MS screening method for the simultaneous detection of lupine, pea, and soy proteins in meat products. Food Control. 2017. Vol 71. pp. 200-209.

[4] FUCHS, M., et al. Potravinová alergie a intolerance. Mladá Fronta. 2016. 447 s. ISBN 978-80-204-3757-0.

Vedoucí bakalářské práce:

MVDr. Michaela Černíková, Ph.D.

Ústav technologie potravin

Datum zadání bakalářské práce:

3. února 2017

Termín odevzdání bakalářské práce:

5. května 2017

Ve Zlíně dne 3. února 2017

doc. Ing. František Buňka, Ph.D.
děkan



doc. Ing. František Buňka, Ph.D.
ředitel ústavu

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně

.....

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacího zařízení (školní dílo).

³⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlédne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Práca sa zaoberá riadením alergénov v potravinárstve a ich významom v potravinovom reťazci. Keďže prevalencia a závažnosť ochorení stále narastá, má to vplyv na potravinársky priemysel a taktiež na spotrebiteľa, ktorý má právo dozvedieť sa o výrobku čo najviac na základe deklarovaného zloženia na jeho obale. V záujme dostupnosti príslušných informácií určila Európska komisia 14 potravinových alergénov potraviny, ktoré ich obsahujú v akomkoľvek množstve, musia byť zreteľne označené na obaloch potravín. Povinnosť deklarácie alergénov na obaloch potravín stanovuje Nariadenie Európskeho parlamentu Rady (ES) č. 1169/2011 v platnom znení. Výroba produktov, obsahujúcich alergény vyžadujúce deklaráciu, musí byť prevedená tak, aby sa čo najväčšom možnom rozsahu minimalizovala krížová kontaminácia. Riadenie alergénov v potravinárstve je možné z viacerých hľadísk.

Kľúčové slová: alergén, potraviny, riadenie alergénov, krížová kontaminácia

ABSTRACT

The thesis deals with the management of food allergens and their purpose in the food chain. As the prevalence and importance of the disease keeps increasing, it has an impact on the food industry and also on the consumer who has the right to be informed about the product as much as possible based on the declared composition on its packaging. In order to make the information available, the European Commission has identified 14 food allergens. Foods containing them in any quantity must be clearly marked on the food packaging. The obligation to declare allergens on food packaging is laid down in Council Regulation (EC) The production of products containing allergens requiring a declaration must be carried out in such a way as to minimize cross-contamination as much as possible. Allergy management in the food industry is possible in several ways.

Keywords: allergen, food, management of allergens, cross contamination

Touto cestou by som sa chcela poďakovať vedúcej mojej bakalárskej práce, MVDr. Michaele Černíkovej, Ph.D., za jej cenné rady a pripomienky, za jej čas a ochotu pomôcť počas vypracovávania mojej kvalifikačnej práce.

Prehlasujem, že odovzdaná verzia bakalárskej práce a verzia elektronická nahraná do IS/STAG sú totožné.

OBSAH

ÚVOD	8
I TEORETICKÁ ČASŤ	9
1 ALERGÉNY	10
1.1 ROZDELENIE ALERGÉNOV	10
1.1.1 <i>Codex alimentarius</i>	11
1.1.2 Nariadenie č. 1169/2011	12
1.2 ALERGICKÉ REAKCIE	15
1.2.1 Alergia, atopia	15
1.2.2 Typy imunopatologických reakcií	16
1.2.3 Humorálne imunopatologické reakcie	16
1.2.4 Imunopatologické reakcie sprostredkované bunkami	18
2 METÓDY STANOVENIA POTRAVINOVÝCH ALERGÉNOV	20
2.1 IMUNOCHEMICKÉ METÓDY	20
2.1.1 ELISA	22
2.1.1.1 Princíp stanovenia metódy ELISA	22
2.1.2 <i>Lateral Flow Assays</i>	23
2.1.3 <i>Surface Plasmon Resonance Immunoassays</i>	24
2.1.4 Hmotnostná spektrometria	25
2.2 PCR	25
3 RIADENIE ALERGÉNOV V POTRAVINÁRSTVE	27
3.1 SYSTÉM HACCP	27
3.1.1 Nariadenie EP a Rady č. 852/2004	28
3.1.2 Zostavenie tímu HACCP	28
3.1.3 Analýza HACCP	29
3.1.4 ČSN ISO 22000	30
3.1.5 Programy nevyhnutných predpokladov	30
3.1.6 Čistenie a sanitácia	31
3.2 INŠPEKČNÉ ŠTANDARDY	32
3.2.1 <i>BRC</i>	32
3.2.2 <i>IFS</i>	33
3.3 RAPID ALERT SYSTEM FOR FOOD AND FEED	34
ZÁVER	35
ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY	36
ZOZNAM POUŽITÝCH SYMBOLOV A SKRATIEK	41

ÚVOD

Potravinové alergény sú proteíny, ktoré u alergických jedincov vyvolávajú imunitnú reakciu organizmu. Štruktúra, biochemické a fyzikálno – chemické vlastnosti určujú ich silu. Imunitná reakcia je naštartovaná požitím potravy obsahujúcej malé množstvo potravinového alergénu. Množstvo alergénu nevyhnutné k vyvolaniu imunitnej reakcie sa pohybuje v širokom koncentračnom rozmedzí a je pre každého jedinca špecifické. Minimálna koncentrácia alergénu, ktorá vyvoláva alergickú reakciu, sa označuje ako prahová hodnota (Żukiewicz-Sobczak et al., 2013). Reakcia organizmu sa môže prejaviť viacerými príznakmi, od miernych vyrážok a ekzémov, zvracania, opuchov hrtanu, astmy až po dýchacie a žalúdočné problémy. U malého percenta alergikov môže dôjsť až k anafylaktickému šoku, či smrti (Minář, 2007).

Prakticky štvrtina ľudí na svete trpí nejakou formou alergie, prevalencia a závažnosť ochorenia stále narastá. Táto skutočnosť má vplyv na potravinársky priemysel a taktiež na spotrebiteľa, ktorý má právo dozvedieť sa o výrobku čo najviac na základe deklarovaného zloženia na jeho obale. V záujme dostupnosti príslušných informácií určila Európska komisia 14 potravinových alergénov. Potraviny, ktoré ich obsahujú v akomkoľvek množstve, musia byť zreteľne označené na obaloch potravín (Nariadenie č. 1169/2011; Woods et al., 2002).

Alergických potravín existuje mnoho, ale medzi potraviny, spôsobujúce alergickú reakciu až v 90 % prípadoch patrí iba osem z nich. Jedná sa o mlieko, burské orechy (semená podzemnice olejnej), stromové orechy, vajcia, pšenicu, sóju, ryby a morské plody. Ďalšie potraviny, ktoré často spôsobujú alergické reakcie, sú čerstvé ovocie a zelenina, avšak ich bielkoviny sú termolabilné a počas tepelnej úpravy strácajú väčšinu svojej alergenicity. Prejavy alergie sú vtedy zmiernené a väčšinou sa v tomto prípade prejavujú iba podráždením ústnej dutiny, či jej začervenaním alebo zdurením (postihnutím orofaryngeálnej oblasti). Pre Českú republiku sú taktiež významné alergie na potraviny či niektoré druhy ovocia, ktoré se v našich podmienkach prirodzene nevyskytujú a sú k nám dovážané (napr. mango, ananás, avokádo) (Fuchs, 2013; Fiocchi, 2006; Madsen et al., 2014). Problém potravinových alergií spočíva okrem iného v tom, že zatiaľ neexistujú účinné metódy liečby. Alergickými reakciami na potraviny trpí 2-3% ľudskej populácie z toho asi (1-2% dospelých, 5-8% detí) (Minář, 2007).

I. TEORETICKÁ ČASŤ

1 ALERGÉNY

Alergén je akýkoľvek antigén schopný vyvolať alergickú odpoveď. Termín sa využíva pre zdroj alergénov, ale aj pre konkrétne imunochemicky alebo molekulárne definované antigénne štruktúry. Potenciálnym alergénom je akákoľvek cudzorodá substancia schopná navodiť imunitnú odpoveď organizmu. Takzvané hlavné alergény sú tie, proti ktorým vyvíjašpecifickú protilátkovú odpoveď prostredníctvom typu E(IgE) až 90 % všetkých ľudí alergických na tento druh alergénu. Ostatné alergény sa radia medzi vedľajšie. Panalergénmi sa označujú bielkoviny, nachádzajúce sa súčasne v rôznych prírodných zdrojoch, majú rovnakú sekvenciu aminokyselín, vďaka čomu môže dochádzať ku skríženým inhalačným alergiám (napr. na peľ brezy) a zároveň tiež potravinovým alergiám (napr. jablko) (Hořejší& Bartůňková, 2009).

1.1 Rozdelenie alergénov

Alergény delíme podľa pôvodu na rastlinné a živočíšne. Medzi najčastejšie sa vyskytujúce potraviny živočíšneho pôvodu, ktoré spôsobujú alergické reakcie sú ryby, mäkkýše a kôrovce. Proteíny kravského mlieka patria k frekventovaným príčinám vzniku alergických reakcií predovšetkým u detí. Potravinová alergia na antigény rastlinného pôvodu je častejšia u dospelých, zvyčajne je dôsledkom inhalačnej senzibilizácie, najčastejšie peľovými alergénmi. Klasickým prejavom je orálny alergický syndróm (OAS). Potravinami rastlinného pôvodu, ktoré sa podieľajú na vzniku alergickej reakcie sú často obilniny, strukoviny, ovocie, zelenina, citrusové plody, orechy, či koreniny (Pružinec, 2002).

Podľa Európskej akadémie alergológie a klinickej imunológie (EAACI), sú alergény antigény spúšťajúce reakcie imunologickej precitlivelosti (Johansson et al., 2001). EAACI navrhla v roku 1994 klasifikáciu škodlivých potravín podľa patogenetického mechanizmu na toxické a netoxické reakcie. Toxické sa prejavujú u každého jedinca, ktorý požíje dostatočnú dávku toxického činiteľa. Netoxické reakcie závisia na individuálnej precitlivenosti a vrodených predispozíciach, u zdravého jedinca sa neprejavajú (Gabrovská a kol., 2010).

Potravinové alergény sa tepelnou úpravou denaturujú a tým čiastočne strácajú svoju alergenicitu. Alergén je zväčša charakterizovaný kyslým pH, ide o proteín alebo glykoproteín. Táto skutočnosť má veľký význam najmä u bielkovín rastlinného pôvodu. U živočíšnych alergénov nezaručí zníženie alergenicity ani zvýšená

teplota. Presvedčiť sa môžeme napríklad u mlieka, vajec, rýb, či kôrovcov, ktoré sú aj po použití pasteračnej teploty silno alergénne (Čáp, 2006; Konrád, 2008). Dominantné alergény se menia s vekom, ale iné budú alergény pre kojencov a iné pre dospelého človeka (Špičák, 2004).

1.1.1 Codex alimentarius

Codex Alimentarius(CA) je medzinárodná a medzivládna inštitúcia, ktorá sa podieľa na tvorbe noriem pre zdravotnú nezávadnosť potravín a noriem pre ochranu spotrebiteľa, k uľahčeniu svetového obchodu s potravinami. Výbor *Codex Alimentarius* pre označovanie potravín vypracoval v roku 1993 pracovnú dokumentáciu na uznávanie potencionálnych alergénov v potravinách. Prebehla spolupráca Nórska, Fínska, Švédska, Islandu a technického konzultačného strediska *Food and Agriculture organization* – organizácia pre výživu a poľnohospodárstvo(FAO) pre potravinové alergie v talianskom Ríme a bol vypracovaný zoznam zložiek a potravín, ktoré sa musia na obale potravín vždy deklarovať:

- obiloviny obsahujúce gluteín- žito, pšenica, jačmeň , ovos, špalda a ich hybridy
- kôrovce a výrobky z nich
- vajce a výrobky z nich
- ryby a výrobky z rýb
- sója, burské oriešky a výrobky z nich
- mlieko a mliečne výrobky vrátane laktózy
- orechy a výrobky z nich
- oxid siričitý s koncentráciou rovnej alebo viac ako 10 mg/kg

Tento zoznam bol Komisiou *Codex Alimentarius* prijatý v roku 1999 ako konečný text. Pridávanie alebo uberanie látok prevádza Výbor *Codex Alimentarius* pre označovanie (CCFL) vďaka informáciám obdržaných od *Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*(JECFA). S vývojom doby, bol aj tento zoznam postupne rozšírený o ďalšie zložky. (Pavelková& Burešová, 2012). Dnes je povinnosť deklarácie v EÚ pre 14 potravinových alergénov, nájdeme ich v nariadení Európskeho parlamentu a rady č. 1169/2011, v platnom znení V iných krajinách, je ale skutočnosť iná, napr. v Spojených štátoch amerických (USA)sa problematikou označovania alergénov zaoberá *US Food and Drug Administration* (FDA). Podáva informácie o tom, že potravinové právo pre označovanie alergénov a ochranu spotrebiteľa Spojených štátov amerických *Food allergen Labe-*

ling and Consumer Protection Act (FALCPA) s platnosťou od 1. januára 2006, uznáva ako 8 najbežnejších potravinových alergénov: arašidy, sójové bôby, mlieko, vajcia, ryby, kôrovce, pšenicu a orechy (Vierket al., 2007). V záujme ochrany pre spotrebiteľov bola v Japonsku, 1. septembra 2009, založená Agentúra pre spotrebiteľov (*Consumer Affairs Agency (CAA)*), predmetom jej záujmu sú obchod, označovanie a bezpečnosť potravín. CAA označuje 7 potravinových alergénov, ktoré sú výrobcovia povinní uvádzať na etiketách. Sú nimi: vajcia, mlieko, pšenica, arašidy, pohanka, krevety a kraby (IFAAA, 2016).

1.1.2 Nariadenie č. 1169/2011

Nariadenie Európskeho parlamentu a Rady (EÚ) č. 1169/2011 zo dňa 25. 10. 2011 o poskytovaní informácií o potravinách spotrebiteľom, o zmene nariadenia Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 1924/2006 a (ES) č. 1925/2006 a o zrušení smernice Komisie 87/250/EHS, smernice Rady 90/496/EHS, smernice Komisie 1999/10/ES, smernice Európskeho parlamentu a Rady 2000/13/ES, smerníc Komisie 2002/67/ES a 2008/5/ES a nariadenia Komisie (ES) č. 608/2004 (ďalej nariadenie 1169/2011), stanovuje povinnosť deklarácie alergénov na obaloch potravín. Nariadenie tiež stanovuje poskytovanie informácií o alergénoch aj v prípade nebalných potravín.

Pri uvádzaní zložiek musí prevádzkovateľ potravinárskeho podniku zvýrazniť názov látky, prípadne produkty uvedené v prílohe II Nariadenia č. 1169/2011.

Príloha II obsahuje: **LÁTKY alebo PRUDUKTY VYVOLÁVAJÚCE ALERGIE ALEBO NEZNÁŠANLIVOSŤ**

- Obilniny obsahujúce glutén (lepok), konkrétne pšenica obyčajná, raž, jačmeň, ovos, pšenica špalda, cirok alebo ich hybridné odrody, a výrobky z nich okrem:
 - a) glukózových sirupov na báze pšenice vrátane dextrózy;
 - b) maltodextrínov na báze pšenice;
 - c) glukózových sirupov na báze raže;
 - d) obilnín použitých pri výrobe alkoholických destilátov vrátane etylalkoholu poľnohospodárskeho pôvodu
- Kôrovce a výrobky z kôrovcov
- Vajcia a výrobky z vajec

- Ryby a výrobky z rýb okrem:
 - a) rybacej želatíny používanej jako nosič vitamínov alebo karoténových prípravkov
 - b) rybacej želatíny alebo rybacieho gleja používaných jako prostriedky na čírenie piva a vína
- Arašidy a výrobky z arašidov
- Sójové bôby a výrobky zo sójových bôbov okrem:
 - a) úplne rafinovaného sójového oleja a tuku;
 - b) zmesi prírodných tokoferolov (E 306), prírodného D-alfa tokoferolu, prírodného D-alfa-tokoferolacetátu, prírodného D-alfa-tokoferolsukcinátu sójového pôvodu;
 - c) rastlinných olejov vyrobených z fytosterolov a esterov fytosterolov zo sójových bôbov;
 - d) rastlinného stanolesteru vyrobeného z rastlinných olejových sterolov zo sójových bôbov.
- Mlieko a mliečne výrobky (vrátane laktózy) okrem:
 - a) srvátky použitej na výrobu alkoholických destilátov vrátane etylalkoholu poľnohospodárskeho pôvodu;
 - b) laktitolu.
- Orechy, konkrétne mandle (*Amygdalus communis* L.), lieskové oriešky (*Corylus avellana*), vlašské orechy (*Juglans regia*), kešu oriešky (*Anacardium occidentale*), pekanové orechy (*Carya illinoensis*), brazílske orechy (*Bertholletia excelsa*), pistáciové oriešky (*Pistacia vera*), makadamové orechy a queenslandské orechy (*Macadamia ternifolia*) a výrobky z nich okrem orechov používaných na výrobu alkoholických destilátov vrátane etylalkoholu poľnohospodárskeho pôvodu.
- Zeler a výrobky zo zeleru.
- Horčica a výrobky z horčice.
- Sezamové semeno a výrobky zo sezamových semien.

- Oxid siričitý a siričitany v koncentráciách vyšších ako 10 mg/kg alebo 10 mg/l z hľadiska celkového obsahu SO₂, ktoré sa majú počítať pri výrobkoch určených na priamu konzumáciu alebo po obnovení podľa pokynov výrobcov.
- Vlčí bôb a výrobky z vlčieho bôbu.
- Mäkkýše a výrobky z mäkkýšov.

Zvýraznenie celého názvu týkajúcej sa zložky je považované za splnenie požiadaviek nariadenia. Nariadenie ale nestanovuje presnú formu zvýraznenia alergénov na obaloch potravín. Musí byť iba zvýraznený tak, aby bol jasne odlišený od ostatných zložiek v danom zložení. Prípadne sa môže jednať aj o iný spôsob zvýraznenia napr. podtrhávaním textu alebo písanie veľkými písmenami. Spotrebiteľovi musí byť jasné, že sa v zložení alergén nachádza. Pokiaľ je názov zložky tvorený niekoľkými samostatnými slovami, stačí ak je zvýraznená len látka/produkt, ktoré vyvolávajú alergie alebo neznášanlivosť. Napríklad: „**mlieko**“, „**smotana**“, **pšeničná múka**“, „sušené **mlieko**“, ale správne by bolo aj označenie „**sušené mlieko**“. Takto zvýraznené musia byť všetky slová aj vtedy, keď sa v texte vyskytujú opakovane (Nariadenie č. 1169/2011).

U obalov alebo nádob, u ktorých najväčšia plocha nepresahuje 10 cm², môžeme zoznam zložiek vynechať. V tomto prípade, ale ak nie je zoznam zložiek uvedený, sa musí taktiež povinne uvádzať výskyt látok alebo produktov vyvolávajúcich alergie či neznášanlivosť v potravinách a to tak, že po slove „obsahuje“ sa uvedie názov látky, prípadne produktu, ktorý spôsobuje alergickú reakciu. Na tento prípad sa vzťahuje aj pravidlo, podľa ktorého sa prítomnosť látok alebo produktov vyvolávajúcich alergie či neznášanlivosť nemusí uvádzať, pokiaľ názov potraviny jednoznačne odkazuje na danú alergénnu látku. Za takýchto okolností nie je potrebné žiadne zvýraznenie alebo zdôraznenie daných alergénnych látok, či produktov (anonym, 2014; Nariadenie č. 1169/2011).

Pokiaľ by sme vychádzali zo situácie, kedy alergén nebol do potraviny pridaný ako zložka, ale na obale je uvedené upozornenie pre spotrebiteľa: „*Môže obsahovať stopy...*“, by mal byť takýto alergén prítomný v potravine pod hodnotou citlivosti akreditovanej laboratórnej metódy (na potravinu sa bude prihliadať akoby alergén neobsahovala). Tolerancie v žiadnom právnom predpise nie sú stanovené. Pokiaľ je obsah alergénov v potravine na hranici medze stanoviteľnosti akreditovanej laboratórnej metódy alebo nepatrne vyššej (napr. pre účely kontroly SZPI), považuje sa za nepatrne vyššie hodnoty max. 10x vyššie,

môžeme hovoriť o stopovom množstve a označovanie by mohlo byť považované za vyhovujúce. Veta: „Môže obsahovať stopy...“ sa nemôže používať neobmedzene. Je nutné, aby si prevádzkovateľ potravinárskeho podniku preveril, či má správne vypracovaný HACCP, aké sú výsledky jednotlivých rozborov a pod. (Nariadenie č. 1169/2011; anonym, 2014).

1.2 Alergické reakcie

1.2.1 Alergia, atopia

Alergia je definovaná ako skupina chorôb, u ktorých opakovaná expozícia neškodným antigénom vonkajšieho prostredia (alergénom) navodzuje v tkanivách a v orgánoch zápalové zmeny, ktoré vedú následne k poruchám v ich štruktúre a funkcii. V rozvoji alergickej reakcie sa môžu uplatniť všetky typy reakcií precitlivelosti podľa Gella a Coombsa (1968). O alergii v užšom slova zmysle sa hovorí, pokiaľ sa ochorenie rozvíja na podklade precitlivelosti I.typu, teda je sprostredkované protilátkou IgE (Hořejší & Bartůňková, 2009).

Termín *alergia* (*allos ergos*) - iná reakcia - pochádza z roku 1906 od viedenského pediatra Clemense von Pirqueta. V roku 2006 to bolo 100 rokov, od doby, kedy bolo prvýkrát vyslovené slovo *alergia*. (Bystroň, 1997; Fuchs, 2007).

Pojem *atopia* pochádza z gréckeho *a – topos* – nemiestny – býva často s pojmom *alergia* zamieňaný. Označuje geneticky podmienenú tendenciu jedincov odpovedať na expozíciu extrémne nízkym dávkam bežných alergénov vonkajšieho prostredia nadmernou tvorbou špecifických protilátok IgE. Následnou interakciou takto vzniknutých protilátok s vyvolávajúcim antigénom (alergénom) dochádza k rozvoju zápalu, ktorý sa klinicky manifestuje ako alergické ochorenie. Trochu zjednodušene sa dá povedať, že alergická reakcia je fenotypickým prejavom atopického genotypu. Týka sa však len alergie I.typu, ktorá je najčastejšia (Horejší&Bartůňková, 2009).

Potravinové alergie môžu viesť k životu ohrozujúcim reakciám a taktiež sa podieľajú na zníženej kvalite života. V posledných desaťročiach sa prevalencia potravinových alergií zvýšila. Hoci bolo viac ako 170 potravín, ktoré sú označované za potenciálne alergénne, menšina z nich sú potraviny, ktoré spôsobujú väčšinou reakciu na bežné potraviny (Burks et al., 2012).

Aby došlo k rozvoju alergie v organizme, musia byť splnené základné predpoklady, ktoré pôsobia vo vzájomnej súčinnosti. Sú nimi genetické predispozície, pôsobenie doplnňujúcich nešpecifických vplyvov a senzibilizácie voči alergénom (Špičák&Panzner, 2004).

Termín potravinová alergia podľa definície amerických národných inštitúcií pre alergiu z roku 2010 sa týka imunitnej odpovede zameranej na jedlo a infekčné choroby. Nepriaznivý účinok potravinových alergií je výsledkom špecifickej imunitnej odpovede, ktorá sa vyskytuje reprodukovateľne pri expozícii k danému jedlu. Sú to imunitné reakcie sprostredkované IgE (Burks et al., 2012).

1.2.2 Typy imunopatologických reakcií

Za normálnych okolností imunitný systém pracuje tak, že bojuje so škodlivinami v našom organizme. Niekedy, ale dôjde k neúčinnnej alebo nadmernej imunitnej reakcii, ktorá vedie k poškodeniu tkanív a orgánov. Tieto poškodzujúce imunitné reakcie, tiež nazývané imunopatologické reakcie bývajú označované za reakcie precitlivelosti. Podľa prevládajúcich efektorových mechanizmov zodpovedných za patologické prejavy, môžeme imunologické reakcie rozdeliť na humorálne a sprostredkované bunkami (Bartůňková a kol., 2011, Hořejší&Bartůňková, 2009). Imunopatologické reakcie sú rozdelené do štyroch základných typov podľa Gella a Coombsa (1968). V rozvoji alergickej reakcie sa uplatňujú všetky štyri typy imunopatologických reakcií. O alergii v užšom slova zmysle sa hovorí, pokiaľ sa ochorenie rozvíja na podklade precitlivelosti I. typu, tzn. že je sprostredkované protilátkou IgE (Hořejší& Bartůňková, 2009; Špičák&Panzner, 2004).

1.2.3 Humorálne imunopatologické reakcie

Medzi humorálne imunopatologické reakcie patria:

- Imunopatologické reakcie s účasťou protilátok IgE – atopia (reakcie I. typu)
- Imunopatologické reakcie s účasťou protilátok IgG a IgM (reakcie II. typu)
- Imunopatologické reakcie s tvorbou imunokomplexov s protilátkami IgG (reakcie III. typu)

Najbežnejším typom humorálnej imunopatologickej reakcie je typ spojený s tvorbou IgE proti niektorým antigénom (alergénom) vonkajšieho prostredia. Môžu nimi byť zložky peľových zrní, antigény roztočov z domáceho prachu, zvieracia srst, či potravinové antigény. Jedinci, ktorí reagujú na neškodné antigény produkciou IgE, sa označujú ako

atopici a tento druh precitlivosti je nazývaný atopiou. Túto reakciu označujeme tiež ako precitlivosť predčasného typu, nakoľko k reakcii dochádza veľmi rýchlo po kontakte s alergénom (niekoľko minút). Alergická reakcia prebieha v tomto prípade v závislosti na vstupe alergénu lokálne (alergická nádcha - *rhinitis*, *conjunctivitis*, *astma bronchiale*, atopická *dermatitis*) alebo systémovo (anafylaktický šok). Dochádza k uvoľneniu mediátorov (prenášačov/látok), ktoré spôsobujú zvýšenú permeabilitu ciev, vedúcu k poklesu krvného tlaku s vrtkými dôsledkami (opuchy pľúc, ischemia mozgu, vo finálnej fáze aj multiorgánové zlyhanie). Pri počiatocnom kontakte, tzv. senzibilizácii, dôjde k stimulácii diferenciácie mnohých buniek a ich hromadeniu v mieste, kde prebehla expozícia alergénu (Madsen et al., 2014; Špičák&Panzner, 2004; Hořejší&Bartůňková, 2009; Burs et al., 2012). Medzi mediátory zaraďujeme napr. leukotrieny, prostaglandin E₂, bradykinin, cytokiny, neutrofiliny a taktiež histamín, ktoré môžu vyvolávať bolesť. Mediátory histamín, bradykinín a prostaglandín E₂ pôsobia vazodilatačne a zvyšujú permeabilitu ciev (Silbernagl&Lang, 2012).

Medzi reakcie s účasťou protilátok IgG a IgM, teda reakcie II. typu zaraďujeme protilátky cytotoxické. Pri týchto reakciách sa tvoria protilátky IgG a IgM, ktoré majú schopnosť aktivácie komplementu alebo spôsobiť reakciu typu ADCC – teda „*antipody dependent cellular cytotoxicity*“. Bunkovú cytotoxicitu závislú na protilátkach. Je to druh imunitnej reakcie, pri ktorej dochádza k likvidácii buniek a na ich povrchu je naviazaná protilátka. Lýzu vykonávajú NK bunky (*natural killer cells*), ktoré svojim receptorom rozoznávajú fragment imunoglobulínu, ďalej eozinofily, neutrofiliny a monocyty. Do tejto skupiny zaraďujeme transfúzne reakcie, ktorých príčinou sú protilátky proti alelickým formám niektorých povrchových antigénov erytrocytov, doštičiek, či leukocytov. Najvýraznejšími antigénmi krvných skupín sú oligosacharidy určujúce krvné skupiny O (trisacharid zložený z N – acetylglukozamínu, galaktózy a fukózy) A antigén, B antigén (Burks et al., 2012; Hořejší a kol., 2013).

Ďalšou skupinou protilátok, sú protilátky blokujúce alebo stimulačné. Podtypom II. typu imunopatologických reakcií je stav, kedy autoprotilátky priamo neničia cieľovú štruktúru, ale blokujú alebo stimulujú ich funkciu. Protilátky vytvárajú stimulačný efekt, keď proti membránovému receptoru môžu stimulovať funkciu prirodzeného ligandu alebo súťažia o väzbu s určitým ligandom a bránia tak jeho väzbe – tzv. blokujúci efekt. Príkladom stimulačných protilátok sú protilátky proti receptoru pre TSH (hormón stimulujúci tyreoidu), vyskytujúce sa pri Gravesovej – Basedowovej chorobe (tyreotoxikózy).

Klasický príklad pre imunopatologické pôsobenie blokujúcich protilátok je myasthenia gravis, u ktorej je v dôsledku väzby na autoprotilátky na acetylcholinový receptor blokovaný nervovosvalový prenos, napr. perniciózní anémia, hypotyreóza. Protilátky proti receptoru diabetu pre inzulín môžu spôsobiť vzácne formy diabetu (Špičák & Panzner, 2004; Hořejší a kol., 2013).

Imunopatologické reakcie s tvorbou imunokomplexov – reakcie III. typu, sú čiastočne podobné atopiám (reakciám I. typu), ale narozdiel od nich sú spôsobené protilátkami IgG. Reakciu III. typu sprostredkovávajú imunokomplexy. Komplexy vznikajúce väzbou protilátky na antigén, ktorý sa usádza v tkanivách a krvných cievach. K ochoreniam, ktorých príčinou je III. typ precitlivelosti, patria sérová choroba, farmárske pľúca a pravdepodobne reumatoidná artritída. Imunokomplexové poškodenie sa taktiež uplatňuje v patogenézií systémového *lupus erythematoses* (autoimunitné ochorenie, s výraznou prevalenciou u žien, vyznačujúce sa multiorgánovým postihnutím, obzvlášť postihnutím obličiek a mozgu), kryoglobulinémii (prítomnosťou kryoglobulínov v krvi, dochádza k poškodeniu funkcie trombocytov, menia priepustnosť cievnej steny, dôsledkom môžu byť sťahy ciev postihujúce prsty, infarkty vnútorných orgánov, či petechiálne krvácanie). Ďalej je zodpovedné za tzv. sterilné následky infekčných ochorení, kedy u vnímavých jedincov dochádza po infekčnom ochorení k tkaninovému poškodeniu, ktoré má až autoimunitný charakter. Príkladom je karditída s kĺbovým reumatizmom, poststreptokoková glomerulonefritída, či postinfekčné artritídy. Postinfekčné artritídy sa vyskytujú najčastejšie po chlamydiových, salmonelových, či shigellových infekciách (Burks et al., 2012; Minář & Šuška, 2007, Silbernagl & Lang, 2012; Abusamieh & Ash, 2004).

1.2.4 Imunopatologické reakcie sprostredkované bunkami

Do tejto skupiny reakcií zaraďujeme:

- Imunopatologické reakcie oddialeného typu (reakcie IV. typu)
- Cytotoxické imunopatologické reakcie
- Reakcie na cudzie teleso
- Imunopatologické reakcie pri otrave krvi (sepsi)

Imunopatologická reakcia štvrtého typu se nazýva tiež ako reakcia oddialeného typu alebo aj DTH (z anglického *delayed type hypersensitivity*) a vzniká za pomoci T-lymfocytov, ktoré sú senzibilizované špecifickým antigénom. Aktivované T-lymfocyty spolu s makrofágmi, ktoré prilákajú aktiváciou svoju toxickú reakciu alebo uvoľnením rozpustných látok priamo pôsobia na organizmus. Nefyziologická reakcia sa prejavuje lokálnym poškodením tkaniva, čo môže následne viesť až k nekrózám. Príkladom je tuberkulínová reakcia, pri ktorej dochádza k zhukom zmenených makrofágov, tzv. mnohjadrových buniek (Lüllmann-Rauch, 2012; Dostál, 2005; Madsen et al., 2014).

2 METÓDY STANOVENIA POTRAVINOVÝCH ALERGÉNOV

Potravinové alergény sú (napr. proteíny, sacharidy), ktorých je v sledovanom materiáli väčšinou veľmi malé množstvo. Z tohto hľadiska je nutné vychádzať pri určovaní metód vhodných k stanoveniu. Stále sa zvyšujúce povedomie o význame potravinových alergií na zdravie človeka, nesie so sebou aj zvýšenú pozornosť týkajúcu sa dohľadom nad potravinovými alergénmi (Worm et al., 2010; Gendel, 2012). Potravinársky priemysel sa neustále usiluje o zmiernenie rizika prostredníctvom použitia plánov pre kontrolu alergénov a validovaných postupov čistenia a hygieny prevádzok. Vizuálna kontrola plôch, ktoré sú v styku s potravinami, je jedným z kľúčových krokov, ktoré sa používajú na zabezpečenie účinnosti čistiaceho postupu (Sheehan et al., 2011). Validácia a zabezpečenie odstránenia alergénnych rezíduí z povrchov zariadení alebo zabezpečenie výrobkov bez obsahu alergénnych zvyškov, je v záujme potravinárskeho podniku (Taylor et al., 2010). V mnohých krajinách nie sú implementované prahové hodnoty pre vyvolanie alergickej reakcie. Napr. Japonsko v súčasnosti vyžaduje označovanie svojich prioritných potravinových alergénov, ak je koncentrácia proteínov z alergénneho zdroja >10 ppm (Akiyama et al., 2011). Dnes existuje množstvo kvantitatívnych a kvalitatívnych metód, ktoré sú k dispozícii na sledovanie rezíduí z alergénnych zdrojov (Schubert et al., 2009). Kvantitatívne metódy boli tiež vyvinuté pre hodnotenie rizika potravinových alergénov (Rimbaudet et al., 2010). Tieto modely hodnotenia rizika sa opierajú o presné stanovenie koncentrácie alergénnych rezíduí. Najvýznamnejšie metódy sú založené na využití protilátok, ktoré vznikajú v imunitnom systéme organizmu ako odpoveď na prítomnosť cudzorodých proteínov a nazývajú sa imunochemické metódy (Minář & Šuška, 2007).

2.1 Imunochemické metódy

Imunochemické metódy predstavujú širokú škálu analytických metód, ktoré sa využívajú na klinickú diagnostiku potravinovej alergie, alebo na detekciu alergénnych zvyškov potravín. Pred uplynutím polovice 90. rokov 20. storočia neexistovali rýchle analytické metódy, ktoré by mohli byť využívané pre potravinársky priemysel na detekciu rezíduí potravinových alergénov. Metódy ako testy rádioalergosorbčné (RAST) a enzýmovo-alergosorbčné (EAST) boli k dispozícii predovšetkým pre klinickú diagnostiku potravinovej alergie a na identifikáciu alergických proteínov (Pomset et al., 2004; Madsen et al., 2014).

RAST a inhibícia EAST umožňujú kvantitatívnu detekciu alergénnych potravinových proteínov na základenaviazania ľudského IgE (Koppelman et al.,1999).

Medzi najbežnejšie imunochemické metódy patria precipitačné metódy, založené na vzniku detekovateľnej zrazeniny (napr. imunoelektroforéza). Rádioimunoanalýzy, pri ktorých sa množstvo proteínu (alergénu) stanoví na základe súťaže proteínu a rádioaktívne značeného štandardu o väzbu s protilátkami. Enzymové imunoanalytické metódy známe pod pojmom ELISA, ktoré vo fáze detekcie používajú enzymovú reakciu. Na trhu je v súčasnosti možnosť vybrať si medzi niekoľkými výrobcami rapid testov, ktoré sa využívajú k stanovovaniu alergénov – sú založené na princípe ELISA imunochemických metód. Ponúkajú na výber testy pre kvalitatívne aj kvantitatívne vyhodnotenie. Detekčné limity sa pohybujú už od 1 ppm pre kity na stanovenie alergénov napr.z vajec alebo burských orieškov, cez 3 ppm pre glutéin, až po max. 70 ppm pre stanovenie sójových alergénov. ELISA testy pre stanovenie glutéínu sú uznané ako *Association of Analytical Communities* (AOAC), Združenie analytických spoločností(oficálne metódy) (Minář, 2007).

Takmer všetky potravinové alergény sú proteíny alebo glykoproteíny s molekulovou hmotnosťou v rozmedzí asi od 10 do 70 KDa. Na charakterizáciu potravinových alergénov boli aplikované imunologické metódy. Imunologické testy zahŕňajúce ľudské IgE protilátky sa používajú hlavne na charakterizáciu alergénnych vlastností IgE proteínu, zatiaľ, čo imunoanalýzy používajúce zvieracie antiséra detekujú určité proteíny používané na imunizáciu zvierat počas produkcie protilátok (nie špecifický alergénny proteín alebo alergén).Detekcia alergénov ľudskými protilátkami IgE zahŕňa inhibíciu rádioalergosorbčného testu alebo metódy inhibície enzymového alergosorpčného testu. Tieto metódy sú varianty RAST alebo aplikácie EAST a zvyčajne sa používajú na charakterizáciu séra pacienta určujúcich špecifické hladinyIgE (Minář, 2007; Koppelman, 2006; Besler, 2001).

Metódy detekcie zahŕňajúce protilátky od králikov, myší, kôz, oviec alebo kurčiat zahŕňajú imunodifúzne techniky, imunoelektroforézu, *dot-immunoblotting*, *sodium dodecyl sulfate* (SDS) - *polyacrylamide gel electrophoresis* (PAGE) (SDS - PAGE) *immunoblotting*(elektroforéza v polyakrylamidovom gély v prítomnosti dodecylsírany sodného)a enzymovo viazané imunosorbentné testy (ELISA - techniky). S výnimkou imunodifúznej techniky, ktorá nie je dostatočne citlivá. Tieto metódy sa používajú na detekciu a v niektorých prípadoch na kvantifikáciu potravinových alergénov. Na detekciu deoxyribo-

nukleovej kyseliny (DNA) z alergénnych zdrojov je vhodné využitie polymerázovej reťazovej reakcie (PCR) (Kopelman, 2006; Holzhauser et al., 2000; Besler, 2001).

2.1.1 ELISA

Angl. skratka „*enzyme – linked immuno sorbent assay*“, známa tiež ako *EIA* (skratka *enzyme immunoassay*), je analytická metóda, využívaná ku kvantitatívnemu stanoveniu rôznych antigénov. Táto metóda má viacero variánt. Všetky varianty sú založené na vysoko špecifickej interakcii antigénu a protilátky, pričom na jedného z týchto partnerov je kovalentne viazaný enzým (najčastejšie peroxidáza alebo alkalická fosfatáza) (Madsen et al., 2014; Yeung, 2006).

Dôvodom, pre ktorý sa táto metóda využíva na dôkaz a kvantitatívne stanovenie potravinových alergénov, je predovšetkým rýchlosť stanovenia, jednoduchá manipulácia s kitmi a v neposlednom rade finančné náklady na analýzu (Kopelman, 2006; Minář, 2007; Besler et al., 2002).

2.1.1.1 Princíp stanovenia metódy ELISA

Protilátka špecifická k stanovovanému alergénu sa zakotví na inertnom pevnom povrchu (napr. vo vnútri testovacej nádoby). Pridá sa vzorka s analyzovaným proteínom (alergénom), ktorý sa naviaže na zakotvenú protilátku. Následným premytím vhodným pufrácnym roztokom, sa vymyjú všetky nešpecifické proteíny, ktoré sa nenaviazali na protilátku. V ďalšom kroku sa znovu pridá špecifická protilátka k danému proteínu (alergénu), na ktorú je tentokrát ešte kovalentne naviazaný enzým, ktorý sa dá jednoducho stanoviť. Nasleduje ďalšie premytie, ktoré vymyje naviazanú protilátku, pridá sa substrát, ktorý so zbytkovým enzýmom naviazaným na proteín (alergén), vytvorí detekovateľný (napr. farebný) komplex. Intenzita sfarbenia je priamo úmerná intenzite enzymatickej aktivity a tým aj množstvu stanovovaného proteínu, teda alergénu. K presnému kvantitatívnemu vyhodnoteniu sa používa vhodná optická metóda (UV spektrometria, fluorimetria alebo jednoduché okometrické vyhodnotenie oproti farebnej rade štandardov so známymi koncentraciami). V prípade, že by vzorka neobsahovala stanovovaný alergén, nedošlo by k naviazaniu protilátok a následne enzýmu a tým pádom by nedošlo k farebnej zmene danej vzorky. Potvrdilo by sa, že testovaná vzorka neobsahuje alergén v množstve vyššom ako je limit detekcie (Kopelman, 2006; Minář, 2007; Hurley et al., 2004).

2.1.2 *Lateral Flow Assays*

Lateral Flow Assays LFIA testy sú jednoduché detekčné nástroje určené k zjsteniu prítomnosti analytu vo vzorku bez nutnosti zriaďovať akékoľvek prístrojové vybavenie. Princípom LFIA testu je kombinácia chromatografie a imunoafinitných reakcií (tj. reakcia protilátky, produkovanej organizmom a antigénu – analytu). Oblasť ich využitia zahŕňa celú škálu odborov. LFIA testy sa používajú napr. v medicíne, potravinárstve ale aj ochrane životného prostredia. LFIA test je zložený zo štyroch funkčných častí – najdôležitejšiu časť tvorí membrána, na ktorej sa zobrazuje výsledok testu v podobe jednej, alebo dvoch farebných línií, ktoré vypovedajú o výsledku testu, či je pozitívny alebo negatívny (Madsen et al., 2014; Hereijnen & Baumgartner, 2006). Membrána LFIA je zvyčajne konštruovaná z polyvinylidifluoridu (PVDF), nitrocelulózy alebo nylonu. Jednotlivé línie sa označujú ako testovacie a kontrolné línie. Vzorka sa nanáša na podložku pre nanášanie vzorku, odkiaľ vzorka prechádza na konjugačnú zónu, kde sa nachádza biomolekula (najčastejšie protilátka) imobilizovaná na farebné nanočastice (napr. zlaté, uhlíkové, nanočastice). Alergén-špecifický IgG je mobilizovaný v prvej zóne LFIA nazývanej testovacia zóna. Spojený protilátkový alergén (ak je prítomný vo vzorke) bude migrovať do testovacej zóny. Konjugát je kvapalinou, ktorá je vo vzorke obsiahnutá, ďalej unášaná na membránu, kde sa viaže na testovaciu a kontrolnú líniu. Vzorka, ktorá protéká cez membránu, je absorbovaná na podložke pre zachytenie vzorky. Jednotlivé funkčné časti LFIA testu sú nalepené na plastovej podložke. Princíp detekcie LFIA testu je závislý na zvolenom usporiadaní. Ak sa zistí pozitívny výsledok, bude pozorovaný vývoj vizuálnych línií v testovacích aj kontrolných zónach, zatiaľ čo negatívny výsledok bude naznačený pri vývoji línie len v kontrolnej zóne (Madsen et al., 2014; Koczula&Gallotta, 2016)

V prípadoch, kde sú prítomné veľmi vysoké hladiny alergénu (typicky vyššie ako 1000 až 10 000 ppm), vysoká koncentrácia alergénu môže prekonať LFIA, čo vedie k zlyhaniu vývoja línie buď v testovacej zóne alebo v zónke kontrolnej oblasti. Ak LFIA nie je starostlivo kontrolovaná, používateľ môže interpretovať výsledok ako negatívny. V takýchto prípadoch, sa musí extrakt vzorky zriediť vhodným extrakčným pufrom, aby sa dosiahla koncentrácia alergénu, ktorá je vhodná na detekciu s LFIA (Madsen et al., 2014; Schubert et al., 2009). LFIA sú rýchle, ale pomerne nepresné (výsledky sa dajú získať v priebehu 5-10 minút po extrakcii vzorky). Ďalšou výhodou je, že sú ľahko prenosné, nevyžadujú špeciálne prístrojové vybavenie. Testy sú veľmi jednoduché na vykonávanie. Okrem toho LFIA sú špecifické pre alergénny proteín (proteíny). Majú vhodnú citlivosť

v porovnaní s prahovými hodnotami detekcie, približne 5 ppm, takže sú vhodné aj na overenie postupov čistenia a sanitácie výrobného procesu. (Koczula&Gallotta, 2016; Schubert et al., 2009).

2.1.3 Surface Plasmon Resonance Immunoassays

Surface Plasmon Resonance Immunoassays metóda (ďalej SPR), je založená na rezonancii povrchových plazmónov. SPR je optická metóda, ktorá funguje na princípe existencie javu rezonancie povrchového plazmónu, ku ktorému dochádza pri interakcii polarizovaného svetla s tenkými vrstvami kovu, na rozhraní dvoch typov prostredí s rôznym indexom lomu, za podmienok úplného odrazu svetla (Schubert et al., 2009; Yman et al., 2006). Pri tejto metóde (SPR), je jeden z väzbových partnerov imobilizovaný na povrchu senzoru, druhý je rozpustený v pufrí. Tvorba daného komplexu je sprevádzaná zmenou indexu lomu. Pri špecifikovaných rezonančných vlnových dĺžkach a uhloch interagujú s fotónmi povrchové plazmóny (voľné elektróny), čo vedie k zníženiu odrazeného svetla. Ak sú alergénne proteíny viazané na imobilizovanú protilátku na čípe, pozoruje sa zmena indexu lomu a uhla odrazivosti odrazeného svetla. Čipy biosenzora sú schopné rýchlej regenerácie (stokrát), čím sa znižujú celkové náklady na analýzu. Biosenzory SPR majú tiež schopnosť analýzy viacerých alergénov počas jedného cyklu (Madsen et al., 2014; Koppelman, 2006). V súčasnosti sa táto metóda v potravinárstve využíva na detekciu alergénov v mlieku. Vajcia, arašidy a sezamové semená s limitmi kvantifikácie 1 až 10 ppm, keď sú nasadené do rôznych potravinových matric. Jednou z kľúčových oblastí, ktoré je potrebné vykonať, je detekcia týchto alergénov vo vzorkách potravín po vykonaní rôznych operácií spracovania potravín. Spôsoby spracovania, ako napríklad zahrievanie, ukázali, že menia konfiguráciu proteínov a znižujú rozpustnosť alergénnych proteínov, čo môže znížiť obnovu a detekciu skúmaného alergénu. Biosenzory SPR sa opierajú o analýzu rozpustného extraktu vzorky a následnú väzbu alergénu a protilátky. Meria sa zmena rezonančného uhla, ktorá je priamo úmerná množstvu viazaného analytu, čo umožňuje kvantitatívne meranie požadovaného alergénneho proteínu (Koppelman, 2006; Schubert et al., 2009; Madsen et al., 2014).

2.1.4 Hmotnostná spektrometria

Mass spektrometry (MS), hmotnostná spektrometria, je analytická metóda, postup analýzy technikou MS, pozostáva z troch základných krokov, ktorými sú: príprava vzorky pred analýzou; separácia analytov vhodnou separačnou technikou a samotná hmotnostná analýza. Príprava vzorky si vyžaduje zvýšenú pozornosť. Cieľom je vyextrahovať sledované analyty u veľkých molekúl (proteíny), je nutné ich rozštiepiť vhodným enzýmom na menšie fragmenty (peptidy), ktorých hmotnosť sa bude pohybovať v rámci dynamického rozsahu prístroja (Basile, 2011).

Detekcia bielkovín MS je dosiahnutá pomocou troch základných funkcií: ionizácie, hromadnej analýzy a detekcie. Pri MS analýze proteínov sa proteínová vzorka najprv štiepi proteázami, ako je trypsín alebo chymotrypsín, Modifikácia proteínov po spracovaní (napr. podľa Maillardovej modifikácie) môže modifikovať miesta proteolytického štiepenia, takže výber vhodnej proteázy je dôležitý a musí sa starostlivo zvážiť. Trávenie intaktných proteínov zo vzorky bude mať za následok peptidy rôznych veľkostí, ktoré sa potom oddeľia použitím rôznych techník, ako je kvapalinová chromatografia (LC). Kvapalinová chromatografia (angl. *liquid chromatography* – LC) je chromatografická metóda, pri ktorej je mobilnou fázou kvapalina. Je vhodná na separáciu kvapalných resp. v kvapaline rozpustených látok. K ďalším v tomto prípade často používaným metódam patrí elektroforéza. Elektroforéza patrí medzi separačné metódy izolujúce molekuly s rozdielnou hmotnosťou, prípadne odlišným elektrickým nábojom využívajúcim ich odlišnú pohyblivosť v elektrickom poli (Johnson et al., 2011; Smith & Thakur, 2003).

2.2 PCR

Základným princípom PCR metódy je opakovaná riadená denaturácia dvojreťazcovej DNA a následná renaturácia jednotlivých reťazcov so špecifickými oligonukleotidmi, ktoré sú v reakčnej zmesi v nadbytku. Tieto oligonukleotidy slúžia následne ako primery pre syntézu nového reťazca DNA. Amplifikácia DNA prebieha v opakujúcich sa cykloch, má tri kroky:

- Denaturácia – zahriatie na teplotu okolo 95 °C, kedy sa rozpadnú vodíkové mostíky medzi vláknami DNA, čím sa (dvojvláknová – *double stranded*) ds DNA rozdelí na (jednovláknovú - *single stranded*) ss DNA.

- Hybridizácia (nasadnutie primeru) alebo tiež fáza označovaná ako „*annealing*“. Prebieha najčastejšie pri teplotách okolo 50 - 60 °C. Molekuly jednoreťazcovej DNA po ochladení opäť renaturujú.
- Elongácia, extenzia, syntetická fáza – syntéza nových reťazcov prebieha pri teplote 65 - 75 °C. Oligonukleotidy dosadajúce na jednoreťazcovú DNA (templát) (v predchádzajúcom kroku), slúžia v tomto kroku ako primery pre DNA polymerázu.

Po prvom cykle PCR sa počet reťazcov DNA v zmesi zdvojnásobí. V ďalšom cykle môžu ako templát pre polymerázu slúžiť aj novo vytvorené reťazce, čím sa nasyntetizuje dvojnásobné množstvo produktu. Nové molekuly DNA sa začínajú syntetizovať od primeru (Holzhauser et al., 2006).

V potravinárstve sa používa metóda PCR na detekciu alergénov vo vlašských orechoch, lieskových orechoch, či v sóji. Využívajú sa súpravy chemikálií, určené na prípravu reakčnej zmesi pre polymerázovú reťazovú reakciu s priebežným monitorovaním fluorescencie (*real-time PCR*), ktorou sa vykonáva detekcia patogénnych baktérií alebo alergénov. Súpravy chemikálií obsahujú oddelene zabalené roztoky a biochemikálie, ktoré sa pred analýzou zmiešajú spôsobom určeným priloženým pracovným postupom. K zmesi sa pridá vzorka DNA získaná z potravy, vykoná sa *real-time PCR* a výsledok sa vyhodnotí podľa priložených písomných pokynov. Výhodou technického riešenia je vysoká selektivita a citlivosť detekcie a dlhodobá skladovateľnosť súpravy bez chemických stabilizátorov (Kaclíková a kol., 2012; Besler, 2001; Lochmanová, 2006).

3 RIADENIE ALERGÉNOV V POTRAVINÁRSTVE

Alergény prítomné v produkte, či už z dôvodu jeho vlastnej podstaty alebo z dôvodu potenciálneho krížového kontaktu vo výrobe, musia byť deklarované. Deklarácia musí byť na etikete produktov určených ku konečnému spotrebiteľovi a na etikete alebo sprievodnej dokumentácii produktov určených pre ďalšie spracovanie. Spôsob riadenia, teda kedy a ako testovať výrobok, medziprodukt alebo povrch výrobného zariadenia na obsah alergénnych komponentov by mal vyplývať z prevedenej analýzy nebezpečia. Analýza nebezpečenstva (v terminológii HACCP je k pojmu nebezpečenstvo možné priradiť riziko). Riziká sa rozlišujú na biologické, chemické a fyzikálne. Rizikom je infekcia, kontaminácia, podmienky umožňujúce rozmnožovanie mikroorganizmov, nevhodné skladovacie podmienky, nesprávne uloženie potravín v chladiarenských zariadeniach a iné. Vo fáze analýzy rizika sa zhromažďujú údaje o skutočnostiach, ktoré by mohli viesť k ohrozeniu zdravia spotrebiteľa. V tejto fáze sa vypracuje zoznam všetkých predpokladaných rizík v jednotlivých krokoch výroby, distribúcie a spotreby potravín. Pri analýze nebezpečenstva sa podľa číselnej škály 1 až 3 hodnotí pravdepodobnosť výskytu nebezpečenstva (P) a závažnosť jeho následkov (Z).

Pri rozhodovaní o kritických bodoch je nutné prejsť jednotlivé kroky výrobného procesu a zvážiť možnosť kontaminácie alergénymi komponentami z iných výrobkov (Besler et al., 2002).

3.1 Systém HACCP

Hazard Analysis and Critical Control Points (HACCP), systém analýzy nebezpečia a kritických kontrolných bodov, je globálne najrozšírenejším systémom zameraným na zaistenie bezpečnosti potravín. Bol vyvinutý v 60. rokoch minulého storočia v USA pre Národnú leteckú a vesmírnu agentúru (NASA), ktorá potrebovala zabezpečiť ochranu všetkých potravinových a výživových produktov pred mechanickými, toxickými, chemickými alebo fyzikálnymi kontamináciami. Následne bol prijatý aj v Európe a v súčasnosti vychádza z *Codex Alimentarius*. Ten musí brať do úvahy akékoľvek zákonné požiadavky krajín pre výrobu a určenie, ktoré môžu tieto zásady presahovať. Tento systém, respektive systém založený na zásadách HACCP musí byť zavedený v každom výrobnom závode a musí zahŕňať všetky suroviny, výrobky (alebo skupiny výrobkov) a všetky procesy od tovaru po expedíciu (vrátane vývoja a balenia výrobku). Systém HACCP má byť pravidelne sledovaný a v prípade akejkoľvek zmeny výrobku,

procesu alebo akéhokoľvek kroku musia byť prevedené nevyhnutné úpravy. Z hľadiska HACCP je dôležitá analýza nebezpečia, ktorá vychádza okrem iného, z nariadenia 852/2004 – Nariadenie Európskeho parlamentu a rady (ES)č. 852/2004, z dne 29. 4. 2004 o hygienepotravin.(Besler et al., 2002; IFS, 2012; Nariadenie č. 852/2004).

3.1.1 Nariadenie EP a Rady č. 852/2004

Kapitola II nariadenia o hygiene potravín (č. 852/2004), pojednáva o povinnosti prevádzkovateľov potravinárskych podnikov. V článku 5. je zahrnutá analýza nebezpečenstva a kritické kontrolné body. Hovorí o tom, aby prevádzkovatelia potravinárskych podnikov vytvorili a zaviedli jeden alebo viac stálych postupov založených na zásadách HACCP a podľa nich aj postupovali. Zásady HACCP spočívajú v identifikácii všetkých rizík, ktorým sa má predchádzať alebo ktoré musia byť vylúčené, či obmedzené na prijateľnú úroveň. Ďalej v identifikácii kritických kontrolných bodov (*CCP – critical control points*) na úrovniach, v ktorých je kontrola nevyhnutná pre predchádzanie riziku, pre jeho vylúčenie alebo pre jeho obmedzenie a prijateľnú úroveň. Stanovenie kritických limitov v CCP je tiež jednou zo zásad HACCP, ktoré s ohľadom na predchádzanie identifikovanému riziku, jeho vylúčenie alebo obmedzenie oddeľujú prijateľnosť, či neprijateľnosť. Okrem iného je tiež dôležité stanovenie a použitie účinných monitorovacích postupov v CCP, stanovenie nápravných opatrení (ak CCP nie je zvládnutý), vo vytvorení dokladov a záznamov zodpovedajúcich typu a veľkosti potravinárskeho podniku, ktorých účelom je preukázať účinné používanie opatrení uvedených vyššie. Pri každej zmene výrobku, procesu alebo fázi, preskúmajú prevádzkovatelia potravinárskeho podniku (ďalej PPP) tento postup a prevedú v ňom zmeny, ktoré sú nevyhnutné. PPP sú povinní preukázať príslušnému orgánu, že jednájú v súlade s danou legislatívou, pričom dôkaz musí byť podaný spôsobom požadovaným príslušným orgánom. Všetky dokumenty popisujúce postupy vyvinuté v súlade s daným zákonom musia byť neustále aktualizované a uchovávané po vhodnú dobu spolu s ďalšími dokladmi a záznamami (Nar. Č. 852/2004).

3.1.2 Zostavenie tímu HACCP

HACCP tím by mal byť zložený zo zástupcov viacerých odborov a zahŕňať aj pracovníkov v danej prevádzke. Všetci pracovníci, vymenovaní ako členovia tímu, musia mať konkrétne znalosti týkajúce sa danej problematiky (HACCP), výrobkov, prebiehajúcich

procesov a s nimi súvisiacich nebezpečí. V prípade, že v niektorej oblasti by neboli kompetentné znalosti k dispozícii, je potrebné zaistiť externé odborné poradenstvo. Osoby, zodpovedné za tvorbu a udržiavanie systému HACCP musia mať svojho interného vedúceho tímu a nutné je tiež aby mali zabezpečené dostatočné školenie v oblasti aplikovania princípov HACCP. Tím si vyžaduje mať silnú podporu vrcholového vedenia a musí byť dobre známa a zavedená v rámci celej prevádzky (IFS, 2012).

3.1.3 Analýza HACCP

Analýza HACCP pojednáva o podkapitolách venujúcich sa popisu výrobkov (napr. zloženie; fyzikálne, organoleptické, chemické a mikrobiologické parametre; legislatívne požiadavky na bezpečnosť výrobku; spôsob úpravy; balenie; trvanlivosť a taktiež podmienky pre skladovanie; spôsob dopravy a distribúcie), identifikácie určeného používania (musí byť popísané v súvislosti s očakávaným používaním výrobku), zostavení diagramu výrobného procesu. Diagram výrobného procesu musí existovať pre každý výrobok alebo skupinu výrobkov a taktiež pre všetky varianty procesov a subprocessov. Tento diagram musí byť označený dátumom a jeho ďalšou nevyhnutnosťou je vyznačenie každého kritického bodu s priradeným číslom (IFS, 2012; Motarjemi & Lelieveld, 2014).

Nasledujúci krok analýzy HACCP zahŕňa overovanie diagramu výrobného procesu na mieste (kontroly na mieste počas všetkých prevádzkových stupňov). Prevedenie analýzy nebezpečia pre každý krok je nutné – pre všetky fyzické, chemické a biologické nebezpečie, vrátane alergénov, ktoré sa dajú primeraným spôsobom očakávať. Musí byť k dispozícii analýza nebezpečia, ktorej úlohou je brať do úvahy pravdepodobný výskyt nebezpečia a závažnosť ich nepriaznivých účinkov na zdravie. Analýza CCP sa venuje ďalej určovaniu kritických kontrolných bodov a stanoveniu ich kritických medzí pre každý CCP. V tomto prípade musí byť pre každý CCP stanovený špeciálny monitorovací postup, aby bolo možné zistiť akúkoľvek stratu riadenia v tomto kritickom bode. Záznamy a uchovávanie musí byť uchovávané po príslušný čas a každý CCP musí byť pod kontrolou. V neposlednom rade nasledujúcim a veľmi dôležitým krokom analýzy HACCP je stanovenie nápravných opatrení, stanovenie postupov overovania (aby bolo možné potvrdiť, či je systém HACCP účinný) – vďaka interným auditom, analýze, vzorkovaniu, hodnoteniam a tiež sťažnostiam orgánov a zákazníkov. Celá analýza musí byť

zdokumentovaná a vedená pomocou záznamov (Burks et al. 2012; Nar. č. 852/2004; Motarjemi & Lelieveld, 2014).

3.1.4 ČSN ISO 22000

International Organization for Standardization (ISO), medzinárodná organizácia pre normalizáciu je celosvetovou federáciou národných normalizačných orgánov (členských organizácií ISO). Norma zjednocuje zásady systému analýzy nebezpečia a kritických kontrolných bodov a taktiež kroky k jeho zavedeniu vypracované Komisiou *Codex Alimentarius*. Pomocou auditovateľných požiadaviek spája plán HACCP s programami nevyhnutných predpokladov (PNP). Medzinárodné normy obvykle pripravujú technické komisie ISO. Každý člen tejto organizácie, ktorý sa zaujíma o premet, pre ktorý bola vytvorená technická komisia, má právo túto komisiu zastupovať (ČSN ISO 22000, 2006).

3.1.5 Programy nevyhnutných predpokladov

Úlohou organizácie je vytvoriť, uplatňovať a udržiavať PNP – program nevyhnutných predpokladov, ktoré majú napomáhať pri riadení pravdepodobnosti vnesenia nebezpečia ohrozujúceho bezpečnosť potravín do produktov pracovného prostredia. Majú napomáhať pri riadení biologickej, chemickej a fyzikálnej kontaminácie produktov (vrátane krížovej kontaminácie iným produktom a tiež byť nápomocnými pri riadení úrovne nebezpečí ohrozujúcich bezpečnosť potravín v produkte a v prostredí, v ktorom je daný produkt vyrábaný. Program musí zodpovedať potrebám organizácie (ak sa jedná o bezpečnosť potravín), rozsahu a typu prevádzky ako aj povahe produktov, byť uplatňovaný v celom výrobnom systéme (buď jako všeobecne aplikovateľné programy alebo ako programy použiteľné pre daný produkt, či výrobnú linku), byť schválený tímom bezpečnosti potravín (ČSN ISO 22000, 2006).

Pri voľbe alebo vytváraní programov nevyhnutných predpokladov musí organizácia prihliadať k príslušným informáciám a tieto informácie ďalej aj využívať (napr. požiadavky platných predpisov, požiadavky zákazníkov, zásady Komisie *Codex Alimentarius*, uznávané smernice, pravidlá správnej praxe a pod.) (*Codex Alimentarius*, 2010).

Pri tvorbe programov musí organizácia dbať na nasledujúce skutočnosti:

- Situačný plán (konštrukcia a usporiadanie budov) a s ním súvisiace technické vybavenie.
- Usporiadanie areálu organizácie, vrátane pracovného priestoru a zaradenia pre pracovníkov.
- Zásobovanie vzduchom, vodou, energiami a ostatnými zdrojmi.
- Podporné služby, vrátane odstraňovania odpadu a odpadových vôd.
- Vhodnosť zariadenia a jeho dostupnosť pre účely čistenia, údržby a preventívnej údržby.
- Manipulácia s nakupovanými materiálmi (surovinami, zložkami, chemikáliami alebo obalmi), s pomocným a prevádzkovým materiálom a médiami (voda, vzduch, para, ľad), odstraňovanie (napr. odpadu a odpadových vôd) a manipulácia s produktami (skladovanie a doprava).
- Opatrenia k zamedzeniu krížovej kontaminácie.
- Čistenie a sanitácia priestorov.
- Opatrenia proti škodcom
- Osobná hygiena.
- Ostatné aspekty podľa konkrétnej potreby (ČSN ISO 22000, 2006).

3.1.6 Čistenie a sanitácia

Podrobné požiadavky na čistenie a sanitáciu stanovuje napr. technická špecifikácia ISO/TS 22002 - Programy nezbytných predpokladů pro bezpečnost potravin; Část 1: Výroba potravin. Zariadenie prichádzajúce do styku s potravinami musí byť v prvom rade konštruované a navrhnuté tak, aby bolo uľahčené jeho čistenie, dezinfekcia a údržba. Povrchy, ktoré prichádzajú do kontaktu s potravinami musia byť zhotovené z odolných materiálov, ktoré sú schopné odolávať opakovanému čisteniu a musia byť konštruované z látok určených pre použitie v potravinárstve. Nutnosťou je, aby boli nepriepustné, bez hrdze a korózií. Plány pre čistenie za mokra a suché čistenie sú zdokumentované, aby bolo zaistené čistenie (nástrojov, prevádzky a pod.)v stanovených frekvenciách. Zostavené plány vymedzujú čo musí byť čistené (vrátane odpadu), zodpovednosť, metódu čistenia, použitie určených čistiacich nástrojov, podmienky pre odstraňovanie alebo demontáže a metódy pre overovanie efektivity čistenia (Madsen et al., 2014; ISO/TS 22001-1, 2010).Odstraňovanie odpadu je zabezpečené systémami, ktoré sú schopné odpadový

materiál identifikovať, zhromažďovať, odstraňovať a likvidovať spôsobom, ktorý zabráni kontaminácii produktov i výrobných priestorov. Čistenie a kontrola správne prevedeného čistenia je jedným zo základných požiadaviek pri riadení alergénov, pretože, v prípade, že na výrobnom zariadení zostanú zbytky predchádzajúceho produktu, je veľmi pravdepodobné, že tam nájdeme aj zostatok alergénov (resp. ich určité množstvo, či už stopy alergénov alebo ich väčšie množstvo)

3.2 Inšpekčné štandardy

3.2.1 BRC

British retail consortium (BRC), je štandard, ktorý vznikol vo Veľkej Británii, za účelom zjednotenia náročných auditov, ktoré sa od seba líšili po viacerých stránkach a na dodávateľa kládli vysoké nároky pri kontrolovaní kvality a nezávadnosti potravín. V roku 1998 tak prišlo spojeniu britských maloobchodníkov a bol vytvorený jeden spoločný štandard pre celý sektor, teda BRC, ktorý špecifikuje požiadavky na nezávadnosť a bezpečnosť potravín pre firmy spracovávajúce potraviny (ktoré nie sú priamymi dodávateľmi maloobchodníkov. Každá spoločnosť musí mať vyvinutý systémna riadenie alergénov, ktorý minimalizuje riziko kontaminácie výrobkov daným alergénom a spĺňa legislatívne požiadavky na označovanie. Prevádzky spracovávajúce potraviny majú povinnosť identifikovať a uviesť na obal zloženie a zoznam alergénnych látok. Posúdenie rizika, ako aj postupy určené na manipuláciu s danými materiálmi, medziproduktami a hotovými výrobkami musia byť zdokumentované (BRC, 2011).

Je potrebné zabrániť krížovej kontaminácii, a to najmä identifikáciou potenciálnych bodov krížovej kontaminácie procesným tokom. Možné riziko, prítomnosti alergénu, vedúce k vzniku krížovej kontaminácie by sa malo hodnotiť v každom kroku procesu. Prevádzky musia zvoliť vhodnú identifikáciu kontrol na zníženie alebo odstránenie rizika krížovej kontaminácie. Taktiež musia mať zriadené zdokumentované postupy na zabezpečenie účinného nakladania s alergénymi zložkami, aby sa zabránilo krížovej kontaminácii výrobkov, ktoré alergén neobsahujú. V tomto prípade je dôležité zachovať časovú alebo fyzickú segregáciu, zatiaľ čo sa materiály obsahujúce alergén skladujú alebo balia. Nutnosťou je použitie iného, prípadne ochranného oblečenia pri manipulácii s alergénymi zložkami, ako aj používanie vhodného identifikovateľného náradia, ktoré je určené na daný spôsob výroby a pre konkrétne skupiny potravín (Motarjemi & Lelieveld, 2014).

Dôležitou a neoddeliteľnou súčasťou kontroly je správne nakladanie a likvidácia odpadu, tiež zavedenie obmedzení na potraviny, ktoré na pracovisko prinášajú zamestnanci. V prípade prepracovania vykonanej operácie s potravinami obsahujúcimi alergény, je nutné zabezpečiť, aby sa nový prepracovaný plán nepoužíval v produktoch, ktoré alergén ešte neobsahujú. Ak nastane prípad, že nezabránilme při výrobnom procese krížovej kontaminácii alergénom, na etikete musí byť uvedené varovanie (Motarjemi & Lelieveld, 2014; BRC, 2011).

3.2.2 IFS

International Food Standard (IFS), je medzinárodným potravinovým štandardom, ktorý vznikol na základe potreby vytvoriť jednotnú normu pre maloobchodníkov, veľkoobchodníkov, poskytovateľov stravovacích služieb. Kladenie stále rastúcich požiadaviek spotrebiteľov a zvyšovanie legislatívnych požiadaviek, taktiež globalizácia výrobkov prispeli k vzniku štandardu, ktorý je jednotnou normou pre zaisťovanie kvality a bezpečnosti potravín. IFS zahŕňa požiadavky na alergény a špecifické výrobné podmienky. Pojednáva o tom že musia byť k dispozícii špecifikácie surovín identifikujúce alergény, vyžadujúce deklaráciu alergénov, ktoré sú relevantné pre krajiny predaja hotového výrobku. Spoločnosť musí udržiavať nepretržite aktualizovaný zoznam všetkých surovín obsahujúcich alergény používané vo svojich prevádzkach, ktorý bude vyznačovať všetky zmesi a receptúry, do ktorých sa suroviny obsahujúce alergény pridávajú (IFS, 2012).

Výroba výrobkov, obsahujúcich alergény, vyžaduje deklaráciu, musí byť prevedená tak, aby sa v maximálnom možnom rozsahu minimalizovala krížová kontaminácia. Hotové výrobky, ktoré alergény obsahujú, musia byť deklarované v súlade s aktuálnymi legislatívnymi požiadavkami. Kvôli náhodnej alebo neúmyselnej prítomnosti musí byť označovanie zákonom deklarovaných alergénov a ich stôp založené na analýze nebezpečia a na hodnotení s nimi súvisiacich rizík. V prípade, kedy zákazníci konkrétne vyžadujú, aby výrobky „neobsahovali“ určité látky alebo prísady (napr. lepok, bravčové mäso a pod.), alebo aby boli vylúčené určité spôsoby úpravy či výroby, musia byť zavedené overiteľné postupy (Flaganan, 2015; IFS, 2012).

3.3 Rapid Alert System for Food and Feed

Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF) je systém rýchleho varovania pre potraviny a krmivá, slúži k oznamovaniu priameho alebo nepriameho rizika pre ľudské zdravie pochádzajúce z potraviny alebo krmiva. Umožňuje rýchle a účinné podanie informácií o nebezpečných potravinách či krmivách medzi členmi systému ako je: Európska komisia, členovia EÚ a EFTA (Island, Nórsko a Lichtenštajsko) a Európsky úrad pre bezpečnosť potravín (EFSA). RASFF bol zriadený na základe článku 50 Nariadenia Európskeho parlamentu a Rady (ES) č.178/2002, vo všetkých členských štátoch. V Európskej komisii bol zriadená kontaktná miesta, medzi ktorými prebieha výmena informácií. Ak by nastala situácia, ktorá by informovala o závažnom zdravotnom riziku u potravín alebo krmív, má člen povinnosť okamžite informovať Európsku komisiu. Komisia EÚ následne vyhodnotí hlásenie a podáva ho ďalej ku všetkým členom RASFF prostredníctvom rôznych typov oznámení. Po prevedení patričných krokov členmi RASFF podľa typu oznámenia informujú Komisiu o prijatých opatreniach. Fungovanie systému rýchleho varovania v ČR je upravené Nariadením vlády č.98/2005 Sb. Kontaktným miestom je „Státní zemědělská a potravinářská inspekce“. Nebezpečnou potravinou môže byť taká potravina, ktorá obsahuje alergén, ktorý nie je deklarovaný na obale potraviny (ktorý by predstavoval vážne riziko pre zdravie a bezpečnosť spotrebiteľov (RASFF,2017; Minář, Šuška, 2007).

ZÁVER

Predmetom mojej práce bolo riadenie alergénov v potravinárstve. Bezpečnosť potravín súvisí s prítomnosťou nebezpečenstva v potravine v čase jej konzumácie. Vzhľadom k tomu, že nebezpečenstvo ohrozujúce bezpečnosť potravín sa môže vyskytnúť v každom článku potravinového reťazca, je nutné zodpovedajúce riadenie v celom potravinovom reťazci. Na riadení bezpečnosti alergénov majú podiel normy a legislatíva, ktorá deklaruje označovanie alergénov na obale potravín. Produkty musia byť chránené pred neúmyselným krížovým kontaktom s alergénmi prostredníctvom čistenia a vymieňania liniek alebo zaradením produktu. Slúži na to management alergénov. Krížový kontakt vzniká buď zo stop produktu, z predchádzajúcej výrobnéj činnosti (ktorý nemôže byť adekvátne vyčistený z výrobnéj linky, z dôvodu technických obmedzení), alebo ak je v normálnom procese pravdepodobný výskyt kontaktu s produktami, či zložkami, ktoré sú vyrábané na oddelených linkách, prípadne v rovnakých alebo príľahlých výrobných priestoroch. Metódy detekcie, ktoré sú v súčasnosti stále viac využívané a inovované, sú dôležité z hľadiska včasného zachytenia prítomnosti alergénu v potravine a celkovo pomáhajú kontrolovať kvalitu potravín, ktorá vedie k spokojnosti spotrebiteľov.

Do budúcnosti by sme sa mali zamerať na ešte vyššiu mieru využitia detekčných metód, lepšieho odlíšenia typov potravín, správneho označovania deklarovaných zložiek a alergénov na obaloch potravín a tiež zamedzeniu krížovej kontaminácie, ku ktorej môže dochádzať vo výrobe potravín.

ZOZNAM POUŽITEJ LITERATURY

1. ABUSAMIEH M., ASHJ. *Atherosclerosis and systemic lupulus erythematosus*. *Cardiol Rev.* 2004; 12, p. 267-275.
2. AKIYAMA H, IMAI T, EBISAWA M. *Japan food allergen labeling regulation—history and evaluation*. *Adv Food Nutr Res* 2011;62:139-71.
3. BARTŮŇKOVÁ J, HOŘEJŠÍ V, *Základy imunologie*, Triton, 2009, ISBN 978-80-7387-280-9.
4. BARTŮŇKOVÁ J, PAULÍKM. a kol., *VYŠETŘOVACÍ METODY V IMUNOLOGII*, 2. přepracované a doplněné vydání, Grada Publishing, a.s., 2011, ISBN 978-80-247-3533-7.
5. BESLER M, KASEL U,; WICHMANNG, *Determination of Hidden Allergens in Foods by Immunoassays*; Internet Symposium on Food Allergens, 2002.
6. BESLERM, *Determination of allergens in foods*, Trends in analytical chemistry, vol.20, NO 11, 2001.
7. BIDATÉ, LOIGEROT, CH. *Alergie u dětí*. 1. vyd. Praha: Portál, s. r. o. , 2005. 148 s. ISBN 80-7178-936-4.
8. BYSTROŇJ, *ALERGIE-průvodce alergickými nemocemi pro lékaře i pacienty*, 1. vyd. Ostrava : Mirago, 1997. 295. s. ISBN 8085922460.
9. ČÁP P, PRŮCHA, M., *Alergologie v kostce*, Triton, 2006, 142 s. ISBN 80-7254-779-8.
10. Česká technická norma. *Systémy managementu bezpečnosti potravin – Požadavky na organizaci v potravinovém retězci*. ČSN EN ISO 22000. 569600. 2006, s.55.
11. DOSTÁLJ. et al. *Biochemie pro bakaláře*. Brno-Kraví hora: Vydavatelství MU, 2005. 174 s. ISBN 80-210-3232-4.
12. FIOCCHI, A. et al. *Food allergy and the introduction of solid foods to infants: a consensus document*. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*. 2006. Vol. 97, no. 1, s. 10–21. ISSN 1081-1206.
13. FLAGANAN, *HANDBOOK OF FOOD AND ALLERGEN DETECTION AND CONTROL*; 2015, ISBN: 9781782420125; s.448.
14. FUCHSM. *Potravinové alergie*. Praha : Maxdorf, 2013. 43 s. ISBN 978-807345-335-0.

15. FUCHS M., 2007: *Alergie číhá v jídle a pití*. 2. rozšířené a přepracované vydání, Plzeň: Adéla, 267 s.
16. GÁBROVSKÁ D, MACH I, FRIC P, VLČEK J. *Potraviny: součást zdravého životního stylu*. 1. vyd. Olomouc: Solen s. r. o., 2010: 106. ISSN 1336-4790.
17. Global Standard for Food Safety. *BRC*. British Retail Consortium. 2011. ISBN: 9780117069718, p.120.
18. HOLZHAUSER T, STEPHAN O, VIETHS S. *Polymerase chain reaction(PCR) methods for the detection of allergenic food*. In: Koppelman SJ, Hefle SL, editors. *Dc in food*, vol. 1. Cambridge England: Woodhead Publishing Limited: 2006. p.125-43.
19. HOŘEJŠÍ V, BARTUŇKOVÁ J, BRDIČKA T, ŠPÍŠEK R. *Základy imunologie*, 5. vydání. Praha: Triton, 2013 ISBN 978-80-7387-713-2.
20. HURLEY IP, COLEMAN RC, IRELAND HE. *Application of immunological methods for the detection of species adulteration in dairy products*. In *Int. J. Food Sci. Tech*, 39, 2004, p. 873-878.
21. IFS FOOD. *Norma pro provádění auditu kvality a bezpečnosti potravinářských výrobků*. Verze 6, 2012, s.149
22. JOHANSSON SGO, HOURIHANE JOB, BOUSQUET J, BRUIJNZEEL-KOMEN C, DREBORG S, HAAHTELA T, KOWALSKI ML, MYGIND N, RING J, VAN UWENBERGE P, VAN HAGEHAMSTEN M, WUTRICH B, 2001: *A revised nomenclature for allergy: An EAACI position statement from the EAACI nomenclature task force*. *Allergy – European Journal of allergy and clinical immunology*. Vol. 56, Issue 9, pp. 813-824.
23. JOHNSON PE, BAUMGARTNER S, ALDICK T, BESSANT C, GIOSAFATTO V, HEICK J, et al. *Current perspectives and recommendations for the development of mass spectrometry for the determination of allergens in foods*. *J AOAC Int* 2011;94:1-8.
24. KACLÍKOVÁ E, MINAROVIČOVÁ J, PIKNOVÁ L., KUČHTA T, SIEKEL P, *Detekcia patogénnych baktérií a alergénov v potravinách použitím polymerázovej reťazovej reakcie*. Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum – Výskumný ústav potravinársky, Bratislava. Dostupné z: http://nptt.cvtisr.sk/buxus/docs//podujatia%201/prezentacie/TTSZ_2016_-_plagaty/NPPC_VUP_Kaclikova.pdf

25. KONRÁD K, ŠIROKÁ A. *Alergie a jak jim čelit*. MAYDAY publishing, 2008. 208 s. ISBN 978-80-869-8635-7.
26. KOPECKÝ O, ANDRÝS C, BUDAYOVÁ E, DRAHOŠOVÁ M, HAVLASOVÁ J, KREJSEK J, LUKEŠOVÁ Š, VOKURKOVÁ D, 2004: *Laboratorní vyšetření v klinické imunologii a alergologii*. Hradec Králové: Garamon: Ústav klinické imunologie a alergologie, 112 s.
27. KOPELMANS, HELFES. *Detecting allergens in food*. CRC Press. 2006. 440 pp. ISBN-10: 0-8493-2574-9.
28. KVASNIČKOVÁ A, *Alergie potravin, Alergie z potravin*. 1. vyd. Praha : Ústav zemědělských a potravinářských informací, 1998. 60 s. ISBN 8085120933.
29. LITZMAN J, FREIBERGER T, KRÁL V, THON V, *ZÁKLADY VYŠETŘENÍ V KLINICKÉ IMUNOLOGII*, MU Brno, 2011, ISBN 978-80-210-4227-8.
30. LOCHMANOVÁ A, 2006: *Základy imunologie*. Ostrava: Ostravská univerzita, 139 s.
31. LÜLLMANN-RAUHR. *Histologie*. 3. vyd. Praha : Grada, 2012. 576 s. ISBN 978-80-247-3729-4.
32. MADSEN CHB, CREVELRWR, MILLSC, TAYLORSL. *Risk Managment for Food Allergy*. Academic Press Inc. 2014. 312 pp. ISBN 978-0-12-381988-8.
33. MINÁŘ, ŠUŠKA; *Kvalita potravin*, 2007; č.3; s.32.
34. MOTARJEMI Y, LELIEVELD H. *FOOD SAFETY MANAGEMENT. A practical guide for the food industry*. 2014,ISBN: 978-0-12-381504-0, p.212
35. MÜLLER-BURZLER H., 2007: *Alergie: rozpoznávání a léčení alergického syndromu - dermatitida, astma, senná rýma, hyperaktivita*. Praha: Pragma, 155 s.
36. Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 852/2004 o hygiene potravin
37. Nařízení Evropské unie č. 1169/2011 o poskytování informací o potravinách spotřebitelům; dostupné z: [<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=celex%3A32011R1169>]
38. PAVELKOVÁ K, BUREŠOVÁ P. *POTRAVINOVÁ ALERGIE, INTOLERANCE A PŘECITLIVĚLOST NA POTRAVINY*, 2012, dostupné z: <http://www.szpi.gov.cz/docDetail.aspx?docid=1000140&docType=ART&nid=11325&chnum=6>

39. POMS RE, KLEIN CL, ANKLAM E. *Methods for allergen analysis in food: a review*. Food Addit Contam 2004;21:1-31.
40. PRUŽINEC P. 2002. *Moja alergia*. Bonus, 2002, 148 s, ISBN 80-968-4913-1.
41. Předběžná česká technická norma, *Programy nezbytných předpokladů pro bezpečnost potravin, část 1: Výroba potravin*. ČSN P ISO/TS 22002-1. 569613. Praha, 2010, s. 28
42. SCHUBERT ULLRICH P, RUDOLF J, ANSARI P, GALLEY B, FUHRER M, MOLINELLI A, et al. *Commercialized rapid immunoanalytical tests for determination of allergenic food proteins: an overview*. Anal Bioanal Chem 2009;395:69-81.
43. SILBERNAGL S, LANG F. *Color atlas of Pathophysiology*, 2nd edition, ISBN: 978-3-13-116552-7, Georg Thieme Verlag KG, Stuttgart, Germany. s. 416.
44. SMITH JJ, THAKUR RA. *Mass spectrometry*. In: Nielsen SS. editor. Food Analysis. 3rd ed. New York: Kluwer Academic; 2003. p. 423-33.
45. Státní zemědělská a potravinářská inspekce ; *Potravinová alergie, intolerance a přecitlivělost na potraviny [online]*. Dostupné z: [<http://www.szpi.gov.cz/clanek/potravinovaalergie-intolerance-a-precitlivelost-na-potraviny.aspx?q=Y2hudW09NQ%3d%3d>].
46. ŠPIČÁK V, Panzner P. *Alergologie*, 1. vyd. Praha : Galén, 2004. 348 s. ISBN 978-80-7262-265-8.
47. ŠPIČÁK V. 1994: *Alergie*. Praha: UCB s.r.o., 64 s.
48. THOMAS K, HEROUET-GUICHENEY C, LADICS G, BANNON G, COCKBURN A, CREVEL R, FITZPATRICK J, MILLS C, PRIVALLE L, VIETHS S., *Evaluating the effect of food processing on the potential human allergenicity of novel proteins*. Food and Chemical Toxicology 45 (2007) 1116–1122.
49. VIERK KA, KOEHLER KM., FEIN SB, STREETD A, *Prevalence of self – reported food allergy in American adults and use of food labels*. The Journal of Allergy and Clinical Immunology (2007) 119, Issue 6, pp. 1504-1510.
50. WOODS RK, THIEN F, RAVEN J, WALTERS EH, ABRAMSON M. *Prevalence of food allergies in young adults and their relationship to asthma, nasal allergies and eczema*. In Annals of Allergy Asthma & Immunology. (2002) 88, p. 183-189.

51. YMAN IM, ERIKSSON A. JOHNSON MA, HELLENAS KE. *Food allergen detection with biosensor immunoassay*. J AOAC Int 2006;89:856-61.
52. ŽUKIEVICZ-SOBCZAK WA, WRÓBLEWSKA PADAMCZUK P, KOPCZYŃSKY P. *Causes, symptoms and prevention of food allergy* Dermatology and Allergology, 2013, p. 113-116.

ZOZNAM POUŽITÝCH SYMBOLOV A SKRATIEK

Ig	imunoglobulín
OAS	orálny alergický syndróm
CA	Codex Alimentarius
FAO	Food and Agriculture organization
FDA	Food and Drug Administration
FALCPA	Food and allergen Labeling and Consumer Protection Act
JECFA	Joint Expert Committee on Food Additives
EÚ	Európska únia
USA	Spojené štáty americké
CAA	Consumer Affairs Agency
ES	Európske spoločenstvo
SZPI	Státní zemědělská a potravinová inspekce
HACCP	Hazard Analysis and Critical Control Points
ADCC	antipody dependent cellular cytotoxicity
NK bunky	natural killer cells
TSH	tyhreoideou stimulujúci hormón
DTH	delayed type hypersensitivity
IFS	International Food Standard
RASFF	Rapid Alert System for Food and Feed
BRC	British Retail consortium
ELISA	Enzyme linked immunosorbent assay
LFIA	Lateral Flow Assay
PCR	polymerázová reťazová reakcia
DNA	deoxyribonukleová kyselina
EAST	enzýmovoalergosorbčné testy

RAST	rádioalergosorbčné testy
PNP	Program nevyhnutných predpokladov
CCP	Critical control points
ds	double stranded
ss	single stranded
PPP	prevádzkovateľ potravinárskeho podniku
SPR	Surface Plasmon Resonance Immunoassays

