

Charakteristika a výskyt patogenních mikroorganismů v potravinách

Radek Hrubý

Bakalářská práce
2005



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Radek HRUBÝ**
Studijní program: **B 6208 Ekonomika a management**
Studijní obor: **Ekonomika a hygiena výživy**

Téma práce: **Charakteristika a výskyt patogenních mikroorganismů v potravinách**

Zásady pro vypracování:

1. **Zhodnoťte poznatky týkající se výskytu patogenních mikroorganismů v potravinách.**
2. **Charakterizujte vybrané zástupce patogenních mikroorganismů (bakterie, viry, mikroskopické houby), které se nejčastěji vyskytují v potravinách živočišného a rostlinného původu.**
3. **Popište příznaky a epidemiologii nejzávažnějších onemocnění způsobených mikroorganismy, které se mohou vyskytovat v potravinách.**
4. **Navrhněte možnosti úpravy potravin, které by vedly ke snížení výskytu patogenních mikroorganismů v potravinách.**

Rozsah práce: **51 stran**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

1. **ŠILHÁNKOVÁ L.** Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology. **Victoria Publishing, Praha. 1995.**
2. **GREENWOOD D., SLACK R. C. B. a PEUTHERER J. F.** Lékařská mikrobiologie. Přehled infekčních onemocnění: patogeneze, imunita, laboratorní diagnostika a epidemiologie. **Grada Publishing, Praha. 1999.**

3. **HRABĚ J., KOMÁR A.** Technologie, zbožížnalství a hygiena potravin rostlinného původu. **Vyškov: VVŠ PV. 2003.**
4. **JAY J. M.** Modern food microbiology. **Fifth edition. Chapman and Hall, New York. USA. 1996.**
5. **HARRIGAN W. F.** Laboratory methods in food microbiology. **Third edition. Academic Press, San Diego, USA. 1998.**

Odborné časopisy:

- International Journal of Food Microbiology, **ISSN 0168-1605.**
- Journal of Applied Microbiology, **ISSN 1364-5072.**
- Letters in Applied Microbiology, **ISSN 0266-8254.**
- Food Microbiology, **ISSN 0740-0020.**
- International Dairy Journal, **ISSN 0958.**

Vedoucí bakalářské práce: **Mgr. Leona Čechová, Ph.D.**
Ústav potravinářského inženýrství a chemie

Datum zahájení bakalářské práce: **15. října 2004**

Termín odevzdání bakalářské práce: **31. května 2005**

L.S.

prof. Ing. Josef Šimoník, CSc.
děkan

prof. Ing. Ignác Hoza, CSc.
ředitel ústavu

Rád bych poděkoval Ing. Leoně Čechové, PhD. za odborné rady a čas, který mi věnovala při sestavování této bakalářské práce, bez nichž by nevznikla.

Souhlasím s tím, že s výsledky mé práce může být naloženo podle uvážení vedoucího bakalářské práce a ředitele ústavu. V případě publikace budu uveden jako spoluautor.

Prohlašuji, že jsem na celé bakalářské práci pracoval samostatně a použitou literaturu jsem citoval.

Ve Zlíně, 25. 05. 2005

.....

podpis

ABSTRAKT

Anotace česky

Tato práce popisuje a charakterizuje nejčastější patogenní bakterie vyskytující se v potravinách. Jsou zde popsány podmínky jejich množení a růstu, jejich patogenese. Je také naznačena možnost prevence před jejich pomnožením v potravinách.

Další část práce je zaměřena na charakteristiku vybraných rodů kvasinek a plísní. V práci je také zmíněno o nejčastějším viru – viru hepatitidy A. V této části je uveden výskyt kvasinek a jejich patogenita a je zde charakteristika některých rodů, které nejčastěji napadají potraviny. U plísní je popsána jejich nenáročnost na prostředí a předměty, na kterých mohou růst.

V poslední části je zmíněna důležitost hygienické čistoty nejen provozních místností a výrobního zařízení, nádobí a náčiní, ale i člověka, jakož nejčastější možnost kontaminace potravin.

Anotace ve světovém jazyce

This essay describing and characterize the most frequently pathogenic bacteria encountered in foods. There are describing specifications their reproduce and grow, their pathogenesis. There is indicating option prevention in front of their reproduce in foods.

The next part of this essay is localize onto characterizing select genus yeast and fungi and there is in question about the most frequently virus – virus hepatitis A. In this part is noted frequency of yeast and their pathogenicity and there is characteristic some genus, which the most frequently attack foods. At fungus is describing their unpretending onto medium and objects, on which can grow.

At the last part is describing importance of hygienic cleanness not only operating rooms and production equipment, dishes and implements, but also human, by way of the most frequently chance contamination of foods.

1 ÚVOD.....	8
2 BAKTERIE	9
2.1 <i>Campylobacter</i> sp.....	9
2.1.1 Taxonomie.....	9
2.1.2 Výskyt <i>Campylobacter</i> sp.	9
2.1.3 Epidemiologie.....	9
2.1.4 Patogeneze.....	10
2.1.5 Přežívání <i>Campylobacter</i> sp. v potravinách	10
2.1.6 Metody průkazu <i>Campylobacter</i> sp.....	10
2.1.7 Prevence	11
2.2 <i>Escherichia coli</i>	11
2.2.1 Taxonomie.....	11
2.2.2 Morfologie, biochemie, fyziologie	12
2.2.3 Patogeneze.....	12
2.2.4 Epidemiologie.....	12
2.2.5 Metody průkazu a stanovení <i>Escherichia coli</i>	12
2.2.6 Prevence	13
2.3 <i>Salmonella</i> sp.....	13
2.3.1 Taxonomie.....	13
2.3.2 Morfologie, biochemie, fyziologie	16
2.3.3 Epidemiologie.....	16
2.3.4 Patogeneze	17
2.3.5 Metody průkazu a stanovení <i>Salmonella</i> sp.	17
2.3.5.1 Kultivační metody	18
2.3.5.2 Imunologické metody	18
2.3.5.3 Molekulárně biologické metody	18
2.3.6 Prevence	18
2.4 <i>Shigella</i> spp.....	19
2.4.1 Taxonomie.....	19
2.4.2 Morfologie, biochemie, fyziologie	19
2.4.3 Epidemiologie.....	19
2.4.4 Patogeneze.....	20
2.4.5 Prevence	20
2.5 <i>Yersinia enterocolitica</i>	20
2.5.1 Taxonomie.....	20
2.5.2 Morfologie, biochemie, fyziologie	21
2.5.3 Epidemiologie.....	21
2.5.4 Patogeneze	21
2.5.5 Metody průkazu a stanovení <i>Yersinia enterocolitica</i>	21
2.5.6 Prevence	22
2.6 <i>Staphylococcus aureus</i>	22
2.6.1 Taxonomie.....	23
2.6.2 Morfologie, biochemie, fyziologie	24
2.6.3 Epidemiologie.....	24
2.6.4 Patogeneze.....	24
2.6.5 Metody průkazu stanovení <i>Staphylococcus aureus</i>	25
2.7 <i>Bacillus cereus</i>.....	25
2.7.1 Taxonomie.....	25
2.7.2 Morfologie, biochemie, fyziologie	25
2.7.3 Metody průkazu a stanovení <i>Bacillus cereus</i>	26
2.7.4 Patogeneze	26
2.7.5 Prevence	26

2.8	<i>Clostridium botulinum</i>, <i>Clostridium perfringens</i>	27
2.8.1	Taxonomie	27
2.8.2	Morfologie, biochemie, fyziologie	27
2.8.2.1	<i>Clostridium botulinum</i> (typy A – G)	27
2.8.2.2	<i>Clostridium perfringens</i>	27
2.8.3	Epidemiologie	28
2.8.4	Patogeneze	28
2.8.5	Metody průkazu a stanovení patogenních klostridií	28
2.8.6	Prevence	29
2.9	<i>Listeria monocytogenes</i>	29
2.9.1	Taxonomie	29
2.9.2	Morfologie, biochemie, fyziologie	29
2.9.3	Epidemiologie	30
2.9.4	Patogeneze	30
2.9.5	Metody průkazu a stanovení <i>Listeria monocytogenes</i>	30
2.9.6	Prevence	31
2.10	Další patogenní bakterie	31
3	KVASINKY	33
3.1	Výskyt kvasinek	33
3.2	Rod <i>Zygosaccharomyces</i>	34
3.3	Rod <i>Pichia</i>	34
3.4	Rod <i>Geotrichum</i>	34
3.5	Kvasinky jako kontaminanty cukrárenských krémů	34
3.6	Možnosti ochrany cukrárenských výrobků před pomnožováním kvasinek	35
4	PLÍSNĚ	36
4.1	Některé rody plísní vyskytujících se na potravinách	37
4.1.1	<i>Penicillium expansum</i>	37
4.1.2	Rod <i>Aspergillus</i>	37
	<i>Aspergillus glaucus</i>	37
4.1.3	Rod <i>Fusarium</i>	37
4.1.4	Rod <i>Alternaria</i>	37
4.1.5	Rod <i>Cladosporium</i>	37
4.2	Plísně na obilí	38
4.2.1	Vnitřní mykoflóra	38
4.2.2	Vnější mykoflóra	38
5	VIRY	39
5.1	Virus infekční hepatitidy	39
6	HYGIENA V PROVOZU	40
6.1	Hygiena a sanitace provozních místností	40
6.2	Hygiena a sanitace výrobního zařízení, nádobí a náčiní	41
6.3	Výroba hygienicky nezávadných potravin	41
6.4	Hygiena skladování a dopravy výrobků	42
6.5	Skladování výrobků	42
6.6	Doprava hotových výrobků	42
6.7	Osobní hygiena	43
6.7.1	Podmínky pro dodržování osobní hygieny ze strany zaměstnavatele	43
6.8	Čistící prostředky	44
6.9	Dezinfekce a dezinfekční prostředky	44
7	ZÁVĚR	45

1 ÚVOD

V dnešní době moderních strojních zařízení člověka ani nenapadne, že potraviny, které konzumuje, mohou být napadeny bakteriemi, plísněmi nebo i kvasinkami.

Jako první, kdo musí dbát přísných hygienických předpisů, jsou výrobci. Jiné mikroorganismy převládají v živočišné výrobě a jiné v rostlinné. Při získávání mléka je velmi důležitá čistota prostředí a hygienická bezvadnost použitých prostředků, obsluhujícího personálu, ale i vemen krav. Po nadojení mléka je důležité jeho rychlé zchlazení a odvoz do mlékárny, kde se mléko zpracovává na mléčné produkty. Při produkci vajec musí být přísná kontrola na jejich neporušenost. Při zpracování vajec musí být důsledně dodržen tepelný záhřev na stanovenou teplotu po určitou dobu. Při zpracování masa musí být orgány veterinární správy provedeny stanovené kontroly poražených kusů. V kuchyních společného stravování je třeba oddělit zpracování syrového a již tepelně upraveného masa.

V rostlinné výrobě, zejména při skladování obilí, mouk a již hotových pekárenských výrobků, je třeba zamezit růstu plísní. Toho lze docílit v první řadě rychlou expedicí a spotřebou. Pro trvanlivé výrobky se volí sterilační záhřev, který spolehlivě usmrcuje přítomné mikroorganismy.

Výrobky, které se dostávají do rukou spotřebitelů, jsou v drtivé většině mikrobiologicky nezávadné. Avšak špatným skladováním a nedodržením data spotřeby u spotřebitele může dojít ke kontaminaci patogenními organismy a k jejich velmi rychlému pomnožení do počtu již ohrožující lidské zdraví a někdy i lidský život.

Řada bakterií dokáže vyvolat onemocnění již ve velmi malém množství, kdy ještě nedochází k senzorickým změnám potravin. Proto se do výrobních podniků již několik let zavádí technika, která nevyžaduje zásahu lidské ruky po celou dobu výrobního procesu.

2 BAKTERIE

2.1 *Campylobacter* sp.

2.1.1 Taxonomie

Taxonomie rodu *Campylobacter* není dosud ustálena. Byly popsány nové druhy. O všech těchto druzích se předpokládá, že jsou patogenní pro člověka. Avšak původci gastroenteritid přenášných potravinami jsou *C. jejuni*, *C. coli*, *C. laridis* a *C. upsaliensis*. [1]

2.1.2 Výskyt *Campylobacter* sp.

Campylobacter sp. je jedna z nejčastějších hlášených příčin akutní bakteriální enteritidy v mnoha rozvinutých zemích celého světa. V České republice má počet onemocnění kampylobakteriózou vzrůstající tendenci. Zatímco výskyt onemocnění salmonelózou se v posledních letech snižuje, nárůst onemocnění kampylobakteriózou je velmi výrazný a počtu salmonelóz se přibližuje. [6]

Za významné vehikulum onemocnění kampylobakteriózou se považují vedle drůbeže také prasata a vepřové maso. U dospělých porážených kusů je *Campylobacter* sp. součástí střevní mikroflóry, aniž by vyvolával příznaky onemocnění. [27]

2.1.3 Epidemiologie

Onemocnění způsobené *Campylobacter* sp. probíhá nejtypičtěji jako enteritida v klinických projevech shodná s jinými infekcemi bakteriálního původu. Průběh nemoci je ovlivněn virulencí kmene, infekční dávkou a vnímavostí pacienta. Infekce *C. jejuni* a *C. coli* se svými příznaky neliší. [6]

U kampylobakterových infekcí je patrný časný letní vrchol. Tím se odlišuje od salmonelóz, které se vyskytují převážně v pozdním létě. Pozitivní identifikace zdrojů nákazy je obtížná, významná role se přisuzuje vodě, syrovému mléku a drůbežímu masu. U dětí může být přídatným rizikovým faktorem i kontakt se štěňaty či koťaty s průjemem. [26]

Vznik hromadných onemocnění může však být také způsoben přenesením kampylobakterové kontaminace do potravin a pokrmů, které se už dále tepelně nezpracovávají v kuchyních společného stravování i v domácnostech (např. mléko

a mléčné výrobky, pečivo, cukrářské výrobky, uzeniny aj.). Jde obvykle o tzv. krátkodobou kříženou kontaminaci, protože *Campylobacter* sp. se při pokojové teplotě v druhotně kontaminované potravíně nepomnoží.[1]

2.1.4 Patogeneze

Vstupní branou infekce je trávicí ústrojí. Prokázalo se, že k infekci stačí dávka 500 mikrobů. Zpočátku se kolonizuje lačník a kyčelník, infekce se později šíří kyčelníkem dále do tlustého střeva a konečníku. Mikrobi jsou invazivní. Při rozvinuté infekci jsou lymfatické uzliny zvětšené, prosáklé a zanícené.[6]

Délka nemoci se nejčastěji pohybuje mezi 2 a 7 dny, v těžších případech to mohou být i týdny.[9]

2.1.5 Přežívání *Campylobacter* sp. v potravinách

Buňky *Campylobacter* sp. jsou během skladování zvláště citlivé na vysušování a tak je přežívání lepší při chladnějších teplotách nežli při pokojových. Nebezpečí pro konzumenta představují nevařené párky s obaly z přírodních střev, které mohou být kontaminovány *Campylobacter* sp.[6]

Některé koření (oregano, šalvěj, hřebíček) inhibují růst *Campylobacter* sp. při 42 °C v 0,5%ním vývaru NaCl. Čerstvé syrové mléko obsahuje laktoperoxidázový systém, který je pro *Campylobacter* sp. toxický. Systém může být neutralizován přidavkem hydroxidu sodného přímo do vzorku mléka při odběru pro mikrobiologické vyšetření.[6]

Mořští živočichové, kteří jsou jako mořské produkty konzumované člověkem, představují nebezpečí onemocnění. Běžný proces opracování parou u měkkýšů je považován za dostatečný pro zničení *Campylobacter* sp., nebezpečí zůstává u syrových a nedokonale vařených produktů (syrové ústřice, škeble).[10]

Ve vodovodním systému *Campylobacter* sp. nepřežívá působení chlóru, výpadek chlorování nebo průsak kontaminované vody může způsobit onemocnění člověka.[11]

2.1.6 Metody průkazu *Campylobacter* sp.

K průkazu *Campylobacter jejuni* a *C. coli* v mléce ani v jiných potravinách nebyla dosud vypracována žádná mezinárodní standardní metoda (ISO, IDF). Česká norma zatím také neexistuje.[1]

V současné době se k průkazu a izolaci *Campylobacter* sp. z klinických vzorků potravin používají v mezinárodním měřítku následující selektivně – diagnostická média: agar podle Skirrowa, Butzlerův agar, Campy – BAP, Campy – Cefex, CCDA – modifikovaný Prestonův agar, Karmaliho agar.[1]

2.1.7 Prevence

Dobrá úroveň sanitace a především nezávadná provozní voda jsou základním předpokladem úspěšné prevence. K účinné inaktivaci kampylobakterů postačuje pasteurace s výdrží delší než 16,5 s při teplotě vyšší než 63 °C.[1]

Ke snížení kontaminací porážené drůbeže vedlo také použití kyseliny askorbové, která inhibuje růst *Campylobacter* sp. při koncentraci 0,05 % a je baktericidní při koncentraci 0,09 %.[6]

Chemické látky běžně používané v dezinfekci jako fenol, jodové preparáty, kvartérní amoniové báze a 70%ní alkohol jsou dostačující k likvidaci *Campylobacter* sp.[12]

2.2 *Escherichia coli*

2.2.1 Taxonomie

Druh *Escherichia coli* zahrnuje 2 biotypy, z nichž biotyp I tvoří 95 %, biotyp II tvoří 5 % kmenů. Jednotlivé kmeny jsou charakterizovány kombinacemi O (stěnový), K (kapsulární) a H (bičíkový) antigenů. Kmeny EEC (enteropatogenní *Escherichia coli*) tvoří 32 skupin sérovarů. Některé jsou rozšířeny po celém světě, jiné sérovary se vyskytují pouze v určitých geografických oblastech.[1]

Kmeny EEC lze rozdělit do dvou skupin podle typu onemocnění, které způsobují [1]:

- kmeny označované EPEC a ETEC vyvolávají gastroenteritidy obdobné salmonelózám,
- kmeny označované EIEC a EHEC jsou původci onemocnění typu shigelové dysenterie.

Kmeny EPEC (enteropatogenní *E. coli*) způsobují kojenecké průjmy. Adherují k buňkám střevního epitelu, ve kterém působením cytotoxinů narušují transport kapalin a elektrolytů.

Kmeny ETEC (enterotoxigenní *E. coli*) jsou endemické v zemích třetího světa, kde způsobují průjemová onemocnění kojenců, dětí a podvyživených dospělých s vysokým procentem úmrtnosti.

Kmeny EIEC (enteroinvazivní *E. coli*) vyvolávají u člověka onemocnění typu úplavice. Nemají živočišné hostitele. Biologicky i antigeně jsou blízce příbuzné shigelám.

Kmeny EHEC (enterohaemorrhagická *E. coli*), jejichž hlavním epidemiologickým reprezentantem je v současné době sérotyp O157 : H7, způsobují u člověka onemocnění typu dysenterie, často komplikované uremicko – hemorrhagickým syndromem. Jako původci alimentárních infekcí se začaly objevovat v posledních cca 25 letech.

2.2.2 Morfologie, biochemie, fyziologie

Escherichia coli je gram-negativní tyčinka rozměrů 1,1 – 1,5 μm x 2,0 – 6,0 μm , se zaoblenými konci, vyskytuje se jednotlivě, ve dvojicích nebo v krátkých řetězcích. Některé kmeny tvoří slizová pouzdra. *E. coli* je fakultativně anaerobní a biochemicky velmi aktivní. Biochemické znaky jsou však u jednotlivých kmenů variabilní, protože jsou přenosné na plasmidech nebo transportech mezi různými kmeny *E. coli* i mezi *E. coli* a jinými bakteriemi čeledi *Enterobacteriaceae*. Vyskytují se ureázo- pozitivní kmeny, kmeny, které využívají malonát. Z hlediska diagnostiky je zvláště závažná a obtížná variabilita schopnosti zkvašovat laktózu s tvorbou plynu. Kmeny EIEC jsou laktózo-negativní nebo fermentují pomalu, ale vyskytují se i laktózo- pozitivní kmeny jejich sérotypů. Naproti tomu laktózo- negativní kmeny jsou značně rozšířeny i mezi EPEC, ETEC, EHEC.[1]

Optimální teplota růstu je 30 – 37 °C, roste v rozsahu teplot 10 – 45 °C. Nepřežívá záhřev po dobu 16 – 17 s při teplotách vyšších než 64,5 °C. Optimální pH pro růst je 6,8 – 7,2.[1]

2.2.3 Patogeneze

Escherichia coli je také široce rozšířeným střevním patogenem savců a ptáků, a ačkoli je vázána na fekální kontaminaci, nevyskytuje se samostatně mimo živočišné tělo. Některé kmeny jsou patogenní pro člověka a zvířata a způsobují septické infekce a průjemová onemocnění.[4]

2.2.4 Epidemiologie

Většina epidemií je spojována s konzumací potravin bovinního původu - to znamená s výrobky z hovězího masa a mléčnými produkty. Další častou možností je konzumace zeleniny zalévané fekálně znečištěnou vodou.[28]

2.2.5 Metody průkazu a stanovení *Escherichia coli*

Standardní metoda ČSN ISO 7251: 1996 „Mikrobiologie. Všeobecné pokyny pro stanovení počtu suspektních *Escherichia coli*. Technika nejvýše pravděpodobného počtu“

používá jako selektivní médium laurylsulfátový bujón. K potvrzení pozitivních zkušavek (tvorba plynu) se vyočkovává do druhého selektivního média a do tryptonové vody, inkubují se při 45 °C.[1]

2.2.6 Prevence

Dobrý sanitační režim v podnicích prvovýroby je spolehlivá ochrana proti EHEC. Ve zpracovatelských podnicích je nutno se vyvarovat styku výrobků a obalových materiálů s bacilonosiči, což lze snížit zavedením automatizovaných systémů ve výrobě. Ve výrobě sýrů i jiných zakysaných výrobků je nezbytné a velmi účinné používání aktivních, rychle prokysávajících kyselinových kultur, které inhibují nebo inaktivují nejen EEC, ale i většinu ostatních patogenů, schopných přežít nebo pomnožovat se v potravinách.[1]

2.3 *Salmonella* sp.

Salmonely zaujímají už po řadu let první místo v pořadí původců alimentárních infekcí a intoxikací v epidemiologických statistikách industrializovaných zemí – cca 40 – 50 % epidemiologicky charakterizovaných onemocnění a přibližně stejné procento v hodnocení mikrobiálních infekcí a intoxikací způsobených pouze mlékem a mléčnými výrobky.

Salmonella Enteritidis se v posledních letech stává nejčastěji izolovaným sérotypem, izolovaným z humánních salmonelóz i z potravin v mnoha zemích.[1]

Salmonely způsobují enteritidy trvající 8 – 28 dní doprovázené abdominálními křečemi a horečkou. Většina sérotypů vyvolává pouze lokální zánětlivý proces. Systematické infekce působí jen některé vysoce virulentní sérotypy (*S. Typhi*, *S. Choleraesuis*, *S. Dublin*).[1]

Salmonelóza se téměř výhradně přenáší fekálně – orální cestou, pomocí potravy nebo pitné vody, kontaminované infikovanými fekáliemi. Jen výjimečně dochází k přímé infekci stykem s infikovaným hostitelem, např. ošetřovatelky telat s nemocnými telaty, nebo přenosem z infikované matky na novorozeně při porodu.[1]

2.3.1 Taxonomie

Rod *Salmonella* z čeledi *Enterobacteriaceae*, je po genetické stránce zřejmě jen jeden druh zahrnující cca 2500 sérotypů. Je označován různými druhovými jmény, které se od sebe liší různými kombinacemi antigenů vnější buněčné stěny (O-), bičíků (H-) a kapsulárních antigenů (Vi- pokud jsou přítomny) .[1]

O antigen je termostabilní, vůči alkoholu rezistentní lipopolysacharid. H antigeny jsou termolabilní proteiny podléhající působení ethanolu a kyselin. Vi antigen je termolabilní polysacharid, důležitý pro identifikaci *S. Typhi*. [15]

Pomocí DNA hybridizace bylo zjištěno, že téměř všechny sérotypy tvoří stejnou skupinu (výjimkou je *S. bongori*). Na základě těchto studií byl rod *Salmonella* rozdělen do dvou druhů: *Salmonella enterica* a *Salmonella bongori*. Druh *S. enterica* se dělí do 6ti poddruhů [16, 17]:

- I *S. enterica* subsp. *enterica*
- II *S. enterica* subsp. *salamae*
- IIIa *S. enterica* subsp. *arizonae*
- IIIb *S. enterica* subsp. *diarizonae*
- IV *S. enterica* subsp. *houtenae*
- VI *S. enterica* subsp. *indica*

(u sérotypů *S. bongori* byl ponechán symbol V)

Tab. 1. Rozdělení sérotypů salmonel na „subgenera“ (Kauffmannovo schéma) [1]

Charakteristika	"Subgenus"				
	I	II	III	IV	V
β -galaktosidáza (OPNG test)	-	- n.x	+	-	+
Tvorba kyseliny z:					
laktóza	-	-	+ n.x	-	-
dulcitol	+	+	-	-	+
mukát	+	+	d	-	+
galakturonát	-	+	d	+	+
Využití:					
malonát (jablečnan)	+	+	+	-	-
D-tartrát (vinan)	+	- n.x	- n.x	- n.x	-
hydrolýza želatiny	-	+	+	+	-
růst v přítomnosti KCN	-	-	-	+	+
Hostitelské organismy většiny kmenů:					
teplokrevná zvířata, člověk	+	-	-	-	-
studenokrevná zvířata	-	+	+	-	-
prostředí, studenokrevná zvířata	-	-	-	+	+

+ - pozitivní pro 90 % nebo více kmenů během 1 – 2 dnů;

d - pozitivní pro 11 – 89 % kmenů během 1 – 2 dnů;

- - pozitivní pro 0 – 10 % kmenů během 1 – 2 dnů;

n.x - pozdní, nepravidelně pozitivní reakce.

Teplota při všech testech 37 °C

2.3.2 Morfologie, biochemie, fyziologie

Salmonely jsou gram-negativní rovné tyčinky, $0,7 - 1,5 \mu\text{m} \times 2,0 - 5,0 \mu\text{m}$, pohyblivé (s výjimkou sérotypu *S. Gallinarum* a *S. Pullorum*, které jsou vždy nepohyblivé). Biochemicky jsou velmi aktivní.[1]

Optimální teplota růstu je $35 - 37^\circ\text{C}$, tepelné maximum a minimum závisí na kmenu. Růst je možný od 5°C do 47°C . Salmonely nepřežívají pasteraci s výdrží 16 – 17 s při teplotě vyšší než 65°C , s výjimkou termorezistentního sérotypu *S. Seftengerg*. [1]

Optimální pH pro růst je v rozmezí 6,5 – 7,5, minimální pH pro růst závisí na typu kyseliny, která acidifikuje prostředí. Kyselina octová a propionová inhibovaly růst už při pH 5,5, kyselina mléčná a jablečná v rozmezí pH 4,2 – 4,7, kyselina vinná, citronová a chlorovodíková teprve při pH 4,05.[1]

Minimální teplota růstu se uvádí $5,5 - 6,5^\circ\text{C}$ a závisí nejen na sérotypu, ale i na trvání inkubace. K růstu při těchto nízkých teplotách je zapotřebí inkubace nejméně 12 – 19 dní. Tolerance salmonel ke koncentraci NaCl v prostředí vzrůstá se stoupající teplotou. Při 8°C roste *S. Typhimurium* jen při koncentracích NaCl do 2 %, při optimální teplotě 37°C se pomnožuje ještě při 7 – 8 % NaCl v médiu.[1]

2.3.3 Epidemiologie

Salmonely jsou ve světě hlavní příčinou alimentárních infekcí. Výskyt salmonelóz stoupá, vzestup se v posledních letech zrychluje. Mnoho onemocnění, snad většina, je však nepoznána.[6]

Infekce způsobená salmonelami může proběhnout v několika formách: akutní gastroenteritida, střevní tyfus, stav nosičství. Nejčastějším a nejtypičtějším průběhem salmonelózy je forma gastroenteritická. Pro vznik infekce má rozhodující vliv počet živých nebo uhynulých bakterií a jejich produktů v potravě. Ochrannou bariérou je normální acidita žaludeční šťávy. Podle velikosti infekční dávky a vnímavosti jedince probíhá onemocnění jako lehčí průjem nebo jako těžká gastroenteritida a enterokolitida s horečkami, zvracením a průjmy. Charakteristickým příznakem je inkubační doba 6 – 48 hodin po požití potravy. Běžná gastroenteritida zpravidla ustoupí do 3 dnů.[5]

Sušené mléčné výrobky infikované poměrně nízkým počtem salmonel jsou častou příčinou salmonelóz způsobených mléčnými produkty. Patrně je to nejčastěji zaviněno nesprávným zacházením s rekonstituovaným produktem (obnovení v teplé vodě, chladnutí a další uchovávání při pokojové teplotě), které umožňuje resuscitaci a růst bakterií ve výrobku.

Salmonely jsou velmi citlivé na opakované zmrazení a rozmrazení, avšak ve zmrazených výrobcích mohou přežívat velmi dlouho. *S. Enteritidis* a *S. Typhimurium* byly izolovány ze zmrzliny uskladněné 7 let při $-23\text{ }^{\circ}\text{C}$. [1]

Dnes se za infekční dávku u gastroenterických salmonelóz považuje $10^1 - 10^5$ buněk, v běžných případech jsou však nebezpečné počty buněk od 10^5 výše. [18]

2.3.4 Patogeneze

Salmonelóza začíná tím, že se do trávicího ústrojí dostanou salmonely v dostatečném počtu, aby se překonaly obranné mechanismy organismu, zejména kyselá reakce v žaludku, a usídlí se v tenkém střevě. Aby k infekci došlo, musí se salmonely dostat do jícnu. Potvrdily to pokusy, při nichž se osoby neinfikovaly, když suspenzí kmenů různých sérotypů jen kloktaly. [4]

2.3.5 Metody průkazu a stanovení *Salmonella* sp.

Metodika Standardu ISO předepisuje předpomnožení ze vzorku v pufované peptonové vodě, selektivní pomnožení z předpomnožené kultury v selenitovém bujonu při $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, vyočkování na selektivně – diagnostický agar s brilantovou zelení a fenolovou červení a na další selektivně – diagnostický agar podle volby uživatele. [1]

Vzhledem k existenci cca 2500 sérotypů salmonel a k jejich biochemické i biologické variabilitě nelze očekávat, že jeden určitý kultivační postup, používající jedno pomnožovací a jedno selektivně – diagnostické médium, bude poskytovat optimální podmínky pro všechny sérotypy a jejich varianty. [1]

Z imunologických testů se v praxi osvědčily ELISA-testy, TECRA a Salmonella Tek. Rambachův agar je určen k urychlené identifikaci izolátů salmonel. Selektivní průkaz spočívá ve schopnosti salmonel fermentovat propylenglykol v médiu. Také Oxoid Rapid Salmonella Test je biochemický test, při kterém se pomnožená kultura očkuje do selektivního média v jedné ze dvou komůrek testovací soupravy, ze které salmonely (pokud jsou přítomny a pohyblivé) migrují do druhé komůrky s druhým testovacím médiem. Biochemické změny vyvolané aktivitou salmonel v obou médiích jsou signalizovány změnou barev indikátorů v obou médiích. [1]

2.3.5.1 Kultivační metody

Při kultivaci bakterií je nutno splnit následující podmínky: dostatek vhodných živin, dostatečná vlhkost, optimální pH půdy, izotonie, kultivační teplota a aerobní či anaerobní prostředí.[19]

Kultivace salmonel

Používají se tekutá média, která slouží většinou jako pomnožovací média pro izolaci, a zejména pevná média.[5]

Horizontální metoda průkazu bakterií rodu *Salmonella*

Průkaz bakterií vyžaduje [20]:

- a) předpomnožení v neselektivní tekuté půdě,
- b) pomnožení v selektivních tekutých médiích – k odlišení salmonel od jiných enterobakterií,
- c) vyočkování na pevné půdy a zjišťování přítomnosti suspektních kolonií,
- d) konfirmace – pomocí vhodných biochemických a sérologických testů.

2.3.5.2 Imunologické metody

Imunomagnetická separace

Imunomagnetická separace je založena na principu vazby bakteriálních nebo jiných buněk na magnetické částice s imobilizovanými specifickými protilátkami.[21]

2.3.5.3 Molekulárně biologické metody

Polymerázová řetězová reakce (PCR)

PCR umožňuje produkci enormního množství kopií specifické DNA sekvence. PCR je využívána pro amplifikaci části DNA, která leží mezi dvěma úseky o známe sekvenci.

Každý cyklus polymerázové řetězové reakce zahrnuje 3 kroky [22, 23, 24]:

1. Denaturace – zahřátím na 94 °C, kdy dochází k oddělení obou řetězců DNA.
2. Připojení primerů k odděleným DNA řetězcům – probíhá při teplotě 30 – 65 °C.
3. Syntéza DNA – je započata vzestupem teploty na 65 – 75 °C.

2.3.6 Prevence

Zabezpečení výrobků před salmonelovou kontaminací by mělo začínat už v prvovýrobě zajištěním hygienicky nezávadné suroviny – izolací chovů dojníc od chovů drůbeže.

Aktuální úkol prevence salmonelových infekcí je likvidace *S. Enteritidis* v chovech drůbeže.[1]

Protože jednou z důležitých příčin salmonelových infekcí je zřejmě i kontaminace výrobků způsobená lidskými i zvířecími bacilonosiči, musí být preventivní opatření zaměřena i na monitorování bacilonosičů a ochranu výrobků před stykem s nimi. Zjištění bacilonosičství u člověka však komplikuje skutečnost, že chroničtí bacilonosiči, kterých po přestálé infekci může být 1 – 5 %, vylučují salmonely ve stolici po mnoho let a často ve velkém množství.[1]

2.4 *Shigella* spp.

2.4.1 Taxonomie

Shigely jsou typické bakterie z čeledi *Enterobacteriaceae* a jsou velmi blízce příbuzné rodu *Escherichia*. Jsou to gram-negativní tyčky, jež nelze morfologicky odlišit od ostatních střevních tyček.[4]

2.4.2 Morfologie, biochemie, fyziologie

Shigely jsou neopouzdržené, štíhlé, nepohyblivé, gram-negativní tyčky, citlivé na zevní prostředí, zejména na vyschnutí a na všechny běžně používané dezinfekční prostředky. Jsou rozděleny podle antigenních a biochemických vlastností do čtyř skupin [32]:

- 1) A (*Shigella dysenteriae*, 12 sérotypů, u nás se vyskytuje vzácně);
- 2) B (*Shigella flexneri*, 12 sérotypů, u nás vyvolává maximálně 10 % shigelóz);
- 3) C (*Shigella boydii*, 19 sérotypů, většinou je importována);
- 4) D (*Shigella sonnei*, 1 sérotyp, u nás se podílí na vzniku 90 % shigelóz).

2.4.3 Epidemiologie

Shigelóza je typická nemoc "špinavých rukou". Fekálně - orální přenos je uskutečňován přímým kontaktem nebo nepřímo kontaminovanými předměty. Alimentární přenos nákazy se děje kontaminovanou potravinou, mlékem a často vodou. Mouchy se mohou uplatnit jako mechanický faktor přenosu. Shigelóza je výlučně lidské onemocnění. Zdrojem nákazy je nemocný člověk nebo rekonvalescent.[32]

Bacilární dysenterie je průjemové onemocnění charakterizované krvavými průjmy s křečemi v břiše a konečníku, často se zvracením a vysokou teplotou 2 – 5 dnů po nákaze.

Onemocnění způsobí nemocný, často kuchař při hromadných akcích v letních měsících v dětských táborech, kempech, ale i v klasických stravovacích zařízeních.[7]

2.4.4 Patogeneze

Shigely jsou patogenní pro člověka a primáty. K infekci dochází degluticí. Infekční dávka je malá, 10 – 100 mikrobů, zřejmě proto, že shigely jsou odolné k účinku kyselého prostředí v žaludku a žluči.[4]

Když se shigely dostanou do tlustého střeva, pomnožují se ve střevním luminu. Bakterie adherují k epitelovým buňkám sliznice tlustého střeva a pronikají do nich. Shigely se uvnitř buněk množí a šíří se do sousedních buněk. Epitelové buňky jsou usmrceny, rozvíjí se zánět a trombóza kapilár. Shigely zřídka invadují do ostatních tkání.[4]

Ačkoli hlavní složkou patogenity shigel je schopnost invaze do epitelů tlustého střeva s následnou zánětlivou reakcí, některé kmeny produkují exotoxin. Tento toxin způsobuje únik vody a elektrolytů z buňky. Jeho účinkem někdy začíná dysenterie vodnatým průjmem, a teprve po něm se dostavuje průjem krvavý.[4]

2.4.5 Prevence

K mytí i oplachování musí být používána voda splňující požadavky mikrobiologické normy pro pitnou vodu. V potravinářských závodech se používá v chladicích systémech voda z různých přírodních zdrojů. Taková voda může obsahovat salmonely nebo shigely. Je nutno dbát, aby taková voda nebyla používána k mytí nebo oplachování čehokoli a zajistit, aby při technologických poruchách nepronikla do výrobního zařízení, potrubí nebo do systému upravené, mikrobiologicky kontrolované vody.[1]

2.5 *Yersinia enterocolitica*

Yersinia enterocolitica patří mezi významné původce gastroenteritid přenosných převážně potravinami. Podle různých statistik se v posledních letech podílí na 1 – 2 % případů gastroenteritid v průmyslově vyvinutých státech.[1]

2.5.1 Taxonomie

Yersinia enterocolitica je jedním z deseti druhů rodu *Yersinia*, náleží do čeledi *Enterobacteriaceae*, z nichž tři - *Y. enterocolitica*, *Y. pestis* a *Y. pseudotuberculosis* – jsou patogenní pro člověka i zvířata.[1]

Druh *Y. enterocolitica* zahrnuje 5 biotypů a cca 60 O-antigenů sérotypů, ale jen několik biosérotypů jsou patogenní mikroorganismy, a i tyto jsou geograficky silně limitovány. Převládají v některých geografických oblastech, zatímco v jiných se téměř nebo vůbec nevyskytují. Jsou to biotyp 4,0 : 3, biotyp 2,0 : 9 a 0 : 5,27 v Evropě, biotyp B1,0 : 8 v USA, sérotypy 0 : 3 a 0 : 5,25 v Japonsku.[1]

2.5.2 Morfologie, biochemie, fyziologie

Buňky yersinií jsou gram-negativní, kokoidní, rozměrů 0,5 – 0,8 µm x 1 – 3 µm, pohyblivé při 25 °C, při teplotě 37 °C ztrácejí bičíky a jsou nepohyblivé. Jsou psychrotrofní, rostou v rozmezí 2 – 42 °C, optimální teplota růstu je 28 – 29 °C. Jsou alkalirezistentní, rozmezí růstu pH je 4,5 – 10, optimální pH je 7,2 – 7,4. Yersinie jsou fakultativně anaerobní a jako jiné druhy enterobakterií biochemicky velmi aktivní. Biochemické testování je nutno provádět při 25 – 28 °C, při vyšších teplotách mohou být výsledky atypické.[1]

Yersinia enterocolitica je tolerantní k žlučovým solím a k NaCl (5 %). Je usmrcena krátkodobou pasterací s výdrží 16,2 s při teplotách nad 63 °C. Přežívá zmrazení a rozmrazení i dlouhodobé zmrazení.[1]

2.5.3 Epidemiologie

Nejčastějším rezervoárem yersinií je prase. Syrové nebo nedostatečně tepelně upravené masné výrobky, primárně infikované, mohou být zdrojem infekce.[30]

Y. pseudotuberculosis je rozšířena jako parazit mnoha druhů ptáků a savců. Přítomnost obou Yersinií byla detekována díky fekální kontaminaci i ve vodě a zelenině.[31]

2.5.4 Patogeneze

Yersinia enterocolitica způsobuje lehkou i těžkou gastroenteritidu, u starých osob i sepsi. Od *Yersinia pseudotuberculosis* se liší také tím, že infikuje děti a dospělé obou pohlaví. U malých dětí se infekce může projevovat horečkou, průjmem, bolestmi břicha a zvracením. Příznaky mohou přetrvávat po několik týdnů.[4]

2.5.5 Metody průkazu a stanovení *Yersinia enterocolitica*

Kultivační průkaz se provádí stejným postupem, jaký je běžný u standardních metod průkazu jiných patogenů. Vzorky se nejprve pomnožují v selektivních bujonech, vyočkují se na selektivně – diagnostické agary a podrobí se potvrzovacím testům. K pomnožování patogenních sérotypů se osvědčily bujony BOS (Bile – Oxalate – sorbitol) a ITC (Ergasan

– Tricarillin – Chlorate). K relativnímu obohacování silně kontaminovaných vzorků patogenními yersiniemi lze využít psychrotrofních vlastností *Y. enterocolitica*: „chladové pomnožení“ se provádí ve vzorku naočkovaném do pufrovaného fyziologického roztoku, při 2 – 4 °C po dobu až do 21 dnů. Pro rutinní rozbor je tento proces příliš zdoluhavý. Rychlejší způsob obohacení je postup využívající alkalotoleranci *Y. enterocolitica*: na vzorek před pomnožením nebo na pomnoženou kulturu se působí po dobu cca 2 min 0,5%ním roztokem KOH. Dobré selektivně – diagnostické vlastnosti má také modifikovaný SS – agar a SSDC (Shigella – Salmonella – Deoxycholate – Calcium). Roste také dobře i na většině selektivně – diagnostických agarů používaných pro jiné druhy enterobakterií.[1]

2.5.6 Prevence

Y. enterocolitica je schopna růst v potravinách při teplotách blízkých 0 °C a protože je fakultativně anaerobní, roste i ve vakuově balených potravinách. Chlazení a vakuové balení není proto dostatečnou zárukou bezpečnosti potravin. Takto balené potraviny, i když jsou až do konzumace chlazené, mohou být proti yersiniové infekci zabezpečeny pouze krátkodobým záhřevem těsně před konzumací – nejméně 63 °C, s výdrží potřebnou k prohřátí zpracovávaného množství potravin na tuto teplotu.[1]

2.6 *Staphylococcus aureus*

Výrobky kontaminované toxigenními kmeny *Staphylococcus aureus* jsou v industrializovaných zemích nejčastější příčinou alimentárních intoxikací způsobených mikroorganismy.[1]

STAFYLOKOKOVÉ INTOXIKACE

S. aureus způsobuje otravu, která se projevuje zvracením a průjmem, v těžších případech také bolestmi hlavy a svalovými křečemi. Většinou se jedná o lehčí onemocnění, které obvykle samo odezní během 24 h a nevyžaduje léčení.[1]

Příčinou intoxikace je stafylokokový enterotoxin (SE), který produkují toxigenní kmeny *S. aureus*. 7 sérotypů SE se dělí na dvě skupiny, které se od sebe liší chemickým složením i fyziologickou regulací, ale účinky mají stejné. Enterotoxiny A, C₁, C₂, C₃ a D (označované SEA, SEC₁, SEC₂, SEC₃, SED) jsou kódovány v chromozomu a tvoří se během exponenciální fáze růstu, zatímco geny kódující toxiny B (SEB) a E (SEE) jsou lokalizovány na plasmidech a jejich produkty se tvoří ve stacionární fázi růstu. Otravy jsou nejčastěji způsobovány sérotypy SEA a SED. Enterotoxiny jsou termostabilní, nejsou inaktivovány pasterací, jsou rezistentní k proteolytickým enzymům zažívacího traktu i k proteázám mléčných bakterií a mohou proto setrvávat v zakysaných výrobcích velmi dlouho. Minimální dávka SE potřebná ke vzniku onemocnění se odhaduje na 1 – 100 mg.[1]

Podle výsledků laboratorních pokusů je k vyprodukování tohoto množství toxinu zapotřebí nárůstu toxigenního kmenu *S. aureus* v počtu 10⁶ CFU/g, avšak počty stafylokoků v potravinách, které způsobily intoxikace, jsou zpravidla mnohem vyšší, cca 10⁸ CFU/g i více.[1]

STAFYLOKOKOVÉ INFEKCE

S. aureus je oportunní patogen, který způsobuje zánětlivá onemocnění u lidí i zvířat. Pro hygienu potravinářské výroby jsou důležité dva typy těchto zánětlivých onemocnění: **mastitidy dojníc** a **hnisavé záněty** drobných poranění na lidských rukách, kterým se obvykle nevěnuje pozornost a nejsou dostatečně ošetřeny a izolovány od předmětů, s nimiž ruce přicházejí do styku. Tyto infekce obsahují vysoké koncentrace virulentních stafylokoků, které se z ložiska velmi snadno uvolňují pouhým dotekem a přenášejí se do prostředí.[1]

Stafylokokové mastitidy jsou hlavním zdrojem kontaminace syrového mléka virulentním *S. aureus*. Tvorba SE není pro vznik stafylokokových infekcí nutná.[1]

2.6.1 Taxonomie

Rod *Staphylococcus* z čeledi *Micrococcaceae* zahrnuje v současné době 19 druhů, vesměs kožních komensálů teplokrevných živočichů. *S. epidermidis*, ačkoliv je také oportunistický

patogen, má v mlékárenské výrobě pouze technologický význam jako běžný kontaminant a nejčastější příčina kažení slazených kondenzovaných mléčných výrobků.[1]

2.6.2 Morfologie, biochemie, fyziologie

Buňky *S. aureus* jsou koky průměru 0,5 – 1,0 μm , nepohyblivé. Dělí se ve třech k sobě kolmých rovinách, čímž vznikají nepravidelné „hroznovité“ shluky, typické pro r. *Staphylococcus*. Mimo tyto shluky se koky vyskytují jednotlivě nebo ve dvojicích. Některé virulentní kmeny tvoří slizová pouzdra. Buňky *S. epidermidis* jsou koky o průměru 0,5 – 1,5 μm , převážně ve dvojicích nebo tetrádách, nepohyblivé. *S. aureus* i *S. epidermidis* jsou gram-pozitivní, fakultativně anaerobní, rostou lépe v aerobních podmínkách. Energetický metabolismus je respirativní i fermentativní. Minimální a maximální teplota růstu a tvorbu enterotoxinu pro *S. aureus* je 10 – 45 °C, optimální pak 30 – 37 °C. *S. epidermidis* roste v rozmezí teplot 15 – 45 °C s optimem 30 – 37 °C. Oba druhy rostou v rozmezí pH 4,2 – 9,3, optimální pH pro růst je 7,0 – 7,5.[1]

S. aureus je halotolerantní až mírně halofilní, roste dobře ještě při koncentraci 10 % NaCl v médiu, růst je inhibován při 15 % NaCl. *S. epidermidis* roste dobře při 7,5 % NaCl a je inhibován při koncentracích nad 10 % NaCl. Stafylokoky jsou také osmotolerantní a rostou při a_w tolerovaná nehalofilními bakteriemi.[1]

Stafylokoky jsou poměrně rezistentní k vyšším teplotám, tj. vyšší jak 60 °C. Podle studií prováděných s různými kmeny za rozdílných podmínek mohou přežívat při 60 – 62 °C po dobu 30 – 120 min.[1]

2.6.3 Epidemiologie

Osoby s hnisavými infekcemi pracující v potravinářství mohou být zdrojem kmenů produkujících enterotoxin.[4]

Staphylococcus aureus je neškodný na vlhké kůži nosního vchodu, kde se vyskytuje asi u 30 – 40 % zdravých osob.[4]

Mléko krav se stafylokokovým zánětem vemene se kontaminuje a stafylokoky pak mohou způsobit alimentární intoxikaci.[4]

2.6.4 Patogeneze

Staphylococcus aureus je podmíněný patogen, přítomný v nose a na kůži. Infikuje nejčastěji místa se sníženou rezistencí, například poškozenou kůží, sliznice nebo hematomy v měkkých tkáních.[4]

2.6.5 Metody průkazu stanovení *Staphylococcus aureus*

Metoda Standardu IDF pro mléko a mléčné výrobky uvádí dva kultivační postupy [1]:

- pro vzorky s očekávaným nízkým počtem *S. aureus* < 150/ml nebo 1 500 /g stanovení metodou MPN kultivací za anaerobních podmínek v selektivním bujonu s teluričitanem draselným a NaCl podle Giolitti – Cantoniho,
- pro vzorky s očekávaným počtem *S. aureus* > 150/ml nebo 1 500/g stanovení počítáním kolonií na Baird – Parkerově agaru.

Pro rychlé orientační vyšetření výrobků, ve kterých se předpokládá vysoký nárůst stafylokoků – např. při podezření, že výrobek způsobil stafylokokovou intoxikaci – doporučuje ČSN vyočkování z neředených vzorků na krevní agar nebo na některý ze selektivních krevních agarů. Přímé vyočkování vzorků mléka na krevní agar se používá také při vyšetření mastitidních mlék na přítomnost *S. aureus*. [1]

K nepřímému orientačnímu průkazu přítomnosti enterotoxinu ve vzorcích lze použít temonukleázový test. [1]

2.7 *Bacillus cereus*

2.7.1 Taxonomie

Bacillus cereus náleží do čeledi aerobních a fakultativně anaerobních bakterií *Bacillaceae*, kde tvoří spolu s *Bacillus anthracis* a *Bacillus thuringiensis* skupinu velkých, toxigenních bacilů. [1]

2.7.2 Morfologie, biochemie, fyziologie

Bacillus cereus je gram-pozitivní neopouzdržená pohyblivá tyčinka tvořící spory. Je to fakultativní anaerob s poměrně velkými vegetativními buňkami (1,0 – 1,2 x 3 – 5 µm). Patří mezi saprofytické bakterie. Roste v teplotním rozmezí 8 – 55°C, optimálně při 28 – 35°C a není zaznamenána žádná tolerance pro vodní aktivitu (min. ~ 95) nebo pH. Rozpětí hodnot pH umožňující ještě růst je přibližně 4,9 – 9,3. [25]

Spory jsou centrální, elipsoidního tvaru a nezpůsobují nadouvání sporulující buňky. Jako sporotvorný mikroorganismus je *B. cereus* široce rozšířený v prostředí. Převážně se

vyskytuje v půdě, ve vodě a na rostlinách. Z této „všudypřítomnosti“ plyne skutečnost, že je běžnou součástí střevní mikroflóry člověka. Spory vykazují různou teplotní odolnost.[25]

B. cereus je kultivačně nenáročný. Roste na běžných médiích, na krevním agaru vyrůstá ve velkých, drsných koloniích s nepravidelnými okraji.[25]

Bacillus cereus je saprofyt, který roste na rozkládajících se zbytcích rostlin v půdě, v hnoji a krmivech. Z těchto zdrojů jsou kontaminovány cereálie během vegetační doby, nejintenzivněji však při sklizni.[1]

2.7.3 Metody průkazu a stanovení *Bacillus cereus*

K průkazu a stanovení *Bacillus cereus* se používá standardní metoda ISO 7032, počítání kolonií *B. cereus* vyrostlých při 30 °C na selektivně – diagnostické půdě MYP (Mannitol – Yolk – Polymyxin) podle Mossela. Metoda normy ISO je koncipována k zjištění cereové kontaminace v potravinách, u kterých je podezření, že byly příčinou otravy toxiny *B. cereus*. [1]

2.7.4 Patogeneze

Spory *Bacillus cereus* jsou vysoce termorezistentní a většina kmenů produkuje toxin. Mikrob je hojně rozšířen v prostředí na obilninách, zejména pak na rýži. Většina alimentárních intoxikací je způsobena preformovaným toxinem v nedostatečně tepelně zpracovaných pokrmech. Hlavním příznakem je zvracení za 6 hodin po požití. *Bacillus cereus* také produkuje ve střevě termolabilní enterotoxin. Po požití potravy způsobuje průjemové onemocnění, které je podobné enteritidě vyvolané *Escherichia coli* nebo salmonelami. V kontaminované potravě je vždy přítomno obrovské množství bacilů – až 10^{10} /g.[4]

2.7.5 Prevence

Nezbytné je dodržování dobrého sanitačního režimu v prvovýrobě i ve zpracovatelských závodech. Mytí a dezinfekce vemen snižuje obsah spor *B. cereus* v čerstvě nadojeném mléce až 10 krát. V žádném případě nesmí být zařízení, které přišlo do styku s mlékem v mlékárnách nebo v prvovýrobě, ponecháno nevyčištěné nebo jen propláchnuté vodou. Film zředěného vysychajícího mléka, který se vytvoří na povrchu výrobního zařízení nebo uvnitř prázdného potrubí, poskytuje ideální podmínky pro indukci sporulace *B. cereus* a další rozšíření spor v prostředí.[1]

Při výrobě ve zpracovatelských závodech, během dopravy, v tržní síti, v kuchyních společného stravování i v domácnostech nesmí být výrobky, polotovary, hotové nebo rekonstituované pokrmy ponechány delší dobu při pokojové teplotě, aby se předešlo pomnožení *B. cereus*. Až do použití musí být uchovávány při teplotě do +5 °C.[1]

2.8 *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*

2.8.1 Taxonomie

Druhy *Clostridium perfringens* a *Clostridium botulinum* jsou obligátně anaerobní, gram-pozitivní, sporulující bakterie r. *Clostridium*, čeledi *Bacillaceae*. *C. botulinum* (A – G) je umělý druh, vytvořený pro účely medicínské mikrobiologie zařazením několika morfologicky i fyziologicky odlišných druhů klostridií pod společné druhové jméno. Společnou charakteristikou této skupiny je působení jejich neurotoxinů, které vyvolávají shodný typ onemocnění.[1]

K diferenciaci jednotlivých druhů uvnitř r. *Clostridium* pomocí morfologických znaků slouží tvar a uložení spor uvnitř buňky a tvary sporulujících buněk, k biochemické diferenciaci slouží sacharolytická a proteolytická aktivita.[1]

Nejčastější příčinou onemocnění botulismem jsou typy A, B a E.[4]

2.8.2 Morfologie, biochemie, fyziologie

2.8.2.1 *Clostridium botulinum* (typy A – G)

Jsou gram-pozitivní, sporulující tyčinky, jednotlivé, v párech nebo krátkých řetězcích. Průměr spor je větší než průměr vegetativní buňky, takže nadouvají sporulující buňku, která má tvar vřetena nebo rakety. Jednotlivé typy (A – G) se od sebe liší rozměry vegetativních buněk, přítomností exosporia, schopností rozkládat kasein, produkovat sirovodík, štěpit různé glycidy, tvořit lecitinázu i rozdílnou optimální teplotou růstu. Vegetativní buňky nepřežívají pasteraci, spory pasterací poškozovány nejsou.[1]

2.8.2.2 *Clostridium perfringens*

Jsou gram-pozitivní, rovné tyčinky 0,9 – 1,3 μm x 3,0 – 9,0 μm, jednotlivé, ve dvojicích nebo krátkých řetězcích, nepohyblivé. Spory jsou oválné, nezduřují buňku. *C. perfringens* je obligátně anaerobní. *C. perfringens* je převážně sacharolytický typ, slabě proteolytický.

Zkapalňuje želatinu, ale nerozpouští koagulovaný vaječný albumin a koagulované krevní sérum. V mléce fermentuje laktózu se silným vývojem plynu.[1]

2.8.3 Epidemiologie

Častým zdrojem botulismu jsou doma vyrobené, nedokonale vysterilizované masové a zeleninové konzervy a kompoty. V současné době však mohou být rizikové i komerční potraviny hermeticky vakuově balené (maso, sýry, uzeniny) v souvislosti s výskytem psychrotrofně adaptovaných klostridií, mezi jinými i *C. botulinum*. [1]

2.8.4 Patogeneze

Clostridium botulinum

Lidský botulismus je závažná, často smrtelná forma otravy z potravin, se zřetelnými neurotoxickými účinky. Onemocnění vzniká po požití různých potravin, obvykle šunky, velkých klobás, doma připravených masných pokrmů ze zeleniny a konzervovaných výrobků, jako je játrová paštika a pomazánka z lískových oříšků. Kmeny *Clostridium botulinum* typu E jsou obzvláště často spojeny s onemocněním z mořských ryb, zatímco zdrojem typu A a B je půda.[4]

Clostridium perfringens

Clostridium perfringens je normálně přítomno ve stolici člověka. Při vaření velkého kusu masa teplo proniká pomalu do středu potraviny a pak maso také pomalu chladne. Spory přežívají a během chladnutí v anaerobním prostředí masa vyklíčí a klostridia se pomnoží. Mikrobi jsou chráněni před kyselou reakcí žaludku bílkovinami v potravě, takže snadno projdou do střeva, kde vysporulují. Vznik typického obrazu onemocnění působením enterotoxinu je podmíněn požitím velkého množství živých mikrobů, které ve střevě sporulují a uvolňují toxin. Typickými příznaky jsou křeče v břiše, jež se dostaví za 8 – 12 hodin po požití, a následný průjem. Potíže vymizí za 1 – 2 dny.[4]

2.8.5 Metody průkazu a stanovení patogenních klostridií

Ke stanovení počtu *Clostridium perfringens* a *C. botulinum* se využívá standardní metoda ISO. Metodika Standardu se zakládá na vyočkování přímo ze vzorku na selektivně – diagnostický agar TSC. Ten obsahuje jako selektivní agens D – cykloserin a k diagnostickým účelům využívá schopnosti klostridií redukovat sulfity. Potvrzení se provádí několika biochemickými testy. Jestliže je podezření, že určitá potravina způsobila botulismus, provádí se průkaz toxinu a přítomnosti *C. botulinum* v potravíně podle

ČSN 560090 *Potravinářské výrobky. Průkaz botulinických toxinů a Clostridium botulinum.*[1]

2.8.6 Prevence

V souvislosti s technologií výroby a přípravy pokrmů lze rozdělit příčiny klostridiových strav na dvě kategorie [1]:

- 1) intoxikace způsobené nesprávným zacházením s potravinami nebo z nich vyrobenými pokrmu u spotřebitele zaviněné častěji z neznalosti než z nedbalosti,
- 2) intoxikace způsobené spontánním pomnožením klostridií v kontaminované potravine, zejména ve výrobcích s delší garanční dobou, v hermeticky uzavřených obalech (plastové sáčky, konzervy), uchovávaných při pokojové teplotě.

2.9 *Listeria monocytogenes*

V průmyslově rozvinutých zemích jsou listeriózy příčinou jen asi 0,5 – 1 % všech hromadných alimentárních infekcí a intoxikací mikrobiálního původu, mají však mezi těmito onemocněními zcela nesporné prvenství v procentu mortality, které se odhaduje až na 30 % úmrtí z celkového počtu onemocnění.[1]

2.9.1 Taxonomie

Rod *Listeria* je v současné době zařazen do taxonomicky různorodé skupiny gram-pozitivních nesporulujících rovných tyčinek a zahrnuje 7 druhů, z nichž jen *Listeria monocytogenes* je považována za patogenní pro člověka. Na základě O- a H-antigenů bylo charakterizováno 12 sérovarů.[1]

2.9.2 Morfologie, biochemie, fyziologie

Listeria monocytogenes jsou gram-pozitivní, krátké, rovné tyčinky se zakulacenými konci, velikosti 0,4 – 0,5 μm x 0,5 – 2,0 μm , jednotlivé buňky nebo ve dvojicích. Je pohyblivá při teplotě 20 – 25 °C, nepohyblivá při vyšších teplotách. Je fakultativně anaerobní, fermentuje cukry na kyselinu mléčnou, produkuje degradativní exoenzymy. Je psychrotrofní, roste ještě při teplotě –0,1 až +0,4 °C, optimální teplota růstu 30 – 37 °C. K inaktivaci listerií v somatických buňkách v mléce postačuje záhřev po dobu 15 s na 72 °C. Tepelně stresované, termorezistentní listerie se mohou dostávat do mléka při akutních zánětech vemene. Také tepelný šok (48 °C) a některé látky

s osmoprotektivním účinkem, které se přidávají do různých mléčných výrobků (sladidla, stabilizátory) zvyšují rezistenci listerií ke krátkodobému záhřevu.[1]

Optimální pH růstu je 7,0 – 7,5. Roste v rozmezí pH 5,0 – 9,0. Růst při hodnotách pH v okolí pH-minima podstatně zvyšuje tolerance *L. monocytogenes* ke kyselému prostředí a přežívání ve fermentovaných výrobcích.[1]

L. monocytogenes je osmotolerantní: roste při a_w 0,90 – 0,92 a při optimální teplotě růstu se rozmnožuje při 10%ní koncentraci NaCl v prostředí. S klesající teplotou osmotolerance vzrůstá, takže při 15 °C roste ještě v přítomnosti 13 – 14 % NaCl. Osmotickou toleranci zvyšují také růstové faktory, např. kvasničný extrakt, tedy látky, které se často přidávají jako vitaminové doplňky do různých mléčných výrobků. Přežívají i dlouhodobé zmrazení.[1]

2.9.3 Epidemiologie

Listeriózou bývají nejčastěji postiženy děti, staří lidé, lidé s narušených imunitním systémem, těhotné ženy, plody a novorozenci. Ačkoliv *L. monocytogenes* nevyvolává častá hromadná onemocnění, je třeba věnovat tomuto mikroorganismu stálou pozornost. Příčinou přítomnosti této bakterie v potravinách je druhotná kontaminace z prostředí (např. při balení).[29]

2.9.4 Patogeneze

Jednotlivé druhy listerií se liší virulencí pro pokusná zvířata a pro člověka. Všechny kmeny patogenní pro myš produkují hemolyzin listeriolysin, O-antigenně příbuzný streptolysinu O, což nasvědčuje tomu, že může být faktorem virulence.[1]

Naočkování listerií bezmikrobním zvířatům perorální cestou navodí infekci ve střevní stěně, někdy s následným průnikem do sleziny a jater. Kolonizaci sliznice tlustého střeva brání rezidentní flóra. Pomocnými faktory listeriové kolonizace tlustého střeva u člověka jsou onemocnění trávicího ústrojí, dysmikrobie (po podávání antibiotik) nebo porušení tkáně tlustého střeva.[4]

2.9.5 Metody průkazu a stanovení *Listeria monocytogenes*

Standardní metoda používá k průkazu *L. monocytogenes* předmnožení ve Fraserově bujonu a vyočkování na dva selektivně – diagnostické agary, Oxfordský a PALMCAM. Ve stále širším měřítku se začínají používat k průkazu a identifikaci metody založené na hybridizaci a amplifikaci specifických sekvencí listeriové DNA.[1]

2.9.6 Prevence

Dobrým sanitačním režimem v prvovýrobě mléka lze efektivně předcházet listeriovým kontaminacím. Čištění spočívá v mytí a dezinfikování vemen dojníc, chlazením mléka od nadojení až po pasteraci na nízkou teplotu (+5 °C) a zkrmováním kvalitních siláží. Bylo prokázáno, že nedostatečně prokysané siláže jsou v prvovýrobě důležitým zdrojem listeriové kontaminace. Pro omývání vemene před dojením dojníc se doporučuje používat jednorázové papírové utěrky.[1]

2.10 Další patogenní bakterie

Dalšími patogenními bakteriemi, které se mohou vyskytovat v potravinách nebo pitné mohou být *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus*, *Aeromonas* spp., *Plesiomonas shigelloides*. Tyto bakterie se mohou na potraviny dostat fekálním znečištěním výrobních surovin nebo vody. [37]

Aeromonas spp. je gram-negativní, tyčinkovité bakterie, které se v přírodě vyskytují převážně ve vodním prostředí. Druhy *A. hydrophila*, *A. veronii* a *A. scaviae* mohou být patogenní pro člověka, protože byly izolovány z klinických případů gastroenteritid.[37]

Vibrio parahaemolyticus – suspektní kolonie byly testovány na využití glukosy a dekarboxylaci lysinu. Po těchto předběžných testech, biologických testech byly provedeny s API 20E systémem a rostly v 0 – 10%ní koncentraci NaCl.[38]

Brucella abortus je fakultativně intracelulární gram-negativní bakterie, která infikuje především hospodářská zvířata, ale je přenosná i na člověka. U člověka způsobuje chřipkovité onemocnění se zhoršujícími a zlepšujícími se stavy. *B. abortus* zapříčiňuje potrat u hovězího skotu. V zemědělských oblastech rozvojových zemí je brucelóza dosud velmi rozšířena.[39]

Tab. 2. Přehled nejvýznamnějších patogenních bakterií, jejich zdroj a infekční dávka

Mikroorganismus	Zdroj nákazy	Infekční dávka
<i>Campylobacter</i> sp.	drůbež a drůbeží maso	$5 \cdot 10^2$ mikrobů
<i>Escherichia coli</i>	střevní patogen	10^4 buněk/g
<i>Salmonella</i> sp.	vejce, sušené mléčné výrobky, zmrzlina, majonézy	$10^1 - 10^5$ buněk/g
<i>Shigella</i> spp.	nemocný člověk, kontaminovaná voda	$10^1 - 10^2$ buněk/g
<i>Yersinia enterocolitica</i>	prase, syrové a nedostatečně tepelně upravené masné výrobky	-

<i>Staphylococcus aureus</i>	mastitidy dojníc, hnisavé záněty, různé potraviny	10^6 buněk/g
<i>Bacillus cereus</i>	hnůj, rozkládající se zbytky hnojiva, cereální výrobky	10^6 buněk/g
<i>Clostridium jejuni/coli</i>	Nedokonale vysterilizované masové a zeleninové konzervy a kompoty	-
<i>Clostridium perfringens</i>		10^6 buněk/g
<i>Listeria monocytogenes</i>	nepasterizované mléko a mléčné výrobky, maso, zelenina a ryby	do 10^2 buněk/g

Tab. 3. Nemocnost alimentárních onemocnění v letech 1994 – 2003 v České republice (počet případů / 100 000 obyvatel) [36]

Rok/diagnóza	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003
Salmonelózy	491	518	466	386	493	434	389	326	274	263
Kampylobakteriémie	22	29	25	37	54	95	163	210	227	196
Střevní nákazy způsobené jinými bakteriálními agens	20	21	28	20	19	18	21	20	26	23
Shigelózy	17	16	8	6	5	5	5	3	3	4
Alimentární intoxikace	4	9	6	3	5	5	11	7	3	1
Virové gastroenteritidy	2	2	8	5	9	8	12	11	23	21
Infekční gastroenteritidy neznámého původu	12	12	13	10	6	12	13	13	14	16

3 KVASINKY

3.1 Výskyt kvasinek

Kvasinky jsou v podstatě všudypřítomné – nacházejí se v půdě, ve vzduchu, ve vodách, na ovoci, v medu, v bobulích lesních rostlin, v nektaru květů, na nejružnějších surovinách a potravinách, na kůži a sliznicích lidí i ostatních teplokrevných živočichů. Šíří se vzdušnými proudy, roznáší je hmyz apod.[3]

Rozmnožování kvasinek je podmíněno jejich fyziologickými vlastnostmi, tj. potřebou cukru, odolností ke kyselému prostředí, u některých druhů také tolerancí k vysokému osmotickému tlaku, a je omezeno jejich neschopností štěpit bílkoviny. Proto se nepomnožují ve větší míře na mase a jiném bílkovinném materiálu. Výskyt kvasinek ovlivňuje také jejich nízká tepelná odolnost – většina jich je usmrcena již při 2 – 5 minutovém zahřívání na 56 °C. Rozmnožování většiny kvasinek je potlačeno při 38 °C. Některé osmotolerantní kvasinky však mohou na koncentrovaných substrátech růst i při 40 °C, zatímco ve zředěných médiích rostou jen kolem 30 °C. Tyto osmotolerantní druhy se uplatňují při kažení sladového výtažku, medu a plněných čokoládových bonbonů.[3]

Kvasinky se rozmnožují mnohem pomaleji než bakterie, a proto s nimi mohou soutěžit jenom za podmínek, jež jsou pro bakterie nepříznivé (nízké pH, nízký oxidoredukční potenciál apod.). Z těchto důvodů se kvasinky uplatňují i při kažení kompotů, ovocných moštů a jiných ovocných výrobků, slazených limonád a slazených kyselých minerálních vod. Kontaminace cizími kvasinkami se negativně uplatňuje také v droždářství, kde nepříznivě ovlivňuje kvasné schopnosti a trvanlivost pekařského droždí, a v pivovarství a vinařství, kde může nepříznivě ovlivnit chuť výrobku. Negativně se uplatňují také patogenní kvasinky (hlavně *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, rody *Filogasidiella* a *Malassezia* a některé druhy rodu *Trichosporon*). Většinou způsobují vážná onemocnění pouze u oslabených jedinců nebo při poškození imunitního systému.[3]

Kvasinky sice nepatří k běžné střevní flóře, jsou však s to přežívat v zažívacím traktu po určitou dobu. Jakmile přestoupí např. vlivem diabetu jejich počet ve stolici či moči 1000 zárodků v 1 ml, mohou se stát příčinou systémových kandidóz, které postihnou většinu vnitřních orgánů.[33]

Nejznámější je *Candida albicans*, která způsobuje celou řadu potíží: nadýmání, vředy v žaludku, menstruační potíže a sterilitu u žen, u mužů problémy s prostatou, dále hormonální poruchy, srdeční potíže, migrény, špatnou paměť.[10]

3.2 Rod *Zygosaccharomyces*

Většinou rostou dobře i v půdách obsahující 50 % glukosu (jsou osmotolerantní), takže bývají příčinou kažení medu nebo čokoládových bonbonů a plněných vánočních figurek (zkvašování náplně a její prýštění). *Zygosaccharomyces rouxii* a *Zygosaccharomyces bailii* rostou velmi dobře i v prostředí obsahujícím 60 % glukosu. *Z. bailii* snáší i poměrně vysoké koncentrace ethanolu a SO₂ a je odolná i k ostatním konzervačním prostředkům. V poslední době je častým a obávaným kontaminantem ve vinařství (tvorba křísu v lahvovém víně).[3]

3.3 Rod *Pichia*

Rod *Pichia* patří mezi rody s nízkými kvasnými schopnostmi, neboť jeho druhy zkvašují buď jen glukosu, nebo nezkvašují žádný cukr. Vyskytují se jako kontaminace piva a vína, hlavně ve špatně uzavřených lahvích, kde tvoří kříš, tj. křehkou vzlínavou blanku na povrchu kapaliny.[3]

3.4 Rod *Geotrichum*

Rod *Geotrichum* má bohaté mycelium s artrosporami a bílé sametové až vatovité kolonie. Tvoří vlastně přechod mezi kvasinkami a plísněmi. Nemá kvasné schopnosti. Vyskytuje se jako častá kontaminace mléčných výrobků, hlavně tvarohu a jogurtu, droždí, kysaného zelí a tukových tkání masa, neboť obsahuje proteolytické a lipolytické enzymy.[3]

3.5 Kvasinky jako kontaminanty cukrárenských krémů

Kvasné schopnosti kvasinek jsou využívány v řadě oborů. V případě cukrárenských krémů a náplní však kvasinky hrají negativní úlohu. Často se pomnožují do vysokých koncentrací v různých ovocných, tukových či máslových krémech, zkvašují je a způsobují jejich senzorické a hygienické znehodnocení. Z kvasinek způsobujících znehodnocení krémů to jsou: *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida* sp., *Endomycopsis* sp.[2]

Zdrojem kvasinek v krémech je ovoce, zavařenina, máslo nebo jiný tuk, dále vzduch, kontaminované nádoby, náčiní či strojně technologické zařízení. Rychlost množení závisí na teplotě a době skladování krémů či výrobků s krémem.[2]

3.6 Možnosti ochrany cukrárenských výrobků před pomnožováním kvasinek

Do krémů lze přidávat různé fungistatické preparáty, např.: kyselinu sorbovou, sorbát draselný a antibiotikum pimaricin. Problém však není tak jednoduchý. Vzhledem k tomu, že cukrárenské výrobky běžně konzumují děti, nemají orgány hygienické služby zájem o aplikaci konzervačních látek do těchto výrobků.[2]

4 PLÍSNĚ

Hlavním rezervoárem plísní je půda, z níž se dostávají do vzduchu, na organický materiál převážně rostlinného původu, na exkrementy zvířat a průmyslové předměty uložené ve vlhku. Různá barviva konidií i endospor plísní chrání tyto buňky před nepříznivými účinky ultrafialové složky slunečního světla, a proto se plísně vyskytují jako velmi častá vzdušná kontaminace.[3]

Vzhledem k přísně aerobní povaze se mohou plísně rozmnožovat většinou pouze na povrchu napadeného materiálu. Přísně aerobní povaha spolu se širokým enzymovým vybavením umožňuje plísním napadat nejrozumnější organický materiál včetně kůže, tkanin, papíru, syntetických barviv, některých plastů apod. Protože mají schopnost využívat vzdušnou vlhkost a okludovanou vodu, napadají předměty, jež jsou ve vlhku uloženy. Proto je třeba veškerý materiál – ať už průmyslové přístroje nebo ochranný či izolační materiál – chránit ve vlhkém prostředí protiplísňovými přísadami nebo nátěry. Plísně jsou schopny se rozmnožovat také za poměrně nízké vodní aktivity prostředí, a proto přednostně napadají povrch džemů, marmelád, chleba i různého pečiva, případně i navlhle suroviny, jako mouku, skladované obilí, mák, sóju, arašíd, atd. Řada plísní může v napadených potravinách nebo jejich surovinách rozvíjet ještě při 15%ním obsahu vody, zatímco většina bakterií a kvasinek potřebuje pro svůj rozvoj alespoň 30 % vody. Proti těmto mikroorganismům mají plísně výhodu také v tom, že jsou schopny napadat i neporušená rostlinná pletiva (zeleniny, měkkého ovoce, skladovaného obilí, cukrovky), čímž otvírají cestu i bakteriálnímu rozkladu. Rozvoj plísní na vlhké mouce se projevuje zatuchlým pachem, který z napadeného materiálu již nelze odstranit. Schopnost rozmnožovat se i za velmi nízkého pH umožňuje plísním uplatnit se i tam, kde většina bakterií již není schopna metabolismu (kyselé ovoce, ovocné šťávy, džemy, marmelády). Některé plísně rostou i za velmi nízké teploty (dokonce i při $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$) a způsobují ztráty při dlouhodobém skladování potravin a jejich surovin i za chladu (maso, máslo, vejce). Uplatňují se zde hlavně proteolytické a lipolytické účinky. Plísně jsou ovšem vybaveny hlavně sacharolytickými enzymy, přičemž řada z nich je schopna využívat také škrob nebo celulosu.[3]

Většina plísní nepřežívá několikaminutové zahřívání na teplotu $70 - 75\text{ }^{\circ}\text{C}$. [3]

4.1 Některé rody plísní vyskytujících se na potravinách

4.1.1 *Penicillium expansum*

Plíseň *Penicillium expansum* je nejrozšířenější penicilium, které je hlavní příčinou ztrát při skladování ovoce (jablek, hrušek, hroznů, třešní). Je hlavním producentem mykotoxinu patulinu, který ohrožuje kvalitu jablečných moštů a jiných jablečných výrobků.[3]

4.1.2 Rod *Aspergillus*

Je to rod vyskytující se na nejrůznějším materiálu, neboť je velmi bohatě vybaven enzymy (amylolytickými, pektolytickými a proteolytickými). Některé druhy jsou vhodné pro průmyslovou přípravu těchto enzymů, jež se pak používají v potravinářském průmyslu (např. v pivovarství, v konzervárenství).[3]

Aspergillus glaucus

Je to askosporogenní druh, který je osmofilní. Je příčinou plesnivění džemů, chleba a jiných potravin o poměrně nízkém obsahu vody. Tvoří zelené konidie a sírově žlutá perithecia.[3]

4.1.3 Rod *Fusarium*

Rod *Fusarium* je velmi rozsáhlý a v přírodě velmi rozšířený. Způsobuje kažení jablek, rajčat, brambor aj. Napadené obilí některými fuzárii během vlhkého léta vede k velkým národohospodářským ztrátám, neboť pro přítomnost mykotoxinů nemůže být toto obilí použito ani pro krmné účely.[3]

4.1.4 Rod *Alternaria*

Vyskytuje se na rostlinách a jako vzdušná kontaminace v mlékárnách, mlékařských sklepích a na stěnách pivovarských místností. Ve skladištích zeleniny způsobuje hlavně skvrnitost košťálovin a černou hnilobu mrkve. Některé kmeny produkují mykotoxiny.[3]

4.1.5 Rod *Cladosporium*

Tento rod tvoří řetízky vícebuněčných spor, které však vznikají pučením. Vyskytuje se na stěnách potravinářských provozoven, ve vinařských a pivovarských sklepích, na chlazeném i mraženém mase a na chlazených vejcích. Často parazituje na rostlinách

(chmelu, máku, okurkách, rajčatech). U jablek působí čerň neboli melanózu, jež je znehodnocuje i jako materiál pro výrobu moštů. Rozkládá celulosu, pektiny a tuky.[3]

4.2 Plísně na obilí

Plísně kontaminující obiloviny jsou přítomny jednak na povrchu obilek (většinou v podobě spor), jednak uvnitř zrn (většinou v podobě mycelia). Je tedy třeba rozeznávat vnější a vnitřní mykoflóru obilí.[2]

4.2.1 Vnitřní mykoflóra

Tvoří ji parazitické, semiparazitické a saprofytické plísně, které bývají nejčastěji přítomny v epidermální vrstvě. Zatímco parazité aktivně prorůstají obilkou, saprofytické plísně se dostávají do obilky většinou při jejím mechanickém poškození. [2]

V epidermálních vrstvách a ostatních částech zrna se nejhojněji vyskytují plísně z rodu *Alternaria*, *Epicoccum*, v menší míře pak z rodu *Fusarium*, *Helminthosporium*, *Cladosporium*, *Curvalaria*, *Aspergillus*, *Penicillium* aj.[2]

4.2.2 Vnější mykoflóra

Povrch obilek je kontaminován relativně velkou populací spor plísní.[2]

5 VIRY

5.1 Virus infekční hepatitidy

Jedním z nejvážnějších a nejčtetnějších virových onemocnění, často přenášených potravinami, je infekční hepatitida – žloutenka. Postihuje nejčastěji děti předškolního a školního věku, ale i dospělé. Onemocnění má sezónní dominanci. Nejvyšší výskyt je v podzimních měsících. Virus je vylučován 2 – 3 týdny před vypuknutím vlastního onemocnění, a to stolicí a močí.[2]

Žloutenka patří do skupiny alimentárních onemocnění. Infekce se děje cestou orální. Přenáší se potravinami, infikovanou vodou apod. Při nedodržování osobní hygieny se může přenášet rukama na potraviny, předměty denní potřeby apod.[2]

Virus hepatitidy typu A se obvykle přenáší střevní cestou. Tyto viry se nacházejí ve stolici a jsou odtud přenášeny dále. Zdrojem jsou potraviny a voda, které byly kontaminovány kontaktem s infekčními výkaly, nebo může být virus přenášen díky nedostatečné osobní hygieně.[35]

Virus hepatitidy je velmi odolný, a proto se může udržet v povrchových vodách, přežívá ve stokách, ze stok a záchodů se může dostat do studniční vody a tudý přicházet jako zdroj kontaminace lidí.[2]

V mlékárnách je třeba přísně dodržovat teplotu sterilace či pasterace, v mrazírnách teplotu předepsanou pro zmrazování výrobků apod.[2]

Všechn personál pracující v potravinářském průmyslu musí dodržovat pečlivě osobní hygienu. Jde tedy zejména o důkladné mytí rukou po použití toalety a používání papírových ručníků.[2]

Virovou hepatitidu typu A způsobuje **virus hepatitidy A**, virovou hepatitidu typu B způsobuje **virus hepatitidy B** a hepatitida typu C je způsobena virem **hepatitidy C**. Ostatní virové hepatitidy jsou spíše exotické. Viry pronikají do těla charakteristickými cestami. Typ A cestuje ústy, typ B a C je přenosný pouze krví a pohlavním stykem.[34]

Virus hepatitidy typu A vniká do těla ústy, přenáší se jídlem a nejčastějším nosičem jsou proto naše ruce – nemoc špinavých rukou.[34]

6 HYGIENA V PROVOZU

6.1 Hygiena a sanitace provozních místností

Provozní místnosti a spojovací chodby musí být omítnuté, hladké, vybělené nebo světle vymalované.[14]

Místnosti, kde se suroviny, polotovary a hotové výrobky získávají, zpracovávají nebo uskladňují, musí být opatřeny omyvatelným obkladem nebo nátěrem. Pokud je to možné, tak se povrch stěn a stropů nečlení. Hrany mezi stěnami a podlahou se hladce zaoblují, aby byly snadno čistitelné. Stropy a stěny mají být tepelně izolovány a opatřeny protiplísňovou úpravou. Do nátěrových hmot se použijí antifungální prostředky. Stěny a stropy musí být vymalovány alespoň jedenkrát ročně a nesmí se na nich vyskytovat prach a plísně.[14]

Podlahy musí být rovné, hladké, snadno čistitelné a zabezpečené proti mechanickým a mikrobiálním vlivům. Podlahy, které je nutno splachovat, musí mít spád ve směru od spojovacích cest a pracovišť k výpustím. Všechny podlahové výpusti mají být jedenkrát denně propláchnuty vodou s detergentem, případně dezinfekčním roztokem. Podlahy provozních místností mají být myty jedenkrát denně, ve vícesměnném provozu po každé směně.[2]

Provozními místnostmi ani pomocnými prostory nesmí volně procházet odpadové potrubí. Veškeré instalace je nutno vést mimo provozní místnosti.[14]

Prahy a dolní části křídel dveří musí být v provozních místnostech a skladech opatřeny pobitím proti vnikání hlodavců.[14]

Přirozené větrání provozních prostor se zajišťuje potřebnou plochou otevíratelných oken, případně jiných větracích otvorů. Okna musí těsnit a musí mít tepelný odpor odpovídající druhu výroby a z vnitřní i vnější strany musí být dobře čistitelná.[2]

Okna i větrací otvory v provozních místnostech a skladech musí být opatřeny sítěmi proti vnikání hmyzu a ptactva.[2]

Provozní prostory mají být řádně osvětleny. Dále musí být vybaveny odpovídajícím zařízením a prostředky k mytí rukou s přívodem teplé a studené vody.[8]

Provozy musí mít oddělené vstupy pro příjem surovin a výdej výrobků a pro odvoz odpadků. Tyto vstupy musí být vybaveny zvýšenou krytou rampou a zařízením pro sanitaci příjmové a výdejové části provozu. V provozním prostoru musí být vyloučeno křížení

čistých a nečistých pochodů (např. surovin a odpadků s hotovými výrobky). Pro pracovníky musí být řešeny zvláštní vstupy odděleně od vstupů pro manipulaci se surovinami a výrobky.[2]

6.2 Hygiena a sanitace výrobního zařízení, nádobí a náčiní

Strojně technologické zařízení musí být instalováno tak, aby všechny jeho součásti byly snadno dostupné pro údržbu, opravy a sanitaci. Všechny strojně technologická zařízení se musí v pravidelných intervalech čistit a udržívat, podle povahy technologického procesu.[2]

Při zpracování hygienicky choulostivých surovin či polotovarů (vaječná melanž, náplně, tukové krémy), kdy hrozí pomnožení mikroorganismů, se zařízení čistí ihned po každém použití, nejdéle však po ukončení každé pracovní směny. Podle potřeby se provádí i dezinfekce. U surovin, které nepodléhají zkáze, se zařízení čistí jedenkrát týdně.[2]

Zpracované polotovary a výrobky by v podstatě neměly přicházet do styku s lidskýma rukama. Této zásadě napomáhá zavádění nejnovějších prvků technického rozvoje.[2]

Všechna tato strojně technologická zařízení, ale i nádobí a náčiní je třeba důkladně vyčistit, umýt a v některých případech i dezinfikovat. Zbytky těsta, mouky, náplní a tukových krémů, které ulpívají na jednotlivých částech strojně technologického zařízení, nádobí a náčiní, mohou být vhodným živným substrátem jak pro běžné mezofilní bakterie, kvasinky a plísňe, tak i pro mikroorganismy patogenní a toxigenní. Zbytky surovin, polotovarů a výrobků rovněž lákají hmyz a hlodavce. Proto má velký význam čištění a dezinfekce potravinářského zařízení.[2]

6.3 Výroba hygienicky nezávadných potravin

K přípravě hygienicky nezávadných výrobků musí sloužit [2]:

- a) hygienicky nezávadné suroviny,
- b) čisté výrobní zařízení,
- c) čistí a zdraví zaměstnanci.

V provozovnách je zapotřebí vytvořit takové podmínky, aby se zabránilo zkáze surovin a výrobků kontaminací nebo mechanickým znečištěním a přitom se tím neohrozilo zdraví spotřebitelů i samotných zaměstnanců. Při manipulaci se surovinami a výrobky je třeba dodržovat určité hygienické zásady.[2]

Pozornost je třeba věnovat obalovým materiálům, které přijdou do bezprostředního styku s hotovými výrobky. Tyto materiály je nutno skladovat ve zvláštních skladech obalového materiálu.[2]

Zvýšenou péčí je nutno věnovat zejména surovinám s krátkou garanční lhůtou (vejce, tvaroh, droždí, máslo apod.).[2]

6.4 Hygiena skladování a dopravy výrobků

Místnosti užívané ke skladování výrobků musí být čisté, suché a vzdušné, dobře větratelné, s vyhovujícím osvětlením, prosté plísní a cizích pachů. Sklady musí mít hladké stěny a stropy, podlahy bez spár a trhlin. Dveře do skladu musí být dobře utěsněné a ve spodní části oplechované proti vnikání hlodavců. Vchody do skladů musí být opatřeny rohožemi. Sklady musí být vybaveny teploměry a případně i vlhkoměry. Vnitřní zařízení skladu (police, regály apod.) má být zhotoveno z vhodného, dobře čistitelného a omyvatelného materiálu a udržováno v čistotě. Sklady výrobků se nejméně jedenkrát za rok bílí nátěrem s přísadou protiplísňového prostředku.[2]

6.5 Skladování výrobků

Obiloviny a mlýnské výrobky se v současné době skladují převážně v silových komorách. Jen malý podíl těchto výrobků se skladuje v papírových a jutových pytlicích, které se nesmějí klást na podlahu ani ke stěně, ale na zvýšenou podložku.

Chléb a pekárenské výrobky musí být, pokud se po vyjmutí z pece nechladí, uloženy k vychladnutí v čisté, větratelné místnosti s teplotou vzduchu nejvýše 20 °C. Výrobky se ukládají na přepravky a vozíky tak, aby nedošlo k jejich deformaci a znehodnocení.

Těstoviny se skladují v čistých, vzdušných místnostech s teplotou vzduchu do 20 °C a relativní vlhkostí do 65 %. Sklad nesmí být zamořen škůdci a hlodavci a nesmějí v něm být skladovány páchnoucí látky.[2]

Cukrárenské výrobky se po vyrobení okamžitě umístí v chladicích boxech a v co nejkratší době se vyexpedují do obchodní sítě.[2]

6.6 Doprava hotových výrobků

Výrobky musí být dopravovány tak, aby se za dopravy neznečistily, případně nezkazily. Musí být chráněny proti prachu a jinému znečištění či infekci. Koše a přepravky

s nebalenými výrobky musí být přikryty alespoň čistým balicím papírem. K dopravě chleba a pečiva je nutno použít krytý uzavřený dopravní prostředek.[2]

6.7 Osobní hygiena

Člověk pracující ve výrobě a distribuci potravin má zásadní význam z hlediska hygienického – jako možný původce infekce. Znalost zásad osobní hygieny a tomu odpovídající chování na pracovišti jsou důležitými předpoklady při výrobě potravin.[2]

Povinnost každého zaměstnance pracujícího přímo ve výrobě je podrobit se před nástupem do zaměstnání lékařské prohlídce. Musí vlastnit zdravotní průkaz a je povinen absolvovat kurs hygienického minima.[13]

Na pracovišti, ve styku s potravinami, polotovary a hotovými výrobky, jsou zaměstnanci povinni nosit vhodné pokrývky hlavy. Každý zaměstnanec musí mít čistý pracovní oděv, nehty na rukou musí být krátké, čisté a nenalakované. Prsteny a náramky se při práci nenosí. Na pracovišti platí zákaz kouření.[13]

Při každém přerušení práce, zejména po použití toalety, je třeba důkladně si umýt ruce mýdlem, případně použít tekutý dezinfekční prostředek. Pro důkladné umytí rukou je u umyvadla nainstalována bezdotyková baterie ať už s fotobuňkou nebo je umyvadlo vybaveno nožní pákou na spouštění vody. K utírání rukou mají sloužit papírové ručníky na jedno použití nebo elektrické vysoušeče rukou.[13]

I sebemenší hnisavý zánět či poranění rukou je třeba chránit vodotěsným obvazem nebo rukavicemi na jedno použití.[13]

6.7.1 Podmínky pro dodržování osobní hygieny ze strany zaměstnavatele

Šatny, umývárny a WC musí být oddělené pro muže a ženy a počet jednotlivých zařízení musí odpovídat počtu zaměstnanců.[2]

Umývárny a sprchy musí být izolovány tepelně a proti plísním a musí být opatřeny omyvatelným nátěrem nebo obkladem světlé barvy.[2]

Podlahy musí být vodotěsné, nekluzké, dobře omyvatelné, se spádem k výpustím, okna zdvojená, neprůhledná, opatřená sklopnými větracími křídly ovladatelnými z podlahy.

K umývání se instalují umyvadla nebo jiná vhodná umývací zařízení se směšovací baterií pro teplou a studenou vodu a samostatným odpadem. K dispozici musí být tekutá mýdla, případně dezinfekční roztok na ruce.[2]

Odpadové kanálky musí být kryty mřížkami a nesmějí být ucpány. Sprchy pro ženy se vybavují trvale instalovanými vysoušeči vlasů.[2]

Záchody se zřizují oddělené pro muže a ženy. Musí být se v každém podlaží, v němž jsou trvalá pracoviště. Rozmísťují se rovnoměrně, tak aby záchod nebyl od pracoviště vzdálen víc než 120 m, při ztíženém přístupu 75 m.[2]

Záchody se zřizují také u šaten a umývár. Mají být uklízeny a umývány denně a rovněž denně by měla být prováděna jejich dezinfekce.[2]

6.8 Čisticí prostředky

Základním požadavkem, který je nutno klást na čisticí prostředky, je schopnost odstranit všechny nečistoty, které se na čištěném předmětu či zařízení vyskytují. Dosahuje se toho rozpouštěním, chemickým rozkládáním a převážně mechanickým odstraňováním nečistot – k rozpouštění se používají extrémní posuny hodnot pH (působení zásad, kyselin), přísady smáčedel, která snižují povrchové napětí, a dále emulgační prostředky.[13]

6.9 Dezinfekce a dezinfekční prostředky

Dezinfekční prostředky jsou definované látky nebo jejich směsi, které ireverzibilně poškozují patogenní, resp. podmíněně patogenní mikroorganismy.[13]

Dezinfekční prostředky vhodné k použití v potravinářském průmyslu mají odpovídat těmto zásadám:[13]

- a) v používané koncentraci nesmějí být toxické pro člověka,
- b) mají působit rychle a pokud možno v nízké koncentraci,
- c) mají být bez pachu a bez chuti,
- d) mají být stálé,
- e) nemají mít korozivní účinky na ošetřované zařízení,
- f) mají se dobře rozpouštět ve vodě,
- g) mají být cenově dostupné.

7 ZÁVĚR

Největší podíl na vzniku onemocnění z potravin má *Salmonella* sp., hned za ní je mikrob *Campylobacter* sp., který má zvyšující tendenci v počtu výskytu onemocnění. Je jen otázkou času, kdy bude v čele bakterií, způsobujících onemocnění z potravin.

Patogenní kvasinky se vyskytují méně než bakterie, z důvodu jejich pomalého pomnožování, neschopností štěpit bílkoviny a jejich nízkou teplotní odolností. Avšak v potravinách, které nejsou pro bakterie vhodné, např. s vysokým obsahem cukrů se rozmnožují dobře.

Plísňe pro svou nenáročnost na živiny dokáží růst prakticky kdekoliv, kde je přístup vzduchu. Proto je třeba ve výrobním podniku přidávat do malířských barviv látky s fungicidními účinky. Rovněž je dobré vybavit výrobní podniky vzduchotechnikou s filtrací. Filtry se musí ale pravidelně měnit.

Proti vniknutí a rozšíření mikroorganismů je třeba pravidelně sanitovat místnosti výrobního podniku. K tomu slouží různé dezinfekční prostředky. Nestačí však jen dezinfekční čistota výroby, ale dezinfikovat se musí vše – výrobní zařízení, nádobí, náčiní, sociální zařízení, ale i sklady potravin a odpadní kanálky.

Jako nejlepší prostředek proti pomnožování patogenních mikroorganismů v hotových výrobcích je sterilace při teplotách nad 120 °C po dobu nutnou k usmrcení všech patogenních mikroorganismů.

Myslím si, že ani do budoucna nebude možné úplně vyloučit lidský faktor z prostředí prvovýroby. Zde jich bude i nadále potřeba. Např. u řezníků – daný kus dobytka se musí nejdříve usmrtit, což dnes už lze bez zásahu lidské ruky. Vyvrhnutí zvířete a naporcování na potřebnou velikost, se stále musí dít ručně. A právě v těchto provozech se budou muset klást přísné hygienické normy nejen na pracovní zařízení a náčiní, ale taky i na osoby – řezníky – manipulující s poraženým kusem.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] JIČÍNSKÁ, E., HAVLOVÁ, J., *Patogenní mikroorganismy v mléce a mlékárenských výrobcích*, Praha, ISBN 80-85120-47-X, 1995.
- [2] TICHÁ, J., *Mikroorganismy a jiní škůdci v mlýnskopekárenském průmyslu a ochrana proti nim*, Praha, 1988. ISBN 04-833-88.
- [3] ŠILHÁNKOVÁ, L., *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*, Praha, ISBN 80-200-1024-6, s. 294-313, 2002.
- [4] GREENWOOD, D., SLACK, R., PEUTHERER, J. F., *Lékařská mikrobiologie*, Praha, ISBN 80-7169-365-0, s. 182-345, 1999.
- [5] ČECHOVÁ, L., *Detekce atypických kmenů bakterií rodu Salmonella pomocí polymerázové řetězové reakce*, Diplomová práce, Masaryková univerzita, Brno, 2002.
- [6] BŘEZINOVÁ, K. *Výskyt termofilních Campylobacter sp. v potravním řetězci*, Atestační práce, Veterinární a farmaceutická univerzita, Brno, 2003.
- [7] GROSSMANN, M., *Mikrobiologie v hygieně speciální část*, Vyškov, ISBN 80-7231-037-2, s. 99-102, 1999.
- [8] ČSN 360046, *Umělé osvětlení v průmyslových závodech*.
- [9] MELBY, K., DAHL, O. P., CRISP, L., PENNER, J. L., *Clinical and Serological Manifestations in Patients During a Waterborne Epidemic due to Campylobacter jejuni*, J. Infect., s. 309-316, 1990.
- [10] WILSON, I. G., MOORE, J. E., *Presence of Salmonella spp. and Campylobacter spp. in Shellfish*, Epidemiol. Infect., s. 147-153, 1996.
- [11] ANDERSSON, Y., JONG, B. De, STUDAHL, A., *Waterborne Campylobacter in Sweden: The Cost of an Outbreak*, Wat. Sci. Tech., s. 11-14, 1997.
- [12] JACOBS-REITSMA, W., *Campylobacter in the Food Supply*, Asm Press, USA, Washington, 2000.

- [13] SMĚRNICE č. 46/1978 sb. *Hygienické předpisy o hygienických požadavcích na pracovní prostředí*, ve znění směrnice č. 66/1985 sb. *Hygienické předpisy a výnosu č. 77/1990 sb. Hygienické předpisy*, reg. částky 21/1978 Sb., 16/1985 Sb. a 9/1989 Sb.
- [14] SMĚRNICE Č. 5/1978 sb., *O hygienických podmínkách pro výstavbu průmyslových podniků*, v platném znění
- [15] LE MINOR, L., *The Genus Salmonella*, 2nd ed., Volume III. Springer-Verlag, New York, s 2760 – 2774, 1992.
- [16] KOMÁREK, L., *Antigenní formule sérovarů salmonel*, Příloha 3/1998, SZÚ, Praha, 1998.
- [17] THRELFALL, E. J., HAMPTON, M. D., RIDLEY, A. M., *Application of Molecular Methods to the Study of Infections Cause by Salmonella spp.*, In N. Woodford and A. P. Johnson (ed.), New Jersey, s. 355 – 368, 1998.
- [18] ROSICKÝ, B., SIL, W. a kol., *Salmonelózy*, 1. vydání, Scientia medica, 1994, Praha
- [19] OBDŘŽÁLEK, V., *Kultivace bakterií*, Praktikum – vyšetřovací metody, dotisk 1. vydání, s. 25 – 38, vydavatelství MU, Brno, 1992.
- [20] ČSN EN 12824 (560088), *Mikrobiologie potravin a krmiv – Horizontální metoda průkazu bakterií rodu Salmonella*, Český normalizační institut, Praha, 1999.
- [21] *Biomagnetic Techniques in Molecular Biology*, Information booklet, Dynal, Oslo, 1995.
- [22] GLICK, B. R., PASTERNAK, J. J., *Molecular Biotechnology: Principles and Applications of Recombinant DNA*, ASM Press, Washington, D. C., 1994.
- [23] SAMBROOK, J., FRITSCH, E. F., MANIATIS, T., *Molecular Cloning (I., II., III.)*, 2nd ed., Cold Spring Barbor Laboratory Press, New York, 1989.
- [24] WATSON, J. D., GILMAN, M., WITKOWSKI, J., ZOLLER, M., *The Polymerase Chain Reaction*, 2nd ed., Scientific American Books, W. H. Freeman and Company, New York, s. 79 – 86, 1992.
- [25] *Bacillus cereus* [online]. [cit. 2005-03-07]. Dostupný z WWW: <<http://sweb.cz/kolar-jiri/>>

- [26] Zdravotní ústav v Ostravě: *Kampylobakterová infekce* [online]. [cit. 2005-03-10]. Dostupný z WWW: <<http://www.zuova.cz/home/oldweb/aktualit/akt046.htm>>
- [27] Veterinářství: *výskyt termofilních druhů Campylobacter sp. u prasat a v prostředí porážek* [online]. [cit. 2005-03-10]. Dostupný z WWW: <<http://www.vetweb.cz/projekt/clanek.asp?pid=2&cid=1750>>
- [28] Státní zdravotnický ústav: *Mezinárodní epidemiologické šetření průjmového onemocnění dětí vyvolané kmenem Escherichia coli O157* [online]. [cit. 2005-03-12]. Dostupný z WWW: <<http://www.szu.cz/cem/zpravy/zpr0503/vtec.htm>>
- [29] Státní zemědělská a potravinářská inspekce: *Zvláště v létě pozor na rizikové potraviny* [online]. [cit. 2005-03-12]. Dostupný z WWW: <<http://www.szpi.gov.cz/cze/article.asp?id=55871&cat=2191&ts=7ec7>>
- [30] Státní zdravotnický ústav: *Gastroenteritida dětí vyvolaná kmeny Yersinia enterocolitica – Chicago, Illinois, USA* [online]. [cit. 2005-03-12]. Dostupný z WWW: <<http://www.szu.cz/cem/zpravy/zpr0204/gastro.htm>>
- [31] Biopstická laboratoř.: *Detekce mutace 3020insC a přítomnosti Y. enterocolitica a Yersinia pseudotuberculosis u pacientů s Crohnovou chorobou* [online]. [cit. 2005-03-12]. Dostupný z WWW: <<http://www.biopsticka.cz/sluzby/molekularni-genetika/diagnostika-Crohn.html>>
- [32] Zdravcentra: *Bacilární úplavice* [online]. [cit. 2005-03-26]. Dostupný z WWW: <https://www.zdravcentra.cz/?act=m-1&infekce_id=9>
- [33] Ordinance: *Plísňová onemocnění sliznic, kůže, nehtů a vlasů* [online]. [cit. 2005-04-07]. Dostupný z WWW: <<http://www.ordinace.cz/article.php?articleId=12968>>
- [34] Ordinance: *Hepatitida – nemoc s mnoha příznaky* [online]. [cit. 2005-05-04]. Dostupný z WWW: <<http://www.ordinace.cz/article.php?articleId=7601&full=1>>
- [35] Imunodiagnostické a biochemické laboratoře: *Laboratorní diagnostika hepatitidy* [online]. [cit. 2005-05-04]. Dostupný z WWW: <<http://www.imalab.cz/>>
- [36] Státní zdravotnický ústav: *Zdravot. důsledky zátěže lidského organismu cizorodými látkami z potravinových řetězců, dietární expozice* [online]. [cit. 2005-05-09]. Dostupný z WWW: <http://www.szu.cz/chzp/zprava03/souhrnna/kc04_07.htm>

-
- [37] FUKUSHIMA, H., TSUNOMORI, Y., SEKI, R., *Duplex Real-Time SYBR Green PCR Assays for Detection of 17 Species of Food- or Waterborne Pathogens in Stools*, J. Clin. Microbiol, s. 5134-5146, Japan, 2003
- [38] LAMPEL, K. A., ORLANDI, P. A., KORNEGAY, L., *Improved Template Preparation for PCR-Based Assays for Detection of Food-Borne Bacterial Pathogens*, Appl. Environ. Microbiol., s. 4539-4542, Washington, D. C., 2000
- [39] RIBEIRO, L. A., AZEVEDO, V., LE LOIR, Y., OLIVEIRA, S. C., DIEYE, Y., PIARD, J-C., GRUSS, A., LANGELLA, P., *Production and Targeting of the Brucella abortus Antigen L7/L12 in Lactococcus lactis: a First Step towards Food-Grade Live Vaccines against Brucellosis*, Appl. and Environ. Microbiol., s. 910-916, France, 2001

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

CFU	Kolonie tvořící jednotky
ČSN	Česká státní norma
DNA	Deoxyribonukleotidová kyselina
EHEC	Enterohaemorrhagická <i>Escherichia coli</i>
EIEC	Enteroinvazivní <i>Escherichia coli</i>
ELISA	Enzymová imunoanalýza
EPEC	Enteropatogenní <i>Escherichia coli</i>
ETEC	Enterotoxigenní <i>Escherichia coli</i>
MPN	Nejvíce pravděpodobný počet
NaCl	Chlorid sodný
PCR	Polymerázová řetězová reakce
SE	Stafylokokový enterotoxin
TSC	Tryptikázo – sójový agar s cykloserinem

SEZNAM TABULEK

Tab. 1. Rozdělení sérotypů salmonel na „subgenera“ (Kauffmannovo schéma)	15
Tab. 2. Přehled nejvýznamnějších patogenních bakterií, jejich zdroj a infekční dávka.....	32
Tab. 3. Nemocnost alimentárních onemocnění v letech 1994 – 2003 v České republice (počet případů / 100 000 obyvatel).....	32