

Univerzita Hradec Králové

Přírodovědecká fakulta

Katedra Biologie

Významné toxiny v potravinářství

Bakalářská práce

Autor:

Darina Picková

Vedoucí práce:

doc. RNDr. František Malíř, Ph.D.

Studijní program:

Biologie

Studijní obor:

Systematická biologie a ekologie

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma: *Významné toxiny v potravinářství* vypracovala samostatně s použitím uvedené literatury.

V Hradci Králové dne:

.....

Darina Picková

Poděkování:

Ráda bych poděkovala svému vedoucímu bakalářské práce doc. RNDr. Františku Malířovi, Ph.D., za odborné vedení a pomoc při vypracování této práce. Dále bych chtěla poděkovat panu Mgr. Jakobovi Tomanovi za ochotu a užitečné rady. Zvláštní poděkování patří mé sestře a mému příteli, kteří mi byli po celou dobu oporou.

Anotace

Bakalářská práce je zaměřena na významné toxické látky, které je možno nalézt v potravinách.

První část zahrnuje rozdělení toxikologie na jednotlivé disciplíny a dále vysvětluje problematiku organotropismu a toxikokinetiky. Na závěr této části je zmíněno několik preventivních rad, sdělujících, jak se vyvarovat nebezpečí kontaminace potravin bakteriemi či plísněmi a tím i vlastní nákaze.

Druhá část je věnována čtyřem významným mikroorganismům (bakterie - *Clostridium botulinum*, *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus* a plísně rodu *Aspergillus*). Je zaměřena především na kontaminaci potravin, toxicitu a dopad na lidské zdraví.

Třetí část se zmiňuje o detoxikaci organismu a protektivním významu vitamínu C.

Klíčová slova

botulotoxin, endotoxin, stafylokokový enterotoxin, aflatoxiny

Anotation

The bachelor thesis is focused on important toxic substances that can be found in foodstuff.

The first part includes the general classification of toxicology and the organotropism and the toxicokinetic are also explained here. The conclusion of this part introduces a few preventive pieces of advice telling how to avoid contamination of foodstuffs by bacterium and mould and thus also avoid own infection.

The second part focuses on four important microorganisms (bacterium *Clostridium botulinum*, *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus* and fungi of the genus *Aspergillus*). This part mainly deals with contamination of foodstuff, toxicity and the impact on human health.

The third part mentions detoxification and protective importance of vitamin C.

Key words

botulotoxin, endotoxin, staphylococcal enterotoxin, aflatoxins

Obsah

ÚVOD A CÍL PRÁCE.....	11
1 ÚVOD DO TOXIKOLOGIE.....	12
1.1 ORGANOTROPNÍ VLASTNOSTI TOXICKÝCH LÁTEK.....	12
1.2 TOXIKOKINETIKA.....	13
1.2.1 Absorpce.....	13
1.2.2 Distribuce.....	14
1.2.3 Biotransformace.....	14
1.2.4 Exkrece.....	16
1.3 MIKROBIÁLNÍ TOXIKOLOGIE.....	17
1.3.1 Bakterie.....	17
1.3.2 Plísně.....	17
1.3.3 Stravovací návyky člověka a prevence onemocnění.....	18
2 VÝZNAMNÉ PATOGENNÍ MIKROORGANISMY.....	20
2.1 CLOSTRIDIUM BOTULINUM.....	20
2.1.1 Botulotoxin (BTX).....	20
2.1.2 Botulismus.....	26
2.2 SALMONELLA ENTERICA.....	29
2.2.1 Endotoxin.....	31
2.2.2 Onemocnění (Břišní tyfus a salmonelóza).....	33
2.3 STAPHYLOCOCCUS AUREUS.....	35
2.3.1 Stafylokokový enterotoxin B.....	36
2.3.2 Stafylokoková enterotoxikóza.....	37
2.4 ASPERGILLUS.....	40
2.4.1 Aflatoxiny.....	41
2.4.2 Aflatoxikóza.....	46
3 DETOXIKACE ORGANISMU A PROTEKTIVNÍ VÝZNAM VITAMINU C.....	48
ZÁVĚR.....	50
POUŽITÁ LITERATURA.....	52

Seznam obrázků

Obr. 1 Struktura botulotoxinu	21
Obr. 2 Nervosvalový přenos bez působení BTX	24
Obr. 3 Působení BTX na nervosvalové ploténce	25
Obr. 4 Struktura endotoxinu (lipopolysacharidu)	32
Obr. 5 Molekulární struktura čtyř základních aflatoxinů	43
Obr. 6 Metabolizace AFB ₁	44
Obr. 7 Jednonukleotidový polymorfismus (SNP) – transverzní mutace C:G na T:A	44

Seznam tabulek

Tab. 1 Četnost botulismu v České republice v letech 2008-2015	26
Tab. 2 Počty sérovarů v jednotlivých subspeciích druhu <i>Salmonella enterica</i> a <i>Salmonella bongori</i>	30
Tab. 3 Četnost onemocnění Břišním tyfem a Salmonelózou v České republice v letech 2008-2015	33
Tab. 4 Systematické zařazení plísně rodu <i>Aspergillus</i>	41
Tab. 5 Porovnání hodnot LD ₅₀ při perorálním podání AFB ₁ dle zvířecího druhu	42
Tab. 6 Přehled charakteristik toxinů (*LD = letální dávka v µg při perorálním podání člověku o hmotnosti 70 kg)	51

Seznam zkratek

Acetyl-CoA	Acetylkoenzym A
AF	Aflatoxin
AFAR	Aflatoxin Adlehyde Reductase
AFB ₁ -N7-guanin	<i>trans</i> -8,9-dihydro-8-(N7-guanyl)-9-hydroxy-AFB ₁
AFB ₁ -SG adukt	8,9-dihydro-8-(S-glutathionyl)-9-hydroxy-AFB ₁
AFBO	<i>exo</i> -AFB ₁ -8,9-epoxid
AFL	Aflatoxikol
AFM ₁	Aflatoxin M ₁
AFP ₁	Aflatoxin P ₁
AFQ ₁	Aflatoxin Q ₁
Ach	Acetylcholin (neurotransmitter)
BTX	Botulotoxin
CA-MRSA	<i>Communiti acquired Methicillin Resistant Staphylococcus aureus</i> – typ MRSA s rezistencí získanou v komunitě
CDC	Centrum disease controle – americké centrum pro kontrolu nemocí
CNS	Centrální nervová soustava
CYP540	Cytochrom P540
DDD	Doporučená denní dávka
EFSA	Evropský úřad pro bezpečnost potravin (European Food Safety Authority)
EFTA	Evropské sdružení volného obchodu (European Free Trade Association)
EPIDAT	Epidemiologická databáze sloužící k hlášení výskytu infekčních onemocnění v České republice
FDA	Úřad pro kontrolu potravin a léčiv (Food and Drug Administration)
FIFO	First in – first out „první dovnitř – první ven“ - systém rotace zboží
GIT	Gastrointestinální trakt
GST	Glutathion S-transferáza
HA-MRSA	<i>Hospital acquired Methicillin Resistant Staphylococcus aureus</i> – typ MRSA s rezistencí získanou v nemocničním prostředí
i.m.	Intramuskulární = podání do svalu

i.p.	Intraperitoneální = podání do břišní dutiny
i.v.	Intravenózní = podání do žíly
IARC	Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny (International Agency for Research of Cancer)
ID	Inkubační doba
LD ₅₀	Střední letální dávka (lat. <i>dosis letalis media</i>) – dávka, která způsobí úhyn 50 % testovaných jedinců
MRSA	Meticilinu rezistentní <i>Staphylococcus aureus</i> (<i>Meticilin Resistant Staphylococcus Aureus</i>)
NSF	N-ethylmaleimi-de-sensitive fusion protein – kofaktor umožňující vazbu vSNARE a tSNARE
p.o.	Perorální (lat. <i>per os</i>) = ústní podání
p.r	Rektální (lat. <i>per rectum</i>) = podání konečníkem
RASFF	Evropský systém rychlého varování pro potraviny a krmiva (Rapid Alert System for Food and Feed)
s.c.	Subkutánní = podání pod kůži
s.l.	Sublingvální = podání pod jazyk
SE (SEB)	Stafylokový enterotoxin (typ B)
SNAP-25	Synaptosomal associated protein – 25 – protein na presynaptické membráně neuronu
SNP	Jednonukleotidový polymorfismus (Single Nucleotide Polymorphism)
SZÚ	Státní zdravotní ústav
TLC	Tenkovrstevná chromatografie (Thin Layer Chromatography)
tSNARE	Target termed soluble NFS-attachment protein receptors – komplex 2 proteinů (SNAP-25 a syntaxin) na presynaptické membráně neuronu
TSST-1	Toxin toxického šoku (Toxic Shock Syndrome Toxin-1)
VAMP	Vesicle associated membrane protein, též synaptobrevin – protein na membráně vezikul
VISA	<i>Vancomycin Intermediate Staphylococcus Aureus</i>
VRSA	Vankomycinu rezistentní <i>Staphylococcus aureus</i> (<i>Vankomycin Resistant Staphylococcus Aureus</i>)
vSNARE	Vesicle termed soluble NFS-attachment protein receptors – protein na membráně vezikul (VAMP)

Terminologický slovník

alimentární	potravinový, mající vztah k výživě (lat. <i>alimentum</i> – potrava, výživa)
anální fisura	řitní trhlina, trhlina v konečníku
antidotum	protilátka, protijed
blefarospasmus	opakující se křeč očních víček
diplopie	dvojité vidění
dystonie	opakované mimovolné stahování svalů
emetický	způsobující dávení či zvracení
enterotoxikóza	alimentární onemocnění způsobené enterotoxiny
enterotoxin	toxin působící na střevo a vyvolávající poruchu některých jeho funkcí
gastroenterický	týkající se žaludku (řec. <i>gaster</i>) a střeva (řec. <i>enteron</i>)
hemicefální křeč	křeč na jedné straně obličeje
hyperhidróza	nadměrné pocení
mydriáza	rozšíření zornice oka
nauzea	nevolnost, pocit na zvracení
orální	ústní
paréza	částečná ztráta hybnosti, neúplná obrna
pulmonální	plicní (lat. <i>pulmo</i>)
rektální	související s konečníkem (lat. <i>rectum</i>)
spasticita	stav zvýšeného svalového napětí
strabismus	šilhání
symptomy	příznaky
tachyarytmie	zrychlená a nepravidelná srdeční činnost
tenzní cefalea	bolesti hlavy
tortikolis	chorobné stočení hlavy k jedné straně krku
vezikuly	transportní váčky

Úvod a cíl práce

Lidský organismus je denně exponován toxinům neboli jedovatým látkám. Především potravou se do těla dostává značné množství látek, které zde mohou působit nepříznivě – toxicky. Toxicitu ovlivňuje řada faktorů, z nichž nejdůležitější je místo, trvání a četnost expozice a především dávka, kterou organismus přijme. Paracelsus vyslovil počátkem 16. století jednu z nejstarších definic jedu: *“Všechny látky jsou jedy, a závisí tak jen na dávce, kdy látka přestává být jedem a stává se léčivem.”* Na základě tohoto tvrzení lze usuzovat, že i relativně málo toxické látky mohou působit toxicky, jsou-li podány ve velkém množství. Naštěstí se lidský organismus mnohdy dokáže se spoustou xenobiotik vypořádat sám pomocí přirozených, životně důležitých a organismus zachovávajících, biotransformačních a exkretčních procesů. Někdy je však potřeba jeho uzdravení podpořit vhodnými antidoty či celkovou detoxikací organismu. Zvláště důležitá je prevence a obezřetnost před vším, co člověk konzumuje, dýchá a nanáší na kůži.

Cílem této práce je zpracovat rešerši o potravinářsky významných mikroorganismech (*Clostridium botulinum*, *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus* a plísních rodu *Aspergillus*) a jejich toxinech, způsobujících po požití různá, často velmi závažná, onemocnění. Práce je rozdělena do tří částí. První, *Úvod do toxikologie*, se zabývá obecnou problematikou toxikologie, zahrnující její rozdělení do jednotlivých disciplín, dále je řešen organotropismus, tj. schopnost působení xenobiotika na cílový orgán či orgánovou soustavu a toxikokinetika, popisující osud xenobiotika od absorpce přes distribuci a biotransformaci po jeho exkreci. Na závěr této kapitoly jsou vyjmenovány preventivní rady, sdělující, jak se vyvarovat kontaminaci potravin bakteriemi a plísněmi, a jak předejít vlastní nákaze. Druhá kapitola, *Významné patogenní mikroorganismy*, se věnuje již zmíněným mikroorganismům a jejich toxinům. Pohlížet na toxiny pouze negativně by bylo pošetilé, neboť některé mají i kladné uplatnění v klinických aplikacích, např. v léčbě svalových spasticit, viz případ BTX, nejtoxičtější látky představující hrozbu pro lidstvo, ovšem pod kosmetickým názvem botox získávající mnoho stoupenců. I přes občasné kladné využití je ale na toxiny pohlíženo jako na jedy mající nepříznivý vliv na organismus, což naznačuje i překlad řeckého „*toxikon*“ znamenající jedovatá látka. Poslední část, *Detoxikace organismu a protektivní význam vitamínu C*, se obecně věnuje vnitřní očistě lidského těla, a zvláště pak protektivnímu významu vitamínu C. Zvláště zajímavé jsou jeho účinky v kombinaci s vitamínem K₃, představující určitou vizi pro léčbu některých nádorových onemocnění.

1 Úvod do toxikologie

„*Toxikologie je samostatný vědní obor studující nepříznivé (toxické) účinky cizorodých chemických látek (xenobiotik) nebo jejich směsí na živé organismy*“ (Patočka, 2005). Samotný název toxikologie je odvozen od řeckého slova „*toxon*“ – šíp či „*toxikon*“ – látka, ve které řecká bohyně Hekaté namáčela hroty šípů (Pavliková *et al.*, 2008). Toxickými látkami a jejich organotropními vlastnostmi se podrobněji zabývá podkapitola 1.1. Toxikologie při studiu využívá další vědy, např. biologii, fyziologii, farmakologii, genetiku, chemii, ekologii a další, a proto ji lze označit jako interdisciplinární obor (Patočka, 2005).

Do toxikologie je řazeno několik disciplín, z nichž mezi nejdůležitější patří obecná toxikologie, jejíž součástí je toxikokinetika (podrobněji v podkapitole 1.2), klinická toxikologie, soudní (forenzní), průmyslová, vojenská, experimentální, toxikologie přírodních látek (toxinologie), léčiv a životního prostředí (Patočka, 2005). Specializovanějším oborem je tzv. mikrobiální toxikologie, která studuje toxiny produkované mikroorganismy (podrobněji v podkapitole 1.3).

1.1 Organotropní vlastnosti toxických látek

Schopnost přírodních toxických látek působit na daný orgán či více orgánů se v toxikologii označuje jako organotropismus. Toxiny se dělí podle působení na cílový orgán následovně (Hrdina *et al.*, 2004):

- **Cytotoxiny** - látky působící nepříznivě na buňky. Buňky jsou vlivem těchto toxinů poškozovány a ničeny.
- **Hemoraginy** – poškozují drobné cévy, čímž dochází k úniku krve do okolních tkání.
- **Hemotoxiny** - působí destruktivně na krevní buňky a způsobují tak jejich hemolýzu.
- **Hepatotoxiny** - poškozují funkci hepatocytů nebo celé jaterní tkáně. Takto působí např. alkohol či jiná rozpouštědla, některé druhy hub (*Amanita phalloides*), některé mykotoxiny (aflatoxiny) a další.
- **Myotoxiny** poškozují svalovou tkáň a způsobují její nekrózu. Takové účinky vykazují někteří jedovatí hadi a pavouci.
- **Nefrotoxiny** - způsobují poškození nefronů ledvin, které může skončit jejich selháním.
- **Nekrotoxiny** - způsobují nekrózu tkáňových buněk a jsou produkovány některými druhy stafylokoků.
- **Neurotoxiny** - způsobují poškození funkcí CNS.

1.2 Toxikokinetika

Toxikokinetika se zabývá osudem chemické látky v organismu od jejího průniku do organismu (absorpce, dále popsána v podkapitole 1.2.1), přes její rozdělení do jednotlivých tkání a buněk (distribuce, dále popsána v podkapitole 1.2.2), za současné chemické přeměny (biotransformace, dále popsána v podkapitole 1.2.3), až po její vyloučení (exkrece, dále popsána v podkapitole 1.2.4). V žádném případě se nezabývá toxickým účinkem chemické látky, ale pouze jejím průchodem tělem (Patočka, 2005).

1.2.1 Absorpce

Absorpce je děj, při kterém chemická látka z vnějšího prostředí proniká do organismu a následně do krevního řečiště. Tento proces se odehrává na místech zvaných „brány vstupu“, kterými jsou nejčastěji gastrointestinální trakt (GIT, podrobněji v podkapitole 1.2.1.1), plíce a kůže (Patočka, 2005). Nicméně může dojít k absorpci i z jiných míst např. z podkoží, pobřišnice nebo ze svalů, je-li chemická látka podána speciální cestou. Experimentátoři a lékaři často rozlišují enterální a parenterální podávání léků a jiných xenobiotik. Enterální podávání zahrnuje všechny cesty týkající se zažívacího traktu (s.l., p.o., p.r.), zatímco parenterální podávání zahrnuje všechny ostatní cesty (i.v., i.p., i.m., s.c.), kdy se jedná o injekční podání. Neexistují žádné specifické systémy či cesty pro absorpci toxických látek. Xenobiotika, stejně jako kyslík a různé živiny, tj. běžné biologicko-aktivní látky, pronikají membránami při absorpci stejnými procesy (Klaassen, 2007).

1.2.1.1 Absorpce gastrointestinálním traktem (GIT)

Průnik toxické látky do GIT je způsoben jejím předchozím perorálním podáním. U běžné populace jde o nejčastější způsob přívodu do organismu. Absorpce může nastat v kterékoliv části GIT (od dutiny ústní až po konečník) v závislosti na povaze látky, přičemž největší podíl má tenké střevo díky své velké absorpční ploše a bohatému prokrvení (Hrdina *et al.*, 2004). Absorpce látek z GIT je ovlivněna řadou faktorů - především rozpustností ve vodě (hydrofilicita), rozpustností v tucích (hydrofobocita) a tomu odpovídajícímu rozdělovacímu koeficientu a pH. Dále je vstřebání závislé na velikosti částic a způsobu jejich metabolizace. Funkční stav GIT je též důležitým faktorem podílejícím se především na rychlosti a velikosti absorpce chemické látky svou motilitou a rychlostí vyprazdňování žaludku (Patočka, 2005).

Látky nevstřebané ze zažívacího traktu nemají žádnou systémovou toxicitu. Tento fakt umožňuje využití barya jako rentgenové kontrastní látky pro zobrazení GIT, i přes jeho toxicitu. GIT tak může být přirovnán k trubce, která prochází tělem. I když se nachází v těle, jeho obsah lze vzhledem k tělu považovat za vnější (Philp, 2001). To je důvod, proč toxická látka

s žíravými a dráždivými účinky v zažívacím traktu nevykazuje systémovou toxicitu, dokud se nevstřebá (Klaassen, 2007).

1.2.2 Distribuce

Distribucí se rozumí rozdělení či roznesení chemické látky, již přítomné v krvi, do jednotlivých buněk, tkání a orgánů organismu. Jedná se o dynamický proces, který je možné sledovat po označení vhodným markerem (Patočka, 2005). Distribuce je ovlivněna řadou faktorů, především velikostí rozdělovacího koeficientu, který udává, v jakém poměru se látka rozdělí mezi organickou a vodní fázi, čímž určuje, do jaké míry se bude látka ukládat v tělesném tuku, ve kterém může zůstat po delší dobu. Látky lipofilní povahy se mohou z tělesného tuku znovu uvolňovat v období jeho odbourávání, a to především v době hladovění, při extrémních dietách, v důsledku nemoci či v době kojení, kdy jsou lipidy převedeny do mléka. Uvolněné látky mohou v cílových místech dosáhnout koncentrace, která vyvolá toxickou reakci. Rychlost distribuce je také závislá na rychlosti průtoku krve přes jednotlivé tkáně. Bohatě prokrvené orgány budou kumulovat toxické látky jako první, kdežto málo prokrvené orgány jako poslední. Látka je tedy distribuovaná nejprve na základě prokrvení tkání a poté na základě své rozpustnosti (Philp, 2001).

Místo kumulace toxických látek (srdce, játra, ledviny, mozek, tuková tkáň) nemusí být vždy cílovým místem toxického účinku. Nicméně Klaassen (2007) uvádí, že játra a ledviny koncentrují více chemických látek než všechny ostatní orgány dohromady. Některé orgány často slouží jako depa (nádržky) pro toxické látky, z nichž jsou postupně uvolňovány, a to i v době, kdy již organismus není chemické látce exponován (Patočka, 2005). Příkladem takového depa může být tuková tkáň, ve které se hromadí toxické látky lipofilního charakteru. Jelikož většina toxinů má lipofilní charakter, koncentruje se v tělesném tuku, přičemž u štíhlých jedinců bude toxicita vzhledem k vyšší koncentraci lipofilních toxinů závažnější než u jedinců obézních (Hrdina *et al.*, 2004; Klaassen, 2007).

1.2.3 Biotransformace

Biotransformace zahrnuje biochemické, obvykle enzymatické procesy, při kterých je chemická látka přeměněna na jinou chemickou sloučeninu. Děje se tak v biotransformačních orgánech, z nichž nejdůležitější jsou plíce, ledviny a hlavně játra, ve kterých probíhá přeměna většiny chemických látek. Některá xenobiotika biotransformaci nepodléhají vůbec a jsou vylučována ve stejné formě, v jaké se do organismu dostala. Většina látek je však přeměněna a vyloučena jako odpadní metabolit (Patočka, 2005).

Biotransformaci lze rozlišit na dvě fáze označené jako fáze I (detailněji popsána v podkapitole 1.2.3.1) a fáze II (detailněji popsána v podkapitole 1.2.3.2). Celý proces je ovlivněn řadou faktorů, z nichž nejdůležitější jsou vlastnosti xenobiotika a organismu, enzymová indukce a enzymová inhibice (Hrdina *et al.*, 2004). V oblasti endoplazmatického retikula se nacházejí enzymové systémy, které řídí procesy biotransformace. Enzymy podílející se na fázi I jsou lokalizovány v mikrozomech, kdežto enzymy fáze II v cytosolu. Enzymová výbava se může lišit nejen mezi jednotlivými druhy živočichů, ale i v rámci jednoho druhu, což má za následek odlišný způsob metabolizace téže látky. Na rozdílnou enzymatickou výbavu může mít vliv nejen pohlaví a věk jedince, ale také tzv. geneticky podmíněný polymorfismus, který může ovlivnit rychlost i způsob metabolismu, což způsobí odlišnou citlivost jedinců k téže látce (Patočka, 2005).

1.2.3.1 I. fáze biotransformace

Fáze I zahrnuje oxidační, redukční a hydrolytické reakce, jenž jsou zajišťovány dvěma enzymovými systémy, vnášejícími do molekuly substrátu hydroxylovou skupinu. Tyto systémy jsou označeny jako cytochrom P-450 (Hrdina *et al.*, 2004).

Výsledkem je obvykle méně lipofilní látka se sníženou až úplně potlačenou toxicitou, která je díky své větší rozpustnosti ve vodě snadněji exkretována z organismu – většinou činností ledvin. Pokud dojde ke snížení toxicity dané látky, mluvíme o tzv. detoxikaci. Existují však i opačné případy, při kterých je výsledkem toxičtější látka, než látka původní – např. u karcinogenů. V takovém případě mluvíme o tzv. bioaktivaci, toxikaci či letální syntéze nebo biotransformaci (Hrdina *et al.*, 2004; Patočka, 2005). Na fázi I někdy navazuje fáze II.

1.2.3.2 II. fáze biotransformace

Reakce fáze II jsou konjugační (syntetické) a pro jejich průběh je nutné dodat energii. Dle Knejzlík *et al.* (2000) je též důležitá přítomnost vhodné skupiny reagující s konjugačním činidlem, která je v xenobiotiku již obsažena, anebo se vytvoří ve fázi I. Xenobiotikum nebo jeho metabolity jsou spojovány s endogenními látkami za vzniku nových chemických sloučenin tzv. konjugátů, které jsou obvykle rozpustnější ve vodě a mohou být následně exkretovány z organismu (Patočka, 2005).

1.2.4 Exkrece

Exkrece je proces, při kterém jsou chemické látky vylučovány z organismu. Nejdůležitější roli při vylučování toxinů mají ledviny umožňující exkreci močí, která je dále popsána v podkapitole 1.2.4.1. Neméně významné formy exkrece se dějí stolicí a žlučí. Ty jsou podrobněji popsány v podkapitole 1.2.4.2. Dle Hrdina *et al.* (2004) jsou méně významné exkrece plícemi, potem, slzami a mateřským mlékem, které dle Štefan *et al.* (2012) představuje pro novorozence vzhledem k jeho hmotnosti a odolnosti větší riziko než pro matku. Dále mohou být látky vylučovány slinami, spermatem či do žaludku (Štefan *et al.*, 2012).

1.2.4.1 Exkrece močí

Nejdůležitějším exkrečním orgánem jsou ledviny. Obecně platí, že vylučování ve vodě rozpustných sloučenin o malé molekulové hmotnosti (<350 Da) se realizuje hlavně močí prostřednictvím tzv. glomerulární filtrace krve. Glomerulární kapiláry mají velké póry (asi 70 nm), které filtrují sloučeniny s molekulovou hmotností do 60 kDa (menší než albumin), takže toxické látky vázané na plazmatické proteiny filtrovány nejsou (Hrdina *et al.*, 2004; Klaassen, 2007).

1.2.4.2 Exkrece stolicí a žlučí

Exkrece stolicí je podmíněna vazbou neabsorbovaných toxických látek na nestrávené složky potravy. Dalším možným mechanismem je vylučování toxinů žlučí, která je odváděna z jater, kde se vlivem intenzivního metabolismu kumulují toxické látky a jejich metabolity. Žluč je vylučovaná do stolice, která je pak exkretována (Patočka, 2005). Toxické látky přivedené žlučí do tenkého střeva mohou být opět vstřebány do krevního řečiště (Philp, 2001).

1.2.4.3 Ostatní způsoby exkrece

Exkrece plícemi se podobně jako absorpce týká zejména plynů, par a těkavých látek, včetně rozpouštědel, alkoholu a plyných anestetik. Ty mohou být cítit z dechu, což může být důležité při podávání první pomoci pro určení příčiny v bezvědomí či strnulosti (Philp, 2001). Dle Hrdina *et al.* (2004) exkrece toxinů plícemi nepřichází takřka v úvahu. Exkrece toxinů do mateřského mléka má význam především pro kojence. Mléko obsahuje přibližně 4 % tuku, takže se v něm mohou kumulovat lipofilní toxické látky. Exkrece potem, slinami a slzami je z kvantitativního hlediska téměř bezvýznamná. Philp (2001) uvádí, že vlivem exkrece potem může vzniknout tzv. chlorakné spojované s dnes již zastaralými bromidovými sedativy.

1.3 Mikrobiální toxikologie

„Mikrobiální toxikologie pojednává o toxinech čili jedovatých produktech vytvářených různými mikroorganismy, zejména bakteriemi a plísněmi“ (Klaban, 2005). Toxiny jsou extrémně jedovaté cytotoxické látky bílkovinné povahy produkované živými organismy, mezi které mohou patřit bakterie (popsané v podkapitole 1.3.1), houby (popsané v podkapitole 1.3.2), rostliny, živočichové, sinice a řasy. Jejich toxiny lze též označit jako biotoxiny neboli toxiny přírodního původu. Pomocí endocytózy vstupují do živočišných buněk, kde se aktivují a působí nepříznivě – toxicky a způsobují onemocnění tzv. toxikózy (Hrdina *et al.*, 2004). Problematikou expozice člověka toxinům se podrobněji zabývá podkapitola 1.3.3, kde jsou též zmíněny preventivní rady, sdělující, jak se vyvarovat nebezpečí kontaminace potravin bakteriemi či plísněmi a tím i vlastní nákaze.

1.3.1 Bakterie

Bakterie jsou jednobuněčné prokaryotní organismy vyskytující se prakticky ve všech typech prostředí (Rosypal, 2003). Špelina (2007) uvádí, že se bakterie dělí na prospěšné tzv. probiotické – tj. takové, které se využívají pro výrobu zakysaných mléčných výrobků, pečiva, vína, piva a dalších potravin, a patogenní, které mohou vyvolat onemocnění přímým působením či prostřednictvím produkovaných toxinů (Sedláček, 2006).

Bakterie se mohou přenášet vzdušnou cestou, ze zvířat, z půdy, pohlavním stykem a alimentární cestou (Rosypal, 2003). Šrámová *et al.* (2005) uvádějí, že alimentární otravy jsou nepřenositelné z člověka na člověka a dle Sedláček (2006) lze obvykle léčit antibiotiky.

Jsou známy dvě skupiny bakteriálních toxinů: toxické bakteriální proteiny a toxické lipopolysacharidy. První uvedené se uvolňují z bakteriální buňky, a proto jsou označovány jako exotoxiny, kdežto toxické lipopolysacharidy jsou vázány na povrch gramnegativních bakterií a jsou označovány jako endotoxiny, přičemž toxicita exotoxinů je podstatně vyšší než toxicita endotoxinů (Hrdina *et al.*, 2004).

1.3.2 Plísně

Termín plíseň je nevědecké označení pro skupinu mikroskopických vláknitých hub tvořících barevné porosty - podhoubí (mycelia) - na různých substrátech (Klánová, 2013).

Nejdůležitějším faktorem ovlivňujícím růst plísní je vlhkost prostředí a substrátu, což je značně ovlivněno jeho teplotou a okolním vzduchem, přičemž optimální teplota je v rozmezí 18-28 °C a teploty nad 70 °C už působí likvidačně. Plísně patogenní pro člověka obvykle preferují teplotu kolem 37 °C, což odpovídá teplotě lidského těla. Růst plísní je ovlivňován jak množstvím živin v substrátu, tak i dalšími faktory, kterými jsou např. kyslík a pH substrátu.

Optimální pH je mírně kyselé až neutrální. Z toho důvodu mohou plísně růst na ovocných produktech (Klánová, 2013).

Některé vláknité houby produkují houbové jedy tzv. mykotoxiny - z řeckého „mykes“ = houba a „toxicum“ = jed (Suchý & Herzig, 2005), které jsou uvolňovány z houbového vlákna a kontaminují substrát (potraviny, krmivo), ve kterém houbový organismus později nemusí být vůbec prokázán. Uvádí se, že mykotoxiny vykazují relativně nízkou akutní toxicitu. Oproti tomu se chronická toxicita projevuje daleko závažněji, a to teratogenitou, karcinogenitou a estrogenní či imunosupresivní aktivitou (Hrdina *et al.*, 2004). V současnosti je identifikováno více než 400 mykotoxinů (Etzel, 2002), z toho v lidském okolí se ve významných množstvích vyskytuje přibližně 20 mykotoxinů (Malír & Ostrý, 2003). Šimůnek (2004) odhaduje mykotoxinů na 500, avšak zároveň tvrdí, že přesný počet není znám, neboť neustále dochází k objevu nových mykotoxinů a zároveň i k jejich zániku v důsledku pozdějšího ztotožnění s již objevenými typy. Dle Šimůnek (2004) je též často problematické odlišit mykotoxin od jeho metabolitů, které nemusí být za samostatné mykotoxiny považovány.

Stejně jako bakterie, tak i některé plísně mohou být člověku prospěšné. Využití nacházejí především ve farmaceutickém průmyslu pro výrobu antibiotik a v potravinářském průmyslu pro výrobu plísňových sýrů a dalších produktů.

1.3.3 Stravovací návyky člověka a prevence onemocnění

V paleolitu a neolitu předkové konzumovali odlišnou stravu. Jejich potrava byla spíše syrová, zatímco potrava dnešního člověka je často tepelně upravovaná a chemicky konzervovaná. Předkové v těchto dobách uchovávali potraviny převážně v půdě, a konzumovali tak desetkrát více bakterií a plísní. Vlivem toho měla jejich střevní mikroflóra a zároveň i střevní sliznice odlišnou kvalitu, než má dnešní člověk. Předci díky trvalému kontaktu s přírodou získali značnou odolnost. Pozdější odlišný způsob života, především změna styku s přírodou, měl za následek změnu střevní mikroflóry a kvality střevní sliznice, s čímž je spojen pokles imunity a následný výskyt civilizačních chorob (Truhlářová, 2015).

Onemocnění z potravin je častou příčinou intoxikace organismu nejen v rozvojových zemích, ale i v těch vyspělých, a to i přes veškerá hygienická a technologická opatření (Špelina, 2007). Hrnčířová & Rambousková (2007) rozlišují tzv. primární nákazu způsobenou kontaminací surovin používaných k přípravě pokrmů a tzv. sekundární nákazu způsobenou přenesením choroboplodných zárodků při zpracování, skladování či distribuci potraviny. Na podmínkách umožňujících vznik onemocnění se tedy podílí i sami spotřebitelé. Většinu onemocnění je přitom možné zabránit, jsou-li dodržovány jisté zásady. Ve vztahu k možné

kontaminaci potravin patogenními bakteriemi či plísněmi je dále uvedeno sedm zásad pro ochranu zdraví a eliminaci některých nesprávných návyků.

- 1. Plesnivé potraviny nekonzumujeme** a v žádném případě nevykrajujeme plesnivý povlak. Plesnivé potraviny též nedáváme domácím či hospodářským zvířatům, neboť hrozí kontaminace živočišných produktů (Ostrý, 2003).
- 2. Vždy dodržujeme datum spotřeby**, protože po jeho uplynutí se snižuje nutriční hodnota produktu, který je tak znehodnocen (Lamberský, 2014).
- 3. Dodržujeme pravidlo „FIFO“** tedy systém rotace zboží. Pravidlo říká, že dříve zakoupené potraviny také dříve spotřebujeme (Hozáková & Opatová, 2001; Lamberský, 2014).
- 4. Udržujeme čistotu a hygienické zásady.** Pravidelně provádíme očistu ledničky a spíže. Potraviny a kuchyňské prostory chráníme před škůdci (Ostrý, 2003).
- 5. Oddělujeme syrové potraviny od tepelně upravených.** Surové potraviny mohou obsahovat bakterie, zvláště patogenní, které se při nesprávném zacházení mohou přenést na potraviny, které jsme tepelnou úpravou bakterií již zbavili či na potraviny, které konzumujeme v syrovém stavu (Lamberský, 2014; Špelina, 2007).
- 6. Pokrmy důkladně vaříme.** Minimálním požadavkem je působení teploty 75 °C, a to i uvnitř pokrmu, po dobu 5 minut, nebo 70 °C po dobu 10 minut (Špelina, 2007).
- 7. Potraviny uchováváme při nízkých teplotách nejlépe při teplotě do 4 °C.** Rychle se kazící potraviny zchladíme nebo dáme zmrazit nejlépe do 2 hodin od nákupu nebo přípravy pokrmu (Špelina, 2007).

Výše uvedené zásady jsou preventivní a slouží především pro jednotlivce v domácnostech. K zajištění zdravotní nezávadnosti potravin a krmiv v celosvětovém měřítku přispívá především propracovaná legislativa a spolupráce jednotlivých členských států. Jedním z klíčových nástrojů umožňujícím rychle reagovat na rizika týkající se potravin a krmiv je tzv. Evropský systém rychlého varování pro potraviny a krmiva - RASFF. Tento systém slouží k rychlému sdílení informací mezi členy systému: Evropskou komisí, členskými státy EU, EFTA (Island, Lichtenštejnsko a Norsko) a EFSA. V každém členském státě a Evropské komisi je kontaktní místo, ve kterém probíhá výměna informací o nebezpečných potravinách a krmivech. Má-li některý členský stát informaci o závažném zdravotním riziku, musí prostřednictvím RASFF kontaktovat Evropskou komisi, která zhodnotí příchozí hlášení a následně ho předá všem ostatním členům RASFF. Národním kontaktním místem v RASFF je Státní zemědělská a potravinářská inspekce, která soustřeďuje informace ze všech dozorových orgánů v České republice (Anonymous, 2015).

2 Významné patogenní mikroorganismy

Kapitola pojednává o čtyřech významných patogenních mikroorganismech, což jsou organismy schopné vyvolat onemocnění. Jako první je uveden bakteriální zástupce *Clostridium botulinum* (viz podkapitola 2.1), který je známý pro svůj široce využitelný toxin zvaný botulotoxin způsobující onemocnění botulismus. Dalším bakteriálním zástupcem je *Salmonella enterica*, o níž a jejím endotoxinu způsobujícím onemocnění břišní tyfus a salmonelózu pojednává podkapitola 2.2. Posledním bakteriálním zástupcem je *Staphylococcus aureus* (popsán v podkapitole 2.3) způsobující svými enterotoxiny stafylokokové enterotoxikózy. V závěru této kapitoly jsou popsány plísně rodu *Aspergillus* (viz podkapitola 2.4) produkující aflatoxiny způsobující akutní či chronické aflatoxikózy.

2.1 *Clostridium botulinum*

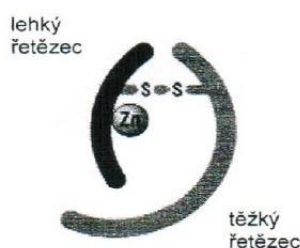
Clostridium botulinum je sporulující gampozitivní anaerobní tyčinkovitá bakterie o velikosti 5 až 8 µm běžně se vyskytující v přírodě, zejména v trávicím ústrojí zvířat, odkud je výkaly vyloučena do půdy, kde její spory mohou přežívat desítky let (Hrdina *et al.*, 2004; Patočka & Strunecká, 2011). Tento bakteriální původce botulismu (botulismus detailněji popsán v podkapitole 2.1.2) byl poprvé izolován v roce 1897 Pierre Marie van Ermengem, žákem Roberta Kocha. Již v roce 1920 byla provedena izolace čistého BTX (BTX detailněji popsán v podkapitole 2.1.1) Hermanem Sommerem a v roce 1949 se pak Burgen zasloužil o objasnění mechanismu jeho působení blokadou nervosvalové ploténky (Krhut, 2006).

2.1.1 Botulotoxin (BTX)

Krhut (2006) uvádí BTX jako nejtoxičtější látku, kterou lidstvo zná. Jedná se o skupinu antigeně odlišných neurotoxinů A – G, přičemž pro člověka a ostatní savce jsou nebezpečné typy A, B, E, zřídka F nebo G (Krhut, 2006; Sobel, 2005). Typy C a D jsou patogenní pouze pro zvířata (Hrdina *et al.*, 2004), přičemž Krhut (2006) tyto sérotypy řadí k tzv. ptačím patogenům. V současnosti je tomuto toxinu věnována velká pozornost odborné lékařské veřejnosti, neboť i přes obávanou toxicitu nalézá uplatnění v různých klinických aplikacích např. v léčbě svalových spasticit, hyperhidrózy, blefarospasmů, hyperaktivního měchýře, syndromu pánevní bolesti, tenzní cefaley, migrény či análních fisur a vaginismu. Pro svůj stále se zvyšující počet použití se BTX přezdívá jako penicilin 21. století (Krhut, 2006). Lidově je však známý jako „klobásový jed“ díky své přítomnosti v nedostatečně sterilizovaných masových, zeleninových a ovocných konzervách (Hrdina *et al.*, 2004). Nedávný případ o výskytu BTX v cizrnové rostlinné pomazánce slovenské značky Lunter byl dne 12. 8. 2015

ohlášen inspekci od dozorového orgánu prostřednictvím výše uvedeného systému RASFF. Případ si na Slovensku vyžádal za obět' 43letého muže, jenž po konzumaci pomazánky skončil v kómatu. Muž pociťoval nevolnost s následnou diplopií, závratěmi a nejistou chůzí. Nález bakterie byl potvrzen (Vilček, 2015).

Klostridiální neurotoxiny, mezi které BTX patří, jsou řazeny mezi tzv. AB toxiny, neboť jejich struktura (viz Obr. 1) zahrnuje 2 různě dlouhé proteinové řetězce – tzv. lehký řetězec (L-chain), označován také jako farmakodynamická jednotka představující doménu A s molekulovou hmotností 50 000 Da a těžký řetězec (H-chain), neboli farmakokinetická jednotka, představující doménu B o dvojnásobné molekulové hmotnosti 100 000 Da (Karalewitz & Barbieri, 2012; Krhut, 2006). Zatímco Hrdina *et al.* (2004) popisují H-chain jako nositele toxického účinku a L-chain jako zprostředkovatele vazby na specifické proteiny v presynaptické membráně, Krhut (2006) uvádí, že H-chain zajišťuje navigaci a taxi a L-chain slouží k penetraci přes membrány k cílovým strukturám. Je zřejmé, že aktivita toxinu je podmíněná vazbou H-chain a L-chain jako celku. Oba řetězce jsou produkovány odděleně, avšak působením klostridiových proteáz jsou později spojeny ne příliš stabilními disulfidickými vazbami, které je možno rozrušit např. vlivem vysokého pH či vysokých teplot (Krhut, 2006). Jedná se tedy o termolabilní toxin, který lze rozložit desetiminutovým varem (Hrdina *et al.*, 2004), oproti tomu Ting & Freiman (2004) uvádějí, že lze toxin zničit zahříváním na 80 °C po dobu alespoň jedné minuty - dle Woods *et al.* (2005) do 30 minut, či podle Sobel (2005) zahříváním na 85 °C po dobu 5 minut. BTX je také snadno denaturován v podmínkách okolního prostředí – např. UV zářením během 1-3 hodin a na vzduchu během 12 hodin (Woods *et al.*, 2005). Narušením vazby se stává toxin neaktivní, a BTX tak ztrácí svou toxicitu.



Obr. 1 Struktura botulotoxinu

2.1.1.1 Historické využití BTX

Historie BTX je díky jeho všestrannosti pestrá, neboť jednou se o něm hovoří jako o populárním kosmetickém přípravku a jindy jako o léčivu, potravinářském jedu či dokonce biologické zbrani. V současnosti je BTX považován za jednu z nejobávanějších potenciálních biologických zbraní, přičemž pro člověka největší hrozbu představuje BTX A s hodnotou LD₅₀ 1 ng/kg (Hrdina *et al.*, 2004).

První pokusy vyvinout biologické a chemické zbraně začaly v Německu během První světové války, avšak neúspěšně. Teprve s nástupem Druhé světové války Američané vymysleli strategický, avšak neuskutečněný plán s užitím malých dávek BTX skrytého v želatinových kapslích (Ting & Freiman, 2004). Obrovské množství BTX bylo vyrobeno v prosinci roku 1990, kdy Iráčané připravili 19 000 litrů BTX pro naplnění zbraní, jež byly nasazeny ve válce v Perském zálivu v roce 1991 (Dembek & Alves, 2011). Dle Arnon *et al.* (2001) takové množství zhruba 3x převyšuje množství potřebné k zabití všech lidí na světě.

Také na našem území, v Praze, byly údajně použity biologické zbraně proti nacistickému pohlavárovi Reinhardu Heydrichovi, kdy dne 27. 5. 1942 dva parašutisté Josef Gabčík a Jan Kubiš použili speciálně vyrobený granát s BTX. Heydrich byl poraněn úlomky tohoto granátu, což nemuselo být „*a priori*“ smrtelné. Dne 4. 6. 1942 však umírá s příznaky svědčícími o otravě BTX (Hrdina *et al.*, 2004). Ring & Freiman (2004) a de Carvalho (2014) řadí BTX mezi nejjedovatější přírodní neurotoxiny, neboť pouhý 1 g vdechnutého rozptýleného krystalického toxinu má potenciál zabít milión lidí. Hrdina *et al.* (2004) vidí nebezpečí v jeho použití ve formě aerosolu či při teroristických akcích s cílem kontaminovat vodu a potraviny jako reálné. Navíc uvádějí, že jeho výroba může být zcela maskována tvrzením, že se jedná o farmaceutické využití, neboť BTX má široké uplatnění v léčbě některých neuromuskulárních poruch.

Americká akademie věd za Druhé světové války vytvořila v Marylandu laboratoř s názvem Fort Detrick pro vyšetřování bakterií a toxinů, jež by mohly být použity ve válce. V roce 1946 výzkumníci z Fort Detrick získali krystalickou formu BTX A, a Dr. Edward Schantz tak vyrobil první várku BTX určenou pro použití u lidí. Jelikož byla laboratoř v roce 1972 uzavřena, výzkum využití BTX a dalších potravinářských toxinů pro lékařské užití pokračoval na Univerzitě ve Wisconsinu pod vedením E. Schantze, jehož originální dvakrát vykrystalizovaný toxin byl schválený FDA (Ting & Freiman, 2004).

BTX se tak stal jedním z nejvšestrannějších léčiv pro léčbu lidských onemocnění v oftamologii, neurologii a dermatologii. V roce 1968 byl BTX poprvé použit lékaři a výzkumníky A. Scottem a E. Schantzem k léčbě onemocnění člověka. V roce 1978 Scott dostal povolení od FDA ke vstříkávání BTX dobrovolníkům se strabismem. V roce 1989 bylo schváleno FDA užívání BTX také pro svalové stahy, bleferospasmus a hemifaciální křeč. V současné době jsou BTX A a B také používány mimo neurologii k léčbě tortikolis, téměř všech forem dystonie, spasticit, třesu, hlasové poruchy, napětí, migrény a bolestivých syndromů

(Ting & Freiman., 2004). DeCarvalho (2014) uvádí další možnosti jeho využití např. v léčbě dětské mozkové obrny a inkontinence moči.

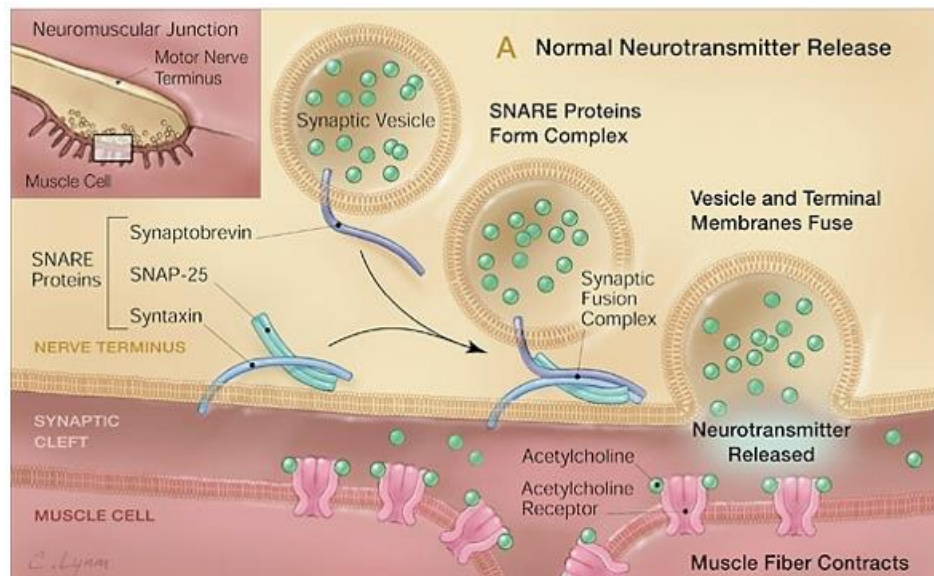
V roce 1987 J. Carruthers, oční lékařka, pozorovala, že po použití BTX A na blefarospasmus mizí vrásky. O své pozorování se podělila s manželem Alastair Carruthersem, dermatologem, a společně tak objevili kosmetickou proceduru, která je od roku 1990 dobře známa veřejnosti pod názvem Botox. (Ting & Freiman, 2004). Pro léčebné účely se podává injekčně krystalický lyofilizovaný BTX A (Hrdina *et al.*, 2004), přičemž Patočka & Strunecká (2011) doporučují v případě vzniku imunity proti typu A používat typ B. Úmrtí je jen zřídka spojeno s terapeutickým užitím BTX. Mohlo by nastat v případě rozšíření toxinu mimo místa injekčního vpichu, což by mohlo vést k respirační paralýze (DeCarvalho, 2014). Zprávy od poloviny roku 1990 popisují botox jako vysoce efektivní pro hyperhidrózu z podpaží, dlaně a plosky nohy (Ting & Freiman, 2004).

2.1.1.2 Mechanismus působení BTX

Pro uvedení mechanismu působení BTX je nutné nejdříve objasnit nervosvalový přenos vzruchu, ke kterému dochází za normálních okolností (viz Obr. 2). Krhut (2006) uvádí následující fáze průběhu nervosvalového přenosu: syntéza Ach, jeho depozice, uvolnění, vazba, degradace a recyklace. Syntéza Ach se děje enzymatickou přeměnou cholinu transportovaného z extracelulární tekutiny do buněčného cytosolu nervových zakončení pomocí acetyl-CoA na Ach, který je následně transportován do synaptických vezikul v nervové buňce, kde je uložen (Krhut, 2006). Pokud vznikne akční potenciál na nervosvalové ploténce, tj. modifikované synapsi tvořící spojení mezi nervovým zakončením tvořícím tzv. presynaptickou část a svalovou buňkou tvořící tzv. postsynaptickou část (Fridrichová, 2012), dojde k prudkému otevření kalciových transportních kanálů presynaptické membrány a to způsobí mohutný influx kalciových iontů. Vlivem zvýšení koncentrace intracelulárního kalcia pak dochází k fúzi jednotlivých vezikul s presynaptickou membránou. Tuto fúzi umožňuje komplex 3 proteinů: VAMP - též synaptobrevin - na membráně vezikul, SNAP-25 na presynaptické membráně a syntaxin s katalytickou funkcí. Ke vzájemné fúzi vezikul s presynaptickou membránou dochází spojením těchto proteinů: vSNARE (VAMP) s oběma proteiny tSNARE (SNAP-25 a syntaxin), tvořících dohromady proteinový komplex SNARE, přičemž vazba je umožněna kofaktorem NSF (Krhut, 2006).

Synaptogamin je další významný protein v tomto procese. Je vázán na membránové fosfolipidy presynaptické membrány, kde zabraňuje předčasné fúzi vezikul s presynaptickou membránou a tvoří tak tzv. synaptotagaminovou brzdu, jež se v důsledku akčního potenciálu

uvolňuje. Díky iontům kalcia, které se navážou na synaptotagmin, dojde k jeho inaktivaci a zároveň ke vzájemné interakci vSNARE a tSNARE. V důsledku fúze membrán vezikul a presynaptické membrány dojde k uvolnění Ach do synaptické štěrbiny, kde se váže na postsynaptické receptory svalových buněk (Krhut, 2006). Ach přeneše impuls do svalu, čímž signalizuje sval ke stahu (DeCarvalho, 2014; Krhut, 2006). Ach je z vazby na receptor rychle uvolňován zpět do synaptické štěrbiny, kde je štěpen enzymem acetylcholinesterasou na acetát a cholin, který je pak znovu k dispozici pro další syntézu Ach (Krhut, 2006).

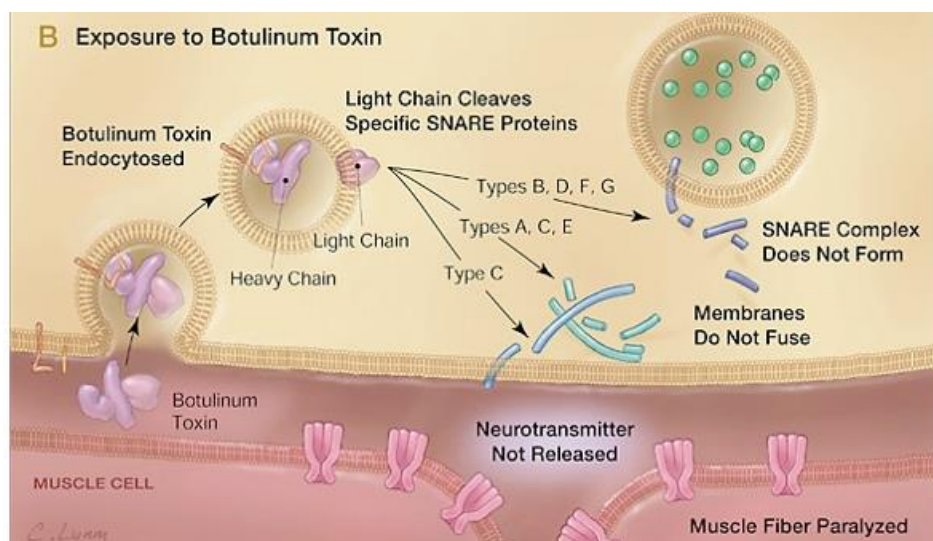


Obr. 2 Nervosvalový přenos bez působení BTX

BTX je blokátor, který brání v uvolňování neurotransmiteru Ach z nervových zakončení (Fridrichová, 2012). Jedná se o neurotoxin působící periferně, nikoliv centrálně a postihuje eferentní autonomní nervový systém hladkých svalů a žláz i nervy příčně pruhovaných svalů (Patočka & Strunecká, 2011). Pokud dojde k takové blokaci, je znemožněna svalová kontrakce a nastává charakteristická paralýza svalstva (DeCarvalho, 2014; Fridrichová, 2012). BTX se ve vysokých koncentracích resorbuje v horních partiích trávicího ústrojí a vede k rozvoji choroby. Přestože většina toxinu, která pronikne do GIT systému, je destruována v agresivním prostředí žaludečních šťáv, množství, které projde střevní sliznicí, je dostatečné k vyvolání intoxikace (Patočka & Strunecká, 2011). BTX poté proniká do krevního oběhu, ze kterého se dále dostává k periferním cholinergním synapsím, na které se váže a blokuje tak uvolňování Ach z nervových zakončení (viz Obr. 3). Narušení nervového přenosu se projeví po ID, jejíž doba se odvíjí od velikosti dávky BTX. Nejčastěji se příznaky projeví po 18-36 hodinách. Mohou však nastat výjimky, kdy ID může trvat pouhé 2 hodiny či v opačném extrému až 8 dní (Hrdina *et al*, 2004). Jak již bylo uvedeno, molekula BTX se skládá z L-chain a H-chain, přičemž každý z těchto řetězců přispívá toxicitě. Krhut (2006) rozděluje blokaci

nervosvalového přenosu na tři fáze: vazba BTX na presynaptickou membránu, internalizace - tj. transport neurotoxinu do cytosolu neuronu, a uvolnění aktivovaného toxinu z vezikul. H-chain díky svému receptoru na terminální C-sekvenci umožňuje vazbu na specifické receptory na presynaptické membráně nervového vlákna a následnou internalizaci (Hrdina *et al.*, 2004; Krhut, 2006; DeCarvalho, 2014). Ta se děje prostřednictvím tzv. stimulované endocytózy, jejíž proces je silně závislý na koncentraci kalciových iontů vznikajících při podráždění nervového vlákna. Neurotoxin je vzat do vezikul, ve kterých vlivem nízkého pH dochází ke změně prostorového uspořádání molekuly toxinu, a dojde tak k odkrytí aktivních vazebných struktur na lehkém řetězci. Aktivovaný toxin je exocytózou uvolněn do cytosolu, kde na něj působí neuronální enzymy, které redukuje disulfidickou vazbu mezi lehkým a těžkým řetězcem, čímž dojde k jejich rozdělení (Krhut, 2006). Izolovaný L-chain, nositel toxického účinku (Hrdina *et al.*, 2004), poté působí jako proteáza a zabraňuje tak spojení vSNARE a tSNARE proteinů, které by za normálních okolností umožnily fúzi vezikuly s presynaptickou membránou a tím i následné uvolnění Ach z nervové buňky (Krhut, 2006; DeCarvalho, 2014). Jedná se tedy o narušení exocytózy (uvolňování) neurotransmiterů (DeCarvalho, 2014). L-chain nese na svém terminálním N-rameni specifickou zinečnatou endopeptidázu s vysokou proteolytickou aktivitou, která u BTX typu A, C a E inaktivuje protein SNAP-25, u BTX B, D, F a G inaktivuje synaptobrevin. Pouze u BTX C dochází k inaktivaci dvou vazebných proteinů – syntaxinu a SNAP -25 (Krhut, 2006).

Z výše uvedených údajů plyne, že zatímco ve fázi vazby toxinu na presynaptickou membránu neuronu a ve fázi internalizace je nutné, aby molekula toxinu byla komplexní, tedy dvouřetězcová, v poslední fázi je tomu naopak, neboť vlastní enzymatická blokáce fúze vezikul s presynaptickou membránou je možná pouze tehdy, jsou-li řetězce odděleny (Krhut, 2006).



Obr. 3 Působení BTX na nervosvalové ploténce

2.1.2 Botulismus

Botulismus je paralytické onemocnění vznikající v důsledku působení BTX (Karalewitz & Barbieri, 2012). Počet onemocnění botulismem je dle EPIDAT SZÚ v České republice téměř zanedbatelný (viz Tab. 1). Sobel (2005) uvádí, že se botulismus přirozeně vyskytuje ve čtyřech formách, z nichž nejčastější je dle DeCarvalho (2014) alimentární botulismus způsobený požitím kontaminované potravy. *Clostridium botulinum* se v potravinách rozmnožuje a tvoří toxin, jsou-li pro to vhodné podmínky zahrnující anaerobní prostředí, pH nižší než 4,5, nízký obsah cukrů a solí a teplotu v rozmezí 4-11 °C. Domácí konzervované potraviny tak v minulosti představovaly významný zdroj intoxikace (Sobel, 2005).

U dětí se vyskytuje tzv. dětský botulismus (Sobel, 2005) označovaný také jako infantilní botulismus kojenců (Klaban, 2005) či dle Hrdina *et al.*, (2004) a DeCarvalho (2014) jako kojenecký botulismus, jenž je často spojován s konzumací medu obsahujícího spory bakterie (Klaban, 2005; DeCarvalho, 2014). Ovšem Sobel (2005) dodává, že med představuje pouze do 20 % případů. Klaban (2005) uvádí, že se tento typ botulismu vyskytuje u dětí ve věku 3-26 týdnů, kdy v tlustém střevě kojence dojde ke kolonizaci a pomnožení botulinového klostridia a následné produkci neurotoxinu, neboť ještě nebyla plnohodnotně vytvořena střevní mikroflóra, která by kojence chránila (Sobel, 2005). Hrnčířová & Rambousková (2007) proto nedoporučují podávat med dětem do 1 roku. Podobným typem je dospělá střevní toxémie projevující se kolonizací a tvorbou toxinů ve střevě dospělého člověka (Sobel, 2005). Hrdina *et al.* (2004) a Sobel (2005) dále uvádějí tzv. raný botulismus vznikající kolonizací a pomnožením bakterie v infikované ráně. Tento typ je často spojován s nitrožilním užíváním drog (DeCarvalho, 2014), nebo aplikací černého dehtového heroinu stylem „skin-popping“ (Sobel, 2005) slangově znamenající vstříkování pod kůži namísto do žíly (Lingea s.r.o., 2008). Inhalační botulismus, známý především z bitevního pole, je dnes spíše vzácný (Sidell *et al.*, 1997). Sobel (2005) uvádí jako poslední typ tzv. iatrogenní botulismus vznikající v důsledku chybného jednání lékaře.

	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015
Botulismus	1	1	0	0	0	4	1	1

Tab. 1 Četnost botulismu v České republice v letech 2008-2015

2.1.2.1 Historie botulismu

Na sklonku roku 1700 onemocnění způsobené lidským požitím BTX v kontaminované potravine vedlo k mnoha úmrtím v Evropě. Ekonomická chudoba v době Napoleonských válek (1795-1813) vedla k zanedbání hygienických opatření ve venkovní potravinářské výrobě a primárním zdrojem botulismu se stala uzená jelita (Ting & Freiman, 2004). V roce 1817

německý lékař Dr. Justin Christian Kerner poprvé objasnil klinický obraz botulismu v lékařských Tübingenských listech, kde velmi podrobně popsal smrt sedláka, který zemřel po požití vyuzené, ale nepřevařené klobásy. Onemocnění proto pojmenoval botulismus podle latinského slova „*botulus*“ znamenající klobása (Krhut, 2006), avšak po určitou dobu onemocnění neslo název Kernerova choroba (Patočka & Strunecká, 2011). Kerner na základě svých experimentů prováděných nejen na laboratorních zvířatech, ale i na sobě samém, udělal několik významných postřehů o toxinu: 1) rozvíjí se ve zkyslé klobáse za anaerobních podmínek, 2) přerušuje přenos signálu v periferním a autonomním nervovém systému, 3) je letální v malých dávkách, přičemž autoři Arnon *et al.* (2001) uvádějí, že letální dávky vyčištěného krystalického BTX A pro 70kg muže jsou 0,09-0,15 µg při intravenózním zvedení, 0,80-0,90 µg při inhalaci a 70 µg při orálním podání. Původce tohoto onemocnění tehdy nebyl zcela znám, avšak Kerner se domníval, že se jedná o zoonózní nákazu, což bylo v té době, kdy mikroskopické patogeny nebyly dosud objeveny, odvážné tvrzení. Teprve žák R. Kocha P.-M. van Ermengem dokázal, že určité mikroorganismy mohou způsobit onemocnění. Když v roce 1895 došlo k vypuknutí botulismu po pohřbu v belgické vesnici Elezelles, van Ermengem byl první, kdo dával botulismus do souvislosti s bakteriemi nalezenými v syrovém vepřovém masu v posmrtné tkáni obětí, které zkonsumovaly kontaminované maso (Ting & Freiman., 2004). V roce 1896 van Ermengem provedl pokus, na kterém prokázal, že onemocnění vyvolává toxin (Klaban, 2005). Rok nato se mu podařilo poprvé izolovat bakteriálního původce (Krhut, 2006; Patočka & Strunecká, 2011), kterého pojmenoval jako *Bacillus botulinus*, jenž byl později přejmenován na *Clostridium botulinum* (Ting & Freiman, 2004).

2.1.2.2 *Symptomy botulismu*

Dnes je zcela evidentní, že se *Clostridium botulinum* množí a produkuje neurotoxin v anaerobních podmínkách, se kterými se často setkáváme v konzervovaných potravinách. Při otravě jídlem se symptomy objeví již po několika hodinách či po jednom až dvou dnech, podle Klaban (2005) a Krhut (2006) po 12-36 hodinách a podle Hrdina *et al.* (2004) a Ting & Freiman (2004) po 18-36 hodinách po konzumaci kontaminované potraviny (Sidell *et al.*, 1997). U jedinců postižených mírným botulismem se může vyskytnout svalová slabost, křeče, zvracení, průjem (DeCarvalho, 2014), bolest hlavy a končetin, sucho v ústech, nauzea, paréza končetinových a okohybných svalů s diplopií, polykací potíže, dušnost (Krhut, 2006), závratě, dysartrie a bolest břicha (Hrdina *et al.*, 2004). Porucha autonomní inervace projevující se mydriázou – dle Woods *et al.* (2005) v 50 % případů, tachyarytmií, retencí moči či obstipací, je známkou závažnější otravy (Krhut, 2006), přičemž v nejzávažnějších případech může dojít,

v důsledku zabránění přenosu vzruchu k ochrnutí dýchacích svalů (DeCarvalho, 2014), které může být příčinou smrti z udušení (Hrdina *et al.*, 2004; Klaban, 2005; Krhut, 2006), která bez léčení nastává v 10-65 % případů (Ting & Freiman, 2004). Ačkoliv BTX neprochází přes mozkovou bariéru a nezpůsobuje tedy CNS onemocnění, psychologické následky botulismu mohou být závažné (Woods *et al.*, 2005). Zatímco u lehkých otrav mizí symptomy spontánně, u těžkých je třeba intenzivní péče (Krhut, 2006). Nicméně řada neurotoxinů nepříbuzných BTX by mohla způsobovat stejné následky. Například kousnutí hada produkujícího neurotoxiny by mohlo způsobit podobné, ne-li stejné, příznaky otravy BTX (Sidell *et al.*, 1997).

BTX způsobuje stejná onemocnění po inhalaci, požití či injekčním podání (Sidell *et al.*, 1997). Při náhlé zástavě dechu je zahájena umělá ventilace a monitoring pacienta. Podávání guaninu nebo diaminpyridinu je doporučeno pro podpoření uvolňování Ach z nervových zakončení. Při alimentární otravě je nutné včas vyvolat zvracení a provést výplach žaludku. (Hrdina *et al.*, 2004). Dle Patočka & Strunecká (2011) je léčení obtížné a u pacientů, kteří přežívají, dochází k úplnému zotavení obvykle až po 6-8 měsících.

2.1.2.3 Antidotum

Bylo jasné, že vědci pracující s velkým množstvím toxinů potřebují být chráněni před onemocněním stejně, jako ozbrojené síly ohrožené napadením biologickými zbraněmi. Ve Fort Detricku proto bylo v roce 1950 vyrobeno antidotum v podobě pentavalentní vakcíny, která je v současné době k dispozici jako toxoid chránící před sérotypy A až E (Bryme & Smith, 2000; Sidell *et al.*, 1997). Vakcína je doporučena pouze pro jednotlivce či skupiny lidí pracujících v laboratoři s BTX. Očkování bylo původně prováděno na základě potřeby dle výsledků testů protilátek. Později začalo být podáváno v nultém, druhém a dvanáctém týdnu a poté následovalo každoroční přeočkování. Ukázalo se však, že mezi očkováním ve dvanáctém týdnu a prvním ročním přeočkováním účinnost protilátek klesla a v roce 2004 dokonce vakcína selhala u zkoušky proti sérotypům B, C, D a E (Woods *et al.*, 2005). Za účelem eliminace poklesu účinku byla do série očkování přidána dávka podávaná v šestém měsíci (Dembek & Alves, 2011). Podle Karalewitz & Barbieri (2012) se opakovanou imunizací toxoidem vytváří imunita, přičemž autoři Sidell *et al.* (1997) a Woods *et al.* (2005) uvádí, že po prvním roce přeočkovací dávka vede k silné odpovědi přibližně u 90 % příjemců.

V případě otravy je včasné podání antitoxinu rozhodující, neboť antitoxin může neutralizovat pouze toxiny cirkulující v krvi po jejich absorpci střevní stěnou. Na necirkulující toxiny nemá antitoxin žádný vliv. Proti sérotypům A a B byla v roce 2003 udělena organizací FAD licence bivalentnímu antitoxinu, jenž je k dispozici od kalifornského ministerstva

zdravotnické služby pro léčbu dětského botulismu. Pro případy alimentární otravy CDC poskytuje trivalentní koňský antitoxin proti sérotypům A, B a E (Woods *et al.*, 2005). Hrdina *et al.* (2004) uvádějí tzv. heptavalentní koňský antitoxin účinný proti všem sedmi typům. Dle Sidell *et al.* (1997) je však před jeho podáním nutné provést zkušební dermální test.

2.2 *Salmonella enterica*

Salmonella představuje rod gramnegativních fakultativně anaerobních nesporulujících obvykle pohyblivých tyčinkovitých bakterií z čeledi *Enterobacteriaceae*. Dle Gómez-Aldapa *et al.* (2012) je řazena mezi nejčastější příčiny alimentárního onemocnění na celém světě, přičemž v EU je dle Giaccone *et al.* (2012) řazena na druhé místo, hned za bakterie rodu *Campylobacter*, avšak v některých zemích, např. v Itálii, stále zaujímá první příčku. Produkci tzv. endotoxinu (podrobněji v podkapitole 2.2.1) způsobují salmonelové infekční onemocnění (podrobněji v podkapitole 2.2.2) (Hrdina *et al.*, 2004). Významnou vlastností těchto bakterií je schopnost přilnout k povrchu jednotlivých výrobních zařízení a vytvořit tzv. biofilm, tj. strukturované mikrobiální společenství projevující se zvýšenou rezistencí vůči antimikrobiálním látkám, ze kterého se bakterie postupně uvolňují a kontaminují potraviny (Cupáková *et al.*, 2011b). Dále jsou odolné vůči nepříznivým podmínkám, což jim umožňuje přetrvávat v životním prostředí a šířit se v celém potravním řetězci, na jehož konci stojí člověk, který se nakazí nejen prostřednictvím kontaminovaného masa, ale také živočišných produktů (mléko, vejce) a rostlinných produktů – např. zeleniny, je-li hnojena živočišnými hnojivy, které nejsou řádně fermentované (Giaccone *et al.*, 2012). Pro člověka tak představují riziko např. ředkvičky, červená řepa, tykev, hlávkový salát, květák, rajčata, Jalapeño a Serrano chilli papričky, kantalupy, kapusta, špenát a další (Gómez-Aldapa *et al.*, 2012). Prostřednictvím výkalů zvířat a člověka se však salmonely mohou dostat zpátky do zemědělské půdy, povrchových vod a dalších významných složek životního prostředí, čímž se koloběh kontaminace uzavírá (Giaccone *et al.*, 2012). Velké riziko představuje také konzumace tzv. filtrátorů – živočichů získávajících potravu z vody, která proteče jejich tělem. Jsou-li vody kontaminované výkaly, v nich žijící měkkýši s potravou zároveň přijímají patogeny, které uchovávají ve střevech. Nejvyšší potenciální riziko infekce je z ústřic, protože se nejčastěji jedí v syrovém stavu. Oproti tomu slávky a škeble představují menší riziko, neboť jsou obvykle spařené horkou vodou, což salmonely a většinu ostatních bakterií zabije. Nicméně je nutné být obezřetný i vůči potravinám obvykle nepovažovaným za zdroj kontaminace jako např. mandle, pekanové ořechy a čokolády (Gómez-Aldapa *et al.*, 2012). Dle Cupáková *et al.* (2011a) je vehikule téměř vždy potravina a přenos z člověka na člověka bývá vzácný.

Obecně se mohou salmonely množit na mnoha potravinách a jejich chování je ovlivněno několika faktory, zejména pH, teplotou, vodní aktivitou, chemickým složením substrátu a přítomností antimikrobiálních látek. Optimální pH je přibližně neutrální a hodnoty > 9,0 nebo < 4,0 jsou baktericidní (Gómez-Aldapa *et al.*, 2012). Minimální teplota pro růst salmonel je 7 °C, s výjimkou *S. Heidelberg* schopné vyvíjet se při teplotách od 5,3°C. Proto je doporučená teplota pro skladování ≤ 5 °C. Salmonely nejsou příliš tepelně odolné a lze je zničit pasterizací, neboť maximální teplota pro jejich vývoj je 49,3 °C a poté začnou denaturovat. V opačném případě jejich nejvyšší mortalita nastává při pomalé mrazicí fázi (0 až -10°C), kdy dochází k poškození buněčných stěn. Naopak při rychlém hlubokém zmrazení pod -17°C jsou stěny více zachovány, a pravděpodobnost přežití bakterie se tak zvyšuje. Nicméně ani zmrazení nezaručuje bezpečnost potravin, neboť o tom svědčí nálezy salmonel v mražených potravinách, které byly uchovávány po dobu let (Giaccone *et al.*, 2012).

V současné době se do rodu *Salmonella* řadí dva druhy: *S. bongori* a *S. enterica*, přičemž druhý jmenovaný se dále dělí na 6 subspecií (poddruhů) označených římskou číslicí a názvem (viz Tab. 2) (Dědičová & Karpíšková, 2009). Podrod III byl rozdělen dle genomové příbuznosti a biochemických reakcí na poddruhy IIIa a IIIb (Brenner *et al.*, 2000). Oba druhy mají v současné době dohromady 2579 sérovarů (sérotypů), přičemž druh *S. enterica* obsahuje 2557 sérovarů a zbylých 22 náleží *S. bongori* (Dědičová & Karpíšková, 2009). Dle Grimont & Weill (2007) byl u druhu *S. bongori*, dříve považovaného za poddruh *S. enterica*, zachován symbol „V“, aby se zabránilo záměně s ostatními sérovary.

Druh	Poddruh	Počet sérovarů	%
<i>Salmonella enterica</i>		2557	
	<i>Subsp. enterica</i> / I	1531	59
	<i>Subsp. salmae</i> / II	505	19
	<i>Subsp. arizonae</i> / IIIa	99	4
	<i>Subsp. diarizonae</i> / IIIb	336	13
	<i>Subsp. houtenae</i> / IV	73	3
	<i>Subsp. indica</i> / VI	13	1
<i>Salmonella bongori</i> / V		22	1
Celkem		2579	100

Tab. 2 Počty sérovarů v jednotlivých subspeciích druhu *Salmonella enterica* a *Salmonella bongori*

Způsob označení sérovarů se vyvinul časem. Některé byly pojmenované dle syndromu, hostitelské specifčnosti či podle zeměpisného původu. Dnes se dle Kauffmann-White schématu, nověji White-Kauffman-Le Minor (Dědičová & Karpíšková, 2009; Grimont & Weill, 2007), sérotypizace salmonel provádí na základě stanovení antigenních vlastností a jejich kombinací, díky kterým je pro každý sérotyp vytvořena specifická antigenní formule.

Antigeny mohou být trojího typu – somatické (O) v buněčné stěně, flagelární (H) v bičících a kapsulární (Vi) v kapsulích.

O-antigeny se nachází na vnější straně buněčné stěny a vyvolávají specifickou imunitní reakci. Jsou tvořeny sacharidovými zbytky, kterých je dle Todar (2012) známo alespoň 20. Jejich množství a pořadí určuje variabilitu O-antigenů, což umožňuje rozlišovat až 67 séro skupin (Purkrťová, 2014). Dříve se tyto séro skupiny označovaly písmeny A-Z, avšak z důvodu nedostatku písmen se přešlo k číselnému značení a písmena zůstala dočasně uchována v závorkách, např. O:4 (B). Nyní se však doporučuje upustit od značení písmeny (Grimont & Weill, 2007). Séro skupiny A, B, C₁, C₂ a E jsou nejběžnějšími O-antigenními skupinami, neboť kmeny v těchto séro skupinách způsobují až 99 % infekcí u lidí a teplokrevných živočichů. Sérotypy ostatních poddruhů se u člověka vyskytují vzácně a jsou izolovány spíše ze studenokrevných živočichů a životního prostředí (Brenner *et al.*, 2000). Druhým typem antigenů jsou tzv. H-antigeny tvořené bílkovinou flagelinem a umožňují salmonelám pohyb. Poslední typ, Vi-antigen, je tvořen pouzdernými povrchovými polysacharidy a je odpovědný za virulenci (Purkrťová, 2014).

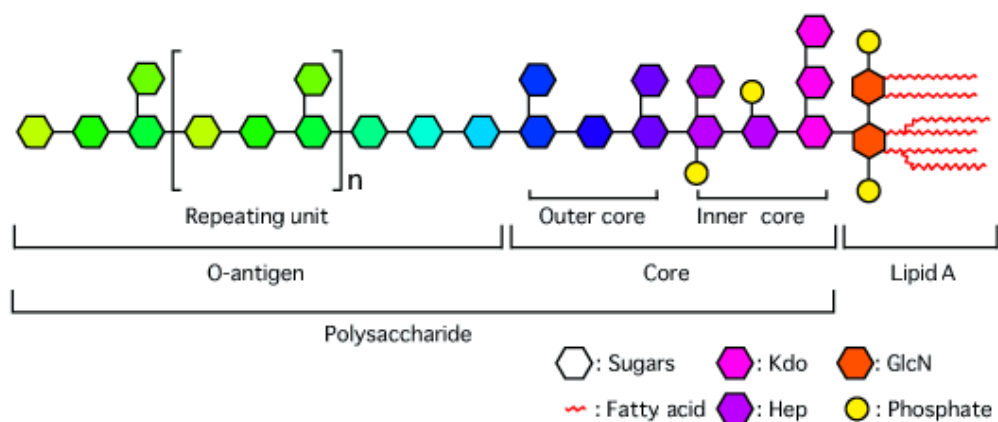
Dle Macela (2006) do poddruhu *S. enterica* subsp. *enterica* patří všechny patogeny významné pro člověka a pouze sérotypy náležící tomuto poddruhu nesou vlastní názvy. Před rokem 1966 dostaly všechny sérotypy s výjimkou poddruhů IIIa a IIIb název, avšak v roce 1966 organizace WHO začala jmenovat pouze sérotypy poddruhu I, které dle Grimont & Weill (2007) představují více než 99,5 % izolovaných kmenů *Salmonella*, a upustila od názvů ostatních sérotypů v poddruhu II, IV, VI a *S. bongori* (Brenner *et al.*, 2000). Sérotypy ostatních poddruhů začaly označovat dle antigenních O:H formulí (Macela, 2006). CDC však pro kompatibilitu se starými daty i nadále používá názvy užívané před rokem 1996 pro sérotypy poddruhů II, IV, VI a *S. bongori* (Brenner *et al.*, 2000). Že se ve zkráceném názvu nejedná o samostatné druhy, ale sérotypy, je zdůrazněno velkým prvním písmenem a absencí kurzívy v názvu sérotypu (Brenner *et al.*, 2000; Cupáková *et al.*, 2011a). V Evropě a USA jsou nejpočetnější sérovary *S. Enteritidis* a *S. Typhimurium* (Žemličková *et al.*, 2013).

2.2.1 Endotoxin

Podstatou patogenity salmonel je produkce termostabilního endotoxinu. (Klaban, 2005). Dle Cupáková *et al.* (2011a) se jedná o nejvýznamnější faktor virulence, jenž je kódován geny, které jsou seskupeny na tzv. ostrovech patogenity, tj. specifických oblastech chromozomu, které přispívají ke genetické adaptabilitě bakterií a zvyšují jejich virulenci. Endotoxiny jsou součástí vnější membrány buněčné stěny všech gramnegativních bakterií a na rozdíl

od proteinových termolabilních exotoxinů, uvolňovaných z živé grampozitivní bakteriální buňky, se uvolňují až po zániku bakterie a rozpadu její buněčné stěny. Dále se od exotoxinů liší absencí možnosti tvorby toxoidu a nižší nespecifickou toxicitou. Endotoxiny jsou pyrogeny a způsobují horečky již v malých dávkách. Zvyšují permeabilitu kapilár, což může vést až k hemoragickému šoku, gastroenteritidě a tkáňové nekróze a často i k těžkým průjmům typickým pro salmonely (Hrdina *et al.*, 2004).

Chemicky se jedná o lipopolysacharidový komplex tvořený třemi složkami – Lipidem A, oligosacharidovým jádrem a O-antigenem (= O-polysacharidem) (viz Obr. 4). Lipid A je hydrofobní část zakotvená ve vnější membráně buněčné stěny a je odpovědný za toxicitu. Je tvořen dvěma fosforylovanými molekulami N-glukosaminu (GlcN), na které je napojeno 7 nebo častěji 6 nasycených mastných kyselin. V poloze 6 jednoho GlcN se připojuje polysacharidové jádro (Todar, 2012). Oblast jádra (core) je složena z hetero-oligosacharidů, které mohou být formálně rozděleny na vnější (outer) a vnitřní (inner) část. Vnější část tvoří D-glukóza, D-galaktóza a N-acetyl-D-glukosamin. Vnitřní část obvykle tvoří heptóza (Hep) a 2-keto-3-deoxyacetát (Kdo), který je dle Todar (2012) unikátní a vždy přítomný, a proto se používá jako indikátor v testech pro lipopolysacharidy (Rietschel *et al.*, 1994). K jádrovému oligosacharidu je připojen O-antigen, který tak tvoří nejsvrchnější část lipopolysacharidu a chrání salmonelu před bakteriolytickým účinkem komplementu (Cupáková *et al.*, 2011a). O-antigen obsahuje hlavní antigenní determinant a svou hydrofilní povahou umožňuje rozpustnost lipidu A ve vodním prostředí, čímž zvyšuje jeho toxicitu. Může se skládat až ze čtyřiceti se opakujících oligosacharidových podjednotek tvořených 3-5 cukry, takže je mnohem delší než jádrový oligosacharid, ke kterému je připojen. Terminální cukry poskytují imunologickou specifičnost O-antigenu a jejich ztráta způsobuje částečnou ztrátu virulence.



Obr. 4 Struktura endotoxinu (lipopolysacharidu)

2.2.2 Onemocnění (Břišní tyfus a salmonelóza)

S. enterica patří mezi nejzávažnější patogenní organismy člověka a nejčastěji vyvolává dva typy alimentárního onemocnění – břišní tyfus (viz podkapitola 2.2.2.1) způsobený sérotypem *S. Typhi* a salmonelovou enteritidu označovanou také jako salmonelóza (viz podkapitola 2.2.2.2) vyvolanou nejčastěji sérotypy *S. Enteritidis* a *S. Tiphimurium*. Mírnější forma břišního tyfu se nazývá paratyfus a je vyvolána sérotypem *S. Paratyphi* (Macela, 2006). Porovnání absolutních četností břišního tyfu a salmonelózy v České republice dle databáze EPIDAT SZÚ znázorňuje Tab. 3.

	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015
Břišní tyfus	4	3	4	3	2	0	3	1
Salmonelóza	11 009	10 805	8 622	8 752	10 507	10 280	13 633	12 727

Tab. 3 Četnost onemocnění Břišním tyfem a Salmonelózou v České republice v letech 2008-2015

2.2.2.1 Břišní tyfus

Břišní tyfus je závažné onemocnění vyvolané sérovarem *S. Typhi* - z řeckého „*typhos*“ = obluznění, mlha (Trebichavský & Šíma, 2001). Zatímco pro většinu zvířat je neškodná, pro lidstvo kdysi představovala „bič boží“, neboť se za posledních milión let specializovala pouze na člověka a dodnes způsobuje závažné zdravotní problémy a ekonomické ztráty (Trebichavský & Šíma, 2001).

Břišní tyfus je rozšířen především v rozvojových zemích s nízkou úrovní hygieny, zvláště v jihovýchodní Asii, na indickém subkontinentu, v Turecku, Latinské Americe a v Africe – včetně destinačních oblastí Tunisu a Egypta. (Rosenkranzová, 2012). Dle Trebichavský & Šíma. (2001) je infekční dávka vyvolávající onemocnění řádově nad 100 miliónů bakterií, avšak v takovýchto endemických oblastech jich stačí již několik desítek tisíc. Odhaduje se, že nejvyšší incidence cestovatelů je v Indii a Pákistánu (100 případů na 100 000 cestovatelů). U nás byl tyfus běžný v 19. století, avšak k poslední epidemii došlo v Terezíně v roce 1945, kdy tehdejší očkovací látka chránila pouze krátkodobě (Trebichavský & Šíma, 2001). V té době bylo břišním tyfem postiženo asi 10 000 lidí, ovšem s pozdějším zkvalitněním hygienických podmínek počet onemocnění výrazně klesl a dnes se u nás téměř nevyskytuje, a pokud ano, jedná se většinou o onemocnění importované z výše uvedených endemických oblastí (Petráš & Lesná, 2010). Počet případů onemocnění a úmrtí se u jednotlivých autorů liší. Dle Trebichavský & Šíma (2001) břišním tyfem ročně onemocní 16 miliónů lidí, z nichž umírá přibližně 600 000. Oproti tomu Macela (2006) uvádí stejný počet úmrtí, ale z celkového počtu 33 miliónů nemocných. Kümpel & Petráš (2006) odhadují počet nemocných ročně na 22 miliónů, z toho 200 000 úmrtí. Při návštěvě kritických oblastí se proto doporučuje používat balenou vodu, a to jak k pití, tak k čištění zubů, nepoužívat kostky ledu,

jíst dostatečně tepelně upravené potraviny a dodržovat zásady hygieny. Tato opatření jsou však ne vždy dostačující, a proto je k posílení ochrany doporučeno očkování (Kümpel & Petráš, 2006). V České republice jsou registrovány pouze dva typy inaktivovaných polysacharidových vakcín s účinností 50-80 % - Typhim Vi a Typherix, které obsahují antigen Vi a podávají se v jedné dávce osobám starším dvou let (Stejskal, 2011) nejlépe 10 dní před odjezdem do endemické oblasti (Stejskal, 2011). V posledních letech se však u nás zásoby vakcín zmenšily a jejich dodávka je spíše nárazová. V roce 2012 se přestala do ČR dovážet vakcína Typherix z důvodu upřednostnění dovozu do jiných zemí, a jedinou dostupnou vakcínou tak byla Typhim Vi, jejíž dodávka byla v roce 2013 dvakrát přerušena (Válková, 2013). Živé oslabené perorálně podávané vakcíny Typhoral L a Vivotyf u nás nejsou povoleny.

Dle Rosenkranzová (2012) se přenos děje fekálně-orální cestou, kdy se po konzumaci kontaminované potravy bakterie dostává do trávicího traktu, přičemž v žaludku je část bakterií zničena - z toho důvodu je dle Petráš & Lesná (2010) vakcína doporučena také lidem se sníženou tvorbou žaludeční kyseliny - a ta část, která přežije, se dostává do tenkého střeva, odkud je vstřebána a dále transportována krví do jater, sleziny a lymfatických uzlin. Po uplynutí ID trávající 12-14 dní se onemocnění začne projevovat horečkou, bolestmi hlavy a celkovou schváceností někdy doprovázenou poruchami vědomí, bradykardií, hypotenzí a ojediněle i růžovou vyrážkou na břiše – tzv. tyfovou rezeolou (Kümpel & Petráš, 2006). K dalším symptomům patří bledá kůže, hnědý povlak na jazyku, zubech a dásních, nafouklé břicho citlivé na dotek, nechutenství vedoucí až k bulimii. Přibližně ve třetím týdnu mohou nastat komplikace, při kterých dochází k perforaci střeva - v oblasti peyerových plátů v ileocekální oblasti (Macela, 2006) - a následnému krvácení do střev, které se projeví černou stolicí (Rosenkranzová, 2012). Zatímco u dětí má onemocnění rychlý a mírnější průběh, u starších lidí většinou nastávají komplikace, které se po měsíci mohou znovu opakovat a mortalita je do 2 % (Macela, 2006; Rosenkranzová, 2012). Salmonela může poškodit CNS, a zanechat tak následky v podobě tzv. tyfové psychózy (Rosenkranzová, 2012). Léčba se provádí chloramfenikolem asi 10-14 dní, u rezistentních kmenů se používá ampicilin, amoxicilin nebo biseptol (Macela, 2006).

Dle Rosenkranzová (2012) jsou častějším zdrojem nákazy bacilonosiči než zdraví lidé, neboť dle Macela (2006) se člověk v 1-5 % případech po prodělání onemocnění stává chronickým nosičem bakterie ve žlučníku, kterou poté vylučuje. Takové nosičství představuje riziko zejména v případě, kdy je nosičem člověk podílející se na výrobě a manipulaci s potravinami. Především u *S. Typhi* bylo prokázáno asymptomatické nosičství až po desetiletí (Giaccone *et al.*, 2012). Snad nejznámější přenašečkou v historii byla irská kuchařka Marry

Mallonová (1869-1938), přezdívaná Tyfová Marry, která za celý svůj život nakazila přibližně 50 lidí, z nichž tři zemřeli na následky onemocnění. Ona sama však paradoxně zemřela na zápal plic (Trebichavský & Šíma, 2001).

2.2.2.2 Salmonelóza

Salmonelóza je alimentární onemocnění přenášené salmonelami netyfového typu, především sérovary *S. Enteritidis* a *S. Typhimurium* (Macela, 2006), avšak jejich příčina prevalence ještě není zcela objasněná (Gómez-Aldapa *et al.*, 2012). Na rozdíl od břišního tyfu se projevuje kratší ID (6-48 hodin) a průjmy. Dalšími symptomy jsou horečky, nauzea, zvracení, křeče, svalové bolesti a bolesti hlavy (Macela, 2006). Diagnóza se stanovuje na základě vyšetření vzorku stolice (Ondriová & Šimová, 2009). Nemocným se nepodávají antibiotika, ale zahajuje se tzv. paliativní léčba spočívající ve zmírnění horečky a podávání tekutin a iontů, případně prostředků k dezinfekci střeva (Macela, 2006). Navíc dle Cupáková *et al.* (2011a) byla u *S. Typhimurium* prokázána rezistence na ampicilin a další antibiotika. Po dobu přetrvávání průjmů se dospělým podává Endiaron, případně Smecta či živočišné uhlí (Ondriová & Šimová, 2009). Při terapii je též důležité dodržovat dietu a vyhnout se konzumaci dráždivých jídel, zejména tučných, které chrání bakterie před žaludečními enzymy (Giaccone *et al.*, 2012). Při zlepšování stavu je nutné přidávat některé potraviny postupně, neboť při příliš rychlém přechodu na normální stravu hrozí navrácení průjmů způsobujících dehydrataci organismu, která může vést až k smrtelnému selhání ledvin (Ondriová & Šimová, 2009).

K největšímu vypuknutí salmonelózy způsobené sérovarem *S. Enteritidis* došlo v roce 1994, kdy v USA ve 41 státech onemocnělo více než 224 000 lidí po konzumaci zmrzliny vyráběné z mléka přepravovaného v cisternách, ve kterých předtím byla přepravovaná syrová nepasterizovaná vejce (Gómez-Aldapa *et al.*, 2012; Giaccone *et al.*, 2012).

2.3 Staphylococcus aureus

Rod *Staphylococcus* (z řečtiny *stafylé* – hrozen a *kokkos* - kulička) představuje rod bakterií zahrnující grampozitivní nepohyblivé koky, jenž se často vyskytují ve shlucích podobných hroznovitému útvaru, podle kterého získaly název „*Staphylococcus*“ (Klaban, 2005), který jim v roce 1882 přidelil skotský chirurg Alexander Ogston, když spolu s přírodovědcem Louistem Pasteurem upozorovali hrozničkovité útvary v hnisu (Petráš, 2010b). Rod v současnosti zahrnuje 40 druhů, z nichž poslední 4 byly popsány v roce 2010, a 12 poddruhů. Hlavním zástupcem je *Staphylococcus aureus*, který se dále dělí na dva poddruhy, z nichž méně známý je ovčí patogen *Staphylococcus aureus* subsp. *anaerobius*. Pro lidskou populaci je mnohem významnější lidský patogen *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*

(dále *S. aureus*) (Petráš, 2010a), dle Klaban (2005) též označován jako *Staphylococcus pyogenes* či podle jeho typických zlatých kolonií na krevním agaru také jako zlatý stafylokok. Tento poddruh byl popsán německým lékařem Anton Julius Friedrich Rosenbachem již v roce 1884 (Petráš, 2010a; 2010b) a dnes je řazen mezi nejúspěšnější patogeny, neboť žije přibližně u třetiny populace na kůži, v krku či nosní sliznici ve vztahu podobnému komenzalismu, kdy nevyvolává žádné potíže a nevyžaduje léčbu. Dojde-li však k narušení přirozené odolnosti hostitele, je tento mikrob schopný proniknout do tkání a vyvolat onemocnění v různém rozsahu od banálních kožních infekcí až po závažné infekce vnitřních orgánů, které mohou končit smrtí. Díky schopnosti produkovat stafylokokové enterotoxiny (detailněji popsány v podkapitole 2.3.1) je tento patogen považován za jednoho z nejvýznamnějších původců alimentární intoxikace zvané stafylokoková enterotoxikóza (detailněji popsána v podkapitole 2.3.2) (Šťásková *et al.*, 2012).

2.3.1 Stafylokokový enterotoxin B

Stafylokokové enterotoxiny (SE) (z řeckého *enteron* - střevo, *toxikon* - jed) jsou metabolické produkty vznikající při množení těchto bakterií. Chemicky představují proteiny o molekulové hmotnosti 24-29 kDa tvořené jednoduchými polypeptidovými řetězci, které jsou spojeny disulfidickou vazbou a jsou bohaté na lysin, kyselinu asparagovou, glutamovou a tyrosin. SE jsou obecně termostabilní (snesou i půlhodinový var), odolné vůči trávicím enzymům a mají schopnost vyvolávat zvracení a průjem. Optimální podmínky pro jejich produkci se liší v závislosti na druhu SE i potraviny, obecně však lze říci, že vhodné podmínky pro rozmnožování *S. aureus* jsou zároveň vhodné i pro produkci SE (Šťásková *et al.*, 2012).

V současné době je známo 20 typů SE: A-E a G-U, přičemž SEC lze dále rozdělit na subtypy – SEC₁, SEC₂, SEC₃, SEC hovězí, SEC ovčí, SEC kozí. Těchto 20 typů SE lze rozdělit na dvě skupiny – tzv. klasické SE zahrnující typy SEA až SEE, a tzv. nové SE zahrnující zbylé typy SEG až SEU. Různé studie ukazují, že ne všechny typy SE způsobují alimentární otravy. Schopnost vyvolat gastroenterický syndrom mají vedle klasických SE pouze SEH, nicméně i u SEG a SEI byla prokázána emetická aktivita. U neúčinnějších SE je minimální toxická dávka pro člověka 0,5 ng/ml nebo ng/g potraviny (Šťásková *et al.*, 2012). Ačkoliv jsou u nás typy SEA a SED nejběžnější, největší riziko pro člověka představuje typ SEB, jehož mechanismus působení je popsán v podkapitole 2.3.1.1 (Hrdina *et al.*, 2004). Přestože je jeho toxicita ve srovnání s BTX zanedbatelná, díky své termostabilitě a poměrně snadné přípravě je též atraktivní látkou pro biologickou válku, ve které by mohl být využit nejen

prostřednictvím kontaminace pitné vody a potravin, ale i ve formě aerosolu (Hrdina *et al.*, 2004; Plesník, 2002).

2.3.1.1 Mechanismus působení SEB

Mechanismus SEB je poměrně složitý, avšak na rozdíl od BTX jeho účinek není letální, ale spíše zneschopňující. Navíc, imunitní odpověď včetně projevů intoxikace, je silně závislá na způsobu expozice (Plesník, 2002). SEB působí jako superantigen, jenž díky navázání na histokompatibilní komplex II, schopný rozeznat cizorodé struktury, naruší běžný mechanismus rozpoznání antigenu, a tím stimuluje nadměrné množení buněk imunitního systému tzv. T-lymfocytů (Argudín *et al.*, 2010; Hrdina *et al.*, 2004; Plesník, 2002), které začnou řídit imunitní odpověď sekrecí protizánětlivých látek - chemokinů a cytokinů (Hrdina *et al.*, 2004), což může dle Argudín *et al.* (2010) vést až ke smrtelnému syndromu toxického šoku, jenž dle Křížová & Petráš (2012) může být způsoben také toxinem toxického šoku TSST-1, který stejně jako SEB nadměrně aktivuje imunitní systém. K hlavním symptomům se řadí vysoká teplota, vyrážka, pokles krevního tlaku a pozdější olupování pokožky z dlaní a plosek (Křížová & Petráš, 2012).

2.3.2 Stafylokoková enterotoxikóza

Stafylokoková enterotoxikóza je alimentární onemocnění u lidí způsobené požitím potravin či vody kontaminované pyrogenním toxinem SEB. K takovým potravinám nejčastěji patří nejrůznější výrobky z majonézy a vajec, zeleninové saláty, cukrářské výrobky (Hrdina *et al.*, 2004), maso a masné výrobky, sendvičové výplně (Argudín *et al.*, 2010), smetanové omáčky, uzeniny (Hrnčířová & Rambousková, 2007), přičemž Le Loir *et al.* (2003) dodává, že zdroj stafylokokové otravy se liší mezi jednotlivými zeměmi v závislosti na rozdílné spotřebě potravin a stravovacích návycích v každé zemi. *S. aureus* se může dostat také do mléka a to přímým vylučováním z vemene hospodářských zvířat, trpících tzv. mastitidou - zánětlivým onemocněním mléčných žláz (Klaban, 2005), či pozdější kontaminací mléka při jeho zpracování (Argudín *et al.*, 2010; Morandi *et al.*, 2009). Mastitidu krav mohou též vyvolat bakterie *Streptococcus zooepidermicus* či *E-coli*, ale správnou pasterizací mléka jsou všichni tito původci zneškodněni (Klaban, 2005). Je však třeba si uvědomit, že pasterizací se zničí *S. aureus*, ale ne SE. To se stalo osudným v roce 1985 v Kentucky v USA, kdy se zdrojem stafylokokové otravy stalo čokoládové mléko, jež před pasterizací bylo skladováno při vysoké teplotě po dobu 4-5 hodin (Le Loir *et al.*, 2003). Největším zdrojem nákazy však zůstává člověk, jenž může onemocnění přenášet jako zdravý nosič, či jako nemocný jedinec s otevřenou zánětlivou lézí, jenž připravuje jídlo (Hrdina *et al.*, 2004; Šenkýřová, 2006). Po podání SEB

per os se na rozdíl od jeho inhalace nevyskytují pulmonální příznaky a obvykle ani horečka. Symptomy, jako jsou nauzea, zvracení, průjem a bolest břicha obvykle nastávají po krátké inkubační době trvající 1-6 hodin v důsledku reakce SEB s parasympatickými ganglii žaludku a jsou často doprovázené hypotenzí. Onemocnění obvykle spontánně odezní po 24-48 hodinách od propuknutí, avšak u kojenců a starších nebo oslabených jedinců si může vyžádat hospitalizaci (Argudín *et al.*, 2010), přičemž velmi vysoké dávky mohou vést až k septickému šoku či dokonce ke smrti (Hrdina *et al.*, 2004). Zlatý stafylokok a jím způsobené infekce by nebyly takovým problémem, kdyby se tento kok nevykazoval značnou rezistencí vůči řadě běžně používaných antibiotik (podrobněji popisuje podkapitola 2.3.2.1), zejména protistafylokokovému antibiotiku methicilinu, díky kterému se mu začalo přezdívat MRSA (Šenkýřová, 2006), jehož léčbou se podrobněji zabývá podkapitola 2.3.2.2.

2.3.2.1 Vývoj antibiotik a vakcín proti rezistentním kmenům *S. aureus*

Léčení stafylokokových infekcí je velmi náročné a nákladné. Na počátku roku 1940 se k léčbě začal používat penicilin, na který byl *Staphylococcus* plně citlivý. Netrvalo ale dlouho a po jeho rozšíření do klinické praxe se u některých kmenů *S. aureus* na toto antibiotikum vytvořila rezistence, jejíž mechanismus vzniku spočívá v produkci enzymu β -laktamasa, který je schopen zničit β -laktamový kruh penicilinu a tím ho učinit neefektivním. To vedlo k vývoji polosyntetických penicilinů jako je meticilin, cloxacilin, oxacilin a nafcilin, jenž odolávají působení β -laktamových enzymů, a tak se tyto léky staly známé jako β -laktamové peniciliny (Mazzulli, 2015a). Dle Enright *et al.* (2002) byl methicilin uveden do klinické praxe na přelomu 50. a 60. let na léčbu penicilin-rezistentních kmenů, avšak v roce 1961 byla ve Velké Británii zjištěna rezistence i na toto antibiotikum, a tak se zmutované kmeny, známé také jako super-bakterie, začaly označovat jako MRSA, jenž se dle Mazzulli (2015a) dále dělí dle prostředí na typ s rezistencí získanou v nemocničním prostředí – HA-MRSA a typ s rezistencí získanou v komunitě – CA-MRSA.

Giovanni Appendino, italský vědec spolu se svými kolegy přišel s návrhem, využít proti super-bakterii antimikrobiální látky obsažené v marihuaně tzv. kanabinoidy. Bylo otestováno pět kanabinoidů (kanabidol, kanabinol, kanabichromen, kanabigerol, tetrahydrokanabidol) a ukázalo se, že jsou všechny účinné. Pozitivní také je, že nejméně dvě z testovaných substancí neměly vliv na zlepšení nálady, což otevírá nové možnosti vyrábět z marihuany přípravky, které by nemohly být považovány za ilegální drogy (Pazdera, 2008).

Také britským vědcům z Nottinghamské univerzity v čele s mikrobioložkou Freya Harrison se zadařilo v boji s MRSA, když vyzkoušeli tisíc let starý recept na oční mast podle

středověké medicínské knihy známé pod názvem Bald's Leechbook. Dle autora knihy je mast určena k léčbě ječného zrna a k její přípravě je potřeba česnek, pór, víno, volská žluč a mosazná nádoba. Mast byla testována na infikovaných myších a z původního počtu několik miliard bakterií do druhého dne přežilo jen několik tisíc (Petr, 2015).

Pokrok učinili i Američané, kteří z bakterie rodu *Streptomyces* žijící na dně Tichého oceánu u Kalifornie, izolovali zcela novou látku anthramycin působící nejen na zlatého stafylokoka, ale také na antrax (Petrželka, 2013).

Naštěstí pokrok ve vývoji antibiotik přinesl nové látky s účinností proti MRSA, kterými jsou např. linezolid, quinpristin/dalfopristin, tigecyklin a vankomycin (Mazzulli, 2015a), jenž se dle Woff (2014) řadí mezi tzv. antibiotika poslední linie. Nicméně v roce 2002 americké centrum pro kontrolu nemocí CDC oznámilo resistenci i na vankomycin, neboť byla objevena jakási „superMRSA“ – VRSA (Mazzulli, 2015b). Japonci však upozorovali sníženou (střední) vnímavost označenou jako VISA o pět let dříve. Mechanismy resistance VISA a VRSA jsou odlišné a nejsou plně chápány (Mazzulli, 2015b).

Světová zdravotnická organizace WHO vysvětluje, že během 20. století byla objevena řada účinných antibiotik, avšak od roku 1987 již nedošlo k dalšímu posunu. Bakterie se začaly adaptovat a odolávat lékům a nyní si v Evropě a USA vyžadají minimálně 60 000 lidských životů ročně, přičemž rozvojovým zemím hrozí daleko větší nebezpečí. Komise pověřená britským premiérem Davidem Cameronem konstatuje, že pokud se dosavadní vývoj nezvrátí, v roce 2050 rezistentní bakterie jako MRSA a VRSA zabijí přes 10 miliónů lidí ročně, což je více než počet lidí umírajících v dnešní době na rakovinu, cukrovku, autonehody, průjmová onemocnění a HIV/AIDS dohromady (Woff, 2014). Vývoj antibiotik ale nedokáže udržet s bakteriemi jako je *S. aureus* krok, neboť léky ztrácejí účinnost dříve, než se jejich výrobci stačí vrátit investice, a tak vědci raději hledají účinnou ochranu v podobě vakcíny. Tým Olafa Scheneewinda z University of Chicago objevil 19 bakteriálních proteinů, ze kterých vybral čtveřici vyvolávající nejsilnější imunitní odpověď u myší a vytvořili z nich očkovací látku. Zatímco 60 % očkovaných myší vystavených zlatým stafylokokům zvládlo nákazu bez potíží, neočkované podlely během šestatřiceti hodin. Vědci tak předpokládají, že by se v budoucnu mohli očkovat lidé vystavení zvýšenému riziku infekce (Petr, 2006). Hrdina *et al.* (2004) jako prevenci doporučuje dodržovat hygienické zásady při přípravě stravy a omezit v letním období riziková jídla, kterými jsou např. majonézy a saláty. Woff (2014) navíc varuje před zbytečným užíváním antibiotik zejména proti virovým chorobám, na které antibiotika nemají účinek.

2.3.2.2 Léčba MRSA

MRSA je nemocniční nákaza, jež vyžaduje přísné dodržování zásad bariérové ošetrovatelské péče. Při léčbě se užívají protistafylokoková antibiotika – cefalosporiny či linkosamidy. Ve vážnějších případech se infekce léčí vanriny či teikoplaninem. Na hojení ran se proti MRSA používá Acicoat - antimikrobiologické krytí s obsahem stříbra. Při hospitalizaci je pacient izolován na samostatný označený pokoj, k jehož vchodu je položena rohož napuštěná 0,5% Persterilem. Celková návštěvnost pokoje je značně omezená a vstup je povolen pouze vyčleněnému zdravotnickému personálu nutnému k zajištění péče (Kratochvílová, 2015; Šenkýřová, 2006). V průběhu hospitalizace se úklid a dezinfekce izolovaného pokoje provádí 3x denně a to pouze pomůckami učenými pro úklid izolace (Šenkýřová, 2006), přičemž Kratochvílová (2015) dodává, že se izolovaný pokoj na oddělení uklízí jako poslední. Výměna lůžkovin je prováděna minimálně 1x denně, stejně jako osobní hygiena pacienta, ke které se používá antimikrobiální emulze s účinností na MRSA např. Braunosan, Lifo scrub, Stellisept scrub či Skinman scrub. Po omytí emulzí je tělo pacienta omyto vhodným antiseptikem - Braunolem, nejlépe ponořením do vany. Dutina ústní, nos a uši se vymývají dezinfekčním roztokem Braunolem či Octeniseptem (Šenkýřová, 2006). Režimová opatření mohou být ukončena oddělením nemocniční hygieny po třech po sobě jdoucích negativních bakteriologických vyšetřeních (Kratochvílová, 2015; Šenkýřová, 2006).

2.4 Aspergillus

Aspergillus představuje rod plísní, který popsal italský botanik Pier Antonio Micheli v roce 1729 a jehož taxonomické zařazení znázorňuje Tab. 4. Jeho český název „kropidlák“ mu byl přidělen na základě podobnosti průřezu rozmnožovacího orgánu s kropítkem. Tato nepohlavní rozmnožovací struktura je tvořena konidioforem na vrcholu zakončeným rozšířeným kulovitým měchýřkem nesoucím konidiogenní lahvicovité buňky – fialidy, pod kterými se obvykle nacházejí ještě metuly. Fialidy jsou na vrcholu zúženy v krček, kterým bazipetálně vypučí mladé konidie často se spojující plazmatickými můstky (konektivy) v řetízek, na jehož konci se nacházejí nejstarší konidie, které se postupně odškrcují (Malíř & Ostrý, 2003).

Dle Suchý & Herzig (2005) lze plísně rozdělit na 3 skupiny: polní, skladištní a polní i skladištní. *Aspergillus* je řazen mezi skladištní plísně, jejichž spory roznášejí především roztoči a skladištní škůdci. Ovšem díky oteplování Země se zde mohou začít tyto plísně objevovat již na poli, takže rozdělení na polní a skladištní zřejmě brzy padne. Pokud mají plísně vhodné podmínky může docházet k různým biochemickým procesům souhrnně označovaným

jako sekundární metabolismus, jehož výsledkem je produkce mykotoxinů (aflatoxinů – podrobněji popsány v podkapitole 2.4.1), z nichž některé se ukázaly být toxické pro člověka i zvířata (Suchý & Herzig, 2005). Pro tvorbu AF jsou důležité optimální teplotní (25-32 °C) a vlhkostní (více než 60 %) podmínky (Dhanasekaran *et al.*, 2011), za kterých jsou dle Hrdina *et al.* (2004) tyto plísňe schopné produkovat AF téměř na každém organickém substrátu včetně všech zemědělských komodit, přičemž Suchý & Herzig (2005) k nejčastěji napadeným řadí obiloviny, luskoviny, olejniny, ovoce, zeleninu a řadu dalších. Po kolonizaci plodiny začnou plísňe pomocí anaerobního dýchání využívat živiny pro svůj metabolismus, čímž dochází ke snížení nutriční hodnoty projevující se poklesem obsahu sacharidů, tuků a esenciálních aminokyselin – lysinu, cysteinu a argininu. Navíc konzumace kontaminovaných potravin může způsobit onemocnění zvané aflatoxikóza (detailněji v podkapitole 2.4.2) (Suchý & Herzig, 2005).

	Impérium	Říše	Oddělení	Řád	Čeleď	Rod
Latinsky	<i>Eukaryota</i>	<i>Fungi</i>	<i>Ascomycota</i>	<i>Eurotiales</i>	<i>Trichocomaceae</i>	<i>Aspergillus</i>
Česky	Jaderní	Houby	Vřeckovýtrusné	Plesnivkotvaré	Plíšíňovkovité	Kropidlák

Tab. 4 Systematické zařazení plísně rodu *Aspergillus*

2.4.1 Aflatoxiny

AF představují nejznámější a vědecky nejprobádanější skupinu mykotoxinů. Jedná se o sekundární metabolity produkované toxinogenními vláknitými mikroskopickými houbami (plísněmi) rodu *Aspergillus*, zejména druhy ze sekce *Flavi* – z nichž nejvýznamnější zástupci jsou *A. flavus* a *A. parasiticus*. (Malíř & Ostrý, 2012). Tyto hepatotoxické a hepatokarcinogenní látky vzbudily pozornost začátkem 60. let, kdy v Anglii došlo k epidemii označované jako tzv. krůtí X onemocnění, při kterém uhynulo více než 100 000 krů'at po zkonzumování krmiva s obsahem kontaminované arašídové mouky (Hrdina *et al.*, 2004; Klaban, 2005; Mangipudy & Mehendale, 2005). AF se obecně vyskytují spíše v teplejších klimatických podmínkách, takže u nás se přirozeně moc nevyskytují. Mohou však být importovány z tropických či subtropických oblastí obilninami a dalšími komoditami (Suchý & Herzig, 2005), jejichž konzumace pro spotřebitele představuje značné zdravotní riziko (Klaban, 2005). Dle Malíř & Ostrý (2012) ke kontaminaci potravin AF dochází přirozeně a nelze jí nijak zamezit, ani při dodržování správné technologické zemědělské praxe. Hlavní zdroj kontaminace představuje kontaminované pole zejména v období sucha a dalších stresů umožňujících poškození rostliny hmyzem, díky kterému je napadení rostliny plísněmi usnadněno, a nevhodné podmínky skladování (Klaassen, 2007).

Dosud bylo identifikováno přibližně 20 AF, z nichž nejběžnější a přirozeně se vyskytující typy v potravinách a krmivech jsou AFB₁, AFB₂, AFG₁ a AFG₂, jejichž struktura je detailněji popsána v podkapitole 2.4.1.1 (Malíř & Ostrý, 2012). Tato označení jim byla přidělena na základě jejich modrého (B – z angl. blue) nebo zeleného (G – z angl. green) fluorescenčního zbarvení pod UV zářením (Dhanasekaran *et al.*, 2011; Lizárraga-Paulín *et al.*, 2011), kterého se dle Klaban, (2005) využívá při jejich detekci metodou TLC. Další dva známé AF, resp. metabolity, jsou M₁ a M₂, jenž byly nalezeny v mléce a moči zvířat dříve vystaveným AFB₁ a AFB₂ (Dhanasekaran *et al.*, 2011). Mléčné výrobky z kontaminovaného mléka tak představují riziko zvláště pro kojence, neboť dle Mangipudy & Mehendale (2005) se tyto aktivní karcinogenní metabolity vylučují i do mateřského mléka. Kromě mléka byly AF nalezeny také v dalších živočišných produktech, jako jsou vejce (Lizárraga-Paulín *et al.*, 2011).

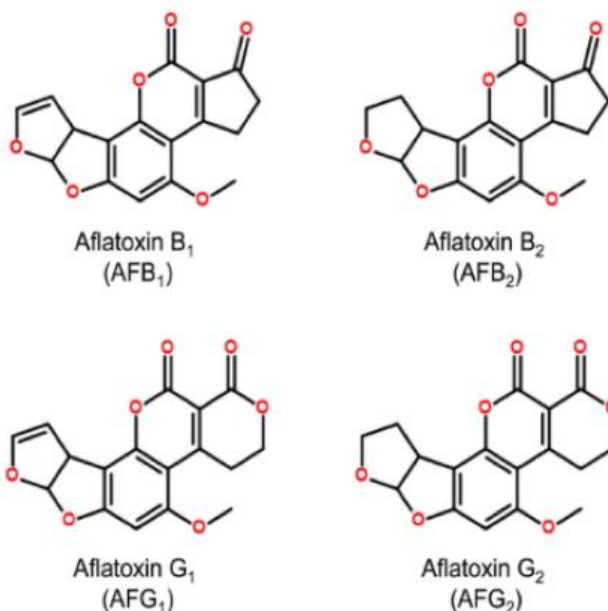
AFB₁ se vyskytuje nejčastěji a je toxikologicky nejvýznamnější (Hrdina *et al.*, 2004; Malíř & Ostrý, 2012; Klaban, 2005), neboť spolu s AFG₁ prokazují karcinogenní účinky (Klaassen, 2007), díky kterým je AFB₁ dle IARC řazen do skupiny 1, tedy do skupiny prokázaných karcinogenů pro člověka (Ostrý *et al.*, 2016). Dle Hrdina *et al.* (2004) se hodnoty LD₅₀ při perorálním podání AFB₁ pohybují v závislosti na živočišném druhu v rozmezí 0,4-18 mg/kg. Oproti tomu Dhanasekaran *et al.* (2011) uvádí širší rozmezí LD₅₀ 0,025-17,9 mg/kg, neboť do údajů zahrnuje i mláďata a zvířecí embrya, takže jako nejcitlivější uvádí kachně a králíka (LD₅₀ 0,3 mg/kg), avšak v Tab. 5 lze vidět, že embryo kuřete je daleko citlivější (LD₅₀ 0,025 mg/kg), a naopak nejtolerantnější je krysí samice (LD₅₀ 17,9 mg/kg). Obecně platí, že samice jsou odolnější než samci, stejně tak dospělá zvířata jsou odolnější než mláďata. Rozdíly v odolnosti mohou být způsobeny odlišnými biotransformačními cestami mezi druhy (Diaz & Murcia, 2011). Pro člověka animální potraviny představují nižší riziko než vegetabilní, neboť v průběhu trávení je část mykotoxinů ve zvířecím organismu inaktivována. (Suchý & Herzig, 2005). E. Ranft v roce 1975 uvedl 25 mg jako možnou akutní toxickou dávku pro 70kg člověka (Klaban, 2005).

Druh	LD ₅₀ (mg/kg)	Druh	LD ₅₀ (mg/kg)
Embryo kuřete	0,025	Krysa (samice)	17,9
Kachně	0,3	Králík	0,3
Krůta	0,5	Kočka, prase	0,6
Kuře New Hampshire	2,0	Morče	1,4
Kuře Rhode Island	6,3	Křeček	10,2
Ovce	5,0	Myš	9,0
Krysa (samec)	7,2	Pavián	2,0

Tab. 5 Porovnání hodnot LD₅₀ při perorálním podání AFB₁ dle zvířecího druhu

2.4.1.1 **Struktura aflatoxinů**

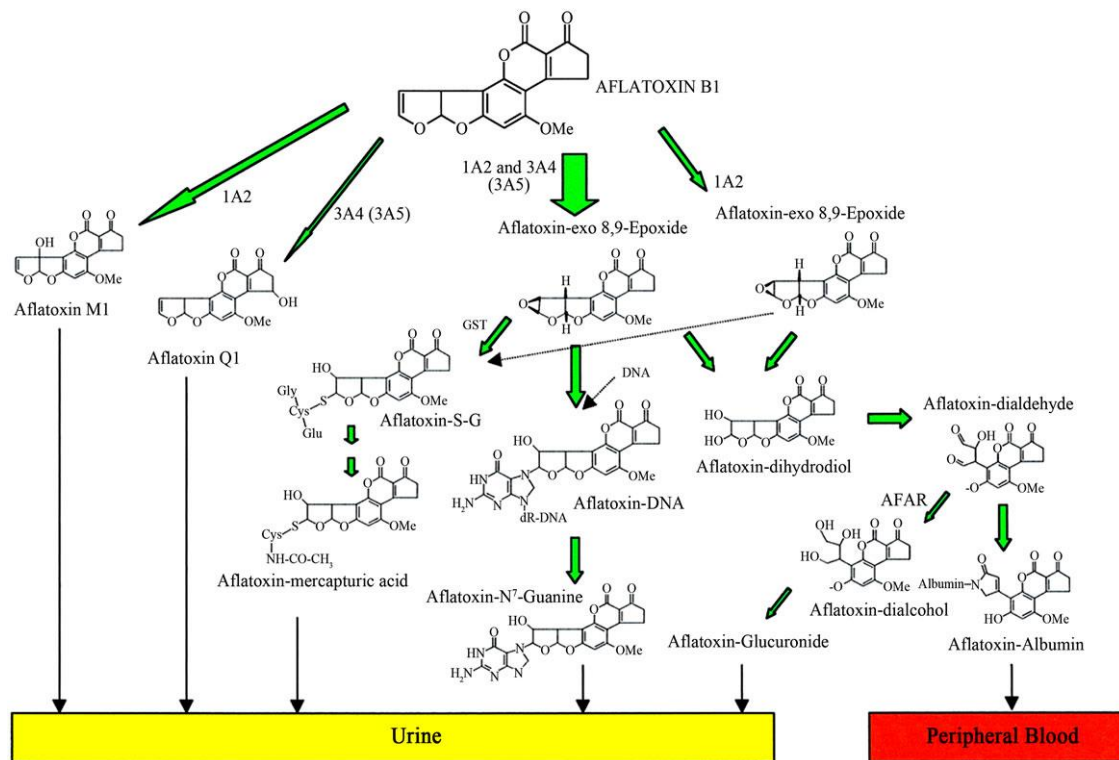
AF jsou chemicky polycyklické, nenasycené, vysoce substituované kumariny (viz Obr. 5) (Malíř & Ostrý, 2012). Jejich konstrukce se skládá z bifuranového kruhu napojeného na kumarinové jádro s pentenonovým kruhem u B a M aflatoxinů nebo šestičlenným laktonovým kruhem u G aflatoxinů (Dhanasekaran *et al.*, 2011).



Obr. 5 Molekulární struktura čtyř základních aflatoxinů

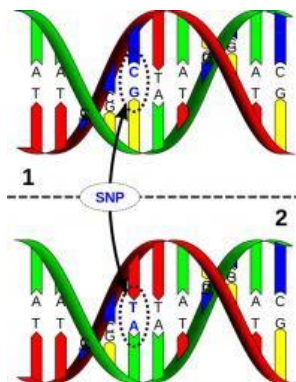
2.4.1.2 **Mechanismus působení AFB₁**

AFB₁ je primárně netoxický a jeho transformace na reaktivní formy je závislá na biochemické aktivaci pomocí enzymů či UV záření. (Stark, 2005). AFB₁ je nejprve absorbován v tenkém střevě, zejména ve dvanáctníku, avšak většina toxinu je primárně metabolizovaná až v játrech, kde je oxidována skupinou enzymů CYP450 (viz Obr. 6) (Monson *et al.*, 2015). Čtyři základní enzymové izoformy této skupiny jsou CYP1A2 - hlavní metabolizátor, CYP3A4, CYP3A5 a CYP3A7. CYP1A2 se uplatňuje při nízkých koncentracích AFB₁ a metabolizuje ho na reaktivní meziprodukt AFBO či na méně toxický AFM₁. Oproti tomu CYP3A4 se uplatňuje při vyšších koncentracích a je schopen jak aktivace, tak detoxifikace, takže dává vznik toxickému AFBO či netoxickému metabolitu AFQ₁. CYP3A5 metabolizuje AFB₁ především na AFBO a mnohem méně na AFQ₁. CYP3A7 se nachází v lidských fetálních játrech, kde metabolizuje AFB₁ na AFBO (Bbosa *et al.*, 2013).



Obr. 6 Metabolizace AFB₁

Oxidací AFB₁ vzniká reaktivní metabolit AFBO (Monson *et al.*, 2015), jenž se dále váže na DNA, RNA a bílkoviny pomocí kovalentní vazby (Malíř & Ostrý, 2012), která je dle Stark (2005) odpovědná za akutní toxicitu, mutagenitu a karcinogenní účinky. Dle Monson *et al.* (2015) může být endo-AFB₁-8,9-epoxid též produkován, avšak z toxického hlediska je oproti jeho exo stereoisomeru méně významný. AFBO reaguje s N⁷ atomem guaninu a vytváří pro-mutagení DNA adukt AFB₁-N⁷-guanin, který je nestabilní a podstupuje depurinaci, což vede k jeho vylučování. (Bbosa *et al.*, 2013). Díky tvorbě takových aduktů dochází k chybnému párování bází v DNA a vzniká tzv. transverzní mutace G:C na T:A ve třetí bázi v kodonu 249 tumor supresorového genu p53 (viz Obr. 7) (Bbosa *et al.*, 2013; Monson *et al.*, 2015). V důsledku takto poškozené DNA vznikají mutace a hepatocelulární karcinomy (Bbosa *et al.*, 2013).



Obr. 7 Jednonukleotidový polymorfismus (SNP) – transverzní mutace C:G na T:A

Zatímco vazba vzniklých AFB₁-DNA či AFB₁-RNA aduktů je přímá a inhibuje replikaci, transkripci a proteinové syntézy, vazba s proteinem vyžaduje přeměnu tohoto oxidu na AFB₁-8,9-dihydrodiol pomocí epoxyhydrolasy (Stark, 2005). Většina primárních metabolitů je dále detoxikována a eliminována močí nebo stolicí (Hrdina *et al.*, 2004). Například enzym GST zprostředkovává reakci nazývanou konjugace, při které dojde ke sloučení 8,9-epoxidu s endogenní sloučeninou glutathionem za vzniku méně toxického aduktu AFB₁-SG (Lizárraga-Paulín *et al.*, 2011), který je dle Stark (2005) přeměněn na kyselinu merkapturovou, jež je dále vylučována močí. Exo a endo-epoxydily mohou také podléhat rychlé neenzymatické hydrolyze na AFB₁-8,9-dihydrodiol a AFB₁-dialdehyd, který může reagovat lysinem v sérovém albuminu, což vede k AFB₁-albuminovým aduktům používaným jako biomarkery (Lizárraga-Paulín *et al.*, 2011). Aflatoxin-dialdehyd může být také redukován pomocí AFAR na aflatoxin-dialkohol (Diaz & Murica, 2011).

Kromě nejtoxičtějšího metabolitu AFBO jsou produkovány i další metabolity - AFL, AFM₁, AFP₁ a AFQ₁ (Monson *et al.*, 2015), přičemž AFL se chová jako zásobárna AFB₁ prodlužující jeho životnost v těle, neboť může být přeměněn zpět na AFB₁, který pak může být dále metabolizován (Cao & Fan, 2011). Ostatní jmenované metabolity, AFM₁, AFP₁ a AFQ₁, vykazují dle Bbosa *et al.* (2013) menší toxicitu a mají snížený karcinogenní potenciál, ovšem AFM₁ si určitou karcinogenní aktivitu zachovává. Dokonce byl dle IARC v roce 2012 přeřazen ze skupiny 2B: „možných karcinogenů“, kam se dle (IARC, 1993) řadil již od roku 1993, do skupiny 1: „prokázaných karcinogenů“ (Ostrý *et al.*, 2016). Některé metabolity jsou v těle distribuovány do různých částí těla zvířete, a mohou tak být příčinou nebezpečných reziduí v živočišných produktech jako je např. mléko, maso a vejce (Suchý & Herzig, 2005).

AFB₁ je po požití zvířetem, např. dojným skotem, rychle absorbován v GIT a poté je transformován pomocí CYP1A2 na metabolit AFM₁, který se objevuje v krvi již po 15 minutách a poté je vylučován do mléka mléčnými žlázami (Anfossi *et al.*, 2011). Hrdina *et al.* (2004) uvádí, že 24 hodin po příjmu 300 ng/g AFB₁ se AFM₁ objeví v mléce v množství 1 ng/ml, přičemž z mléka opět vymizí až po 4-5 dnech od poslední konzumace AFB₁. Dle (Anfossi *et al.*, 2011) je navíc AFM₁ relativně tepelně odolný, tudíž zůstává zcela zachován i v pasterizovaném mléce, sušeném mléce či dokonce v dětské výživě. Vzhledem k vysoké denní spotřebě mléka a mléčných výrobků většina zemí zřídila maximální přípustné úrovně AFB₁ v krmivech a AFM₁ v mléce, které se však v různých zemích liší. Zatímco v USA je tolerované množství 500 ng/kg, v EU platí přísnější limit 50 ng/kg, avšak Itálie v roce 2004 udělala výjimku, když zvýšila limit na 450 ng/kg, aby chránila výrobu parmazánu, který byl v tomto roce vysoce kontaminován z důvodu předchozí kontaminace krmiva AFB₁. Nicméně, některé země se dokonce rozhodly

pro nulové tolerance (Rumunsko a Egypt), díky kterým získají maximální ochranu zdraví spotřebitele (Anfossi *et al.*, 2011).

2.4.2 Aflatoxikóza

Konzumace potravin kontaminovaných plísněmi produkujícími AF je hlavní způsob intoxikace (Stark, 2005), neboť dle Klaassen (2007) jsou plesnivé potraviny konzumovány po celém světě v době hladomoru či kvůli nedostatečné znalosti o jejich nepříznivých účincích na zdraví, mezi které Malíř & Ostrý (2012) řadí především karcinogenitu, teratogenitu, mutagenitu, hepatotoxicitu a imunotoxicitu. V případě bioteroristického útoku by tyto látky mohly být zneužity prostřednictvím kontaminace vody a potravin, avšak z důvodu potřeby velkého množství AF se tento způsob jeví jako ne příliš výhodný. Daleko výhodnějším způsobem pro bioteroristy zůstává disperze mykotoxinu přes ventilační systém veřejných budov či stanic metra, neboť tímto způsobem je možné docílit otravy mnoha lidí za relativně krátký čas (Stark, 2005). Např. v roce 1990 bylo v Iráku, spolu s výše uvedeným BTX a dále antraxem, vyrobeno 2200 litrů AF, přičemž 1580 litrů bylo použito pro naplnění munice pro válku v Perském zálivu (Dembek & Alves, 2011).

Otrava organismu po nadměrném příjmu AF se nazývá aflatoxikóza. Ta se může projevit v závislosti na dávce a čase ve dvou formách jako akutní či chronická (Suchý & Herzig, 2005). Akutní aflatoxikóza vzniká v důsledku příjmu velkého množství AF v rámci jedné dávky (Suchý & Herzig, 2005), což se podle Diaz & Murica (2011) projeví primárně hepatoxickým onemocněním, neboť dle Stark (2005) játra představují orgán s nejvyšší koncentrací aktivujících enzymů. Symptomy takového onemocnění jsou většinou deprese, anorexie, dušnost, chudokrevnost, krvácení a destrukce jater, ledvin, oběhového systému a CNS. Oproti tomu chronická aflatoxikóza vzniká v důsledku dlouhodobého příjmu nízkých dávek AF a většinou se projeví po delší době teratogenními, mutagenními a hlavně karcinogenními účinky, poškozenou krvetvorbou, narušením imunogeneze a v případě zvířat sníženou užitkovostí (Suchý & Herzig., 2005).

Dle Modrá *et al.* (2014) jsou v současnosti akutní aflatoxikózy spíše ojedinělé a vyskytují se sporadicky v rozvojových zemích. K jedné z největších otrav s následkem 125 úmrtí z 317 intoxikovaných došlo v Keni v dubnu roku 2004 po konzumaci kontaminované kukuřice (Lewis *et al.*, 2005), jejíž koncentrace AF se dle Modrá *et al.* (2014) pohybovala v rozmezí od 20 do 8000 µg/kg.

2.4.2.1 Antidotum

Z první poloviny 90. let 20. století přicházejí první zprávy o vývoji léku zvaného Oltipraz, chemicky derivát pyrazinu (Doležal, 2006), jenž je dle Stark (2005) účinný na karcinogenezi a zmírnění akutní toxicity. Původně byl tento lék vyvíjen pro léčbu schistizomiázy, tj. onemocnění způsobené tropickým parazitem krevničkou (*Schistosoma*) ze skupiny motolic (Doležal, 2006; Malíř & Ostrý, 2012). Později však bylo zjištěno, že tento lék indukuje tvorbu detoxifikačního enzymu GST (Doležal, 2006), jenž je dle Malíř & Ostrý (2012) odpovědný za zvýšené vylučování konečného produktu AFB₁-merkapturové kyseliny v moči. Protektivní účinek také spočívá v zamezení či snížení tvorby reaktivního AFBO inhibicí CYP540 1A4. V experimentech na zvířatech (hlodavcích, potkanech) byla prokázána snížená tvorba aduktů AF (např. DNA aduktů) a hepatokarcinogeneze (Malíř & Ostrý, 2012). Dle Speváková (2001) byl proveden pokus, při kterém byl dobrovolníkům podáván Oltipraz jednou týdně po dobu dvou měsíců, přičemž v moči jim bylo následně prokázáno dvojnásobné množství neutralizovaného AF než v moči dobrovolníků, kteří užívali placebo. Ačkoliv byl Oltipraz prokázán jako účinný v blokaci karcinogeneze u potkanů zprostředkované AFB₁, pro léčbu lidského hepatokarcinomu zůstává prozatím nedostatečně vyzkoušeným (Malíř & Ostrý, 2012).

3 Detoxikace organismu a protektivní význam vitamínu C

Očištění, posílení a celkové zregenerování veškerých buněk a tkání je životně důležité a lze ho dosáhnout pomocí detoxikace - odstranění toxinů z těla (Morse, 2006). U organismů se v průběhu evoluce vyvinulo mnoho detoxikačních mechanismů důležitých pro zachování jedince, neboť působením toxinů dochází postupně k nenávratnému poškození organismu a posléze k jeho zániku. U eukaryot se rozlišují dvě fáze detoxikace xenobiotik (Knejzlík *et al.*, 2000). Tyto fáze jsou obdobné biotransformačním fázím I a II popsáným výše v podkapitolách 1.2.3.1 a 1.2.3.2.

Mezi nejzatěžovanější detoxikační orgány patří především játra, ledviny a střeva. Pro správný chod všech dějů v organismu je důležitý přísun minerálů a vitamínů, kterých je v zimním období nedostatek. Takový deficit se v populaci projevuje zejména v jarních měsících tzv. jarní únavou a lidé mají tendenci detoxikovat svůj organismus (Obrovská, 2015). Dr. Robert Morse velmi detailně popisuje ve své knize *The Detox Miracle Sourcebook (2004)* čtyři hlavní nástroje napomáhající detoxikaci organismu - výplach jater a žlučníku, destilovanou vodu, ricinové obklady a studené zábaly. Ze všeho nejvíce nabádá čtenáře, aby se vyhýbali vaření a jedli až 80 % syrové stravy (ovoce, zeleninu), neboť pávě syrová alkalizovaná strava je ideálním prostředkem pro zahájení detoxikace (Morse, 2006).

Vitamin C, známý také pod názvem kyselina askorbová, urychluje aktivitu oxidoreduktas, díky čemuž se toxiny mnohdy nedostanou k receptorům, protože se noxa dříve vyloučí z organismu. Proto má vitamin C protektivní účinek (Peel, 2006). Jeho význam spočívá nejen v řadě metabolických pochodů, ale rovněž hraje důležitou roli v imunitním systému, kde napomáhá stimulaci leukocytů a produkci protilátek (Obrovská, 2015). Člověk však není schopen vlastní syntézy vitamínu C, a tak je plně závislý na jeho příjmu z potravy (Patočka & Strunecká, 2011). Obrovská (2015) uvádí DDD u zdravého jedince 70-100 mg, přičemž Fajfrová & Pavlík (2013) uvádějí minimální dávku 8-10 mg/den. K účinné léčbě onemocnění, jejichž součástí je oxidativní stres, jsou však potřeba dávky askorbátu 10-15 krát vyšší. K dosažení takové hladiny je třeba infúze vysokých dávek vitamínu C (7,5-15 g), neboť jeho vstřebávání při perorálním podání je značně omezené (Gerbera, 2012).

Vitamin C je rozpustný ve vodě a předávkování jím je tedy velmi vzácné, neboť příliš vysoké dávky zrychlují renální exkreci (Fajfrová & Pavlík, 2013), při které je nadbytek askorbátu vyloučen nepozměněn (Gerbera, 2012). Možná akumulace vitamínu C v těle je odborníky málo respektována (Patočka & Strunecká, 2011).

Vědci ve svých výzkumech sledovali vliv vitamínu C v kombinaci s vitamínem K₃ (menadionem) na růst 30 typů rakovinných nádorů jak u zvířat, tak u lidí. Zjistili, že kombinace těchto vitaminů v poměru 100:1 je velmi užitečná jako příprava na chemoterapii, neboť zajistí odumírání nádoru v období mezi etapami chemoterapie i po jejím ukončení. Produkt byl pojmenován Apaton a FDA ho povolil užívat pro terapii metastáz a nádorů neoperabilní rakoviny močového měchýře v klinických zkouškách. Ačkoliv Apaton zatím není na trhu dostupný, jejich autoři věří, že tento moderní způsob chemoterapie výrazně zlepší kvalitu života nemocného, neboť mezi hlavní přednosti léku patří zejména absence vedlejších toxických účinků a nízká cena (Patočka & Strunecká, 2011).

Závěr

V této práci byla podrobně zpracována problematika čtyř potravinářsky významných mikroorganismů (*Clostridium botulinum*, *Salmonella enterica*, *Saphylococcus aureus* a plísně rodu *Aspergillus*) a jejich toxinů představujících pro člověka, jako konzumenta, značná zdravotní rizika. Ve snaze poskytnout, co nejvíce objektivních informací je zde prezentovaná práce rozsáhlejší.

Práce byla rozdělena do tří částí. V první části *Úvod do toxikologie* byly popsány obecné věci vztahující se k toxikologii jako samostatné vědě studující nepříznivé účinky xenobiotik na živé organismy a též byly uvedeny její disciplíny od obecné toxikologie přes klinickou, soudní, vojenskou, po toxikologii přírodních látek, léčiv, životního prostředí a další. Dále byl popsán organotropismus - schopnost cílového působení xenobiotika na daný orgán či orgánovou soustavu, přičemž příkladem mohou být hepatotoxiny působící nepříznivě na hepatocyty či celou jaterní tkáň. Velmi důležitou část tvoří toxikokinetika - osud xenobiotik v organismu, počínaje jejich absorpcí odehrávající se na více vstupních branách. Ve vztahu k tématu práce byla popsána pouze absorpce GIT představující u běžné populace nejčastější způsob přívodu xenobiotika do organismu. Ovšem absorpce plícemi má pro některé uvedené toxiny (BTX, SEB, AF) též obrovský význam, neboť jsou atraktivní pro biologickou válku v podobě aerosolů – např. 1 g inhalovaného rozptýleného BTX má potenciál zabít milión lidí, přičemž v historii v roce 1990 bylo vyrobeno takové množství BTX, které by dokázalo 3x vyhladit veškeré lidstvo na Zemi. Navazujícími procesy jsou distribuce a biotransformace, jež je z hlediska zachování organismu důležitá, neboť při ní obvykle dochází ke snížení toxicity dané látky – proto pro člověka animální potraviny představují nižší riziko než vegetabilní. Ovšem může nastat i opačný proces, při kterém metabolizací vzniká látka toxičtější, než byla primárně – takový proces je v toxikologii označován jako bioaktivace, toxikace či letální syntéza. Finálním procesem je exkrece xenobiotika z organismu zejména močí, stolicí, žlučí a dalšími tělními tekutinami, dokonce i mlékem a to nejen kravským, ale i mateřským - viz případ AFM₁ (metabolitu AFB₁) řazeného dle IARC do skupiny 1: „*prokázaných karcinogenů*“, což představuje riziko pro kojence. Některé metabolity mohou být rovněž přítomné i v dalších živočišných produktech (maso, vejce). Následná kumulace toxinů v organismu po jejich konzumaci může mít za následek nepříznivé účinky, zejména karcinogenní, teratogenní, mutagenní, hepatotoxické a imunotoxické.

Ve druhé kapitole *Významné patogenní mikroorganismy* byly podrobně popsány čtyři zmíněné mikroorganismy a jejich toxiny způsobující řadu různých onemocnění. Tab. 6

charakterizuje toxiny svým původcem, letální dávkou při perorálním podání, charakteristickým onemocněním, antidotem a výskytem v potravinách. Nejtoxičtější látka je jednoznačně BTX, neboť je při perorálním podání několikaset násobněji toxičtější, než AFB₁. V případě SEB letální dávka není uvedena, neboť jeho účinek je spíše zneschopňující. Obdobně endotoxiny nemají uvedenou letální dávku, namísto toho je známá infekční dávka 100 miliónů bakterií, přičemž v endemických oblastech postačí k vyvolání onemocnění i několik desítek tisíc. Všechny typy uvedených mikroorganismů a jejich toxinů se mohou vyskytnout v různých potravinách, přičemž pro všechny zmíněné se společným substrátem jeví především maso, masné výrobky a zelenina.

Toxin	Původce	LD *	Onemocnění	Antidotum	Výskyt v potravinách
BTX	<i>Clostridium botulinum</i>	70	Botulismus	bivalentní antitoxin (A,B), trivalentní koňský antitoxin (A,B,E), heptavalentní koňský antitoxin (A-G), pentavalentní vakcína (A-E)	Masové, zeleninové a ovocné konzervy, klobásy, med,..
SEB	<i>Staphylococcus aureus</i>	-	Stafylokoková enterotoxikóza	Penicilin, Methicilin Linetolid, Quinpristin/Dalfopristin, Tigecyklin, Vankomycin	Majonézy vejce, mléko, zeleninové saláty, cukrářské a masné výrobky, smetan. omáčky,..
Endotoxin	<i>Salmonella enterica</i> (<i>S. Enterica</i> , <i>S. Typhimurium</i>)	-	Břišní tyfus (BT) Salmonelóza (S)	BT: Chloramfenikol, ampicilin, amoxicilin, biseptol S: Smecta, Endiaron, živočišné uhlí	Maso, živočišné a rostlinné produkty
AFB₁	<i>Aspergillus</i> , sekce Flavi	25 tis.	Akutní/ Chronická aflatoxikóza	Oltipraz	obilniny, vejce, luštěniny, olejniný, ořechy, ovoce, zelenina, mléko, maso,..

Tab. 6 Přehled charakteristik toxinů (*LD = letální dávka v µg při perorálním podání člověku o hmotnosti 70 kg)

V poslední kapitole *Detoxikace organismu a protektivní význam vitamínu C* byla popsána problematika vnitřní očisty lidského organismu zejména alkalizovanou syrovou stravou, jež je důležitá pro zahájení detoxikace. Vitamin C byl uveden jako velmi důležitý, zejména díky jeho protektivním účinkům před toxiny a také díky účasti v imunitním systému. Pozoruhodná je také jeho kombinace s vitamínem K₃ tvořící v poměru 1:100 produkt zvaný Apaton, který byl shledán užitečným při léčbě nádorových onemocnění.

Použitá literatura

ANFOSSI, L., BAGGIANI, C., GIOVANNOLI, C. & GIRAUDI, G. Occurrence of aflatoxin M1 in dairy products. In *TORRES-PACHECO, I. Aflatoxins - Detection. Measurement and Control*. Croatia : INTECH, 2011, s. 3–20. ISBN 978-953-307-711-6.

ANONYMOUS. *Systém rychlého varování pro potraviny a krmiva* [online]. 2015, Informační centrum bezpečnosti potravin. Dostupné z WWW: <<http://www.bezpecnostpotravin.cz/stranka/system-rychleho-varovani-pro-potraviny-a-krmiva-%28rasff%29.aspx>>.

ARGUDÍN, M.Á., MENDOZA, M.C. & RODICIO, M.R. Food poisoning and Staphylococcus aureus enterotoxins. *Toxins*, 2010, vol. 2, no. 7, s. 1751–1773.

ARNON, S.S., ROBERT SCHECHTER, M.D., INGLESBY, T.V., HENDERSON, D.A., BARTLETT, J.G. *et al.* Botulinum Toxin as a Biological Weapon: Medical and Public Health Management. *Journal of the American Medical Association*, 2001, vol. 285, no. 8, s. 1059-1070.

BBOSA, G.S., KITUYA, D., ODDA, J. & OGWAL-OKENG, J. Aflatoxins metabolism, effects on epigenetic mechanisms and their role in carcinogenesis. *Health*, 2013, vol. 2013.

BRENNER, F.W., VILLAR, R.G., ANGULO, F.J., TAUXE, R. & SWAMINATHAN, B. Salmonella nomenclature. *Journal of clinical microbiology*, 2000, vol. 38, no. 7, s. 2465–2467.

BRYME, M.P. & SMITH, L.A. Development of vaccines for prevention of botulism. *Biochimie*, 2000, vol. 2000, no. 82, s. 955–966.

CAO, H.-X. & FAN, J.-G. The Molecular Pathogenesis of Aflatoxin with Hepatitis B Virus-Infection in Hepatocellular Carcinoma. In *GUEVARA-GONZÁLEZ, R. G. Aflatoxins - biochemistry and molecular biology*. Croatia : INTECH, 2011, s. 163–176. ISBN 978-953-307-395-8.

CUPÁKOVÁ, Š., NECIDOVÁ, L. & KARPÍŠKOVÁ, R. *Salmonella sp.* [online]. 2011a, Bakteriální původci alimentárních onemocnění. Dostupné z WWW: <<http://cit.vfu.cz/alimentarni-onemocneni/>>.

CUPÁKOVÁ, Š., NECIDOVÁ, L. & KARPÍŠKOVÁ, R. *Průkaz schopnosti tvorby biofilmů* [online]. 2011b, Bakteriální původci alimentárních onemocnění. Dostupné z WWW: <<http://cit.vfu.cz/alimentarni-onemocneni/>>.

DECARVALHO, J.P. *Botulinum Toxin* [online]. 2014, Toxipedia connecting science and people. (Cit. 23.7.2015). Dostupné z WWW: <<http://www.toxipedia.org/display/toxipedia/Botulinum+Toxin>>.

DĚDIČOVÁ, D. & KARPÍŠKOVÁ, R. Nová revize Kauffmannova-Whiteova schématu pro identifikaci salmonel. *Zprávy epidemiologie a mikrobiologie*, 2009, vol. 18, no. 3, s. 99-100. ISSN 1803-6422.

DEMBEK, Z.F. & ALVES, D.A. *Medical Management of Biological Casualties Handbook 7*. vyd. USAMRIID, 2011. ISBN 978-0-16-090015-0.

DHANASEKARAN, D., PANNEERSELVAM, A., THAJUDDIN, N. & SHANMUGAPRIYA, S. Aflatoxins and aflatoxicosis in human and animals. In GUEVARA-GONZÁLEZ, R. G. *Aflatoxins - biochemistry and molecular biology*. Croatia : INTECH, 2011, s. 221–254. ISBN 978-953-307-395-8.

DIAZ, G.J. & MURCIA, H.W. Biotransformation of aflatoxin B1 and its relationship with the differential toxicological response to aflatoxin in commercial poultry species. In GUEVARA-GONZÁLEZ, R. G. *Aflatoxins - biochemistry and molecular biology*. Croatia : INTECH, 2011, s. 3–20. ISBN 978-953-307-395-8.

DOLEŽAL, M. Biologicky aktivní pyraziny přírodního a syntetického původu. *Chem. Listy*, 2006, vol. 100, s. 959–966.

ENRIGHT, M.C., ROBINSON, D.A., RANDLE, G., FEIL, E.J., GRUNDMANN, H. & SPRATT, B.G. The evolutionary history of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2002, vol. 99, no. 11, s. 7687-7692.

ETZEL, R. Mxco toxins. *J. Am. Med. Assoc.*, 2002, vol. 287, no. 4, s. 425–427.

FAJFROVÁ, J. & PAVLÍK, V. Vitaminy, jejich funkce a využití. *Med praxi*, 2013, vol. 10, no. 2, s. 81–84.

FRIDRICHOVÁ, M. *Korekce vrásek aplikací botulotoxinu* [online]. 2012. (Cit. 24.7.2015). Dostupné z WWW: <<http://digilib.k.utb.cz/handle/10563/22364>>.

GERBERA, W.D. Vitamin C – nové pohledy na terapeutický potenciál. *Zdravotnické noviny*, 2012, no. 18, s. 14–16.

GIACCONE, V., ALBERGHINI, L. & CATELLANI, P. Food as cause of human salmonellosis. In MAHMOUD, B. S. M. *Salmonella - A dangerous foodborne pathogen*. Croatia : INTECH Open Access Publisher, 2012, s. 47–72. ISBN 978-953-307-782-6.

GÓMEZ-ALDAPA, C.A., VILLARRUEL-LÓPEZ, A., CASTRO-ROSAS, J. & DEL REFUGIO TORRES-VITELA, M. The role of foods in *Salmonella* infections. In MAHMOUD, B. S. M. *Salmonella - A dangerous foodborne pathogen*. Croatia : INTECH Open Access Publisher, 2012, s. 21–46. ISBN 978-953-307-782-6.

GRIMONT, P.A. & WEILL, F.-X. *Antigenic formulae of the Salmonella serovars* 9. vyd. Paris : WHO Collaborating Centre for Reference and Research on Salmonella, Institut Pasteur, Paris, France, 2007.

HRDINA, V., HRDINA, R., JAHODÁŘ, L., MARTINEC, Z. & MĚRKA, V. *Přírodní toxiny a jedy*. Praha : Galén, 2004. ISBN 80-7262-256-0.

HRNČÍŘOVÁ, D. & RAMBOUSKOVÁ, J. *Prevence onemocnění z potravin* [online]. Ministerstvo zemědělství ČR, Ústav zemědělských a potravinářských informací, 3 lékařská fakulta Univerzity Karlovy, 2007. (Cit. 25.9.2015). Dostupné z WWW: <<http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:YYmapyx7LzcJ:www.bezpecnostpotravin.cz/userfiles/file/publikace/sbornik-07.pdf+&cd=1&hl=cs&ct=clnk&gl=cz>>.

IARC. *IARC Monographs on the evaluation on of carcinogenic risk in human, Some Naturally Occurring Substances: Food Items and Constituents, Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins. vol. 56.* Lyon : IARC, 1993. ISBN 92 832 1256-8.

KARALEWITZ, A.P.-A. & BARBIERI, J.T. Vaccines against Botulism. *Current Opinion in Microbiology*, 2012, vol. 15, no. 3, s. 317–324. ISSN 13695274.

KLAASSEN, C. *Casarett & Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons 7. vyd.* McGraw Hill Professional, 2007. ISBN 978-0-07-147051-4.

KLABAN, V. *Ilustrovaný mikrobiologický slovník.* Praha : Galén, 2005. ISBN 80-7262-341-9.

KLÁNOVÁ, K. *Plísň v domě a bytě: odstraňování a prevence.* Praha : Grada Publishing a.s., 2013. ISBN 978-80-247-8827-2.

KNEJZLÍK, Z., KÁŠ, J. & RUML, T. Mechanismus vstupu xenobiotik do organismu a jejich detoxikace. *Chem. listy*, 2000, vol. 94, s. 913–918.

KRATOCHVÍLOVÁ, J. *Doporučený postup pro kontrolu epidemiologických závažných bakteriálních kmenů* [online]. 2015. (Cit. 31.8.2015). Dostupné z WWW: <http://www.sneh.cz/_soubory/_clanky/3.pdf>.

KRHUT, J. Botulotoxin–struktura, mechanismus účinku a klinické použití. *Urolog. pro Praxi*, 2006, vol. 5, s. 278–282.

KŘÍŽOVÁ, P. & PETRÁŠ, P. *Syndrom toxického šoku* [online]. 2012, Státní zdravotní ústav. (Cit. 25.9.2015). Dostupné z WWW: <<http://www.szu.cz/tema/prevence/syndrom-toxickeho-soku>>.

KÜMPEL, P. & PETRÁŠ, M. Očkování před cestou do zahraničí. *Med. Pro Praxi*, 2006, no. 3, s. 115–117.

LE LOIR, Y., BARON, F. & GAUTIER, M. Staphylococcus aureus and food poisoning. *Genet Mol Res*, 2003, vol. 2, no. 1, s. 63–76.

LEWIS, L., ONSONGO, M., NJAPAU, H., SCHURZ-ROGERS, H., LUBER, G., *et al.* Aflatoxin Contamination of Commercial Maize Products during an Outbreak of Acute Aflatoxicosis in Eastern and Central Kenya. *Environ Health Perspect*, 2005, vol. 113, no. 12, s. 1763–1767.

LINGEA S.R.O., KOLEKTIV AUTORŮ. *Wazzup? Slovník slangu a hovorové angličtiny.* Brno : Lingea s.r.o., 2008. ISBN 978-80-87062-31-9.

LIZÁRRAGA-PAULÍN, E.G., MORENO-MARTÍNEZ, E. & MIRANDA-CASTRO, S.P. Aflatoxins and their impact on human and animal health: An emerging problem. In *GUEVARA-GONZÁLEZ, R. G. Aflatoxins - biochemistry and molecular biology.* Croatia : INTECH Open Access Publisher, 2011, s. 255–282. ISBN 978-953-307-395-8.

MACELA, A. *Infekční choroby a intracelulární parazitismus bakterií.* Grada Publishing a.s., 2006. ISBN 80-247-0664-4.

MALÍŘ, F. & OSTRÝ, V. Aflatoxiny – toxické účinky u člověka. *Kontakt*, 2012, vol. 14, no. 1, s. 85–93. ISSN 1804-7122.

MALÍŘ, F. & OSTRÝ, V. *Vláknité mykromycety (plísňe), mykotoxiny a zdraví člověka*. Brno : Národní centrum ošetřovatelství a nelékařských zdravotnických, 2003. ISBN 80-7013-395-3.

MANGIPUDY, R.S. & MEHENDALE, H.M. Aflatoxin. In WEXLER, P. *Encyclopedia of Toxicology - Vol. 1*. Elsevier Inc., 2005, s. 54–55. ISBN 0-12-745354-7.

MAZZULLI, T. *Meticilin resistant staphylococcus aureus* [online]. 2015a, Canadian Antimicrobial Resistance Alliance. (Cit. 7.9.2015). Dostupné z WWW: <<http://www.can-r.com/mediaResources/MRSA.pdf>>.

MAZZULLI, T. *Vancomycin resistant Staphylococcus aureus (VRSA)* [online]. 2015b, Canadian Antimicrobial Resistance Alliance. (Cit. 6.9.2015). Dostupné z WWW: <<http://www.can-r.com/mediaResources/VRSA.pdf>>.

MODRÁ, H., SVOBODOVÁ, Z., ŠIROKÁ, Z. & BLÁHOVÁ, J. *Toxikologie potravin - vybrané kapitoly* [online]. Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, 2014. (Cit. 27.9.2015). Dostupné z WWW: <<http://www.vfu.cz/inovace-bc-a-navmgr/realizovane-klicove-aktivity/skripta/lis-2013-2014/toxikologie-potravin---vybrane-kapitoly.pdf>>.

MONSON, M.S., COULOMBE, R.A. & REED, K.M. Aflatoxicosis: Lessons from Toxicity and Responses to Aflatoxin B1 in Poultry. *Agriculture*, 2015, vol. 5, no. 3, s. 742–777. ISSN 2077-0472.

MORANDI, S., BRASCA, M., ANDRIGHETTO, C., LOMBARDI, A. & LODI, R. Phenotypic and genotypic characterization of *Staphylococcus aureus* strains from Italian dairy products. *International journal of microbiology*, 2009, vol. 2009, no. 501362, s. 1–7.

MORSE, R.S. *Zázračná detoxikace*. Praha: Eminent, 2006.

OBROVSKÁ, M. Jarní únava a detoxikace organismu. *Praktické lékařství*, 2015, vol. 11, no. 3, s. 107–110.

ONDŘIOVÁ, I. & ŠÍMOVÁ, Z. Salmonelóza. *Sestra*, 2009, no. 4, s. 66–69.

OSTRÝ, V. *Potraviny a plísňe* [online]. 2003, Zdraví a zdravotnictví. (Cit. 1.2.2015). Dostupné z WWW: <<http://www.zdrav.cz/modules.php?op=modload&name=News&file=article&sid=2064>>.

OSTRÝ, V., MALÍŘ, F., GROSSE, Y. & TOMAN, J. *Recent information about mycotoxins and the IARC classification of human carcinogens. The case of ochratoxin A.*, 2016.

PATOČKA, J. *Základy toxikologie (Kapitoly I až III)* [online]. 2005, Toxicology - Prof. RNDr. Jiří Patočka, DrSc. (Cit. 23.7.2015). Dostupné z WWW: <<http://www.toxicology.cz/modules.php?name=News&file=article&sid=10>>.

PATOČKA, J. & STRUNECKÁ, A. *Doba jedová*. Praha : Stanislav Juhaňák - TRITON, 2011. ISBN 978-80-7387-469-8.

PAVLÍKOVÁ, D., PAVLÍK, M., MATĚJŮ, L. & BALÍK, J. *Ekotoxikologie*. Praha : Česká zemědělská univerzita, 2008. ISBN 978-80-213-1843-4.

PAZDERA, J. *Na super bakterie s marihuanou* [online]. 2008, Objective Source E-Learning. (Cit. 8.9.2015). Dostupné z WWW: <<http://www.osel.cz/3911-na-super-bakterie-s-marihuanou.html>>.

PEEL, T. *Vitamin C: New Research*. Nova Publishers, 2006. ISBN 978-1-60021-156-0.

PETRÁŠ, M. & LESNÁ, I.K. *Manuál očkování 2010*. 2010.

PETRÁŠ, P. Čtyři nové druhy v rodu *Staphylococcus* popsané v roce 2010. *Zprávy EM (SZÚ, Praha)*, 2010a, vol. 19, no. 11, s. 334–337.

PETRÁŠ, P. Nový „český“ stafylokok, *Staphylococcus microti*. *Zprávy EM (SZÚ, Praha)*, 2010b, vol. 19, no. 1-2, s. 37–39.

PETR, J. *Vakcína proti zlatému stafylokokovi* [online]. 2006, Objective Source E-Learning. (Cit. 6.9.2015). Dostupné z WWW: <<http://www.osel.cz/2222-vakcina-proti-zlatemu-stafylokokovi.html>>.

PETR, J. *Středověký lektvar zabírá na „superbakterii“* [online]. 2015, Leonardo - věda a technika. (Cit. 8.9.2015). Dostupné z WWW: <http://www.rozhlas.cz/leonardo/clovek/_zprava/stredoveky-lektvar-zabira-na-superbakterii--1474462>.

PETRŽELKA, A. *Antibiotikum z moře ničí i zlatého stafylokoka* [online]. 2013, Novinky.cz. (Cit. 9.9.2015). Dostupné z WWW: <<http://www.novinky.cz/veda-skoly/309436-antibiotikum-z-more-nici-i-zlateho-stafylokoka.html>>.

PHILP, R.B. *Ecosystems and Human Health: Toxicology and Environmental Hazards* 2. vyd. USA : CRC Press, 2001. ISBN 1-56670-568-1.

PLESNÍK, V. *Toxiny v biologické válce* [online]. 2002. (Cit. 3.9.2015). Dostupné z WWW: <<http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:T2YN7zbQLT8J:www.zuova.cz/Content/files/articles/plesnik/smd144.pdf+&cd=8&hl=cs&ct=clnk&gl=cz>>.

PURKRTOVÁ, S. *Kultivační metody v potravinářské mikrobiologii* [online]. VŠCHT, Praha, 2014. Dostupné z WWW: <http://biomikro.vscht.cz/vyuka/mzp/2014-03-14_Kultivacni_metody.pdf>.

RIETSCHER, E.T., KIRIKAE, T., SCHADE, F.U., MAMAT, U., SCHMIDT, G. *et al.* Bacterial endotoxin: molecular relationships of structure to activity and function. *The FASEB Journal*, 1994, vol. 8, no. 2, s. 217–225.

ROSENKRANZOVÁ, M. Břišní tyfus. *Sestra*, 2012, no. 12, s. 58.

ROSYPAL, S. *Nový přehled biologie*. Praha : Scientia, 2003. ISBN 978-80-86960-23-4.

SEDLÁČEK, M. *Terorismus a biologické zbraně* [online]. 2006, Toxicology - Prof. RNDr. Jiří Patočka, DrSc. (Cit. 23.7.2015). Dostupné z WWW: <<http://toxicology.cz/modules.php?name=News&file=article&sid=36>>.

SIDELL, F.R., TAKAFUJI, E.T. & FRANZ, D.R. *Medical Aspects of Chemical and Biological Warfare*. 1997.

SOBEL, J. Botulism. *Clinical Infectious Diseases*, 2005, vol. 41, no. 8, s. 1167–1173.

SPEVÁKOVÁ, Š. *Vzniká nová vakcína proti rakovině* [online]. 2001, Zdravotnictví - medicína. (Cit. 19.10.2015). Dostupné z WWW: <http://zdravi.e15.cz/denni-zpravy/profesni-aktuality/vznika-nova-vakcina-proti-rakovine-135577?seo_name=priloha-lekarske-listy%25252525252525252F>.

STARK, A.A. Threat Assessment of Mycotoxins as Weapons: Molecular Mechanisms of Acute Toxicity. *Journal of Food Protection*, 2005, vol. 68, no. 6, s. 1285–1293.

STEJSKAL, F. Očkování cestovatelů. *Medicína po promoci*, 2011, vol. 12, no. 4.

SUCHÝ, P. & HERZIG, I. *Plísně a mykotoxiny, prevence jejich vzniku a dekontaminace v krmivech* [online]. Výzkumný ústav živočišné výroby, 2005. (Cit. 27.9.2015). Dostupné z WWW: <<http://www.vuzv.cz/sites/File/vybor/Hezig,%20Such%C3%BD-Plisne%20a%20mykotoxiny.pdf>>.

ŠENKÝŘOVÁ, V. Meticilin rezistentní Staphylococcus aureus. *Urolog. pro Praxi*, 2006, no. 5, s. 250–252.

ŠIMŮNEK, J. *Plísně a mykotoxiny* [online]. 2004. (Cit. 27.9.2015). Dostupné z WWW: <http://www.med.muni.cz/dokumenty/pdf/plisne_a_mykotoxiny.pdf>.

ŠPELINA, V. *Onemocnění z potravin* [online]. Praha: Státní zdravotní ústav, 2007. (Cit. 1.2.2015). Dostupné z WWW: <http://www.szu.cz/uploads/documents/czvp/edice/plne_znani/letaky/1210SZU_ONEMOCNENI_Z_POTRAVIN.verze_pro_web_SZU.pdf>.

ŠRÁMOVÁ, H., KARPÍŠKOVÁ, Č., BENEŠ, Č., ŠPELINA, V. & PETRÁŠ, P. *Alimentární onemocnění (infekce a otravy z potravin)* [online]. Vědecký výbor pro potraviny, 2005. (Cit. 2.2.2015). Dostupné z WWW: <http://czvp.szu.cz/vedvybor/dokumenty/studie/alim_2005_1_deklas_rev2.pdf>.

ŠTÁSTKOVÁ, Z., KARPÍŠKOVÁ, R. & BORKOVCOVÁ, I. Možnosti detekce stafylokokových enterotoxinů. *Chemické listy*, 2012, no. 106, s. 745–749.

ŠTEFAN, J., HLADÍK, J. *et al. Soudní lékařství a jeho moderní trendy*. Praha: Grada Publishing a.s., 2012. ISBN 978-80-247-3594-8.

TING, P.T. & FREIMAN, A. The Story of Clostridium Botulinum: From Food Poisoning to Botox. *Clinical Medicine*, 2004, vol. 4, no. 3, s. 258–261. ISSN 1470-2118, 1473-4893.

TODAR, K. *Bacterial Endotoxin* [online]. 2012, Todar's Online Textbook Of Bacteriology. Dostupné z WWW: <<http://textbookofbacteriology.net/endotoxin.html>>.

TREBICHAVSKÝ, I. & ŠÍMA, P. Bakterie salmonely nám mohou i sloužit. *Sestra*, 2001, no. 6.

TRUHLÁŘOVÁ, L. *Výživa a stravovací návyky* [online]. 2015, Lifestyle. (Cit. 1.2.2015). Dostupné z WWW: <<http://www.lifestyle-poradna.cz/o-zdravi/o-vyzive/vyziva-a-stravovaci-navyky>>.

VÁLKOVÁ, H. *V Česku chybí vakcína proti břišnímu tyfu, vypisují se na ni pořadníky* [online]. 2013, iDNES.cz. Dostupné z WWW: <http://zpravy.idnes.cz/chybi-vakcina-proti-brisnimu-tyfu-dru-/domaci.aspx?c=A131210_125231_domaci_hv>.

VILČEK, I. *Inspekce varuje před jedovatou pomazánkou ze Slovenska, muž po ní skončil v kómatu* [online]. 2015, Novinky.cz. Dostupné z WWW: <<http://www.novinky.cz/ekonomika/378100-inspekce-varuje-pred-jedovatou-pomazankou-ze-slovenska-muz-po-ni-skoncil-v-komatu.html>>.

WOFF, P. *MRSA a VRSA: Jak se bránit proti superbakteriím?* [online]. 2014, KupníSíla.cz. (Cit. 8.9.2015). Dostupné z WWW: <<http://kupnisila.cz/mrsa-vrsa/>>.

WOODS, J.B., DARLING, R.G., DEMBERK, Z.F., CARR, B.K., CIESLAK, T.J. *et al.* *USAMRIID's Medical Management of biological casualites handbook* 6. vyd. Fort Detrick, Maryland : USAMRIID, 2005.

ŽEMLIČKOVÁ, H., DĚDIČOVÁ, D., JAKUBŮ, V., MACH, J., KOLÍNSKÁ, R. *et al.* Antibiotická rezistence u netyfových sérovarů *Salmonella* spp. v České republice. *Epidemiologie, mikrobiologie, imunologie*, 2013, vol. 62, no. 2.

Použité obrázky

Obr. 1 - Struktura botulotoxinu: BRIN, M.F. Botulinum toxin: chemistry, pharmacology, toxicity, and immunology. *Muscle & nerve*, 1997, vol. 20, no. S6, s. 146–168. ISSN 1097-4598.

Obr. 2 - Nervosvalový přenos bez působení BTX: ARNON, S.S., ROBERT SCHECHTER, M.D., INGLESBY, T.V., HENDERSON, D.A., BARTLETT, J.G. *et al.* Botulinum Toxin as a Biological Weapon: Medical and Public Health Management. *Journal of the American Medical Association*, 2001, vol. 285, no. 8, s. 1059–1070.

Obr. 3 - Působení BTX na nervosvalové ploténce: ARNON, S.S., ROBERT SCHECHTER, M.D., INGLESBY, T.V., HENDERSON, D.A., BARTLETT, J.G. *et al.* Botulinum Toxin as a Biological Weapon: Medical and Public Health Management. *Journal of the American Medical Association*, 2001, vol. 285, no. 8, s. 1059–1070.

Obr. 4 – Struktura endotoxinu (lipopolysacharidu): HASHIMOTO, M. *LPS and Toll-like Receptor* [online]. 2003, Glycoforum. (Cit. 20.11.2015). Dostupné z WWW: <<http://www.glycoforum.gr.jp/science/word/immunity/IS-A01E.html>>.

Obr. 5 – Molekulární struktura čtyř primárních aflatoxinů: MONSON, M.S., COULOMBE, R.A. & REED, K.M. Aflatoxicosis: Lessons from Toxicity and Responses to Aflatoxin B1 in Poultry. *Agriculture*, 2015, vol. 5, no. 3, s. 742–777. ISSN 2077-0472.

Obr. 6 – Metabolizace AFB₁: BBOSA, G.S., KITTYA, D., ODDA, J. & OGWAL-OKENG, J. Aflatoxins metabolism, effects on epigenetic mechanisms and their role in carcinogenesis. *Health*, 2013, vol. 2013.

Obr. 7 – Jednonukleotidový polymorfismus (SNP) transverzní mutace - C:G na T:A: BBOSA, G. S., KITTYA, D., ODDA, J. & OGWAL-OKENG, J. Aflatoxins metabolism, effects on epigenetic mechanisms and their role in carcinogenesis. *Health*, 2013, vol. 2013.

Použité tabulky

Tab. 1 - KOLEKTIV PRACOVNÍKŮ SZÚ. *Vybrané infekční nemoci v ČR v letech 2005-2014 - absolutně* [online]. 2015, Státní zdravotní ústav. Dostupné z WWW: <<http://www.szu.cz/publikace/data/vybrane-infekcni-nemoci-v-cr-v-letech-2003-2012-absolutne>>.

Tab. 2 - DĚDIČOVÁ, D. & KARPÍŠKOVÁ, R. Nová revize Kauffmannova-Whiteova schématu pro identifikaci salmonel. *Zprávy epidemiologie a mikrobiologie*, 2009, vol. 18, no. 3, s. 99–100. ISSN 1803-6422.

Tab. 3 - KOLEKTIV PRACOVNÍKŮ SZÚ. *Vybrané infekční nemoci v ČR v letech 2005-2014 - absolutně* [online]. 2015, Státní zdravotní ústav. Dostupné z WWW: <<http://www.szu.cz/publikace/data/vybrane-infekcni-nemoci-v-cr-v-letech-2003-2012-absolutne>>.

Tab. 4 – OSTRÝ, V. & ŠKARKOVÁ, J. Metodické doporučení mikrobiologickému zkoušení potravin a pokrmů. Kultivační metoda průkazu aflatoxinogenních mikromycetů (plísni) *Aspergillus flavus* a *Aspergillus parasiticus* v potravinách a pokrmech. *Státní zdravotní ústav*, 2003, no. 1, s. 28. ISSN 0862-5956.

Tab. 5 - DHANASEKARAN, D., PANNEERSELVAM, A., THAJUDDIN, N. & SHANMUGAPRIYA, S. Aflatoxins and aflatoxicosis in human and animals. In *GUEVARA-GONZÁLEZ, R. G. Aflatoxins - biochemistry and molecular biology*. Croatia : INTECH, 2011, s. 221–254. ISBN 978-953-307-395-8.

Tab. 6 – vlastní zpracování na základě použité literatury