

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky**



**Výskyt a aktivita salmonel ve slepičích vejcích**

**Bakalářská práce**

**Autor práce: Tereza Novotná**

**Obor studia: Kvalita produkce ATZK**

**Vedoucí práce: prof. Ing. Eva Vlková, Ph.D.**

**Konzultant: Ing. Hana Salmonová, Ph.D.**

© 2020 ČZU v Praze

## **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Výskyt a aktivita salmonel ve slepičích vejcích" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 30. 4. 2020

---

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala paní prof. Ing. Evě Vlkové, Ph.D. za mimořádnou ochotu a pomoc při vypracování bakalářské práce, za čas strávený kontrolou několika zaslaných verzí a za konzultace. Také bych chtěla poděkovat své rodině, rodině mého přítele a přátelům, kteří mi byli velkou oporou. Zvláště bych chtěla poděkovat mému příteli, který mě významně podporoval nejen při vypracování bakalářské práce, ale během celého studia.

# Výskyt a aktivita salmonel ve slepičích vejcích

## Souhrn

Bakterie rodu *Salmonella* jsou jedním z hlavních původců alimentárních onemocnění a parazitují především v gastrointestinálním traktu. Rod obsahuje pouze dva druhy, ale existuje několik stovek až tisíců různých sérotypů. Průjmová (gastroenteritická) onemocnění jsou vyvolána hostitelsky nespecifickými sérotypy a systémová (tyfoidní) onemocnění sérotypy specifickými pro člověka. Nicméně může dojít i k případům, kdy onemocnění průjmová přejdou v systémová.

Pro poškozování hostitelského organismu mají salmonely virulentní geny, které jsou na chromozomu shromážděny v ostrovech patogenity. Tyto geny jsou zodpovědné za produkci škodlivých toxinů, které ničí hostitelské buňky. Tato vybavenost společně s velkou odolností salmonel, je doprovázena také schopnostmi přizpůsobovat se defenzivnímu prostředí a paradoxně využívat jeho nástrahy ku svému prospěchu.

Přirozeným místem výskytu salmonel je trávicí trakt živočichů, který může být zdrojem kontaminace vody a potravin. Důležitým rezervoárem salmonel jsou zejména chovy drůbeže, kdy pochopitelně dochází i ke kontaminaci vajec. Nejčastěji se ve vejcích vyskytuje sérotyp *Salmonella enterica* ssp. *enterica* Enteritidis, na druhém místě *Salmonella enterica* ssp. *enterica* Typhimurium.

Ačkoliv má vejce řadu mechanismů, kterými se brání mikrobiální kontaminaci, jejich aktivitu ovlivňují i vnější podmínky a další faktory. Vejce by se měla skladovat čistá a suchá, protože obsah vody zvyšuje aktivitu salmonel. Teplota by měla být konstantní v rozmezí 5 a 18 °C a relativní vzdušná vlhkost 70-75 %. Tyto zásady, které člověk ovlivňuje je nutné dodržovat, neboť při zanedbání a vytvoření optimálních vnějších podmínek jsou salmonely schopné proniknout ze skořápky do vaječného obsahu již za 2 hodiny a 16 minut. Laboratorní experimenty prokázaly, že množství ve vaječném obsahu může být až  $10^{10}$  buněk, což je dávka pro vznik gastroenteritického onemocnění více než dostatečná. Nicméně tepelným opracováním jsou salmonely spolehlivě eliminovány.

Podle získaných epidemiologických dat v ČR jsou salmonely druhým nejčastějším střevním onemocněním, způsobují ročně cca 11 000 onemocnění a až ve 4,2 % jsou smrtelná. Je velmi důležité minimalizovat rizika kontaminace v samých počátcích, v případě slepičích vajec, tedy již v chovech drůbeže. Dále maximálně dodržovat hygienu při průmyslovém či domácím zpracování a skladování.

**Klíčová slova:** *Salmonella*; alimentární onemocnění; potraviny; vejce; toxiny; patogenita

# Salmonella in chicken eggs

## Summary

A genus *Salmonella* is responsible for major of alimentary infections and parasites mainly in the gastrointestinal tract. The genus contains only two species but there are thousands of serotypes. Diarrheal (gastroenteritic) infections are caused by non-host-specific serotypes and systemic (typhoid) infections are caused by human-specific serotypes. However, diarrhea can become a systemic disease.

*Salmonella* virulent genes are localised on the chromosome in pathogenic islands and are responsible for producing harmful toxins that destroy host cells. A great resistance of *Salmonella* is accompanied by ability to adapt to defensive environment.

The natural habitat of *Salmonella* is the digestive tract of animals which can be source of contamination of water and food. Especially poultry farms are the important reservoirs of *Salmonella* serotypes which contaminate eggs. The most common serotypes found on eggs are *Salmonella enterica* ssp. *enterica* Enteritidis followed by *Salmonella enterica* ssp. *enterica* Typhimurium.

Although eggs have number of mechanisms preventing microbial contamination, bacterial activity is also influenced by external conditions and other factors. Eggs should be stored clean and dry because water increases *Salmonella* activity. The temperature should be constant between 5 and 18 °C and relative air humidity 70-75 %. Wrong storage condition support *Salmonella* penetration through the shell into the egg content in 2 hours and 16 minutes. Laboratory experiments have shown that number of *Salmonella* in egg content may be by up to  $10^{10}$  cells. This dose is sufficient to cause infection. However, heat treatment can effectively eliminate *Salmonella*.

According to the obtained epidemiological data in the Czech Republic, *Salmonella* is the second most common intestinal disease, causing about 11 000 diseases a year and up to 4,2 % is fatal. It is very important to minimize the risk of primary contamination of eggs by *Salmonella* at the farm. Furthermore, it is necessary to observe hygienic rules during processing and at home.

**Keywords:** *Salmonella*; alimentary disease, foodstuff; eggs, toxins; pathogenicity

# Obsah

<b>1</b>	<b>Úvod</b> .....	<b>7</b>
<b>2</b>	<b>Cíl práce</b> .....	<b>8</b>
<b>3</b>	<b>Literární rešerše</b> .....	<b>9</b>
<b>3.1</b>	<b>Enterobacteriaceae</b> .....	<b>9</b>
<b>3.2</b>	<b>Rod Salmonella</b> .....	<b>10</b>
3.2.1	Charakteristika rodu <i>Salmonella</i> .....	10
3.2.2	Taxonomie rodu <i>Salmonella</i> .....	11
3.2.3	Patogenita rodu <i>Salmonella</i> .....	12
3.2.4	Patogeneze .....	15
3.2.5	Metody zjištění přítomnosti salmonel v potravinách.....	20
3.2.6	Šíření salmonel.....	22
<b>3.3</b>	<b>Tvorba a složení slepičího vejce</b> .....	<b>24</b>
3.3.1	Stavba vejce .....	24
3.3.2	Rozmnožovací soustava slepice a tvorba vejce .....	26
<b>3.4</b>	<b>Salmonely ve slepičích vejcích</b> .....	<b>29</b>
3.4.1	Horizontální přenos.....	30
3.4.2	Vertikální přenos.....	31
3.4.3	Sérotypy salmonel ve slepičích vejcích .....	32
3.4.4	Preventivní opatření proti salmonelózám z vajec .....	36
3.4.5	Výskyt salmonel v České republice.....	39
<b>4</b>	<b>Závěr</b> .....	<b>43</b>
<b>5</b>	<b>Literatura</b> .....	<b>44</b>
	<b>Seznam obrázků</b> .....	<b>52</b>
	<b>Seznam tabulek</b> .....	<b>53</b>

# 1 Úvod

Mikroorganismy jsou všude kolem nás, vyskytují se téměř ve všech prostředích, kde mají nezastupitelnou roli. Ve vztahu k člověku může být jejich význam pozitivní jako například probiotické bakterie v trávicím traktu, indiferentní nebo negativní. Mezi jednoznačně negativní mikroorganismy patří patogeny, včetně salmonel. Bakterie rodu *Salmonella* jsou fakultativně anaerobní, gramnegativní tyčinky, které přežívají i při relativně nepříznivých podmínkách. Právě tato odolnost společně s jejich schopností poškozovat jiné organismy a vytvářet si po napadení v jejich prostředí výhodné podmínky, z nich činí „rafinované“ a nebezpečné bakterie (Bhunia 2018).

K infekci hostitele dochází perorálně, bakterie se přenáší nejčastěji prostřednictvím potravin živočišného původu, z nichž do nejrizikovější skupiny patří právě slepičí vejce. Ta jsou svou stavbou a chemickým složením uzpůsobena k ochraně a poskytnutí živin vyvíjejícímu se zárodku. Bakterie rodu *Salmonella* dokáží infikovat slepičí vejce několika způsoby, které jsou zde, jako jedny z hlavních cílů práce rozpracovány (Dubanský 2008; Gantois et al. 2009; PoultryHub 2020b).

Vzhledem k tomu, že salmonelóza je druhým nejčastějším alimentárním onemocněním v Evropské unii, je zřejmé, že šíření salmonel v potravinovém řetězci je nezanedbatelný problém. Průběh onemocnění záleží na sérotypu, kterým je jedinec nakažen. V souvislosti se slepičími vejci se nejčastěji vyskytuje sérotyp *Salmonella enterica* ssp. *enterica* Enteritidis. Ten u člověka obvykle způsobuje průjmová onemocnění, u slepic nejsou mnohdy pozorovány žádné klinické příznaky. Průběh onemocnění způsobených salmonelami nemusí, ale může ohrožovat jedince na životě. V krajních případech může přivodit smrt. Z toho důvodu je velmi důležité dodržovat preventivní opatření a rizika kontaminace snižovat na minimum (Macela 2006; Dubanský 2008; Gantois et al. 2009).

## 2 Cíl práce

Salmonelóza je druhou nejčastější příčinou alimentárních onemocnění v Evropské unii. Jedním z nejdůležitějších zdrojů nálezů jsou chovy hospodářských zvířat, zejména drůbeže.

Cílem bakalářské práce bylo vytvořit ucelený literární přehled o výskytu a aktivitě salmonel ve slepičích vejcích. Dále byly popsány cesty šíření bakterií rodu *Salmonella* v prostředí a v potravním řetězci.



### 3 Literární rešerše

Rod *Salmonella*, kterým se bude tato práce zabývat je řazen pod čeleď *Enterobacteriaceae*, a proto je nezbytné krátce tuto čeleď představit.

#### 3.1 *Enterobacteriaceae*

*Enterobacteriaceae* jsou prokaryotní organismy, které jsou zařazeny do domény Bacteria, kmen Proteobacteria, třída Grammaproteobacteria, řád Enterobacteriales, čeleď *Enterobacteriaceae*. Pod tuto čeleď spadají mimo jiné rody *Escherichia*, *Shigella*, *Yersinia* a *Salmonella* (Votava et al. 2007).

Bakterie této čeledi se vyskytují zejména v trávicím traktu obratlovců, ale i dalších živočichů. Mohou zde plnit jak roli komenzálů, tak saprofytů. Mohou se adaptovat i na vnější prostředí a dokáží žít v půdě, ve vodě, v tlejících organických zbytcích (Votava 2003; Beneš 2009).

Čeleď tvoří gramnegativní nesporeující fakultativně anaerobní tyčinky. Jsou 2-3  $\mu\text{m}$  dlouhé, 0,6  $\mu\text{m}$  široké. Jsou pohyblivé, mimo rody *Shigella*, *Klebsiella* a druhy *Yersinia pestis*. Bakteriální buňka má zaoblené konce, bičíky jsou po celém jejím povrchu. Vnější strana je dále pokryta fimbriemi, kterých je velké množství. Nejvýraznějšími z nich jsou 2 typy. Prvním jsou fimbrie, které umožňují přichycení na buňku hostitele a druhým sex pily, které zprostředkují vazbu mezi donorem a recipientem při spájení. Růst bakterií probíhá příznivěji při přítomnosti kyslíku, ale i při jeho absenci. Jsou to fermentující bakterie, které mají schopnost zkvašovat cukry. Některé rody tvoří plyny (Bednář 1996; Votava 2005; Beneš 2009).

## 3.2 Rod *Salmonella*

Tato kapitola pojednává o pojmenování, charakteristice, taxonomii, patogenitě, patogenezy, metodách zjištění přítomnosti a šíření salmonel.

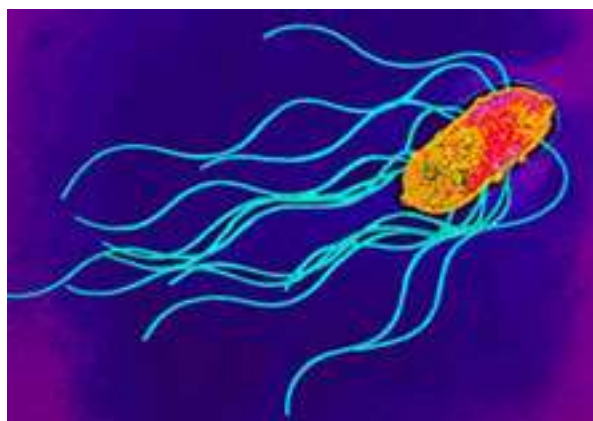
V roce 2001 tým lékařů University of Maryland zkoumal text řeckého autora Arriánose z Nikomédie, který popisuje příčinu smrti Alexandra Velikého. Došli k závěru, že jeho smrt by mohla být způsobena právě bakterií rodu *Salmonella*. Dalším slavným panovníkem, kterému byla tato bakterie osudnou byl manžel britské královny Viktorie princ Albert, který zemřel na salmonelovou infekci v roce 1861 (Rao et al. 2004).

V roce 1873 doktor William Budd prokázal, že břišní tyfus může být přenášen bakterií v exkrementech, a že voda kontaminovaná výkaly pacientů s břišním tyfem je příčinou šíření. Několik odborníků se snažilo objevit mikroorganismus, který je onemocnění zodpovědný, ale izolace mikroorganismu byla velice obtížná. Zlom přišel v roce 1879, kdy doktor Karl Joseph Eberth objevil bakterii u pacienta v břišních mízních uzlinách a slezině. Díky tomu dostala bakterie nejdříve název *Eberthella typhi* (Macela 2006; Marineli et al. 2013).

Roku 1884 byla bakterie poprvé kultivována G. T. A. Gaffkym, který byl Kochovým žákem. Informace o bakterii se objevila v odborném časopise v roce 1885 a jednalo se konkrétně o sérotyp Choleraesuis u prasat. Na článku se podílel Daniel Elmer Salmon, který na začátku 20. století vedl výzkumný program The United States Department of Agriculture a Theobald Smith, který byl objevitelem salmonel u prasat, která podlehla choleře prasat. Nicméně v roce 1900 byly salmonely nezaslouženě pojmenovány po D. E. Salmonovi, neboť byl uveden ve článku The bacterium of swineplague jako autor první a Smith v pozici druhého autora. Podnět k pojmenování skupiny bakterií salmonel vzešel od francouzského mikrobiologa Ligniera (Katscher 1997; Macela 2006).

### 3.2.1 Charakteristika rodu *Salmonella*

Salmonely jsou rovné gramnegativní tyčinky o velikosti  $0,7-1,5 \times 2,0-5,0 \mu\text{m}$ . Vytváří kolonie obvykle s průměrem 2-4 mm. Bakterie se může vyskytovat samostatně, v páru nebo řetězcích. Většina z nich je pohyblivá. Bičíky mají umístěny peritrichálně, tj. po celém povrchu buňky viz Obrázek 1. Dalším společným znakem je přítomnost fimbrií typu I (Rosický 1994; Bednář 1996; Garrity 2000).



Obrázek 1: *Salmonella* (Walsh 2011).

Všechny druhy nepůsobí výhradně jako parazité ve střevě obratlovců, ale mohou žít jako komenzálové a v případě prostředí, které je bohaté na bílkoviny mohou bakterie přežívat jako saprofyty. Snášejí relativně vysoký osmotický tlak. Jsou rezistentní vůči vysychání, např. v suchých potravinách nerostou, ale dokáží zde přežívat. Růst salmonel v solených potravinách zastaví až 9 % obsahu soli. Dobře odolávají teplotám pod bodem mrazu nebo uzení. Citlivé jsou na pasterační teploty, kterými je lze usmrtit. Optimální pH pro jejich růst je cca 6-7. Inhibiční pH je pod 4 a nad 8. Ve venkovních podmínkách, jako je například čistá studniční voda, přežijí až několik týdnů. Jsou schopné se množit v přítomnosti žluči (Havlík 2002; Sedláček 2007; Votava et al. 2007; Bhunia 2018).

Salmonely jsou fakultativně anaerobní a mají fermentativní metabolismus. Většina z nich vytváří plyny, výjimkou je např. sérovar Typhi, který plyny netvoří. Obecně při fermentaci sacharidů vzniká oxid uhličitý a vodík. Fermentují glukózu, maltózu, manitol a sorbitol. Převážná většina salmonelových bakterií nezkrvašuje laktózu. Nezkrvašují indol. Jako zdroj uhlíku je využívána i sůl kyseliny citrónové (citrát) a tím se odlišují od ostatních bakterií čeledi *Enterobacteriaceae*. Dusičnany redukují na dusitany. Při štěpení bílkovin tvoří sirovodík. Velká část salmonel je schopna dekarboxylovat lysin a ornitin. Močovinu nehydrolyzují. (Bednář 1996; Garrity 2000; Šilhánková 2002; Votava et al. 2007; Sedláček 2007).

### 3.2.2 Taxonomie rodu *Salmonella*

Rod *Salmonella* je tvořen dvěma druhy. Představují je *Salmonella enterica* a *Salmonella bongori*. Dále je druh *Salmonella enterica* rozdělen na 6 poddruhů, kterými jsou *Salmonella enterica* ssp. *enterica*, *Salmonella enterica* ssp. *salamae*, *Salmonella enterica* ssp. *arizonae*, *Salmonella enterica* ssp. *diarizonae*, *Salmonella enterica* ssp. *houtenae*, *Salmonella enterica* ssp. *indica* (Issenhuth-Jeanjean et al. 2014).

Rozlišení poddruhů může být provedeno buď analýzou DNA nebo biochemickými charakteristikami. Salmonely se dále dělí podle antigenů na sérotypy. Antigen je látka, podle jejíž struktury je makroorganismus schopen poznat, že se jedná o látku cizí a je schopen proti ní vyrobit protilátky. Pro označení termínu sérotyp se používá také modernější termín sérovar (Rosický 1994; Vokurka & Hugo 2002; Votava et al. 2007).

Zařazení salmonel k příslušnému sérotypu tzv. sérotypizace se provádí sérologickými diagnostickými metodami především aglutinačními testy. Pomocí nich se posoudí složení a kombinace O, H a Vi antigenů (Rosický 1994; Sedláček 2007).

Somatický O-antigen je tvořen lipopolysacharidem a je vázán v buněčné stěně. Bičíkový neboli flagelární H-antigen je v bičících. Kapsulární Vi antigen je v pouzdru a je tvořen polysacharidem. Vi antigen mají pouze sérotypy Typhi, Paratyphi a některé Dublin (Bednář 1996; Macela 2006).

Při sérotypizaci zpětnou aglutinací se využívají speciálně vyrobená zvířecí séra. Ta na podložním sklíčku reagují se směsí čistého kmene salmonel a fyziologického roztoku. Výsledek testu je pozitivní při vytvoření aglutinátu tj. signalizace shody sérotypu kmene s příslušným sérem (Bednář et al. 2009).

Označení sérotypu sestává ze tří částí. Jako první se charakterizuje antigen somatický, jenž je označen arabskými číslicemi, O antigenů je 12 různých typů. Následně se charakterizují H antigeny, první fáze, označena malými písmeny od a do z. Třetí část kódu je dána H antigeny

druhé fáze, je označena arabskými číslicemi 1 až 12. Pokud má salmonela více než jeden O-antigen, poté je jeden z nich hlavní. Využití séra k průkazu přítomnosti Vi antigenu je provedeno především při podezření na sérotypy Typhi a Paratyphi C (Bednář 1996; Bednář et al. 2009).

Názvy mají sérotypy obvykle podle formule svých O:H antigenů, ale především u poddruhu *Salmonella enterica* ssp. *enterica*, je větší část sérotypů pro zjednodušení pojmenována slovně například podle zeměpisného místa první izolace (Popoff et al. 2004; Macela 2006).

Správné stanovení sérotypu salmonel je velice důležité, protože všechny kmeny jsou pro člověka patogenní a mohou způsobit méně závažná, ale i smrtelná onemocnění (Šilhánková 2002).

Při identifikaci bakterií rodu *Salmonella* se používá dokument White-Kauffmann-Le Minor schéma. Jsou zde zaznamenány a popsány dosud objevené sérotypy salmonel. Původní název byl Kauffmann-White schéma pojmenován po panu Kauffmannovi, který toto schéma vytvořil. Schéma s prvními 44 sérotypy zveřejnil v Kodani roku 1934. Do konce své kariéry dokument navýšil na 985 sérotypů. Na počtu všem pracovníkům, kteří se poté na dokumentu podíleli a podílejí, neboť je jeho obsah neustále upravován a obnovován, se dokument přejmenoval na White-Kauffmann-Le Minor schéma. Nyní obsahuje přes 2 500 sérotypů (Dědičová & Karpíšková 2009).

Podle kombinace O a H antigenů a v případě některých sérotypů přítomnosti Vi antigenu je bakterie klasifikována do Kauffmannova-Whiteova-Le Minor schématu (viz Tabulka 1) (Bednář 1996).

Tabulka 1: Část Kauffmannova-Whiteova-Le Minor schématu (Upraveno dle Bednář 1996).

	sérotyp	antigen O	antigen H	
			1. fáze	2. fáze
<b>Skupina A (1, 2, 12)</b>	Paratyphi A	1, 2, 12	a	
<b>Skupina B (4, 5, 12)</b>	Paratyphi B	4, 5, 12	b	1, 2
	Typhimurium	4, 5, 12	i	1, 2
<b>Skupina C (6, 7)</b>	Cholerasuis	6, 7	e	1, 5
	Paratyphi C	6, 7 - Vi	e	
<b>Skupina D (9, 12)</b>	Typhi	9, 12 - Vi	d	
	Enteritidis	9, 12	gm	
<b>Skupina E (3, 10)</b>	Anatum	3, 10	eh	1, 6

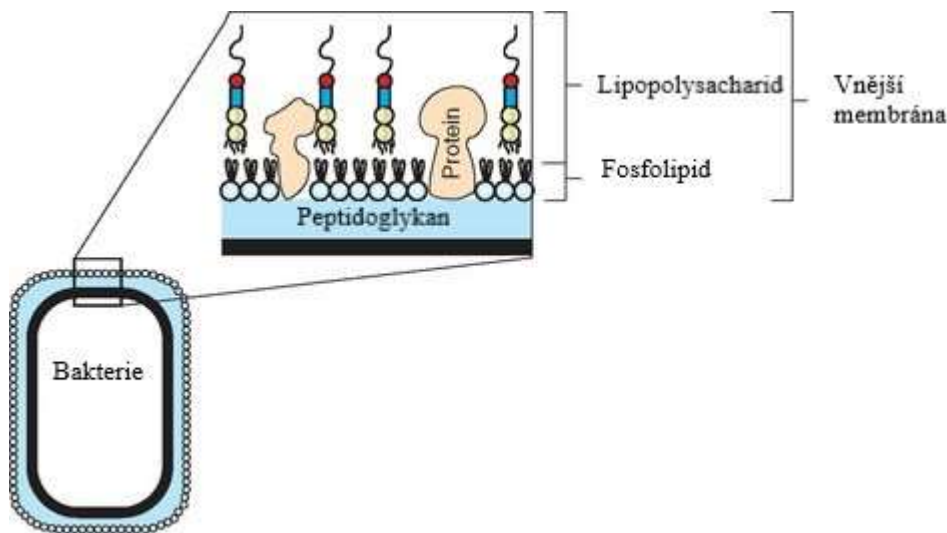
### 3.2.3 Patogenita rodu *Salmonella*

Některé sérotypy salmonel mohou být hostitelsky specifické, vyvolávají tedy onemocnění jen u určitého živočišného druhu a pro ostatní patogenní nejsou. Jiné mohou být hostitelsky nespecifické, jsou tedy patogenní pro širokou škálu hostitelů. Mezi hostitelsky specifické antropogenní sérotypy patogenní pro člověka patří Typhi, Paratyphi B a C, Sendai. Salmonela je přenášena z člověka na člověka prostřednictvím fekáliemi kontaminované vody a potravin. Výskyt bakterií se zvyšuje v oblastech se sníženou a omezenou hygienou. Sérotypy u lidí způsobují závažné nemoci, jakými jsou břišní tyfus a paratyfus.

K hostitelsky specifickým sérotypům, které jsou adaptovány pouze na jeden zvířecí druh tzv. zoopatogeny patří Abortusovis, který je nebezpečný pro ovce a je nejčastějším důvodem potratů ovcí. Dalším je například sérotyp Gallinarum, který ohrožuje drůbež.

Hostitelsky nespecifické sérotypy, především druh *Salmonella enterica*, obvykle u lidí způsobují gastroenteritická alimentární onemocnění známé jako salmonelózy. V některých případech infikovaných hlodavců, hospodářských a divokých zvířat mohou způsobit tyfoidní onemocnění. Hostitelsky nespecifické sérotypy jsou nejčastěji přenášeny potravinami a patří mezi ně například Typhimurium nebo Enteritidis (Garrity 2000; Votava 2003; Macela 2006; Votava et al. 2007).

Přirozeně se hostitelský organismus proti salmonelám snaží bránit. K překonání obranných mechanismů hostitele pomáhá salmonelám i jejich kvalitní genová výbava. Virulentní geny jsou umístěny na chromozomu v tzv. ostrovech patogenity. Takové geny bakteriím umožní přeměnu z relativně neškodné bakterie na bakterii smrtící. Ostrovy patogenity jsou velké genové části, které bakterie získala horizontálním přenosem sekvencí genetické informace od jiné patogenní bakterie a nesou velkou část genů, které jsou zodpovědné za produkci škodlivých toxinů. Ty můžeme rozdělit na dva typy, a to endotoxiny a exotoxiny. Endotoxin se nachází v buněčné stěně gramnegativní bakterie viz Obrázek 2 a má lipopolysacharidový (LPS) charakter. LPS hraje důležitou roli při kolonizaci střeva, invazi do hostitelské buňky a intracelulární replikaci. Má také ochrannou funkci, chrání proti působení buněk imunitního systému, žluči a antibakteriálních peptidů. Penetrace bakterií do eukaryotických buněk je umožněna i pomocí povrchových bílkovin.

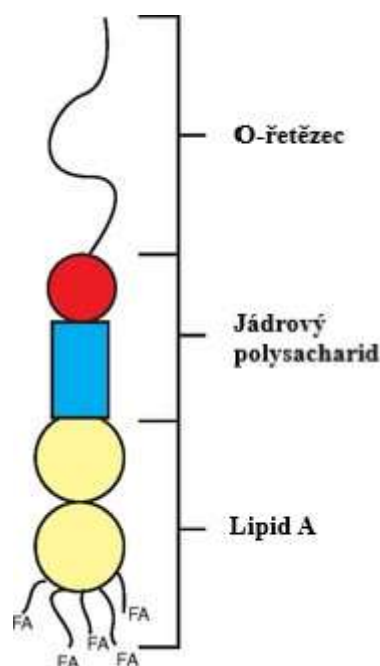


Obrázek 2: Endotoxin a povrchové proteiny v buněčné stěně bakterie (Upraveno dle Themes 2016).

Strukturu endotoxinových molekul tvoří O-řetězec, jádrový polysacharid a biologicky aktivní část lipid A viz Obrázek 3. Prostřednictvím lipidu A je molekula endotoxinu připevněná k buněčné stěně bakterie a při tomto spojení není schopna interakce se zánětlivými buňkami. Endotoxiny hostitele poškozují až ve chvíli, kdy dojde k uvolnění molekuly v lipidové části A. To může nastat během života bakterie, kdy dojde k oddělení malých částí nebo při její smrti. Po uvolnění se molekuly shlukují na základě jejich amfipatické povahy a tvoří micely. Z micel

se může jednotlivá molekula LPS oddělit pomocí plazmatických proteinů, kterými jsou molekuly LPS přenášeny na povrch zánětlivých buněk. Zde se navážou na specifický receptorový komplex a aktivují buňku. Tím se zvýší tvorba a uvolňování dalších zánětlivých buněk, především cytokinů, které vedou k vyvolání a udržení zánětlivé kaskády. Projevem je horečka, vazodilatace tj. rozšíření cév atd. (Bednář 1996; Vokurka & Hugo 2002; Votava 2005; Macela 2006; Themes 2016; Cota García 2016).

Ve srovnání s exotoxiny jsou endotoxiny méně účinné a méně aktivní na svém substrátu. Jsou odolné vůči teplu a relativně stabilní při 250 °C po dobu jedné hodiny. Mají slabou imunogenitu tj. schopnost navodit tvorbu protilátek a neprodukují antitoxiny (Vokurka & Hugo 2002; Giri 2019).



Obrázek 3: Struktura endotoxinu (Upraveno dle Themes 2016).

Exotoxiny jsou označením pro toxické bakteriální proteiny. V případě salmonel se jedná konkrétně o produkci cytotoxinu, který ničí epitelální buňky a enterotoxinu. Exotoxiny produkují grampozitivní i gramnegativní bakterie. Bakterie je vylučují do okolního prostředí v průběhu jejich života rychlým růstem nebo během buněčné lýzy. Mají větší toxicitu než endotoxiny a hostitele poškozují destrukcí buněk nebo narušením normálního buněčného metabolismu. Jsou extrémně imunogenní a relativně dobře odolávají antitoxinem imunitního systému. Z enterotoxinů je možné vyrábět toxoidy tj. uměle upravené toxiny bakterií, které se využívají k očkování (Bednář 1996; Vokurka & Hugo 2002; Macela 2006; Themes 2016).

Dominantní ostrovy patogenity jsou označeny jako „*Salmonella* pathogenicity island“ (SPI). Spolu s nimi existuje na chromosomu i několik menších ostrůvků. SPI mají salmonely několik, nicméně jen část z nich byla kompletně prozkoumaná. Rozsah ostrovů se udává jednotkou délky DNA, která je rovna 1000 nukleotidovým bázím a nazývá se kilobase (kb). Velikost ostrovů se pohybuje v rozmezí 10 až 100 kb. Pro představení několika SPI z nich budou stručně popsány SPI-1, SPI-2, a SPI-4 a jejich hlavní funkce.

SPI-1 je oblast minimálně 30 genů v rozsahu 40 kb. Nejvýraznější funkci plní 17 z nich, které kódují „Type three secretion systém“ tj. sekreční systém III. typu (TTSS-1). Ten je zodpovědný za produkci invazních proteinů, které narušují střevní epiteliální buňku. Tyto vyloučené proteiny se nazývají buď „*Salmonella* invasion proteins“ (Sip), typu A, B, C a D nebo „*Salmonella* secreted proteins“ (Ssp).

SPI-2 zahrnuje kolem 40 genů a jeho rozsah je přibližně 40 kb. Geny v této oblasti jsou zodpovědné za fungování TTSS-2 a zajišťují tak vytvoření systémové infekce a přežití salmonel v makrofázích. Geny, které se nachází na SPI-2, kódují pouze tři proteiny SpiC, SseF, SseG.

SPI-4 s rozsahem 27 kb kóduje „Type one secretion systém“ tj. sekreční systém typu I (T1SS). Ten pomáhá salmonelám přežít uvnitř makrofágů. Ostrov je důležitý i z hlediska produkce toxinů. Vyskytují se zde otevřené čtecí rámce (ORF= open reading frame), což jsou dlouhé úseky DNA, které jsou ohraničeny iniciačním a terminačním kodonem, který kóduje polypeptidový řetězec. SPI-4 má 18 ORF. Tři z těchto ORF jsou složky skupiny dalších proteinů, které se podílejí na sekreci toxinů (Vokurka & Hugo 2002; Macela 2006; Gerlach & Hensel 2007; Nieto et al. 2016; Shiel 2019).

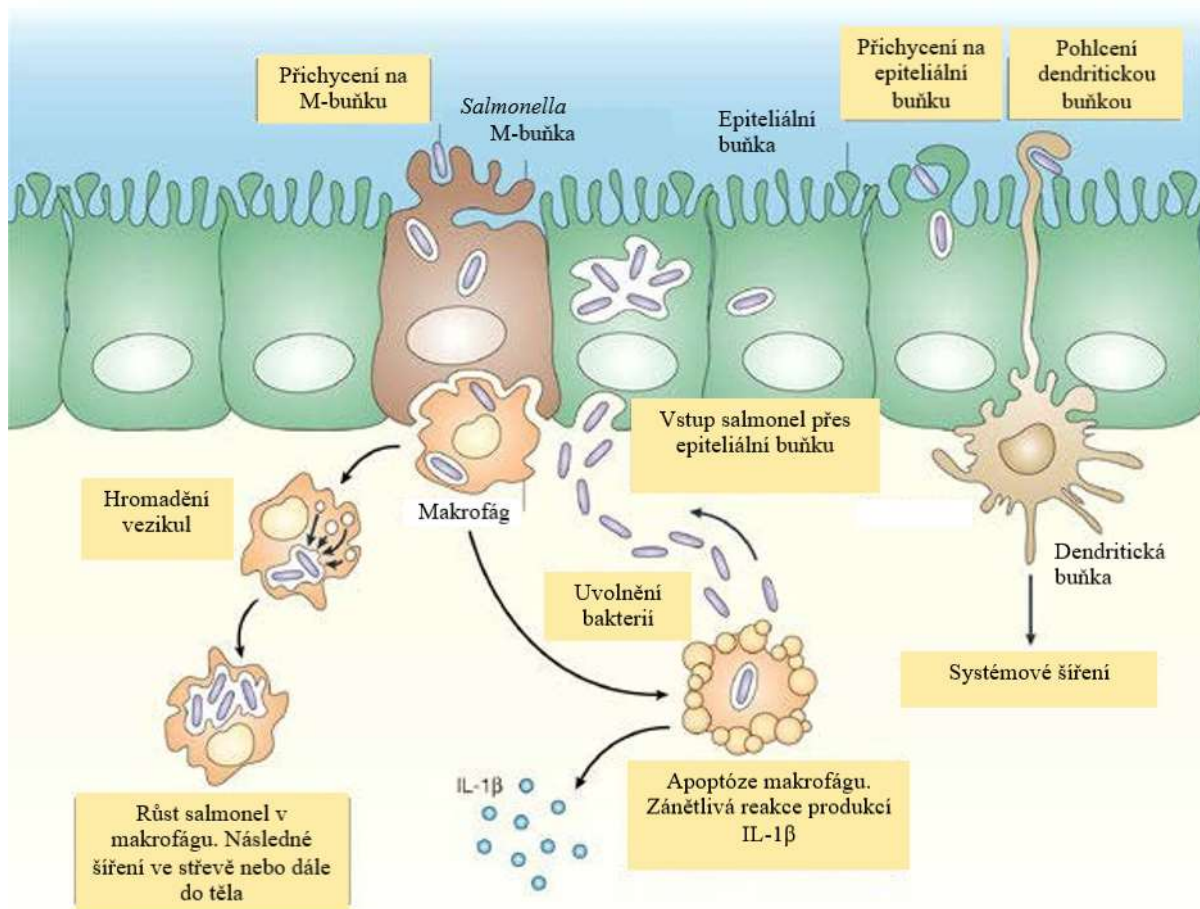
### 3.2.4 Patogeneze

Salmonelózy jsou bakteriální, často alimentární nákazy, jež dostaly jméno po rodu *Salmonella*. Podle klinických, patologických a epidemiologických aspektů jsou rozeznávána onemocnění, která lze rozdělit do dvou skupin. V první skupině jsou gastroenteritické salmonelózy, které jsou vyvolány hostitelsky nespecifickými sérovary a ve skupině druhé systémová (tyfoidní) onemocnění, jejichž původci jsou sérovary hostitelsky specifické. V obou případech dojde k infekci salmonelami orální cestou a bakterie napadnou střevo. V případě gastroenteritické infekce salmonely cílí na trávicí trakt a zůstávají ve střevě. Při systémové infekci se po napadení střeva salmonely šíří dále do těla a tělních orgánů. Nicméně ani šíření hostitelsky nespecifických salmonel do dalších orgánů není vyloučeno. Alimentární gastroenteritické salmonelózy jsou jedny z nejčastějších střevních onemocnění nejen v České republice, ale i po celém světě (Rosický 1994; Beneš 2009).

Gastroenteritické salmonelózy jsou způsobeny nejčastěji kmeny *Salmonella enterica* ssp. *enterica* Enteritidis a *Salmonella enterica* ssp. *enterica* Typhimurium. Infekce má zdroj v potravinách. Infekční dávka je obvykle  $10^5$ - $10^8$  buněk. Aby došlo k salmonelové gastroenteritické infekci, musí jedinec požit dostatečně velké množství salmonel, protože nízké pH žaludku zlikviduje velkou část bakterií (Havlík 2002; Votava et al. 2007).

V některých případech je možné, že se účinnost žaludečních šťáv sníží. To může způsobit hostitelem přijímaná tekutina, která následně usnadní infekci. Nejenže se žaludeční šťávy naředí, ale tekutiny prochází žaludkem rychleji než konzistentní strava. Jako pufr můžou působit například mléčné koktejly, jejichž mléčné bílkoviny jsou schopné kyseliny žaludku krátkodobě zneutralizovat a bakteriím usnadní průchod do střeva. Vliv na stav a sílu žaludečních kyselin mají také různá onemocnění, která mohou způsobovat žaludeční hypoacidózu. Ohroženi jsou především jedinci, kteří trpí záněty žaludku, prodělali gastrektomii tj. chirurgické odstranění žaludku nebo ti, jenž užívají léky neutralizující žaludeční kyselinu chlorovodíkovou. Přírozená hypoacidita se vyskytuje u novorozenců a kojenců (Vokurka & Hugo 2002; Beneš 2009).

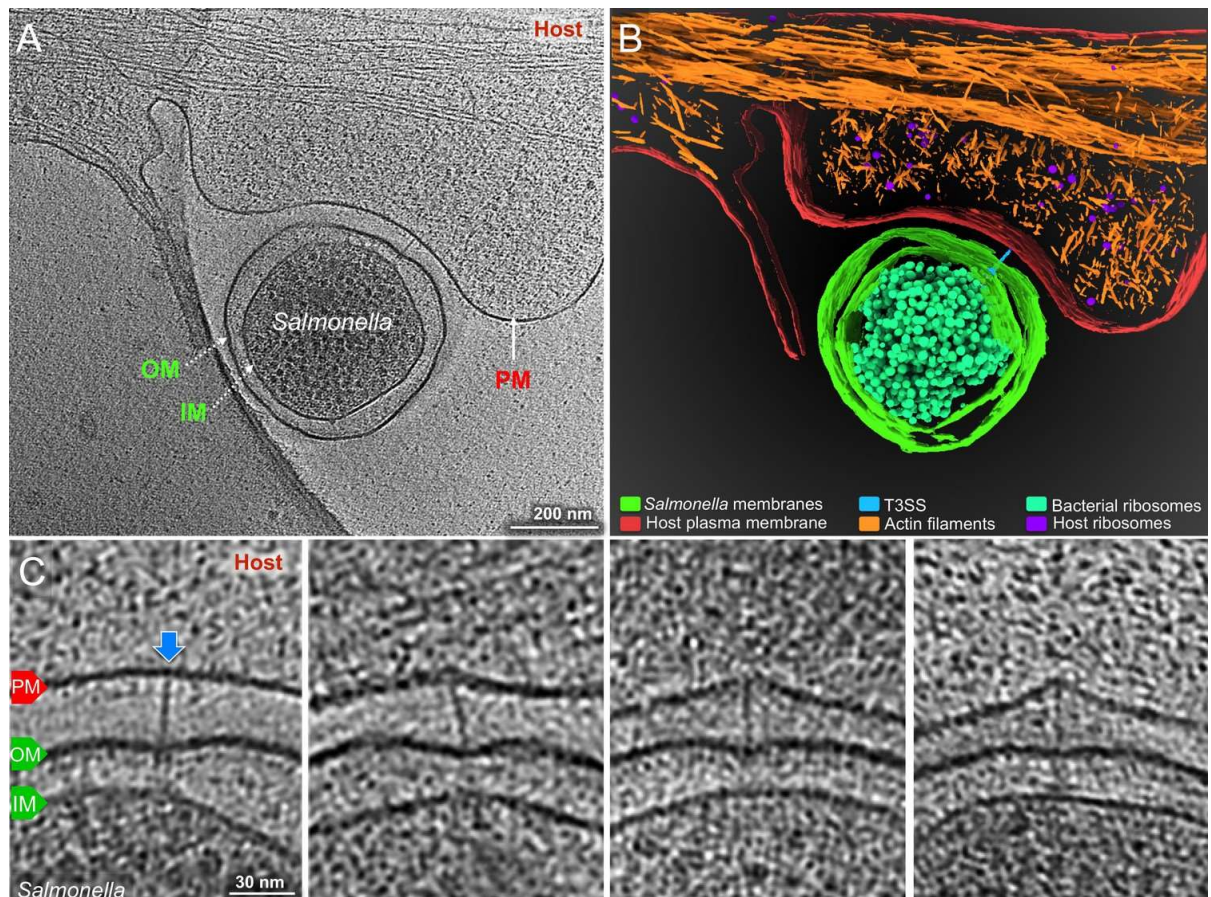
Bakterie, které přežijí prostředí žaludku, se následně dostávají do tenkého střeva. V duodenu (dvanáctníku) jsou vysoké koncentrace žluči, která pomáhá trávení. Další její funkcí je antibakteriální působení. Jako detergent narušuje buněčný obal a jako činidlo poškozuje DNA. Jak již bylo zmíněno v kapitole 3.2.1 na salmonely nemá žluč příliš likvidační účinky. Jsou zde schopny se množit a navíc její pomocí i přenášet. V této části střeva nejsou salmonely ohroženy, a proto dále již snadno kolonizují střevo v oblasti distálního ilea (kyčelník). Zachytí se na povrchu epitelu střeva, na receptorech obsahující mannosu, což jim je umožněno velkým množstvím adhesinů. Jsou 3 možné cesty, jak salmonely mohou proniknout do střevního epitelu viz Obrázek 4.



Obrázek 4: Průnik salmonel ve střevě (Upraveno dle Cota García 2016).

První cesta je prostřednictvím dendritických buněk, které jsou vmezeřeny mezi epitelální buňky. Mají vystrčené své dendrity nad epitel a zachytávají střevní bakterie a stahují je na basolaterální stranu epitelální výstelky. Tímto způsobem se mohou vtáhnout i salmonely a poté dochází k systémovému šíření. Další dvě cesty jsou prostřednictvím epitelální buňky a specializovaných M-buněk. Pro průnik bakterií do těchto dvou typů buněk jsou využity invazní bílkoviny, kterou jsou do buněk vpraveny sekrečním systémem III. typu, jenž je kódován na SPI-1. Transfer bílkovin je prostřednictvím tzv. injektomu, což je multiproteinový nástroj TTSS. Interakce injektomu TTSS a hostitelské buňky je detailně zachycena viz Obrázek 5.





Obrázek 5: Vizualizace interakce salmonely pomocí TTSS s hostitelskou buňkou. Zachyceno kryoelektronovou tomografií (Park et al. 2018). OM= outer membrane (vnější membrána), IM= inner membrane (vnitřní membrána), PM= plasma membrane (plazmatická membrána).

Po vpravení invazní bílkoviny se spustí buněčný aktin a dojde k zvlnění buněčného povrchu a bakterie vstupují do poškozené buňky. Zásadní složkou střevní slizniční imunity jsou tzv. Peyerovy pláty (PP). Jedná se o útvary, které obsahují nahromaděnou lymfatickou tkáň ve sliznici střeva a na povrchu jsou kryty M-buňkami. V případě, že došlo k zachycení salmonel M-buňkou, dojde k pohlcení makrofágem. Pokud bakterie proniknou přes nespecifické epiteliální buňky, jsou pohlceny fagocytární vakuolou nazývanou neutrofil. Intracelulární prostředí makrofágu a neutrofilů umožní bakteriím přežití, množení a dochází i k šíření salmonel nejen ve střevě, ale může dojít, především pomocí makrofágů, k zanesení i do dalších tělních orgánů. Při dlouhodobé infekci mohou salmonely napadnout tzv. hemafagocytární makrofágy, jejichž úkolem je pohlcování enterocytů během infekce. Bakterie je svým působením dokáže přimět k zvýšení pohlcování enterocytů a poté z nich získávat železo jako živinu. Poté co salmonely napadené buňky poškodí či usmrtí vylučováním endotoxinu a exotoxinu, šíří se do dalších střevních epiteliálních buněk, kterými postupně pronikají dále a poškozují stěnu střeva. Střevní sliznice se snaží o obranu, což se projeví zánětem, který ve střevě vytvoří nový luminální výklenek. Ve výklenku je snazší růst pro salmonely než pro rezidentní mikrobiotu střeva. V důsledku zánětu se ve střevě hromadí tetrathionát ( $S_4O_6^{2-}$ ), který salmonely dokáží použít ve svůj prospěch jako elektronový akceptor pro dýchání za účelem získání energie pro růst v zánětu střeva. To rezidentní mikrobiota tak efektivně nedokáže, a proto musí využívat méně účinné fermentační procesy. Projevem vytvořeného

zánětu je podnícení tvorby cAMP (cyklický adenosinmonofosfát), průjem a zvýšená teplota (Vokurka & Hugo 2002; Votava et al. 2007; Šácha 2008; Beneš 2009; Cota García 2016; Kurtz et al. 2017; Park et al. 2018; Bhunia 2018).

Nástup příznaků gastroenteritické infekce je velmi rychlý a to 8 až 10 hodin po pozření kontaminované potravy. Jedinec trpí nevolnostmi, zvracením, křečovými bolestmi v břiše a průjmem. Příznaky může doprovázet počáteční vysoká horečka až 39 °C, která by měla se zvracením během jednoho až dvou dnů ustát. Průjem a bolesti břicha mohou působit obtíže několik dnů. Změny podoby stolice jsou velice rychlé. Na počátku je kašovitá, poté vodnatá a může mít až brčálově zelenou barvu. Objevit se může hlen i krev. K vyloučení stolice může dojít i více jak desetkrát denně. Kvůli rychlému vyprazdňování dochází k velké ztrátě tekutin (dehydratace). Zejména u malých dětí a seniorů dochází k redukci kožního turgoru (napětí kůže přítomností vody), osychání sliznic, snížení množství moči. Ohrožení je také v případě iontové dysbalance, která s výše popsanou dehydratací může způsobit šokové stavy s nevratným poškozením ledvin. V krajních případech, kdy dojde až k urémii (závažný stav, který vzniká v důsledku těžké poruchy ledvin), nastává smrt jedince. Obvykle netrvá onemocnění déle než jeden týden (Rosický 1994; Havlík 2002; Vokurka & Hugo 2002; Beneš 2009).

Léčba gastroenteritické salmonelózy je založena především na doplnění tekutin ve formě čajů nebo speciálních perorálních rehydratačních roztoků. Po dobu průjmu se může podávat například lék Endiaron, Smecta nebo živočišné uhlí. Antibiotika se nepodávají, neboť prodlužují vylučování salmonel stolicí (Havlík 2002; Votava et al. 2007).

Rozdíl mezi systémovými a gastrointestinálními infekcemi je v jejich průběhu, ale i v jejich šíření, protože původcem systémové infekce je pouze člověk. Tato onemocnění jsou typická pro oblasti s nedostatečnou hygienou v rozvojových zemích, především v Indii a v Africe. V roce 2011 v oblasti Jižní Asie a Středního východu byla infekce rodem *Salmonella enterica* ssp. *enterica* Typhimurium ve 30 % případů smrtelná. V dnešní době k šíření těchto infekcí po celém světě přispívá turismus (Rosický 1994; Votava 2003; Votava et al. 2007; Walsh 2011).

Systémová onemocnění, jakými jsou břišní tyfus a paratyfus A, B, C, jsou způsobena primárně antropogenními salmonelami. Pro infekci, která vyvolá systémová onemocnění, je dostačující už dávka kolem  $10^4$  bakterií. V těchto případech salmonely po napadení střeva pronikají i do ostatních orgánů například jater, sleziny, kostní dřeně a mohou se vyskytovat i v krvi. Jak již bylo zmíněno v kapitole 3.2.1, příznivé podmínky jsou pro ně i ve žlučníku, kde jsou schopny se množit. K opakované infekci sliznice střeva dojde právě žlučí, která sem salmonely zanesou. Bakterie přetrvávají ve žlučových cestách hlavně při výskytu žlučových kamenů, někdy i v ledvinách, až do konce života člověka. Likvidace těchto salmonel z oblasti žlučníku je velice komplikovaná, v některých případech neproveditelná a v této souvislosti se hovoří o tzv. bacilonosičství (Bednář 1996; Macela 2006; Votava et al. 2007).

Břišní tyfus je velice závažné onemocnění, které může skončit až smrtí jedince. Způsobuje ho *Salmonella enterica* ssp. *enterica* Typhi. Bakterie se přenáší především močí a fekáliemi prostřednictvím znečištěných rukou, potravin a vody. Přenos může proběhnout i prostřednictvím much. Zdrojem nákazy je nemocný člověk nebo zdravě vypadající bacilonosič. Tím se jedinec stane po prodělání onemocnění, kdy je žlučový měchýř osídlen salmonelami. Právě bacilonosičství v minulosti způsobovalo velké potíže. Nejznámějším chronickým nositelem 20. století byla američanka Mary Mallonová, povoláním kuchařka. Kvůli její

nedostatečné hygieně rukou kontaminovala pokrmy a břišním tyfem nakazila přibližně 50 lidí, z toho 3 nákaze podlehlí. Začátek onemocnění může připomínat příznaky chřipky. Průjem není příznakem tyfu. Poté, co je jedinec infikován, se do 10 až 14 dní objeví vysoká horečka, kterou nelze utlumit běžnými léky proti horečce. Dochází k zvětšení jater a sleziny, zpomalení srdeční činnosti a snížení krevního tlaku. Jazyk a ostatní sliznice osychají. Tyfová roseola, neboli růžová skvrna, je typickým úkazem v podbřišku. Ve střevě dochází k infekci peyerských plátů, tvoří se vředy a hrozí proděravění střeva. Onemocnění se léčí antibiotiky např. chloramfenikolem, ampicilinem, amoxilinem atd. a trvá 10 až 14 dní. Pro snížení horečky se mohou podávat antipyretika, při bolestech analgetika. Důležitý je i dostatečný přísun tekutin a dieta, aby byla zátěž ilea snížena na minimum. Poškození střevní stěny je zahojeno jizvami (Bednář 1996; Vokurka & Hugo 2002; Macela 2006; Votava et al. 2007).

Paratyfus A je striktně lidská infekce způsobována bakterií *Salmonella enterica* ssp. *enterica* Paratyphi A, kterou lze kultivovat z krve, exkrementů nebo sérologickým vyšetřením. Hlavním příznakem jsou stálé horečky a celkový průběh nemoci má formu mírnějšího břišního tyfu. Infekce se v České republice nevyskytuje.

Zdroje nákazy paratyfu B jsou podobné jako u tyfu, ale také mohou být z potravin živočišného původu, nejčastěji z vajec. Způsobován je bakterií *Salmonella enterica* ssp. *enterica* Paratyphi B. Diagnóza je stanovena častěji kultivací z výkalů než z krve. Průběh nemoci je přechod mezi tyfem a gastroenteritickou salmonelózou. Při tyfoidním průběhu, který je velice ojedinělý, se už od počátku objeví vysoké horečky. Zároveň s nimi průjem a může se objevit roseola, která bývá mnohem výraznější než u tyfu. V druhém a většinovém případě má jedinec krátce trvající horečku a středně těžký průjem. Paratyfus B byl v minulosti velmi častým onemocněním působící epidemie. V současné době je výskyt velice ojedinělý. Léčení paratyfů je totožné s léčbou tyfu.

Paratyfus C je způsobován bakterií *Salmonella enterica* ssp. *enterica* Paratyphi C. Toto onemocnění obvykle navazuje na jiné vážné infekční onemocnění. Příznačné jsou pro něj skokově zvyšující se horečky, které jsou obvykle příznaky sepse. V České republice se nevyskytuje. Paratyfy se léčí antibiotiky, které se používají při břišním tyfu (Havlík 2002).

Bakterémii tj. přítomnost bakterií v krvi s horečkou mohou způsobovat všechny sérotypy salmonel, ale nejčastěji je to *Salmonella enterica* ssp. *enterica* Choleraesuis, *Salmonella enterica* ssp. *enterica* Dublin nebo *Salmonella enterica* ssp. *enterica*. Panama. Projevem této infekce jsou vysoké horečky 39-40 °C, zimnice, třesavky, jedinec je slabý a vyčerpaný. Poškození či změna celkového stavu jedince, nízký krevní tlak ani projevy orgánového poškození, které jsou typické pro sepsi, nejsou projevem této infekce. Ohroženi jsou především kojenci, senioři a jedinci s poruchou imunity.

Bakterie se mohou v krevním řečišti usadit. Ideální pozicí je místo preexistujícího trombu, hematomu nebo jiného cévního poškození a vzniká tzv. extraintestinální ložisko. Příznakem jsou dlouhotrvající horečky. Projevy, které upozorní na možnost poškození orgánu se projeví až po delší době. Častým případem je salmonelami způsobený zánět kloubů, zánět kostní dřene, absces jater, zánět žlučníku atd. Až smrtelnou extraintestinální infekcí je například endokarditida tj. zánět vnitřního povrchu srdce. Léčba je většinou pomocí nitrožilně podávaných antibiotik (Vokurka & Hugo 2002; Beneš 2009).

Velký problém působí stále se zvyšující salmonelová rezistence vůči antibiotikům, především proti již výše zmíněným při léčbě břišního tyfu. Hlavním důvodem je jejich

frekventované užívání u lidí, ale i zvířat. Geny rezistence mají salmonely v plazmidech a transpozonech. Přenos genů je ulehčen schopností výměny plazmidů a transpozonů mezi různými druhy (Macela 2006; Beneš 2009).

### 3.2.5 Metody zjištění přítomnosti salmonel v potravinách

Pro identifikaci rodu *Salmonella* v potravinách se používají kultivační testy, kterými se kultivací, tj. řízeným pomnožením zjistí jejich přítomnost. Aby se bakterie pomnožily, musí být pro ně dodrženy vhodné kultivační podmínky jakými jsou např. živná půda, vztah ke kyslíku (fakultativně anaerobní), pH, teplota atd. Optimální teplota pro salmonely je 35-37 °C při pH 6-7 (Vlková et al. 2006; Bhunia 2018).

ČSN EN ISO 6579-1 je česká státní norma „Mikrobiologie potravinového řetězce – Horizontální metoda průkazu, stanovení počtu a sérotypizace bakterií rodu *Salmonella* – Část 1: Průkaz bakterií rodu *Salmonella*“, kterou je specifikována horizontální metoda průkazu salmonel ze vzorků produktů určených pro lidskou spotřebu a krmení zvířat, životního prostředí v oblasti výroby potravin a manipulací s nimi, z fáze prvovýroby např. zvířecí výkaly, prach, výtěry. Stanovení je rozšířeno i na sérotypy Typhi a Paratyphi. Při použití této metody je předpokládána detekce většiny sérotypů rodu *Salmonella*. ČSN musela být vytvořena, protože legislativa EU, potažmo ČR, nařizuje sledování výskytu salmonel v některých potravinách.

Jedním ze způsobů, jak prokázat salmonely v potravinách, je nepřímá kultivační metoda tj. stanovení počtu kolonií tvořících jednotek KTJ (Plotnová metoda), která je i podstatou výše uvedené ČSN. Skládá se ze čtyř fází. Pro jejich představení je dále vybrán popis jednoho z možných provedení. Je stanoveno, že v 25 gmech potravin nesmí být přítomna ani jedna buňka salmonely. Avšak v tomto množství nelze stanovit pouze jednu buňku bakterie. Z toho důvodu se provede pomnožení všech přítomných bakterií v neselektivní tekuté půdě např. pufrované peptonové vodě. Tím se salmonely pomnoží do dostatečného množství, ze kterého je lze stanovit.

V dalším kroku je potřeba potlačit růst ostatních namnožených bakterií, a proto se provede selektivní pomnožení na dvou tekutých půdách (Rapport Vassiliadis sója medium a Mueller-Kauffman tetracionát novobiocin médium). Ty jsou svým vysokým osmotickým tlakem, nízkým pH (5,2) a obsahem živin koncipovány pro potlačení růstu ostatních bakterií rodu *Enterobacteriaceae*. Poté se bakterie izolují na agary, které vyhovují pouze salmonelám a pomocí nich se definitivně odliší od nejbližších z rodu *Enterobacteriaceae*, jakými jsou *Shigela* a *Escherichia coli*. Pro tuto izolaci se používá např. XDL agar (agar s xylózou), v němž mají kolonie salmonel, jako laktóza negativní bakterie, průsvitnou barvu s černým středem a okolí je zabarvené červeně viz Obrázek 6. Dle libovolného výběru druhou selektivní půdou může být například agar BPLS (laktózo-sacharózový agar s brilantovou zelení a fenolovou červení). Dále také Rambachův agar, na kterém se kolonie salmonel zabarví červeně viz Obrázek 7 a nesporně odliší salmonely od jiných bakterií. Dalším postupem je biochemické ověření vybraných kolonií např. průkaz štěpení močoviny a následná sérotypizace, která byla již zmíněna v kapitole 3.2.2 (Rosický 1994; Cupáková et al. 2011; Vlková et al. 2013).



Obrázek 6: Kolonie *Salmonella enterica* (ATCC® 14028) rostoucí na agaru XLD s Novobiocinem (Hardy Diagnostics 2019).



Obrázek 7: Rambachův agar (Merck KGaA 2019).

Ke stanovení a potvrzení se také používají i imunologické metody, jakou je například rychlá a přesná metoda ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay). Je založena na základě interakce antigenu a protilátky a také přítomnosti enzymu např. alkalické fosfatázy. Jedná se o test, ve kterém se střídá inkubační doba s promýváním, na jehož konci dochází k vyhodnocení vizuálnímu nebo spektrofotometrickému, fluorimetrickému, luminometrickému měření. Metoda je rozdělena do čtyř typů, jakými jsou přímá, nepřímá, sendvičová a kompetitivní ELISA. K měření se používají jamkové mikrotitrační polystyrenové destičky, na kterých dojde k znehybnění antigenu a protilátky viz Obrázek 8 a tím lze jednoduše separovat navázaný materiál od nenavázaného a promýt nespecificky navázaný materiál. Pro průkaz salmonel se obvykle využívá ELISA sendvičová, pro její citlivost a vysokou specifitu detekce antigenu (Cupáková et al. 2011; Baria 2019).

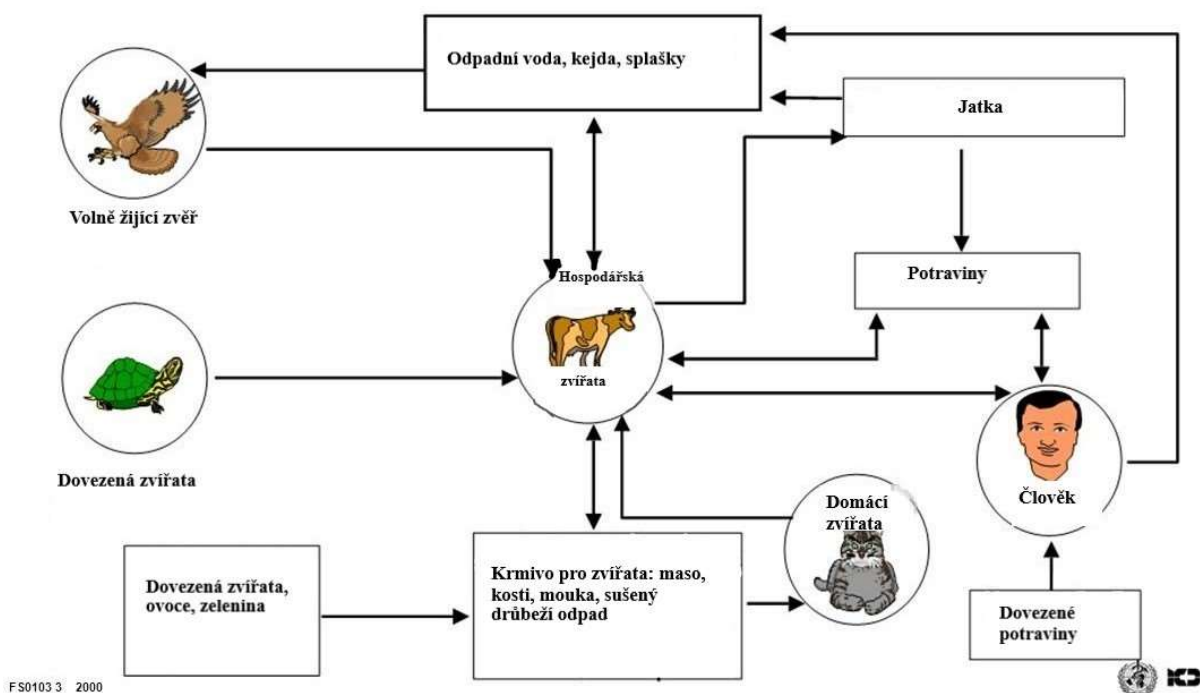
● Analyt/Antigen    
 ● Enzym    
  Konjugovaná primární protilátka



Obrázek 8: ELISA přímá. Reakce antigenu zachyceného na pevném povrchu s protilátkou značenou enzymem, který reaguje s činidlem a dojde k měřitelné barevné změně (Baria 2019).

### 3.2.6 Šíření salmonel

Salmonely, které způsobují gastrointestinální infekce se šíří nejčastěji prostřednictvím potravin živočišného původu. V porovnání s tím, v menší míře, infekce vznikají i prostřednictvím kontaminované vody, zeleniny a ovoce, kdy před pozřením není dodržen správný hygienický postup. Názorné zobrazení dalších možných cest je na Obrázek 9. Byly popsány i kuriózní případy infekce při kouření marihuany, neboť v inkriminovaném materiálu bylo obsaženo až  $10^7$  buněk salmonel. Případy přenosu z člověka na člověka jsou ojedinělé (Taylor et al. 1982; Rosický 1994; Dubanský 2008).



Obrázek 9: Schéma možností šíření salmonel (Upraveno dle York 2000).

Salmonela do lidského těla vniká pouze přes dutinu ústní, přesto nemusí jít pouze o konzumaci pokrmu, ale může dojít i k nákaze prostřednictvím vzduchu. Především v zaměřených prostorách stájí, ale i nemocnic atd., kdy dojde k přestupu salmonel z uschlých výkalů do prachových částic a vzduchu, kde jsou i přes složité cykly schopny se dostat k novému hostiteli (Rosický 1994; Dubanský 2008).

Většímu riziku nákazy jsou vystaveni lidé, kteří jsou pravidelně v přímém kontaktu s nakaženými hospodářskými zvířaty, která vylučují salmonely výkaly. Mezi hlavní původce patří především drůbež, obzvláště vodní, která se nakazí od volně létajících ptáků, např. racků a holubů. Do ohrožené skupiny osob patří v první řadě chovatelé hospodářských zvířat a veterinární lékaři. Dále jsou výrazně ohroženi také pracovníci porážkových linek a řezníci při manipulaci s již mrtvým zvířetem. Řetězec zpracování dále pokračuje až k pracovníkům restauračních zařízení a v závěru k samotnému spotřebiteli živočišného produktu, který se při nedodržení hygienického postupu či při špatném tepelném opracování, bakteriemi snadno nakazí. Nakazit člověka může i zvíře chované v domácnosti, jako je pes, kočka nebo exotické zvíře. Jsou zaznamenány i případy, kdy se děti nakazily salmonelou po návštěvě pavilonu plazů v zoologické zahradě (Corrente et al. 2004; Dubanský 2008).

Zdrojem nákazy mohou být myši a potkani, dále jsou záznamy o infekci z klokaního i velrybího masa. Bakterie se mohou vyskytnout i v uměle chovaných korýších a slávkách jedlých. Ve velké většině případů vzniká onemocnění jako následek konzumace nedokonale tepelně upravených vajec a výrobků z nich. V souvislosti s tím je důležité upozornit, že rizikovější je konzumace vajec vodní drůbeže oproti vejším slepičím. Problém jsou i tzv. křížové kontaminace, kdy při zpracování potravin např. u vajec si osoba po manipulaci s kontaminovanou skořápkou neočistí ruce a kontaktem s dalšími potravinami na ně bakterie přenáší. Velké riziko je u mléka a výrobků z mléka, které nejsou dostatečně tepelně upravené nebo během jejich zpracování nebyla dodržena náležitá hygiena. Šetrná pasterace mléka při 72-75 °C 15-20 sekundách je efektivní v případě, že počet salmonel obsažených v mléce nepřesáhne  $3 \times 10^{12}$  bakterií v 1 ml. V másle dokáží při teplotě skladování cca 4 °C přežít až 285 dní a v brynzových sýrech až 22 měsíců (Rosický 1994; Votava 2003; Votava et al. 2007; Dubanský 2008).

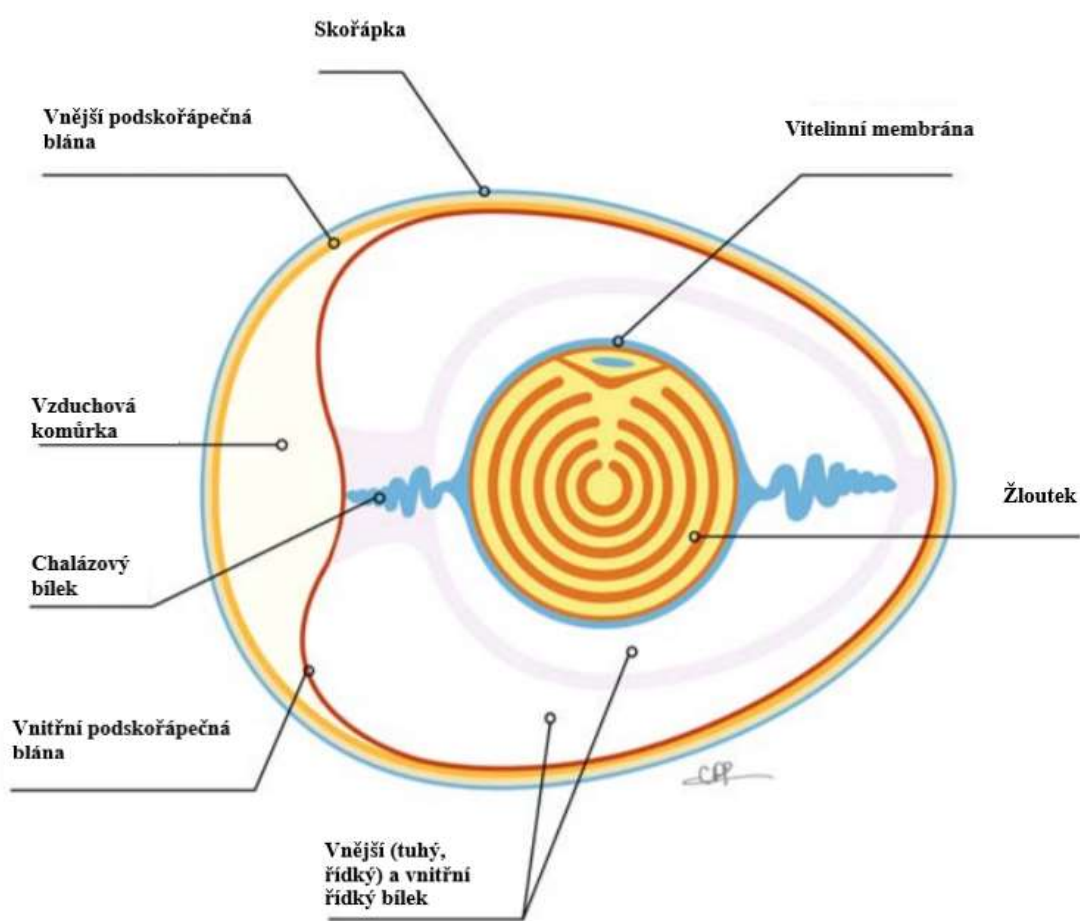
Dalším výhodným prostředím pro salmonely je maso, výrobky z mletého masa, výrazně solená masa a masné výrobky s vysokým obsahem tuku a bílkovin. I při 20% obsahu NaCl dokáží salmonely přežít až několik měsíců. Výrobky uzené studeným kouřem jsou též rizikové a bakterie tento způsob ošetření potravin relativně snadno přežijí. Kritickými živočišnými produkty mohou být např. sekaná, paštika, majonéza a různé cukrářské výrobky v podobě krémů a šlehaček. Vyšší riziko infekce je v letním období, protože může docházet k zanedbání chlazení potravin, jakými mohou být zmrzlina nebo lahůdkové saláty. Vyšší teploty umožní salmonelám rychlé pomnožení do vysokých dávek. K šíření bakterií salmonel potravinami přispívá i současné globální obchodování. Celosvětovým obchodem se už kontaminované potraviny transportují do zcela jiné oblasti a tím se urychlí jejich šíření na několika místech najednou. K tomu došlo například v případě krutího masa, které bylo kontaminováno sérovarem Hadar a bylo distribuováno do stovek zemí světa (Rosický 1994; Votava 2003; Votava et al. 2007; Dubanský 2008).

### 3.3 Tvorba a složení slepičího vejce

Tato kapitola bude pojednávat o stavbě a složení slepičích vajec. Dále bude popsána pohlavní soustava slepice a tvorba vajec.

#### 3.3.1 Stavba vejce

Vejce je plod plazů, ptáků, vejcorodých savců a do této skupiny zvířat patří i kur domácí. Skládá se ze skořápky, podskořápečných blan, bílku a žloutku viz Obrázek 10. Hmotnost vejce se pohybuje od 53-73 g/kus. Z celkové hmotnosti vejce tvoří skořápka 9,5 %, podskořápečné blány 0,5 %, žloutek 30 % a bílek 60 % (Halaj & Golian 2011).

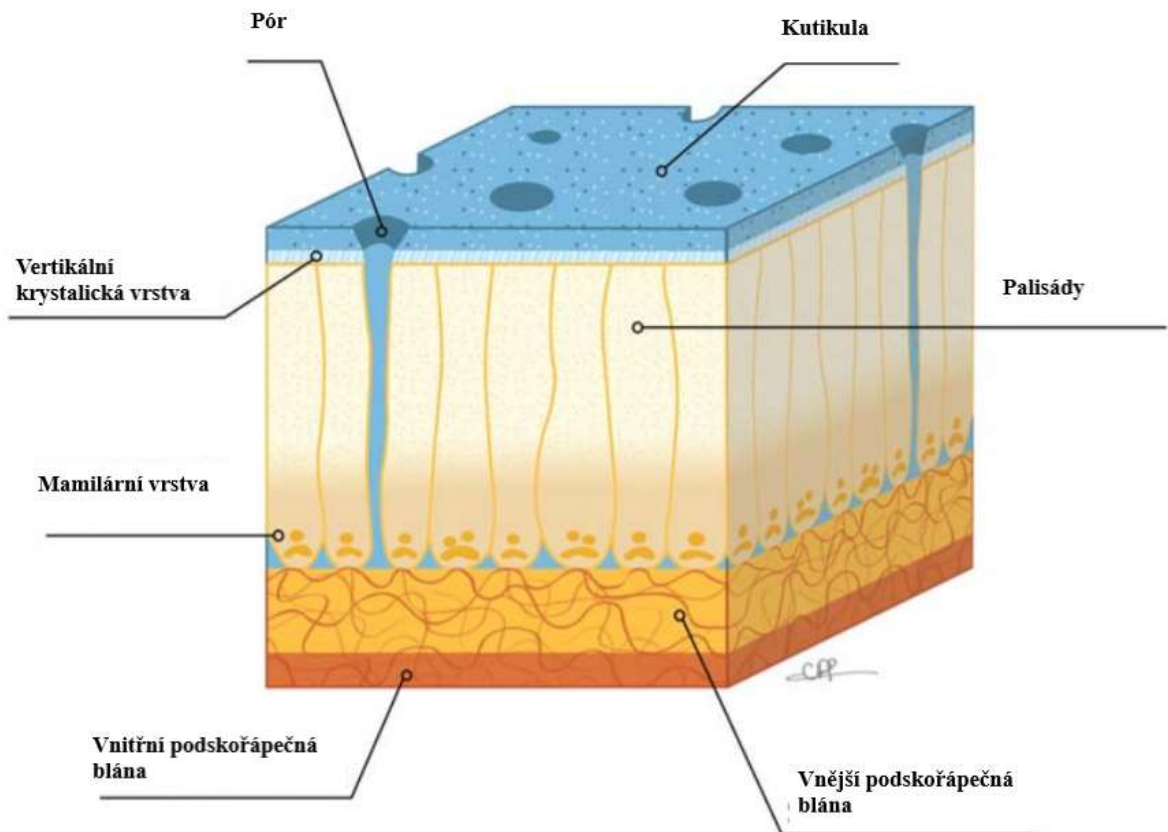


Obrázek 10: Stavba vejce (Upraveno dle Hincke et al. 2012).

Skořápka je obalená kutikulou, což je průhledná mucinózní blána. Ta má za úkol chránit vejce před nežádoucími mikroorganismy, zabraňuje vypařování vody a pomáhá při snesení vejce. Skořápka se skládá z dvou vrstev, mamilární a palisádová vrstva viz Obrázek 11. Mamilární je vrstva vnitřní, na kterou navazuje vrstva palisádová. Tvoří ji organická matrice a měkké krystaly  $\text{CaCO}_3$  (uhličitan vápenatý). Palisádová je vrstvou vnější. Tvoří ji sloupce tvrdého krystalu  $\text{CaCO}_3$ . Nazývá se palisádová, protože přítomné krystaly mají palisádový tvar. Tloušťka vaječné skořápky slepic se pohybuje v rozmezí 0,35-0,40 mm. Nejedná se o



hermeticky uzavřený útvar, neboť svrchní vrstva je tvořena kolmo k povrchu umístěnými kanálky tzv. póry. Ty umožňují výměnu vzduchu mezi vejcem a okolním prostředím. Jsou rozmístěny nerovnoměrně a jejich počet může dosahovat až 8 000. Nejvíce jich je situováno na tupém konci vejce. Barva skořápky je dána barvivem ovoporfyne, uloženým ve vrchní vrstvě. Kromě uhličitanu vápenatého, který tvoří 96 %, skořápka obsahuje malé množství organické matrice (2 %) a sodíku, draslíku, hořčíku nebo fosforu. Podskořápečné blány jsou dvě, vnitřní a vnější podskořápečná blána, které k sobě před snesením těsně přiléhají (Hincke et al. 2012; Skládanka 2015; PoultryHub 2020a).



Obrázek 11: Stavba skořápky (Upraveno dle Hincke et al. 2012).

Bílek je tvořen čtyřmi vrstvami, které obklopují žloutek. Skládá se z vnějšího tuhého bílku (57 %), vnějšího řídkého bílku (23 %), vnitřního řídkého (17 %) a chalázového bílku (3 %). Hlavní funkcí celého bílku je zásoba vody pro zárodek. Speciální funkci má chalázový bílek, který zajišťuje, aby žloutek zůstal ve středu vejce. Hustý vnější bílek je tvořen mřížkou z mucinózních vláken, které obsahují roztok proteinů a vody. Má gelovitou strukturu. Celkové složení bílku je cca 87 % voda, 10 % protein, ve stopovém množství lipidy, sacharidy, minerální látky. Hlavní proteiny bílku jsou ovoalbumin, ovoglobulin, ovomukoid, dále enzym lysozym a glykoprotein ovotransferin. Přítomnost těchto proteinů způsobuje nevhodné prostředí pro růst bakterií, protože jde zde vysoké pH (cca 9) a většina mikroorganismů nemá proteázy nutné pro štěpení bílkovin. Podrobnější působení těchto látek vůči salmonelovým bakteriím bude rozebráno zde 3.4.1. Minerální látky jsou tvořeny především sodíkem, draslíkem, vápníkem a

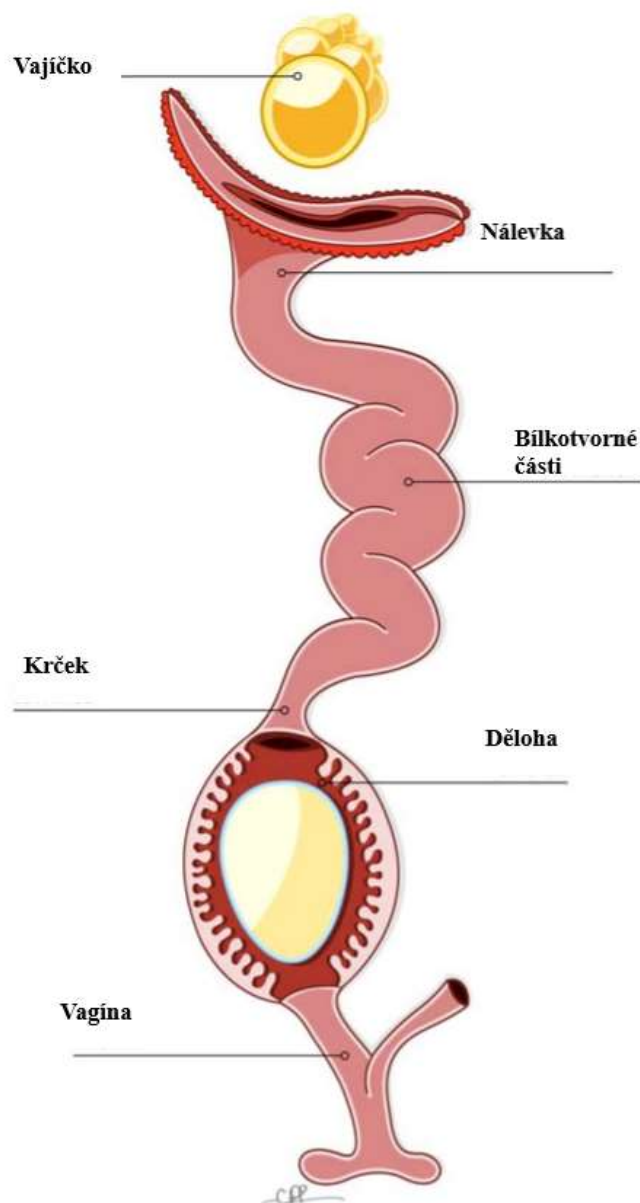
fosforem. Nejvíce zastoupené vitamíny bílku jsou riboflavin a kyselina pantotenová (Míková 2010; PoultryHub 2020a).

Žloutek má tvar koule, v průměru cca 4 cm. Povrch je tvořen pružnou a pevnou vitelinní membránou. Další částí je letebra, což je dutinka uprostřed žloutku. Je vyplněná světlým žloutkem, který se společně s tmavým žloutkem střídavě ukládá kolem ní. K povrchu žloutku směřuje krček letebry, který je zakončen zárodečným terčíkem. Žloutek je zásobárnou živin pro vývoj embrya. Je tvořen 49 % vodou, 32 % lipidy, 17 % proteiny, 1 % sacharidy a 1 % minerální látky. Lipidy jsou zde ve formě triacylglycerolů (63 %), fosfolipidů (31 %) a cholesterolu (6 %). Je zde příznivý poměr omega-6 nenasycených mastných kyselin a omega-3 nenasycených mastných kyselin. Obsah mastných kyselin je cca 6 g v jednom vejci. Hlavní vitamíny ve žloutku jsou E, A a kyselina pantotenová. Z minerálních látek je to fosfor, vápník a draslík. Oproti ostatním částem vejce nemá obsah žloutku pod vitelinní membránou žádné obranné mechanismy proti mikroorganismům. Pokud dojde k proniknutí mikroorganismů až do žloutku, dochází k rychlému kažení vejce (Míková 2010; Rehman & Haq 2011; PoultryHub 2020b).

### 3.3.2 Rozmnožovací soustava slepice a tvorba vejce

Rozmnožovací soustava slepice se skládá z dvou vaječníků, přičemž funkční je pouze levý. Vaječník má tvar hroznu a skládá se z velkého množství nažloutlých folikulů, z nichž každý obsahuje vajíčko. V tělní dutině slepice jsou vaječníky umístěny v oblasti odstupujících posledních žeber pod páteří. Hlavní funkcí vaječníku je produkce vajíček tj. samičí pohlavní buňky konkrétně žloutku, který nese zárodečný terčík a dále také produkce hormonů (androgen, estrogen, progesteron). Během doby, co je žloutek ve folikulu a zraje, jsou mu zde poskytovány živiny potřebné k růstu. Ve chvíli, kdy dojde k ovulaci (uvolnění vajíčka), folikul praskne a vajíčko se uvolní do vejcovodu. Místo, kde folikul praskne a vajíčko se uvolní, se nazývá stigma (Tuláček 2002; PoultryHub 2020a).

Vejcovod je dlouhá, dobře prokrvená roztažitelná trubice, která s vaječníkem není pevně spojena, ústí do kloaky. Morfologické rozdělení vejcovodu viz Obrázek 12 je nálevka, bílkotvorná část, krček, děloha, pochva. Při aktivitě dosahuje vejcovod 60-70 centimetrů. Hlavní funkcí je zachycení ovulovaného vajíčka, a kromě žloutku se zde tvoří další části vejce. Vnitřní žláznatá vrstva, střední svalová vrstva a vnější povázka utvářejí stěny vejcovodu. Organizace svalových vláken je kruhová i podélná (Tuláček 2002; Damerow 2015; Skládanka 2015; PoultryHub 2020b).



Obrázek 12: Pohlavní soustava slepice (Upraveno dle Hincke et al. 2012).

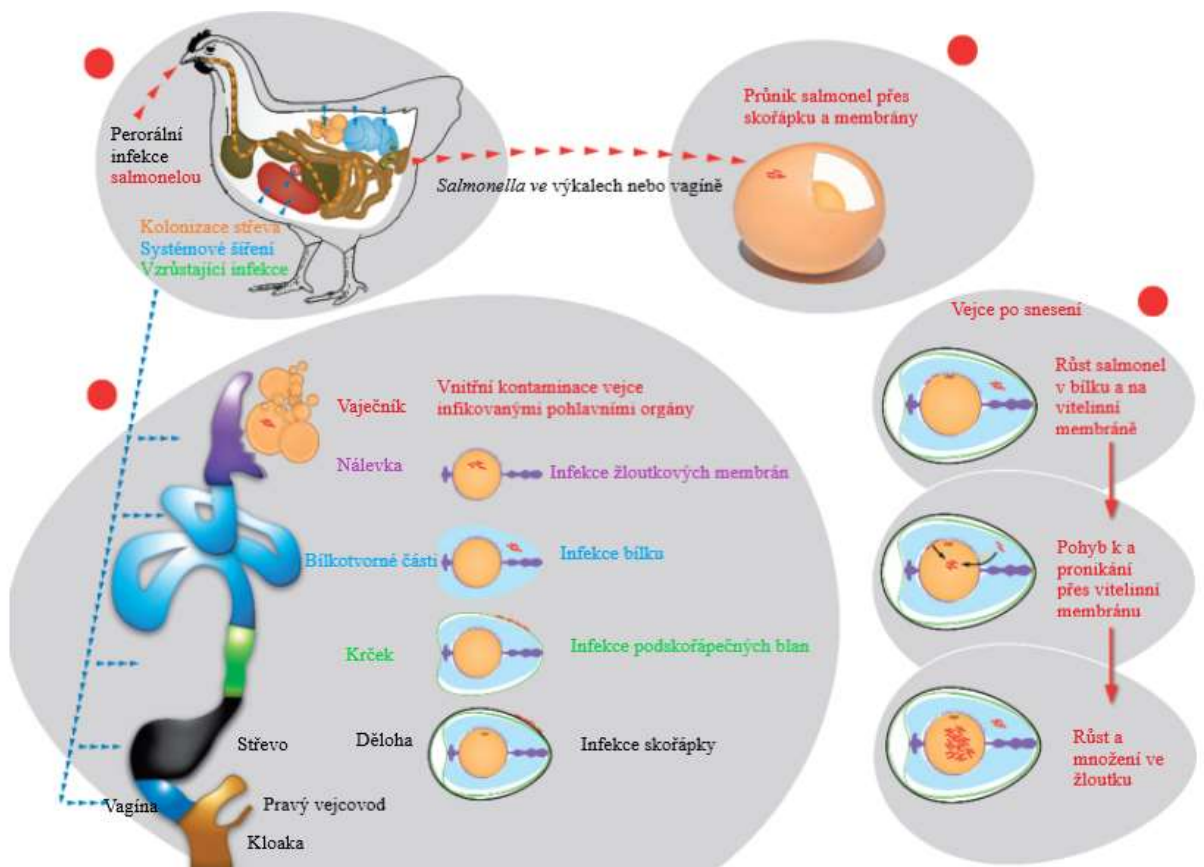
V nálevce vejcovodu (infundibulum) dochází k zachycení ovulovaného vajíčka a k jeho oplození, pokud byla slepice oplodněna. Vytváří se zde jako první chalázový bílek. Tento proces trvá 15-20 minut. V bílkotvorné části (magnum) se rotačními pohyby z chalázového bílku vytvoří další složky bílku, které se od sebe později rozdělí působící rotací, tato část trvá 3 hodiny. Následně v krčku (isthmus) dochází k tvorbě podskořápečných blan a obohacení bílku o vodu a minerály. Nejdříve se vytvoří vnitřní podskořápečná blána a poté vnější podskořápečná blána. V této fázi jsou k sobě pevně spojeny a k jejich oddělení dojde až po snesení vejce, přičemž mezi blánami na tupém konci vznikne vzduchová komůrka. Ta je poté ukazatelem kvality, čím je vejce starší, vzduchová komůrka se zvětšuje. Dalším procesem této fáze je tvorba základu pro skořápku na vnější podskořápečné bláně vytvořením prvních krystalů uhličitanu vápenatého. Délka procesu v krčku je 1 hodina a 15 minut. Děloha (uterus) je poměrně krátká, vydutá žláza. Dochází zde především k tvorbě skořápky a její pigmentaci. Počet iniciačních zrn (krystalů uhličitanu vápenatého), které byly položeny v krčku, určují

tloušťku skořápky. Čím víc zrn je, tím silnější je skořápka. Děložní úsek trvá nejdéle a to 19-20 hodin. V pochvě (vagině) se vejce pokryje kutikulou. Proces trvá 10 minut. Z vagíny vejce pokračuje do kloaky, přes kterou odchází pryč z těla. Celý proces tvorby vejce trvá cca 24-25 hodin (Tuláček 2002; Damerow 2015; Skládanka 2015; PoultryHub 2020b).

### 3.4 Salmonely ve slepičích vejcích

Tato kapitola bude pojednávat o způsobu přenosu a výskytu salmonel ve slepičích vejcích. S tím spojené obranné mechanismy vejce, které musí bakterie překonat a dále budou uvedeny sérotypy, které se zde vyskytují.

Nejčastěji se v případě kontaminace slepičích vajec salmonelami vyskytuje sérotyp *Salmonella enterica* ssp. *enterica* Enteritidis (SE), což je dáno tím, že se jedná o sérotyp, který se nejčastěji vyskytuje v chovech slepic. Bakterie tohoto rodu jsou unikátní i z důvodu, že při kontaminaci vejce nezpůsobí jeho znatelné změny. Existují dvě možnosti, kterými jsou salmonely schopny kontaminovat vejce. Zaprvé horizontálním přenosem a zadruhé vertikálním přenosem. Obě možnosti přenosu jsou znázorněny viz Obrázek 13 a podrobněji se jimi budou zabývat následující podkapitoly. Snahou bakterií je proniknout až k živinově bohatému žloutku. Pro pohyb bakterií jsou velmi důležité bičíky, které se uplatňují jak na povrchu vejce, tak v jeho obsahu. I přes mnoho studií zaměřených na tuto problematiku nebylo jasně prokázáno, který z přenosů je pro bakterie častější. Obtížné je i přesně identifikovat, kterým z přenosů došlo k infekci vejce. Vstup a průnik salmonel je umožněn jejich dobře vyvinutou schopností chránit a opravovat své buněčné stěny, nicméně vejce není tak snadným terčem a má mnoho antibakteriálních složek, kterými se snaží působení bakterií zabránit (Gantois et al. 2008b; Martelli & Davies 2012).



Obrázek 13: Horizontální a vertikální přenos salmonel ve slepičím vejci (Upraveno dle Gantois et al. 2009).

### 3.4.1 Horizontální přenos

Horizontálním přenosem se rozumí průnik bakterií z vnějšího prostředí přes skořápku do vejce. Infekce skořápky mohla vzniknout po jejím vytvoření již v těle slepice nebo po ovipozici. K infekci může dojít ve vagíně, která může být salmonelami infikována. Zde dochází ke kontaminaci podskořápečných blan, ale i samotné skořápky. Dále v kloace, neboť do ní ústí rozmnožovací a trávicí soustava slepice viz Obrázek 13 a vejce se dostává do stejného prostředí, ve kterém byl před ním kontaminovaný trus.

Po ovipozici je mnoho možností, jakými dochází ke kontaminaci skořápky a může k ní dojít prakticky kdekoliv. Vejce se čistí pouze suchou cestou, aby nedošlo k narušení kutikuly. Nejčastěji dochází k znečištění již v prostorách, kde se snáší vejce a je velké množství slepic, neboť vejce zdravých slepic mohou být kontaminovány trusem infikovaných slepic. Zásadní je hygiena chovu, protože bakteriím vyhovuje přítomnost slepičího trusu a dalších vlhkých organických materiálů. Bylo zjištěno, že pokud se fekáliemi znečištěná a kontaminovaná vejce salmonelami skladují při 25 °C, po jednom dni se zvýší jejich počet o 1 až 2 řády a po 3 dnech je počet navýšen až o 5 řádů. Nicméně salmonely dokáží na skořápce přežít a růst i při nižších teplotách, nízké relativní vlhkosti a při absenci fekálií (Schoeni et al. 1995; Messens et al. 2006; Gantois et al. 2009).

Nejsnadnější průnik do vaječného obsahu je poškozeným vejcem s prasklou skořápkou. V případě neporušeného vejce fungují 3 fyzické bariéry vejce proti bakteriální penetraci. Jsou jimi kutikula, skořápka a podskořápečné blány. Kutikula jako hydrofóbní proteinová vrstva kryje a chrání póry. Plně funkční ochranu má cca 96 hodin, než je její velká část odstraněna otěrem. Nejvíce náchylná doba, kterou mohou salmonely pro penetraci využít, je ihned po snesení, protože kutikula ještě není vyzrálá a některé póry nejsou chráněny. Funkčnost kutikuly je nižší i u vajec, která jsou starší, neboť dochází k její dehydrataci. Blána se smrští a tím se odkryjí některé póry a bakterie mohou snadno vstoupit.

Mezi další faktory, které ovlivňují vstup bakterií do vejce, patří tloušťka skořápky a délka pórů. Nejvíce pórů se nachází na tupém konci vejce, kde je vzduchová komůrka. Čím jsou póry delší, tím více se kroutí a mohou mít až spirálovitý tvar. Tím se průchod pórem komplikuje, protože zakřivením jsou bakterie omezeny ve svém pohybu. Naopak u některých pórů může dojít ke špatnému tvarování větším průměrem, mohou průnik bakteriím usnadnit. Další výhodná situace se pro bakterie vytvoří při přechodu teplého vejce ze slepičího těla (cca 42 °C) do chladnějšího prostředí. Tím může dojít k vytvoření podtlaku. Skořápka zůstává pevná, přičemž teplý žloutek a bílek se chladem smršťují a tím vytváří tlak, kterým dochází k vtažení bakterií z povrchu skořápky přes póry do vaječného obsahu.

Vnější podskořápečná blána je navázána přímo na skořápku. Skládá se ze tří vláknitých vrstev, jejich struktura je velmi složitá a pro bakterie je jejich překonání náročné. Vnitřní membrána se skládá ze dvou vrstev a je v kontaktu s bílkem. Obě podskořápečné blány svou společnou stavbou působí jako filtr. Společně se skořápkou mají kromě funkce bariéry fyzické i chemickou, neboť se v nich vyskytují antibakteriální proteiny bílku např. lysozym, ovotransferin aj. Podstatným skořápkovým proteinem je ovocalyxin-36, protože jeho proteinová sekvence je podobná sekvenci proteinu, který váže lipopolysacharidy. Tím je možnost vázat bakteriální lipopolysacharidy (Gautron et al. 2007; Gantois et al. 2009; Howard et al. 2012).

Po průniku přes skořápku a podskořápečné blány salmonely rostou v bílku a na vitelinní membráně viz Obrázek 13. I z obrázku je zřejmé, že jejich aktivita (růst a množení) v těchto částech vejce není příliš velká. To je zapříčiněno relativně účinným antibakteriálním složením bílku a vnější vitelinní membrány. Mezi antibakteriální složky bílku patří enzym lysozym. U grampozitivních bakterií štěpí vazby v buněčné stěně mezi N-acetylmuramovou kyselinou a N-acetylglukosaminem tvořících silnou vrstvu peptidoglykanu. Nicméně u gramnegativních není vrstva peptidoglykanu tak silná a účinek lysozymu není tak zásadní. Významnějším antibakteriálním proteinem je v tomto případě ovotransferin. V podskořápečných blánách a skořápce v kalcifikovaných vrstvách působí jako bakteriostatický filtr. Přímo v bílku chelatuje uvolněné železo, které poté není k dispozici pro bakteriální využití. Ovomukoid a ovostatin jsou proteinázové inhibitory, které bakteriím zabraňují využívat proteiny bílku. Také peptidy označené jako defensiny jsou antimikrobiálně aktivní látky. Nejvýznamnějšími z nich jsou gallinaciny (Stevens 1991; Ibrahim et al. 2000; Sugiarto & Yu 2004; Higgs et al. 2005; Messens et al. 2006; Gantois et al. 2009; Howard et al. 2012).

Salmonely se výše zmíněné bariéry snaží překonat a dostat se do obsahu živinově bohatého žloutku. V něm se bakterie mohou dobře množit. Žloutek je pro salmonely výhodným prostředím, protože je bohatý na živiny a jeho obsah nemá žádné fyzické a chemické obranné mechanismy. Vitelinní membrána je dobře propustná, neboť musí umožnit průnik oplodňujících buněk a živin, nicméně tím je usnadněn i vstup bakterií. Na povrchu obsahuje kolagenní matici překrytou vrstvou glykoproteinů (např. fibronectin), kterými je umožněna adheze bakterií. Časně po snesení vejce působí vitelinní membrána i antimikrobiálně. Sušina čerstvé vnější vitelinní membrány je z 60 % tvořena lysozymem, ovoalbuminem, ovotransferinem, ovomucinem. Stářím tyto látky ale ztrácí a dochází i k povolení pevnosti membrány s následným uvolňováním živin do bílku, což může být vodítkem bakterií k samotnému zdroji živin. Tento únik může vyvolat u bakterií chemotaktický pohyb k žloutku (Messens et al. 2006; Gantois et al. 2009; Howard et al. 2012).

### 3.4.2 Vertikální přenos

Při vertikálním přenosu dojde ještě před ovipozicí k přímé kontaminaci žloutku, bílku, podskořápečných blan infikovanou rozmnožovací soustavou.

Kolonizaci rozmnožovacích orgánů salmonelám umožňují virulentní faktory popsané výše. Pro systémové šíření je zásadní působení mechanismů vyvolaných SPI-2. Dále konkrétně sekreční systém T3SS-1 při infekci střevního epitelu a T3SS-2 při šíření systémové infekce, který podporuje intracelulární přežití bakterií v makrofázích. K infekci reprodukčních orgánů může dojít i vzestupnou infekcí vejcovodu, při které se do něj bakterie dostanou z infikované kloaky.

K systémové infekci slepice dojde stejným způsobem, jak již bylo podrobně popsáno v podkapitole 3.2.4. Poté co jsou salmonely pohlceny makrofágy, je umožněno systémové šíření do dalších orgánů, jakými jsou právě i ty reprodukční. Byla provedena řada studií, ale ani jedna jednoznačně nepotvrzuje, která oblast rozmnožovací soustavy je bakteriemi primárně kolonizována. Výsledky některých studií se přiklání k vaječníku, další k vejcovodu (Bohez et al. 2008; Gantois et al. 2008a; Gast et al. 2008; Gantois et al. 2009).

Při napadení rozmnožovací soustavy v oblasti vaječníku je pro bakterie snadné infikovat ostatní části reprodukční soustavy, protože se rychleji přemísťují s vytvářejícím vejcem. Co činí z vaječníku velmi dobře napadnutelnou část, je jeho vysoká propustnost vaskulárního endotelu pro příjem živin a je tím usnadněn průchod i nežádoucích elementů. Ve většině případů se salmonely ve vaječníku uchytí na folikulech pomocí fimbrií typu 1. Jednou z možných způsobů přilnutí je i vazba na fibronektin, který umožňuje buněčnou adhezi. Salmonely jsou schopné napadnout folikuly v různé fázi zralosti. U nezralých folikulů může v krajních případech dojít až k jejich degeneraci, protože salmonely s jejich nárůstem odebírají značné množství živin důležitých pro jejich vývoj.

Vejcovod může být infikován přímo, kdy jsou salmonely zaneseny systémovým šířením makrofágy, nebo může dojít k sestupné infekci z vaječníků či vzestupné infekci z kloaky. Jak již bylo výše zmíněno, v nálevce vejcovodu a bílkotvorných částí dochází k vytváření bílků. I tyto oblasti mohou být infikovány salmonelami, nicméně se bakterie musí potýkat s méně příznivým prostředím kvůli antimikrobiálním složkám bílku, které byly rozebrány v předchozí podkapitole. Posledními místy, aby se způsob přenosu mohl označit za vertikální, je krček. Salmonely zde způsobují kontaminaci podskořápečných blan, ale dochází také ke kontaminaci vaječného obsahu ještě před vytvořením podskořápečných blan (Gast & Holt 2000; Okamura et al. 2001; Gantois et al. 2009).

### 3.4.3 Sérotypy salmonel ve slepičích vejcích

V této podkapitole budou představeny vyskytující se sérotypy salmonel, které kontaminují slepičí vejce. Růst bakterií v infikovaných vejcích je velmi usnadňován podmínkami skladování. Vejce by měla být skladována při konstantní teplotě, která by neměla překročit 20 °C. Optimální teplotou je 10 °C a nižší, protože při ní salmonely nejsou schopny růstu v bílku. Mimo jiné teploty nad 10 °C zvyšují propustnost vitelinní membrány.

Hlavní a nejčastější sérotyp, který kontaminuje slepičí vejce, je *Salmonella enterica* ssp. *enterica* Enteritidis a to v 77 % případů. Přenos probíhá horizontálně i vertikálně. Ve vertikálním přenosu výrazně pomáhá schopnost tohoto sérotypu dlouhodobě kolonizovat vaječník a vejcovod slepice. To ostatní sérotypy nedokáží tak efektivně, což bylo potvrzeno na intravenózním infekčním modelu, kdy SE dokázala kolonizovat rozmnožovací orgány daleko lépe než ostatní sérotypy. Pro další provedenou studii, zabývající se výskytem sérotypu Enteritidis v rozmnožovací soustavě slepic, bylo vybráno celkem 15 farem, u kterých byla známa infekce tímto sérotypem. Z každé farmy byla postmortálně testována rozmnožovací soustava (vaječníky a vejcovody) a střeva 300 slepic. Vyhodnocená data jsou zaznamenána v Tabulka 2. Z výsledků vyplývá, že z celkového počtu 1 064 nakažených slepic se ve 44 % případů vyskytoval sérotyp Enteritidis v rozmnožovacích orgánech. S ohledem na tento údaj se jedná o nezanedbatelný počet, z toho důvodu je nutné věnovat pozornost i této oblasti výskytu salmonel (Gantois et al. 2009; Arnold et al. 2014).



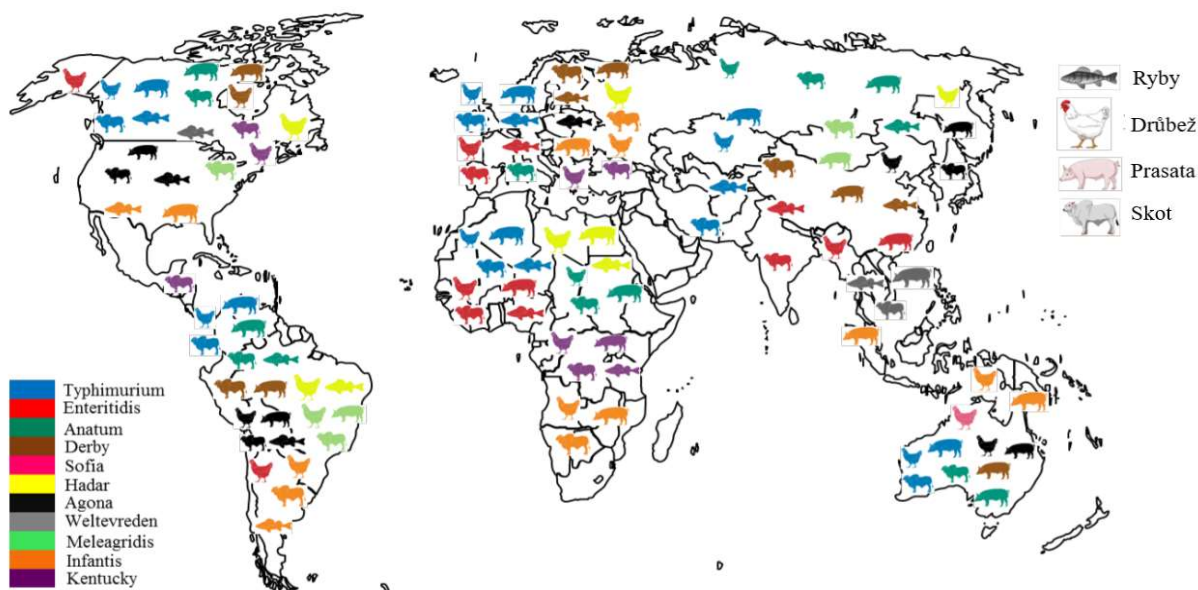
Tabulka 2: Počty slepic, u kterých byla zaznamenána přítomnost sérotypu Enteritidis (Upraveno dle Arnold et al. 2014).

Kód farmy	Pozitivní pouze střevo	Pozitivní rozmnož. orgány a střevo	Pozitivní pouze rozmnož. orgány	Pozitivní ptáci (%)	Negativní ptáci
1	12	28	9	49 (16,3)	251
2	0	0	0	0 (0)	296
3	39	12	14	65 (22,8)	220
4	0	0	0	0 (0)	300
5	20	32	26	78 (26,1)	221
6	30	5	13	48 (16,1)	250
7	5	4	2	11 (4,1)	255
8	18	30	10	58 (19,7)	237
9	23	17	14	54 (18)	246
10	106	18	12	136 (45,3)	164
11	55	10	20	85 (28,3)	215
12	138	29	22	189 (63)	111
13	66	39	13	118 (40,7)	172
14	86	53	34	173 (59,9)	116
15	0	0	0	0 (0)	300
Σ	598	277	189	1064	
Výskyt v rozmn. orgánech = 466					

Dále byl v několika dalších výzkumech sérotyp Enteritidis jako jediný prokázán v obsahu následně snesených vajec. Mezi mechanismy, pomocí kterých sérotyp docílí úspěšně transovariální infekce, patří fimbrie SEF14 a funkce genu *yafD*, který je zapojen do obrany především při působení antibakteriálních složek bílku. Optimální teplota pro salmonely uvedena v kapitole 3.2.5 je velmi blízká teplotě slepičího těla (cca 42 °C), kterým se tělo slepice stává teplotně příznivým prostředím (Gantois et al. 2009; Martelli & Davies 2012).

Dalším sérotypem kontaminující slepičí vejce je *Salmonella enterica* ssp. *enterica* Typhimurium. Oproti Enteritidis je jeho výskyt se 3,5 % ve vejcích daleko nižší. Infekce vajec tímto sérotypem je spojena především s horizontálním přenosem.

Ve zbylých 19,5 % případů se na nebo ve vejcích vyskytují *Salmonella enterica* ssp. *enterica* Hadar, *Salmonella enterica* ssp. *enterica* Infantis, *Salmonella enterica* ssp. *enterica* Virchow, *Salmonella enterica* ssp. *enterica* Heidelberg, *Salmonella enterica* ssp. *enterica* Mbandaka, *Salmonella enterica* ssp. *enterica* Livingstone, *Salmonella enterica* ssp. *enterica* Kentucky, *Salmonella enterica* ssp. *enterica* Sofia. Podle dat z řady provedených výzkumů byly tyto sérotypy izolovány především ze skořápky, která byla infikována horizontálním přenosem. Byly objeveny i ve vaječném obsahu, nicméně v daleko méně případech. Jejich výskyt je v jednotlivých zemích odlišný. Přehled jejich nejčastějšího výskytu, nejen u drůbeže, je zmapován na Obrázek 14 (Gantois et al. 2008a; Martelli & Davies 2012; Ferrari et al. 2019).



Obrázek 14: Výskyt sérotypů salmonel ve světě (Ferrari et al. 2019).

Stanovením výskytu (skořápka či obsah) salmonel ve vejcích se zabývá řada studií, ale je velmi obtížné výsledky porovnat nebo z nich učinit jednoznačný závěr, neboť má každá studie jiný design. V následující Tabulka 3 jsou vybrány průzkumy provedené v několika zemích v letech 2000-2009 s využitím různých bakteriologických metod. Vejce byla testována po skupinách nebo samostatně. Některé průzkumy se zabývaly jednotlivě vaječným obsahem a skořápkou, některé podrobněji výskytem současně ve skořápce i v obsahu. Analýzy prokázaly především výskyt sérotypů *Salmonella enterica* ssp. *enterica* Enteritidis a *Salmonella enterica* ssp. *enterica* Typhimurium. Většina studií ještě zaznamenávala i další přítomné sérotypy (Martelli & Davies 2012).

Tabulka 3: Kontaminace vajec salmonelami (Upraveno dle Martelli a Davies 2012).

Země, rok, odkaz	Počet vzorků/ z toho pozitivní	Počet pozitivních vzorků						Seznam OS
		Pouze na skořápce	Pouze v obsahu	Na skořápce i v obsahu	SE	ST	OS	
Uruguay, (2000-2002), (Betancor et al. 2010)	620/58 (TPS 20)	-	58	-	8	0	50	S. Derby (39)
								S. Panama (2)
								S. Gallinarum (9)
Japonsko, (2004-2006), znečištěná vejce, (Lapuz et al. 2008)	1766/30 (TPS 90)	-	-	30	7 (S+O)	1 (S+O)	22	S. Infantis (22)
Japonsko, (2004-2006), zpracovatelská vejce (čistá), (Lapuz et al. 2008)	11280/116 (TPS 40)	-	116	-	112 (O)	0	4	S. Infantis (40)
Japonsko, (2004-2006), vejce z obchodu, (Lapuz et al. 2008)	9010/3 (TPS 10)	-	3	-	2 (O)	0	1	S. Infantis (1 O)
USA, (2006), (Jones & Musgrove 2007)	180/2 (TPS 6)	1	0	0	0	0	2	S. Heidelberg (2S)
Severní Indie, (2006-2007), vejce z farmy, (Singh et al. 2010)	260/10 (TI)	2	7	1	0	9 (S)	1	S. Africana (1)
Severní Indie, (2006-2007), vejce z obchodu, (Singh et al. 2010)	300/17 (TI)	10	5	2	0	6 (S)	11	S. Lagos (6)
								S. Rough Strain (4)
								S. II (1)
Japonsko, (2007-2008), (Sasaki et al. 2010)	2030/5 (TPS 10)	5	0	0	2 (S)	0	3	S. Derby (2S)
								S. Livingstone (1S)
								S. Cerro (1S)
Iran, (2008), (Jamshidi et al. 2010)	250/4 (TI)	4	0	0	0	4 (S)	0	-
Francie, (2008), (Chemaly et al. 2009)	4200/44 (TI)	44	-	-	17 (S)	3 (S)	24	S. Montevideo (2S)
								S. Virchow (18S)
								S. Infantis (4S)
Austrálie, (2009), Chousalkar et al. 2010)	500/0 (TI)	0	0	0	0	0	0	-

S=pouze skořápka

O=pouze obsah

TPS= testováno po skupinách

TI= testováno individuálně

SE= *Salmonella* Enteritidis

ST= *Salmonella* Typhimurium

OS= Ostatní sérotypy

S. = *Salmonella*

Vliv na čas, za který bakterie proniknou do vaječného obsahu přes skořápku, může mít věk nosnice, barva, stáří a stavba vajec. Počet skořápkových pórů není zásadním faktorem, naopak je to doba skladování vajec a teplota prostředí. Předmětem následně popsané studie je stanovení minimální doby, za kterou jsou salmonely schopné proniknout do bílých a hnědých vajec po kontaktu s kontaminovaným materiálem. Pro testování byl zvolen sérotyp *Salmonella enterica* ssp. *enterica* Heidelberg (SH), který se ve vejcích objevuje stále častěji. Bylo použito 280 bílých a 280 hnědých vajec od 40-45 týdnů starých nosnic, které byly negativně otestovány na přítomnost salmonel. Vejce byla kontaminována kontaktem s hoblinami zvlhčenými inokulem, který obsahoval  $10^3$ - $10^4$  CPM/g salmonel sérotypu Heidelberg. Dále byla analýza rozdělena do dvou fází. První měla stanovit „orientačně“ nejkratší možnou dobu průniku od kontaminace, druhá fáze měla definovat přesný čas. V první fázi se po kontaminaci vejce uchovávala při 22,5 °C a testována byla po 2, 4, 8, 10 a 24 hodinách od kontaminace, přičemž přítomnost v obsahu byla potvrzena po 4 hodinách. V druhé fázi se vejce po kontaminaci uchovávala v prostředí s teplotou 25-30 °C a testovala se v rozmezí 4 hodin od kontaminace po půlhodinových intervalech. Získané výsledky byly podrobeny matematickému modelování, které stanovilo přítomnost SH v obsahu bílých vajec po 2 hodinách a 16 minutách a v obsahu vajec hnědých po 2 hodinách a 44 minutách od kontaminace. Průměrný počet salmonel ve skořápce po experimentální kontaminaci byl v první fázi  $8 \times 10^4$  CPM/g a ve druhé  $6 \times 10^4$  CPM/g (Raghiante et al. 2010).

Na přesný počet přirozeně vyskytujících salmonel na a ve vejcích se studie nezaměřují. Pro nastínění množství salmonel na skořápce mohou posloužit již výše uvedené hodnoty  $8 \times 10^4$  CPM/g a  $6 \times 10^4$  CPM/g. Jiná studie uvádí, že ve vaječném obsahu, bez ohledu na to, zda bylo naočkováno  $10^2$  CPM nebo  $10^4$  CPM, se množství salmonel pohybovalo maximálně od  $10^8$  do  $10^{10}$  CPM (Schoeni et al. 1995; Raghiante et al. 2010).

#### 3.4.4 Preventivní opatření proti salmonelózám z vajec

Aby se riziko možné kontaminace potravin snížilo na minimum, je zásadní dbát na to, aby se bakterie rodu *Salmonella* nevyskytovaly v drůbežích chovech. Dohoda Ministerstva zemědělství a Státní veterinární správy, ve spolupráci s chovateli umožnila vytvářet od 1. 1. 2007 tzv. Národní programy tlumení výskytu salmonel v chovech drůbeže, jejichž snahou je zamezit výskytu nebo podchytit šíření salmonel v drůbežích chovech s ohledem na zdraví a životní pohodu zvířat. Pro rok 2020 jsou vydané a platné „Národní programy tlumení salmonel – Metodika kontroly zdraví a nařízené vakcinace na rok 2020“. Metodika byla schválena Ministerstvem zemědělství a dne 29. 11. 2019 publikována jako opatření obecné povahy na úřední desce Ministerstva zemědělství. Jednotlivé programy se zabývají vakcinací a ošetřením zvířat, správnou hygienickou praxí chovu, vyhovujícími požadavky pro nosné a masné chovy a také odběrem vzorků pro laboratorní vyšetření (Státní veterinární správa 2008; Semerád 2019; Státní veterinární správa 2020).

Cesty přenosu salmonel na vejce byly popsány v podkapitolách 3.4.1 a 3.4.2. V průmyslové výrobě se pro výrobu vaječných výrobků používají vejce slepičí. Nepoužívají se vejce vodní drůbeže (husy, kachny), protože u nich je riziko výskytu salmonel podstatně vyšší. Pokud se zpracovávají vejce jiných ptačích druhů např. křepelčí, nesmí se zpracovávat společně se slepičími a musí pro ně být oddělené prostory. Rozlišují se dvě jakostní třídy vajec. A

(čerstvá), která se uvádějí na trh a B, která slouží pro průmyslové zpracování. Zařazení do třídy B je z důvodu nepravidelnosti rozměru, tvaru či deformace skořápky. Vejce jsou do jakostních tříd rozdělena kvalitativně aspekty tj. vyšetření zrakem a mělo by dojít k jejich prosvícení, kterým se také zjišťuje, zda nejsou vejce oplodněna. Pro průmyslové zpracování se mohou upotřebit vejce s rozbitou skořápkou, přičemž podskořápečné blány nesmí být poškozeny, jedná se o tzv. křapy. Vejce, která nesmí být použita pro zpracování, jsou vejce rozbitá, kdy je porušena skořápka a podskořápečné blány. Běžně jsou označována jako tzv. tekoucí. Dále se také nepoužívají vejce, u kterých došlo k oplodnění a je patrný zárodek nebo mají smyslové, biologické a mikrobiologické vady. Při manipulaci a zpracovávání vajec, jak při průmyslovém zpracování, tak při domácím použití, je velmi důležité dodržovat náležitou hygienu. V další části podkapitoly budou shrnuta hlavní pravidla a podmínky pro prevenci před salmonelovými infekcemi (Státní veterinární správa 2012; Míková 2015; Jágrová 2016).

Výrobní prostory a zařízení zpracovávající vejce musí vyhovovat všeobecným hygienickým podmínkám a musí být schváleny krajskou veterinární správou (KVS). Současně s všeobecnými hygienickými podmínkami musí mít podniky sklady pro uchování vajec v temnu, při nekolisavé teplotě 5-18 °C, s větráním a relativní vzdušné vlhkosti 70-75 %, aby nedocházelo k orosování vajec a nebyly vytvořeny příliš příznivé podmínky pro množení bakterií. Dále zde nesmí být materiály, které by mohly vejce nepříznivě pachově ovlivnit nebo kontaminovat. Časový úsek skladování by měl být omezen na co nejkratší dobu, v ideálním případě na 72 hodin po osvětlení (Míková 2015).

V případě, že závod zpracovává znečištěná vejce, musí vlastnit zařízení pro dekontaminaci vajec před výtlučkem, aby bylo sníženo riziko bakteriální infekce. A to buď pomocí UV lampy, která ozáří vejce před výtlučkem nebo zařízení na mytí, čištění, desinfekci a sušení vajec. Při čištění nesmí dojít ke kontaminaci a znehodnocení vaječného obsahu. Při čištění vajec mokrou cestou musí mít mycí roztok vždy vyšší teplotu alespoň o 11 °C než vejce. Při omývání se uplatňuje kombinace detergentu, desinfekčního činidla, kartáčů a sprchování. Očištěná vejce se poté opláchnou pitnou vodou a osuší. Tím se vejce zbaví nečistot, ale také kutikuly, kterou vejce už není chráněno. Doba celého procesu musí být omezena na minimální čas, přičemž takto mytá vejce se musí okamžitě zpracovávat a je zakázáno je skladovat.

Výtluček vajec je označení pro odstranění skořápky a podskořápečných blan za účelem získání vaječného obsahu. Povinností podniku je zajistit oddělený prostor pro výtluček vajec, kde by teplota prostředí měla být co možná nejnižší, kvůli potlačení množení mikroorganismů. V případě, že nedochází k odstranění vaječného obsahu z výtlučkového prostoru do 30 minut, je povolena maximální teplota 12 °C. Získání vaječného obsahu není povoleno drcením vajec s následným odstředováním jednotlivých částí a hmot, neboť by v případě kontaminované skořápky došlo k roznesení salmonel do vaječného obsahu. Vytlučování by mělo být plynulé, bez prodlev a je možné ho realizovat ručně nebo pomocí speciálních vytlučkových strojů viz Obrázek 15 (vhodnější z důvodu zamezení působení lidského faktoru). Po vytlučení se vaječné obsahy smyslově kontrolují a hmoty se filtrují do chlazených sběrných nádob. Do nich je povoleno přidávat aditiva nebo další potraviny (Míková 2015).



Obrázek 15: Vytloukací stroj (Nedomová 2020).

Ihned po výtluhu je nařízeno tepelně ošetřit všechny vaječné výrobky, čímž by se mělo docílit inaktivace vegetativních forem nežádoucích mikroorganismů. Avšak v ojedinělých případech je možné získat od KVS povolení, pro prodej a zpracování nepasterovaných vaječných výrobků. Pro tepelné ošetření, nejčastěji pasteraci, vaječných výrobků musí zpracovatelský podnik zvolit vhodný typ pasteru a stupeň pasterace a jejich vhodné následné hygienické balení. Pasteraci se má dosáhnout eliminace salmonel a zároveň zachovat technologicky významné funkční vlastnosti částí vajec. Takovou vlastností je emulgační schopnost (šlehatelnost), která má velký vliv na výrobu pečiva. Problémem vysoké pasterace je nežádoucí koagulace bílkovin při zahřevu. Účinnost pasterace je až 99,9 %, celkový počet mikroorganismů se tedy sníží minimálně o tři řády, což je pro eliminaci salmonel dostatečné. Pasterační efekt je možné zvýšit přidáním soli, cukru a snížením vodní aktivity. V případě, že nedojde k tepelnému ošetření ihned po výtluhu, musí dojít buď k zmrazení výrobku nebo je nutné výrobky zchladit na teplotu pod 4 °C, přičemž musí dojít k zpracování do 48 hodin (Görner & Valík 2004; Míková 2015).

Následně je vyžadováno mít prostory pro skladování vaječných výrobků, kde je dodržován vyžadovaný teplotní režim pro daný výrobek. Musí být zajištěny oddělené prostory pro skladování, odstraňování skořápek a vaječných výrobků, jenž jsou nevhodné k lidské spotřebě. Dále jsou separovány prostory pro skladování čistých a použitých obalů. Oddělené prostory musí být i pro uchovávání jiných potravin, přídatných látek, čistících a desinfekčních prostředků a dalších pomocných materiálů. Jednorázové obaly vaječných výrobků je zakázáno opakovaně použít. Tyto obaly musí být v dobrém stavu, suché, čisté a musí výrobky chránit proti kontaminaci a degradaci jakosti (Míková 2015).

Pro domácí zpracování by v ideálním případě měl být také zařízen oddělený prostor pouze pro skladování a zpracování vajec. Nicméně není možné takové podmínky ve většině domácnostech vytvořit. Důležité je tedy dodržovat skladování neporušených vajec v čistých, suchých proložkách při 5-18 °C a dbát na spotřebu do 28 dnů od snůšky. Aby nedocházelo ke křížové kontaminaci, je nutné alespoň vyčlenit pracovní plochu na prostor, kde se připravují vejce před úpravou a kde dochází ke konečným úpravám před konzumací. Eventuálně pracovní plochy mezi jednotlivými kroky důkladně vydesinfikovat. Ta samá podmínka platí i pro pracovní nástroje např. prkénko, nůž, kdy je nutné používat pro jednotlivé kroky nástroje jiné nebo alespoň důkladně omyté. Nezapomínat ani na pravidelné mytí rukou mezi pracovními

úkony. Při domácích kuchyňských úpravách by se vejce neměla omývat nejen kvůli zachování kutikuly, ale především z důvodu možné kontaminace okolních pracovních ploch infekčním aerosolem, který se rozstříkuje při mytí do okolí. Pro tepelnou úpravu vajec by měla být dodržena teplota minimálně 70 °C po dobu 10 minut. Tepelně upravená vejce by se neměla nadále skladovat a mělo by dojít k jejich okamžité konzumaci. Hlavním z důvodů je schopnost salmonel tzv. resuscitace, kdy po tepelném ohřátí a následném skladování v chladu dojde k jejich oživení a množení. Pokud se mají tepelně upravená vejce relativně bezpečně skladovat, mělo by dojít po záhřevu k rychlému zchlazení a skladování při teplotách maximálně do 4 °C. V případě výroby domácích majonéz, krémů či zákusků jako Tiramisu a jiných výrobků, kam se přidávají syrová vejce, je nutná okamžitá konzumace. V neposlední řadě je důležitý i původ vajec, přičemž vejce uváděná na trh musí být z registrovaného chovu, který je pod veterinárním dohledem (Jágrová 2016).

### 3.4.5 Výskyt salmonel v České republice

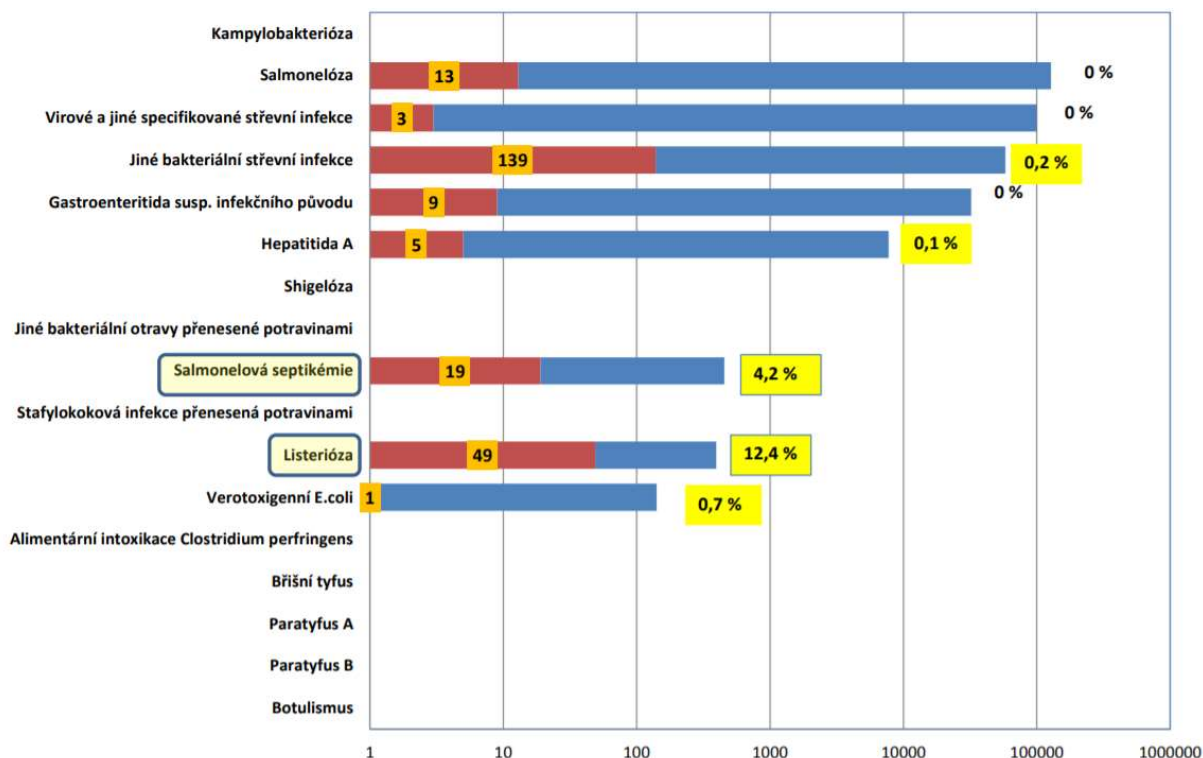
Od začátku roku 2018 je používán ve formě webové aplikace „Informační systém infekční nemoci (ISIN)“, jehož prostřednictvím je zajištěno povinné hlášení, evidence a analýza výskytu infekčních nemocí v České republice. Tento systém nahradil před ním používaný program „EpiDat“. Podle dat získaných z EpiDatu a ISIN v období roků 2009-2018, zpracovaných Státním zdravotním ústavem, jsou bakterie rodu *Salmonella*, které způsobují střevní onemocnění salmonelózu, druhou nejčastější příčinou střevních onemocnění v porovnání s jinými nežádoucími střevními bakteriemi. Konkrétní číselné údaje hlášeného výskytu jsou v Tabulka 4, kde lze pozorovat relativně vysoká čísla salmonelóz oproti ostatním onemocněním, kromě nejčastěji vykytované kampylobakteriízy, u které jsou zaznamenané hodnoty téměř dvojnásobné v průběhu celého sledovaného období (Státní zdravotní ústav 2019a, 2019b).

Tabulka 4: Výskyt vybraných a hlášených infekcí v České republice v letech 2009-2018 (Upraveno dle Státní zdravotní ústav 2019a).

Kód	Diagnóza	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018
A00	Cholera	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
A01	Tyfus a paratyfus	4	5	8	6	3	6	3	2	6	0
A02	Salmonelóza	10 805	8 622	8 752	10 507	10 280	13 633	12 739	11 912	11 779	11 347
A03	Shigelóza	178	450	164	266	257	92	88	70	168	145
A04	Jiné bakteriální střevní inf.	3 178	3 343	4 607	5 168	5 796	6 763	8 146	7 563	7 371	8 128
A04.3	Infekce vyvolané STEC/VTEC	nd	nd	nd	13	17	28	20	28	36	29
A04.5	Kampylobakteriíza	20 371	21 164	18 811	18 412	18 389	20 903	21 102	24 291	24 508	23 779
A05	Alimentární intoxikace	107	100	381	14	207	178	794	127	3	237

V České republice musí být salmonelóza i kampylobakteriíza povinně hlášena podle vyhlášky č. 473/2008 Sb.

Jak již bylo popsáno v podkapitole 3.2.4, bakterie rodu *Salmonella* způsobují onemocnění, která mohou mít až život ohrožující průběh, který může skončit i smrtí jedince. Počet úmrtí a procentuální úmrtnost způsobená salmonelovými bakteriemi v letech 2007-2017 jsou v logaritmickém měřítku zaznamenána a porovnána na Obrázek 16 s ostatními infekcemi, které způsobily úmrtí (Špačková & Gašpárek 2018).



Obrázek 16: Počet úmrtí a procentuální úmrtnost na dané onemocnění v ČR v období 2007-2017 (Špačková & Gašpárek 2018).

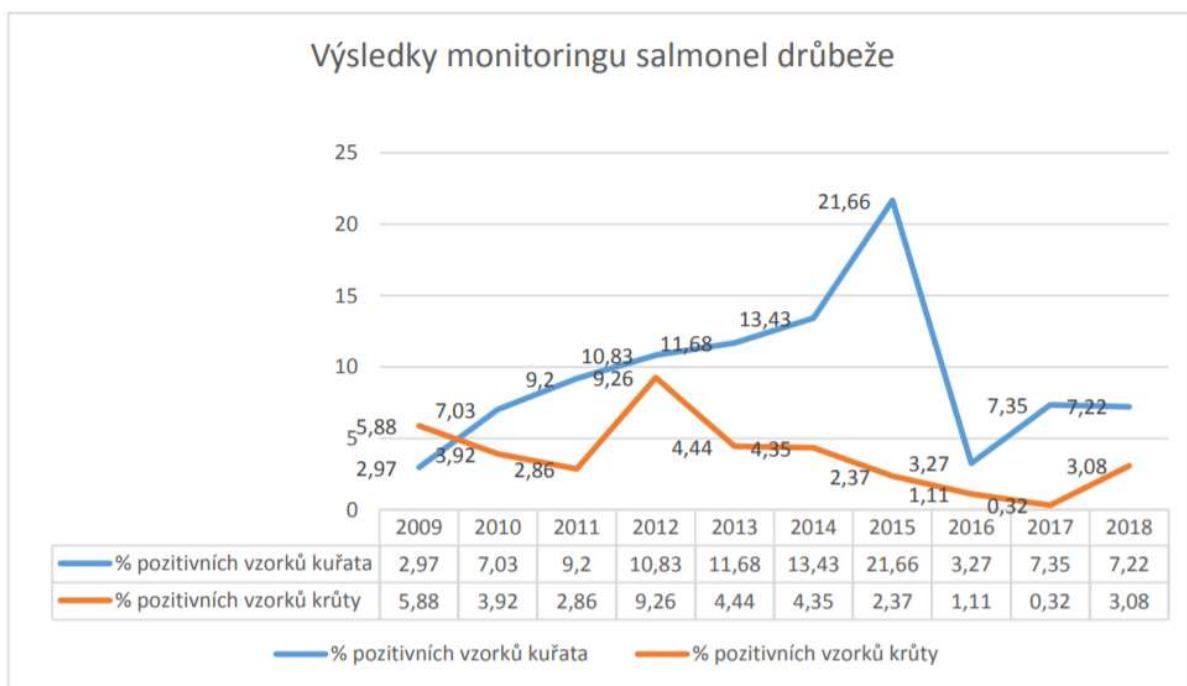
Zjištění salmonelových infekcí v chovech je velmi obtížné, neboť jsou infikovaná zvířata často bez klinických projevů. Je nutné tedy provádět pravidelná testování. Podle monitoringu zoonóz (onemocnění přenosná ze zvířat na člověka) vykonaným Státní veterinární správou (SVS) v roce 2018, byly vzorky odebrány na předem určených jatkách u jatečně upravených těl skotu, prasat a brojlerů (kuřat) a z kůží krků brojlerů a krůt. Podle výsledků uvedených v Tabulka 5, největší procento pozitivních vzorků na bakterie salmonel bylo shledáno u kuřat (Státní veterinární správa 2018a).

Tabulka 5: Monitoring zoonóz 2018 ČR (Upraveno dle Státní veterinární správa 2018a).

Druh zvířete	Počet vzorků	Počet pozitivních nálezů	% pozitivních vzorků
Skot	2 934	11	0,37
Prasata	5 141	31	0,6
Kuřata	1 205	87	7,22
Krůty	390	12	3,08

Pro porovnání míry výskytu salmonel u kuřat a krůt z roku 2018 jsou na následujícím grafu na Obrázek 17 přidány výsledky z monitoringu minulých let. Je zřejmé, že výskyt salmonel u kuřat byl vždy vyšší než u krůt, nicméně od roku 2015 došlo k značnému poklesu a poslední dva roky jsou výsledky kuřat víceméně stabilní (Státní veterinární správa 2018a).





Obrázek 17: Monitoring salmonel u drůbeže ČR (Státní veterinární správa 2018a).

Monitoring potvrzuje stálou přítomnost salmonel v drůbežích chovech a maso či vejce těchto zvířat patří do rizikové skupiny (Státní veterinární správa 2018a).

Je velmi důležité při provozu jakýchkoliv velkochovů dodržovat a vylepšovat welfare zvířat, ale současně s tím je velmi obtížné snižovat mikrobiální rizika. Jsou 2 hlavní systémy chovu nosnic a těmi jsou klecové a alternativní. Je prokázáno, že na míru znečištění a kontaminace vajec má vliv právě systém chovu nosnic. V několika studiích výsledky potvrdily, že skořápka vajec, která pocházela z klecových chovů byla výrazně méně kontaminována ve srovnání s alternativními systémy chovu. To dosvědčují i hodnoty zaznamenané v Tabulka 6, kde na vejcích z alternativních chovů je až 100x více bakterií než na vejcích z klecových chovů (Tůmová 2012; Englmaierová 2016).

Tabulka 6: Vliv systému ustájení na mikrobiální kontaminaci vaječných skořápek (Upraveno dle Englmaierová 2016).

KONTAMINACE (LOG KTJ/SKOŘÁPKA)	KONVENČNÍ KLEC	OBOHACENÁ KLEC	VOLIÉRA	PODESTÝLKA
CPM	4,5	3,98	5,49	6,24
<i>Escherichia coli</i>	3,4	3,5	5,22	5,68
<i>Enterococcus</i>	1,5	1,46	3,33	3,58

KTJ= kolonie tvořící jednotky

CMP= celkový počet mikroorganismů

Mezi jednotlivými systémy jsou výrazné rozdíly např. v úrovni znečištění prostředí (povrch hal, ale i peří a běháky nosnic), koncentraci prachu a mikroorganismů ve vzduchu, teplotě, vlhkosti. V systému klecových chovů se původně rozlišovaly konvenční a obohacené klece, ale používání konvenčních klecí je v členských zemích EU od 1. 1. 2012 zakázáno a jsou povolené pouze obohacené. Tyto klece jsou považovány za přijatelnější variantu, neboť jsou větší, lépe vybavené a nosnicím umožňují přirozené druhové chování. Hlavní výhodou

klecových chovů je malý nebo žádný kontakt zvířete s výkaly. Dále konstrukce klece umožňuje provádět velmi dobrou hygienu nosnicím i vejcím a také byla v těchto podmínkách zaznamenána nižší koncentrace prachu a kontaminantů ve vzduchu. Alternativní chovy (voliéry nebo podestýlka), které nosnicím umožňují volný pohyb sice lépe splňují welfare zvířat, nicméně slepice a vejce jsou v přímém kontaktu s kontaminovaným materiálem (Englmaierová 2016).

Zdraví lidí a zvířat je ohroženo také nevhodným a nadměrným užíváním antibiotik, které vede k selekci kmenů bakterií rezistentních na antibiotika. Z toho důvodu je od roku 2006 v EU zakázáno používat antibiotika jako stimulanty růstu zvířat, lze je užívat pouze k terapii. Státní veterinární správa v České republice se dlouhodobě snaží informovat chovatele a vybízí je, aby veterinární antibiotika používali výhradně k léčebným účelům a vždy pouze na předpis veterinárního lékaře, ne jako preventivní opatření před infekcí. Právě omezení podávání antibiotik je jeden z faktorů, který mohl ovlivnit zaznamenaný nárůst výskytu salmonel u drůbeže, který je zachycen na Obrázek 17. Proto bylo a stále je velmi důležité klást ještě větší důraz na správnou hygienu chovu a dodržovat speciálně pro drůbež již výše zmíněné „Národní programy pro tlumení výskytu salmonel v drůbežích chovech“. Další možností, jak pozitivně ovlivnit složení mikrobioty trávicího traktu a omezit počty patogenů, je použití alternativních krmných aditiv (probiotika, mastné kyseliny, rostlinné výtažky atd.).

SVS provádí také pravidelné monitorinky reziduí a kontaminantů u všech kategorií potravin živočišného původu. Podle údajů zaznamenaných v posledních 5 letech se spotřeba antibiotik snížila cca o polovinu a podle výsledků z monitoringu reziduí dochází k nedodržení maximálních limitů pouze v ojedinělých případech (Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský 2012; Státní veterinární správa 2018b).

## 4 Závěr

Z literárního přehledu vyplynulo, že bakterie rodu *Salmonella* zůstávají jednou z nejčastějších onemocnění a mezi výrazné zdroje nákazy patří chovy drůbeže. Prudký nárůst infekce salmonelami v drůbežích chovech byl zaznamenán po zavedení opatření, která omezila zkrmování antibiotik. Tím se začaly klást větší nároky na udržování správné hygieny v chovech, na což měl a stále má vliv management chovu. Stejně důležité je dodržovat i pravidla pro skladování, protože při vytvoření podmínek vhodných pro salmonely je razantně urychlen horizontální přenos bakterií do vnitřního prostoru vejce.

Ve slepičích vejcích se nejčastěji vyskytuje sérotyp *Salmonella enterica* ssp. *enterica* Enteritidis (77 %), který dokáže bez problémů na rozdíl od dalších sérotypů vejce kontaminovat horizontálně i vertikálně. Dále také objevuje *Salmonella enterica* ssp. *enterica* Typhimurium (3,5 %) nebo *Salmonella enterica* ssp. *enterica* Heidelberg.

Salmonely se v prostředí, tedy i v potravinovém řetězci, relativně snadno šíří. Mohou se objevit prakticky kdekoliv, a proto je nezbytné přísné dodržování hygienických zásad při zpracování, skladování, transportu a domácí manipulaci s vejci. Ve většině případů má onemocnění vyvolané bakteriemi rodu *Salmonella* mírný průběh, avšak u některých jedinců může dojít k septikémii a z toho důvodu se nemůže podceňovat.

## 5 Literatura

- Arnold ME, Martelli F, McLaren I, Davies RH. 2014. Estimation of the rate of egg contamination from Salmonella-infected chickens. *Zoonoses and Public Health* **61**:18–27.
- Baria. 2019. Metoda ELISA, aspekty jednotlivých uspořádání. Available from <https://www.baria.cz/blog/metoda-elisa-aspekty-jednotlivych-usporadani/> (accessed November 16, 2019).
- Bednář M. 1996. Lékařská mikrobiologie: bakteriologie, virologie, parazitologie. Marvil, Praha.
- Bednář M, Smíšek J, Schindler J, Němečková V, Adámková V. 2009. Zpětná aglutinace. Available from <http://mikrobiologie.lf3.cuni.cz/bak/uceb/obsah/sklicaglu/sklicaglu.htm> (accessed November 8, 2019).
- Beneš J. 2009. Infekční lékařství. Galén, Praha.
- Betancor L et al. 2010. Prevalence of Salmonella enterica in poultry and eggs in Uruguay during an epidemic due to Salmonella enterica serovar Enteritidis. *Journal of Clinical Microbiology* **48**:2413–2423.
- Bhunia AK. 2018. Foodborne microbial pathogens: mechanisms and pathogenesis 2nd edition. Springer Science+Business Media, New York.
- Bohez L, Gantois I, Ducatelle R, Pasmans F, Dewulf J, Haesebrouck F, Van Immerseel F. 2008. The Salmonella Pathogenicity Island 2 regulator *ssrA* promotes reproductive tract but not intestinal colonization in chickens. *Veterinary Microbiology* **126**:216–224.
- Chemaly M, Huneau-Salaün A, Labbe A, Houdayer C, Petetin I, Fravalo P. 2009. Isolation of Salmonella enterica in laying-hen flocks and assessment of eggshell contamination in France. *Journal of Food Protection* **72**:2071–2077.
- Chousalkar KK, Flynn P, Sutherland M, Roberts JR, Cheetham BF. 2010. Recovery of Salmonella and Escherichia coli from commercial egg shells and effect of translucency on bacterial penetration in eggs. *International Journal of Food Microbiology* **142**:207–213.
- Corrente M, Madio A, Friedrich KG, Greco G, Desario C, Tagliabue S, D’Incau M, Campolo M, Buonavoglia C. 2004. Isolation of Salmonella strains from reptile faeces and comparison of different culture media. *Journal of Applied Microbiology* **96**:709–715.
- Cota García I. 2016. Epigenetic control of O-antigen length in Salmonella entérica. PhD Thesis. Universidad de Sevilla, Sevilla. Available from <https://idus.us.es/handle/11441/34335> (accessed March 2, 2020).

- Cupáková Š, Necidová L, Karpíšková R. 2011. Bakteriální původci alimentárních onemocnění. Available from <https://cit.vfu.cz/alimentarni-onemocneni/> (accessed November 14, 2019).
- ČSN EN ISO 6579-1. 2017. Mikrobiologie potravinového řetězce – Horizontální metoda průkazu, stanovení počtu a sérotypizace bakterií rodu *Salmonella* – Část 1: Průkaz bakterií rodu *Salmonella*. Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, Praha.
- Damerow G. 2015. The chicken health handbook: a complete guide to maximizing flock health and dealing with disease 2nd edition. Storey Publishing, North Adams.
- Dědičová D, Karpíšková R. 2009. Nová revize Kauffmannova- Whiteova schématu pro identifikaci salmonel. Available from [http://www.szu.cz/uploads/documents/CeM/Zpravy\\_EM/18\\_2009/3\\_brezen/99\\_salmon.pdf](http://www.szu.cz/uploads/documents/CeM/Zpravy_EM/18_2009/3_brezen/99_salmon.pdf).
- Dubanský V. 2008. Zdroje a způsob přenosu salmonelových infekcí jako zoonóz – review | Veterinářství. Available from <https://www.vetweb.cz/zdroje-a-zpusob-prenosu-salmonelovych-infekci-jako-zoonoz-review/> (accessed January 28, 2020).
- Englmaierová M. 2016. Kvalita vajec s hnědou a bílou barvou skořápky. Available from [http://www.cmdu.cz/userfiles/dokumenty/kvalita\\_vajec\\_ruzne\\_systemy\\_ustajeni.pdf](http://www.cmdu.cz/userfiles/dokumenty/kvalita_vajec_ruzne_systemy_ustajeni.pdf).
- Ferrari RG, Rosario DKA, Cunha-Neto A, Mano SB, Figueiredo EES, Conte-Junior CA. 2019. Worldwide Epidemiology of *Salmonella* Serovars in Animal-Based Foods: a Meta-analysis. Applied and Environmental Microbiology **85**:e00591-19.
- Gantois I, Ducatelle R, Pasmans F, Haesebrouck F, Gast R, Humphrey TJ, Van Immerseel F. 2009. Mechanisms of egg contamination by *Salmonella* Enteritidis. FEMS Microbiology Reviews **33**:718–738.
- Gantois I, Ducatelle R, Pasmans F, Haesebrouck F, Van Immerseel F. 2008a. *Salmonella* enterica serovar Enteritidis genes induced during oviduct colonization and egg contamination in laying hens. Applied and Environmental Microbiology **74**:6616–6622.
- Gantois I, Eeckhaut V, Pasmans F, Haesebrouck F, Ducatelle R, Immerseel FV. 2008b. A comparative study on the pathogenesis of egg contamination by different serotypes of *Salmonella*. Avian Pathology **37**:399–406.
- Garrity G. 2000. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: Vol. 2, Pts. A & B: The Proteobacteria. Springer, New York.
- Gast RK, Guraya R, Guard-Bouldin J, Holt PS. 2008. Multiplication of *Salmonella* enteritidis on the yolk membrane and penetration to the yolk contents at 30 degrees C in an in vitro egg contamination model. Journal of Food Protection **71**:1905–1909.

- Gast RK, Holt PS. 2000. Deposition of phage type 4 and 13a *Salmonella enteritidis* strains in the yolk and albumen of eggs laid by experimentally infected hens. *Avian Diseases* **44**:706–710.
- Gautron J et al. 2007. Cloning of ovocalyxin-36, a novel chicken eggshell protein related to lipopolysaccharide-binding proteins, bactericidal permeability-increasing proteins, and plunc family proteins. *The Journal of Biological Chemistry* **282**:5273–5286.
- Gerlach R, Hensel M. 2007. *Salmonella* Pathogenicity Islands in host specificity, host pathogen-interactions and antibiotics resistance of *Salmonella enterica*. *Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift* **120**:317–27.
- Giri D. 2019. Difference between Endotoxin and Exotoxin. Available from <https://laboratoryinfo.com/endotoxin-vs-exotoxin/> (accessed November 28, 2019).
- Görner F, Valík Ľ. 2004. Aplikovaná mikrobiológia požívateľín: princípy mikrobiológie požívateľín: potravinársky významné mikroorganizmy a ich skupiny: mikrobiológia potravinárskych výrob: ochorenia mikrobiálneho pôvodu, ktorých zárodky sú prenášané požívateľinami. Malé centrum, Bratislava.
- Halaj M, Golian J. 2011. Vajce biologické, technické a potravinárske využitie. Nitra: Garmond, Nitra.
- Hardy Diagnostics. 2019. XLD Agar. Available from [https://catalog.hardydiagnostics.com/cp\\_prod/content/hugo/xldagar.htm](https://catalog.hardydiagnostics.com/cp_prod/content/hugo/xldagar.htm) (accessed November 16, 2019).
- Havlík J. 2002. *Infekční nemoci*. Galén, Praha.
- Higgs R, Lynn DJ, Gaines S, McMahon J, Tierney J, James T, Lloyd AT, Mulcahy G, O'Farrelly C. 2005. The synthetic form of a novel chicken beta-defensin identified in silico is predominantly active against intestinal pathogens. *Immunogenetics* **57**:90–98.
- Hincke M, Nys Y, Gautron J, Mann K, Rodriguez-Navarro A, McKee M. 2012. The eggshell: structure, composition and mineralization. *Frontiers in bioscience : a journal and virtual library* **17**:1266–80.
- Howard ZR, O'Bryan CA, Crandall PG, Ricke SC. 2012. *Salmonella* Enteritidis in shell eggs: Current issues and prospects for control. *Food Research International* **45**:755–764.
- Ibrahim HR, Sugimoto Y, Aoki T. 2000. Ovotransferrin antimicrobial peptide (OTAP-92) kills bacteria through a membrane damage mechanism. *Biochimica Et Biophysica Acta* **1523**:196–205.
- Issenhuth-Jeanjean S, Roggentin P, Mikoleit M, Guibourdenche M, de Pinna E, Nair S, Fields PI, Weill F-X. 2014. Supplement 2008–2010 (no. 48) to the White–Kauffmann–Le Minor scheme. *Research in Microbiology* **165**:526–530.

- Jágrová Z. 2016. Salmonelóza a možnosti její prevence. Available from [http://www.hygp Praha.cz/dokumenty/salmoneloz a-a-moznosti-jeji-prevence--2665\\_2665\\_449\\_1.html](http://www.hygp Praha.cz/dokumenty/salmoneloz a-a-moznosti-jeji-prevence--2665_2665_449_1.html) (accessed March 6, 2020).
- Jamshidi A, Kalidari GA, Hedayati M. 2010. Isolation and Identification of Salmonella Enteritidis and Salmonella Typhimurium from the Eggs of Retail Stores in Mashhad, Iran Using Conventional Culture Method and Multiplex Pcr Assay. *Journal of Food Safety* **30**:558–568.
- Jones DR, Musgrove MT. 2007. Pathogen prevalence and microbial levels associated with restricted shell eggs. *Journal of Food Protection* **70**:2004–2007.
- Katscher F. 1997. The serious business of listing authors. *Nature*. Available from <https://www.nature.com/articles/40958>.
- Kurtz JR, Goggins JA, McLachlan JB. 2017. Salmonella infection: Interplay between the bacteria and host immune system. *Immunology Letters* **190**:42–50.
- Lapuz R, Tani H, Sasai K, Shiota K, Katoh H, Baba E. 2008. The role of roof rats (*Rattus rattus*) in the spread of Salmonella Enteritidis and *S. Infantis* contamination in layer farms in eastern Japan. *Epidemiology and Infection* **136**:1235–1243.
- Macela A. 2006. Infekční choroby a intracelulární parazitismus bakterií. Grada, Praha.
- Marineli F, Tsoucalas G, Karamanou M, Androutsos G. 2013. Mary Mallon (1869-1938) and the history of typhoid fever. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3959940/>.
- Martelli F, Davies RH. 2012. Salmonella serovars isolated from table eggs: An overview. *Food Research International* **45**:745–754.
- Merck KGaA. 2019. Rambach® agar | 107500. Available from [http://www.merckmillipore.com/CZ/cs/product/RAMBACH-agar,MDA\\_CHEM-107500?ReferrerURL=https%3A%2F%2Fwww.google.com%2F](http://www.merckmillipore.com/CZ/cs/product/RAMBACH-agar,MDA_CHEM-107500?ReferrerURL=https%3A%2F%2Fwww.google.com%2F) (accessed November 14, 2019).
- Messens W, Grijspeerdt K, Herman L. 2006. Eggshell penetration of hen's eggs by Salmonella enterica serovar Enteritidis upon various storage conditions. *British Poultry Science* **47**:554–560.
- Míková K. 2010. Naše vejce | Vejce jako vynikající potravina. Available from <http://www.nasevejce.cz/o-vejci/vejce-jako-potravina> (accessed January 30, 2020).

- Míková K. 2015. Podmínky úchovy a zpracování vajec | Normy a předpisy pro výrobce, distributory a prodejce potravin. Označování, hygienické požadavky, HACCP, obaly. Available from <https://www.potravinainfo.cz/33/podminky-uchovy-a-zpracovani-vajec-uniqueidmRRWSbk196FNf8-jVUh4EtI668NLI3LvDeQbTBGTNheMB8q2Z8oGSQ/?query=vejce&serp=1> (accessed March 6, 2020).
- Nedomová Š. 2020. Zpracování zemědělských produktů- živočišná část: Výroba vaječných hmot. Available from [http://web2.mendelu.cz/af\\_291\\_projekty2/vseo/print.php?page=4867&typ=html](http://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/print.php?page=4867&typ=html) (accessed March 9, 2020).
- Nieto PA, Pardo-Roa C, Salazar-Echegarai FJ, Tobar HE, Coronado-Arrázola I, Riedel CA, Kalergis AM, Bueno SM. 2016. New insights about excisable pathogenicity islands in *Salmonella* and their contribution to virulence. *Microbes and Infection* **18**:302–309.
- Okamura M, Kamijima Y, Miyamoto T, Tani H, Sasai K, Baba E. 2001. Differences among six *Salmonella* serovars in abilities to colonize reproductive organs and to contaminate eggs in laying hens. *Avian Diseases* **45**:61–69.
- Park D, Lara-Tejero M, Waxham MN, Li W, Hu B, Galán JE, Liu J. 2018. Visualization of the type III secretion mediated *Salmonella*–host cell interface using cryo-electron tomography. *eLife* **7**:e39514.
- Popoff MY, Bockemühl J, Gheesling LL. 2004. Supplement 2002 (no. 46) to the Kauffmann-White scheme. *Research in Microbiology* **155**:568–570.
- PoultryHub. 2020a. Reproductive system. Available from <http://www.poultryhub.org/physiology/body-systems/reproductive-system/> (accessed January 30, 2020b).
- PoultryHub. 2020b. The avian egg. Available from <http://www.poultryhub.org/physiology/the-avian-egg/> (accessed January 30, 2020a).
- Raghianti F, Rocha TS, Rossi DA, Silva PL. 2010. Penetration time of *Salmonella* Heidelberg through shells of white and brown commercial eggs. *Brazilian Journal of Poultry Science* **12**:273–277.
- Rao P, W. Riccardi S, Birrer D. 2004. *Salmonella*. Available from [www.columbia.edu/.../Salmonella.ppt](http://www.columbia.edu/.../Salmonella.ppt).
- Rehman Z- ur, Haq A ul. 2011. Nutritional Importance of an Egg. Available from <https://en.engormix.com/poultry-industry/articles/egg-nutritional-composition-t34923.htm> (accessed January 30, 2020).
- Rosický B. 1994. *Salmonelózy: Aktuální informace pro lékaře, veterinární lékaře a potravinářskou praxi*. Scientia Medica, Praha.



- Sasaki Y, Tsujiyama Y, Asai T, Noda Y, Katayama S, Yamada Y. 2010. Salmonella prevalence in commercial raw shell eggs in Japan: a survey. *Epidemiology and Infection* **139**:1060–1064.
- Schoeni JL, Glass KA, McDermott JL, Wong AC. 1995. Growth and penetration of Salmonella enteritidis, Salmonella heidelberg and Salmonella typhimurium in eggs. *International Journal of Food Microbiology* **24**:385–396.
- Sedláček I. 2007. Taxonomie prokaryot. Masarykova univerzita, Brno.
- Semerád Z. 2019. Informace SVS – Metodika kontroly zdraví zvířat a nařízené vakcinace pro rok 2020. Available from <https://www.vetkom.cz/informace-svs-metodika-kontroly-zdravi-zvirat-a-narizene-vakcinace-pro-rok-2020/> (accessed March 9, 2020).
- Shiel WC. 2019. Definition of Kilobase. Available from <https://www.medicinenet.com/script/main/art.asp?articlekey=4104> (accessed November 8, 2019).
- Singh S, Yadav AS, Singh SM, Bharti P. 2010. Prevalence of Salmonella in chicken eggs collected from poultry farms and marketing channels and their antimicrobial resistance. *Food Research International* **43**:2027–2030.
- Skládanka J. 2015. Print page. Available from [http://web2.mendelu.cz/af\\_291\\_projekty2/vseo/print.php?page=4584&typ=html](http://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/print.php?page=4584&typ=html) (accessed January 29, 2020).
- Státní veterinární správa. 2008. Ne salmonelám! Available from [https://www.svscr.cz/ne\\_salmonelam-2/](https://www.svscr.cz/ne_salmonelam-2/) (accessed March 9, 2020).
- Státní veterinární správa. 2012. Správné označování a uchovávání vajec. Available from <https://www.bezpecnostpotravin.cz/spravne-oznacovani-a-uchovavani-vajec.aspx> (accessed March 6, 2020).
- Státní veterinární správa. 2018a. Salmonelóza – Státní veterinární správa. Available from <https://www.svscr.cz/zivocisne-produkty/onemocneni-z-potravin/salmoneloz/> (accessed March 9, 2020).
- Státní veterinární správa. 2018b. Zodpovědný přístup k antibiotikům. Available from <https://www.svscr.cz/zodpovedny-pristup-k-antibiotikum/> (accessed March 18, 2020).
- Státní veterinární správa. 2020. Národní programy tlumení salmonel - Metodika kontroly zdraví a nařízené vakcinace na rok 2020. Available from <https://www.svscr.cz/zdravi-zvirat/programy-tlumeni-vyskytu-salmonel/> (accessed March 9, 2020).
- Státní zdravotní ústav. 2019a. Výskyt vybraných infekcí v České republice hlášených v letech 2009-2018, SZÚ. Available from <http://www.szu.cz/publikace/data/2018/vyskyt-vybranych-infekci-v-ceske-republice-hlasenych-v> (accessed March 13, 2020).

- Státní zdravotní ústav. 2019b. Infekce v ČR - ISIN (dříve EPIDAT), SZÚ. Available from <http://www.szu.cz/publikace/data/infekce-v-cr> (accessed March 9, 2020).
- Stevens L. 1991. Egg white proteins. *Comparative Biochemistry and Physiology. B, Comparative Biochemistry* **100**:1–9.
- Sugiarto H, Yu P-L. 2004. Avian antimicrobial peptides: the defense role of beta-defensins. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **323**:721–727.
- Šácha P. 2008. Peyerovy pláty - důležité místo pro imunitu | *CelostniMedicina.cz*. Available from <https://www.celostnimedicina.cz/peyerovy-platy-dulezite-misto-pro-imunitu.htm> (accessed March 5, 2020).
- Šilhánková L. 2002. *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*. Academia, Praha.
- Špačková M, Gašpárek M. 2018. Výskyt nejběžnějších infekčních onemocnění přenášených potravinami a vodou v České republice (2007-2017), SZÚ. Available from <http://www.szu.cz/tema/prevence/vyskyt-nejbeznejsich-infekcnich-onemocneni-prenasenyh> (accessed March 9, 2020).
- Taylor DN, Wachsmuth IK, Shangkuan YH, Schmidt EV, Barrett TJ, Schrader JS, Scherach CS, McGee HB, Feldman RA, Brenner DJ. 1982. Salmonellosis associated with marijuana: a multistate outbreak traced by plasmid fingerprinting. *The New England Journal of Medicine* **306**:1249–1253.
- Themes UFO. 2016. Endotoxemia. Available from <https://veteriankey.com/endotoxemia/> (accessed November 28, 2019).
- Tuláček F. 2002. *Chov hrabavé drůbeže*. Brázda, Praha.
- Tůmová E. 2012. Systém ustájení nosnic a kvalita vajec. Available from <https://www.zemedelec.cz/system-ustajeni-nosnic-a-kvalita-vajec/> (accessed March 17, 2020).
- Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský. 2012. Reakce na článek - Maso je kvůli zkrmování antibiotik rizikové (ÚKZÚZ). Available from [http://eagri.cz/public/web/ukzuz/tiskovy-servis/tiskove-zpravy/x2012\\_reakce-na-clanek-maso-je-kvuli-zkrmovani.html](http://eagri.cz/public/web/ukzuz/tiskovy-servis/tiskove-zpravy/x2012_reakce-na-clanek-maso-je-kvuli-zkrmovani.html) (accessed March 18, 2020).
- Vlková E, Rada V, Česká zemědělská univerzita v Praze, Katedra mikrobiologie výživy a dietetiky. 2013. Cvičení z potravinářské mikrobiologie: pro posluchače FAPPZ. Česká zemědělská univerzita v Praze, Praha.
- Vlková E, Rada V, Killer J, Česká zemědělská univerzita v Praze, Katedra mikrobiologie výživy a dietetiky. 2006. *Potravinářská mikrobiologie*. Česká zemědělská univerzita v Praze, Praha.
- Vokurka M, Hugo J. 2002. *Velký lékařský slovník*. Maxdorf, Praha.

Votava M. 2003. Lékařská mikrobiologie speciální. Neptun, Brno.

Votava M. 2005. Lékařská mikrobiologie obecná. Neptun, Brno.

Votava M, Broukal Z, Vaněk J. 2007. Lékařská mikrobiologie pro zubní lékaře. Neptun, Brno.

Walsh M. 2011. Salmonellosis. Available from  
<http://www.infectionlandscapes.org/2011/10/salmonellosis.html>.

York K. 2000. Microbiological ecology - ppt video online download. Available from  
<https://slideplayer.com/slide/4685951/> (accessed January 28, 2020).

## Seznam obrázků

Obrázek 1: <i>Salmonella</i> .....	10
Obrázek 2: Endotoxin a povrchové proteiny v buněčné stěně bakterie.....	13
Obrázek 3: Struktura endotoxinu.....	14
Obrázek 4: Průnik salmonel ve střevě .....	16
Obrázek 5: Vizualizace interakce salmonely pomocí TTSS s hostitelskou buňkou. ....	17
Obrázek 6: Kolonie <i>Salmonella enterica</i> (ATCC® 14028) rostoucí na agaru XLD s Novobiocinem.....	21
Obrázek 7: Rambachův agar.....	21
Obrázek 8: ELISA přímá.....	22
Obrázek 9: Schéma možností šíření salmonel.....	22
Obrázek 10: Stavba vejce .....	24
Obrázek 11: Stavba skořápky .....	25
Obrázek 12: Pohlavní soustava slepice.....	27
Obrázek 13: Horizontální a vertikální přenos salmonel ve slepičím vejci. ....	29
Obrázek 14: Výskyt sérotypů salmonel ve světě.....	34
Obrázek 15: Vytloukač stroj.....	38
Obrázek 16: Počet úmrtí a procentuální úmrtnost na dané onemocnění v ČR v období 2007-2017. ....	40
Obrázek 17: Monitoring salmonel u drůbeže ČR.....	41

## Seznam tabulek

Tabulka 1: Část Kauffmannova-Whiteova-Le Minor schématu.....	12
Tabulka 2: Počty slepic, u kterých byla zaznamenána přítomnost sérotypu Enteritidis.....	33
Tabulka 3: Kontaminace vajec salmonelami .....	35
Tabulka 4: Výskyt vybraných a hlášených infekcí v České republice v letech 2009-2018. ....	39
Tabulka 5: Monitoring zoonóz 2018 ČR. ....	40
Tabulka 6: Vliv systému ustájení na mikrobiální kontaminaci vaječných skořápek.....	41