

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

**Pracovníci potravinářských podniků
jako zdroj kontaminace potravin**

Bakalářská práce

**Veronika Kondelová
Výživa a potraviny**

Ing. Eva Popelářová, Ph.D.

© 2021 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci „Pracovníci potravinářských podniků jako zdroj kontaminace potravin“ jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucí 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 3. 5. 2021

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala vedoucí mé bakalářské práce, paní Ing. Evě Popelářové, Ph.D. za pomoc, cenné rady, trpělivost a čas, které mi v průběhu zpracování této práce věnovala.

Pracovníci potravinářských podniků jako zdroj kontaminace potravin

Souhrn

Potraviny jsou nezbytnou součástí primárních lidských potřeb, a proto je jejich bezpečnost základním lidským právem. Potravina může být kontaminována ve všech procesech výroby, od kontaktu s prvotní surovinou až po finální produkt. Právě proces výroby je nejrizikovějším faktorem při výrobě potravin. V důsledku nedodržování správných výrobních postupů a hygienických návyků v potravinářství dochází k ohrožení bezpečnosti konzumentů.

Cílem této bakalářské práce bylo popsat typy kontaminace potravin v potravinářském průmyslu, kde zdrojem kontaminace jsou pracovníci podniku. Literární rešerše byla vypracována na základě studia odborných publikací.

Kontaminaci potravin lze rozdělit podle povahy kontaminující látky na fyzikální, chemickou nebo biologickou, převážně mikrobiologickou. Z mikroorganismů způsobujících alimentární onemocnění jsou nejčastější patogenní bakterie a viry. Mezi nejvýznamnější bakteriální patogeny patří *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Clostridium* spp., *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Vibrio cholerae*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter* spp., *Yersinia* spp. a *Staphylococcus aureus*. Z virů jsou významnými kontaminanty noroviry, rotaviry a viry hepatitid A a E. Práce vyzdvihla nutnost dodržování zásad osobní hygieny pracovníky potravinářských podniků a hygieny provozů. Dále se zabývala popisem hodnocení a řízení rizik v oblasti bezpečnosti potravin.

Závěrem této práce bylo zjištění, že kontaminace potravin způsobená lidským faktorem se významně podílí na ohrožení bezpečnosti potravin na celém světě. Úloha pracovníků v potravinářských podnicích je tudíž klíčová pro produkci kvalitních a zdravotně nezávadných potravin vhodných ke konzumaci.

Účinnými prostředky ke snížení úrovně kontaminace potravin jsou preventivní opatření předcházející jejich nežádoucímu znečištění. Dodržování osobní hygieny, správných výrobních postupů a monitoring současné situace v oblasti bezpečnosti potravin jsou velmi důležitými nástroji, které je nezbytné provádět v zájmu ochrany veřejného zdraví spotřebitelů.

Klíčová slova: Potravinářství, hygiena práce, kontaminace, *Escherichia coli*

Food business workers as a source of food contamination

Summary

Food is an essential part of primary human needs, and therefore its safety is a fundamental human right. Food can be contaminated in all production processes, from contact with the raw material to the final product. The production process is the most risky factor in food production. The safety of consumers is endangered when production procedures and hygienic habits are not kept.

The aim of this bachelor thesis was to describe the types of food contamination in the food industry where the source of contamination are employees of a company. This literary research was prepared on the basis of the study of professional publications.

Food contamination can be divided according to the nature of a contaminant into physical, chemical or biological, mainly microbiological. Pathogenic bacteria and viruses are the most common microorganisms causing foodborne illnesses.

The most important bacterial pathogens include *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Clostridium* spp., *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Vibrio cholerae*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter* spp., *Yersinia* spp. and *Staphylococcus aureus*. Among the viruses, noroviruses, rotaviruses and hepatitis A and E viruses are significant contaminants. This work also described the assessment and management of risks in the field of food safety.

The conclusion of this work was the finding that contamination of food caused by human factors significantly contributes to the threat to food safety worldwide. The role of workers in food businesses is therefore crucial for the production of quality and non hazardous food.

Preventive measures belong to the most effective procedures to reduce the level of food contamination. Adherence to personal hygiene, good manufacturing practices and monitoring of the current food safety situation are very important tools that need to be implemented in order to protect consumers' public health.

Keywords: Food processing, work hygiene, contamination, *Escherichia coli*

Obsah

1	Úvod.....	8
2	Cíl práce.....	9
3	Literární rešerše.....	10
3.1	Kontaminace potravin.....	10
3.1.1	Fyzikální kontaminace.....	10
3.1.2	Chemická kontaminace.....	10
3.1.3	Biologická kontaminace.....	11
3.2	Patogenní mikroorganismy.....	12
3.2.1	Bakterie.....	12
3.2.1.1	<i>Escherichia coli</i>	13
3.2.1.2	<i>Bacillus cereus</i>	17
3.2.1.3	<i>Clostridium</i> spp.	17
3.2.1.4	<i>Salmonella</i> spp.....	18
3.2.1.5	<i>Shigella</i> spp.....	18
3.2.1.6	<i>Vibrio cholerae</i>	19
3.2.1.7	<i>Listeria monocytogenes</i>	20
3.2.1.8	<i>Campylobacter</i> spp.	20
3.2.1.9	<i>Yersinia</i> spp.....	21
3.2.1.10	<i>Staphylococcus aureus</i>	22
3.2.2	Viry.....	22
3.2.2.1	Noroviry.....	23
3.2.2.2	Rotaviry.....	23
3.2.2.3	Viry hepatitidy.....	23
3.3	Metody identifikace patogenů.....	25
3.3.1	Kultivační metody.....	25
3.3.2	Molekulárně biologické metody.....	25
3.3.2.1	Polymerázová řetězová reakce.....	25
3.3.3	Imunochemické metody.....	26
3.3.3.1	ELISA.....	26
3.3.4	Biosenzory.....	27
3.4	Zásady osobní a provozní hygieny.....	29
3.4.1	Hygiena rukou.....	30
3.4.2	Inkubační doba.....	30

3.4.3	Čištění a sanitace	31
3.4.4	Požadavky na skladování potravin.....	31
3.5	Hodnocení a řízení rizik bezpečnosti potravin	33
3.5.1	Codex Alimentarius.....	33
3.5.2	Systém analýzy rizik a stanovení kritických kontrolních bodů	34
3.5.3	Systém rychlého varování pro potraviny a krmiva	34
3.5.4	Evropský úřad pro bezpečnost potravin	35
3.6	Příklady, kdy došlo ke kontaminaci	36
3.6.1	Ohnisko <i>Escherichia coli</i> O157: H7 v roce 2006.....	36
3.6.2	Ohnisko <i>Escherichia coli</i> O104: H4 v roce 2011.....	36
3.6.3	Ohnisko <i>Listeria monocytogenes</i> v roce 2016	36
4	Závěr	37
5	Literatura.....	38

1 Úvod

Nákazy způsobené kontaminovanými potravinami jsou častým problémem v oblasti bezpečnosti potravin na celém světě. Konzumace kontaminovaných potravin může zapříčinit velmi vážná onemocnění a v některých případech dokonce i úmrtí.

Podle údajů Světové zdravotnické organizace z roku 2020 každoročně způsobují kontaminované potraviny až 600 milionů případů chorob přenášených potravinami a 420 000 úmrtí na celém světě. Hlášené případy alimentárních nákaz uvádějící infikované pracovníky jako zdroj infekce jsou poměrně časté. Studie ukazují, že skoro polovina ohnisek nákaz pochází ze stravovacích zařízení, převážně z restaurací.

Znalosti v oboru mikrobiologie patogenních mikroorganismů a preventivní opatření, předcházející nežádoucímu znečištění potravin, jsou velmi účinnými prostředky k eliminaci kontaminace potravin.

2 Cíl práce

Dodržování osobní hygieny a hygieny práce v potravinářských provozech je jednou z hlavních podmínek výroby kvalitních a zdravotně nezávadných potravin. Zdroje znečištění mohou být různé, od nesprávné manipulace s potravinami přes nedodržení pracovních postupů po přímou kontaminaci potravin zaměstnanci potravinářských podniků.

Cílem této bakalářské práce bylo popsat možné kontaminace potravin, vybrané patogenní mikroorganismy způsobující alimentární onemocnění a možné metody identifikace patogenů v potravinách. Práce se věnovala zásadám osobní hygieny pracovníků zaměstnaných v potravinářství, hygieně provozu potravinářského podniku a řízením rizik v oblasti bezpečnosti potravin.

3 Literární rešerše

3.1 Kontaminace potravin

Potraviny jsou nezbytnou součástí primárních lidských potřeb, a proto je jejich bezpečnost základním lidským právem. Miliardy lidí na světě jsou denně vystaveny riziku potenciálně nebezpečných potravin (Fung et al. 2018). Podle údajů Světové zdravotnické organizace z roku 2020 každoročně způsobují kontaminované potraviny až 600 milionů případů chorob přenášených potravinami a 420 000 úmrtí na celém světě (WHO 2020).

Potravina může být kontaminována ve všech procesech výroby – od kontaktu s prvotní surovinou až po finální produkt. A právě proces výroby je z důvodu nedodržení správných výrobních postupů nebo hygienických návyků pracovníky podniku nejčastějším rizikem, při kterém dochází ke znečištění a tím ohrožení bezpečnosti potravin a veřejného zdraví spotřebitelů (Demaurex & Sallé 2014).

Kontaminované potraviny jsou definovány jako znečištěné nebo zkažené, protože obsahují cizorodé předměty, toxické látky či organismy, převážně mikroorganismy. Podle povahy kontaminující látky lze kontaminaci potravin rozdělit na fyzikální, chemickou nebo biologickou (Hussain 2016).

3.1.1 Fyzikální kontaminace

Jedná se o kontaminaci cizími předměty a mechanickými nečistotami. Podle původu znečištění můžeme fyzikální kontaminaci rozdělit na endogenní a exogenní. Příčinou endogenní kontaminace jsou nečistoty pocházející ze surovin, jako jsou například kosti a šlachy u živočišných produktů nebo povrchové a obalové slupky u rostlinných. Příkladem exogenního znečištění mohou být kovové částice strojů nebo lidské vlasy či nehty pracovníků podniku. Cizí předměty v potravinách způsobují horší kvalitu, která představuje riziko bezpečnosti potravin. Při polknutí cizorodé částice je zde nebezpečí možného poranění trávicí trubice ostrými částicemi nebo dokonce udušení. Kromě správného fungování strojů a techniky, dodržování všech výrobních a hygienických postupů pracovníky podniku, jsou účinnou ochranou před fyzikální kontaminací různá zařízení napomáhající včasnému odhalení nežádoucích částic v potravině. Cizí tělesa se od produktu liší na základě svých fyzikálních vlastností, jako jsou magnetická nebo elektrická vodivost, barva, tvar, hustota a velikost. Díky těmto vlastnostem je pomocí různých třídících a detekčních zařízení možné oddělení cizích těles a tím snížení rizika fyzikální kontaminace. Mezi třídíče a separátory patří různé filtry, síta, magnety nebo i způsoby ručního třídění na pásovém dopravníku. Nejčastěji používaná detekční zařízení jsou detektory kovů a rentgeny. Tato zařízení je vhodné instalovat při vstupu prvotní suroviny do výrobního procesu, při rizikových procesech zahrnujících kontakt s kovem, řezání, mletí nebo míchání a v poslední fázi při výstupu finálního produktu a před odesláním spotřebitelům (Demaurex & Sallé 2014).

3.1.2 Chemická kontaminace

Je kontaminace způsobená chemickými látkami o různých koncentracích, které mohou způsobit nežádoucí alergickou reakci nebo akutní a v horším případě i smrtelnou intoxikaci

organismu. I velmi nízké dávky mohou být při dlouhodobé expozici rizikovým faktorem pro rozvoj chronických onemocnění. Zdravotní následky záleží na povaze chemického kontaminantu, množství této látky v potravině a zdravotním stavu či zranitelnosti spotřebitele. Chemické látky v potravinách jsou buď přirozeně se vyskytující toxické látky nebo látky cizorodé, kterými byla potravinu znečištěna během procesu výroby. Přírodní toxiny jsou přirozeně produkovány rostlinami, řasami, houbami nebo živočichy. Příkladem může být solanin v bramborách, mykotoxiny produkované plísněmi nebo mořské biotoxiny způsobující paralytickou otravu z měkkýšů. Mezi cizorodé látky lze zařadit kontaminanty ze zdrojů životního prostředí – z vody, půdy a ovzduší, kontaminanty ze zemědělské produkce, způsobené používáním agrochemikálií, jako jsou inhibiční látky v živočišné produkci nebo pesticidy v rostlinné. Zdrojem chemické kontaminace mohou být i obalové materiály. Ke znečištění může dojít i přímo v prostředí potravinářského podniku čisticími prostředky používanými při sanitaci nebo různými oleji a mazadly potřebnými pro provoz strojů a techniky (Mastovska 2013; Motarjemi 2014).

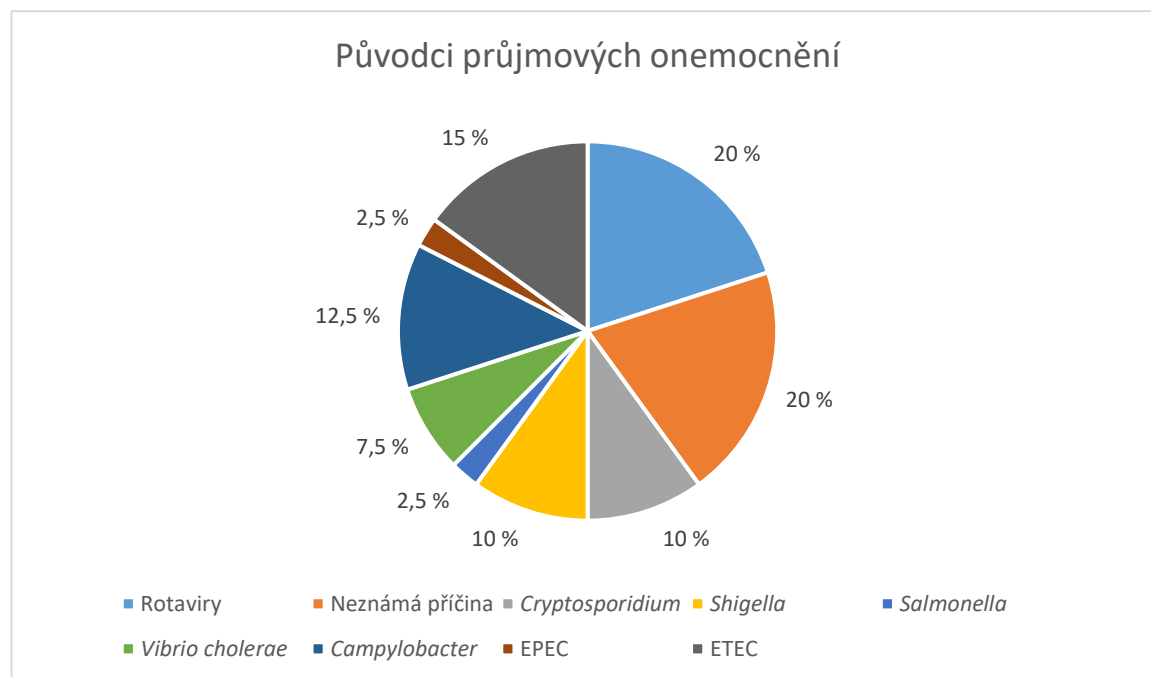
3.1.3 Biologická kontaminace

Biologická kontaminace je zapříčiněna přítomností živých organismů, případně látkami, které tyto organismy produkují, tzv. toxiny (Demnerová 2016). Onemocnění z potravin lze podle mechanismu účinku rozdělit na infekci a intoxikaci. Infekce je způsobena pomnožením mikroorganismů v lidském těle, nejčastěji v trávicím traktu, zatímco při intoxikaci nemoc způsobují toxiny, které tyto mikroorganismy produkují (Roller 2012). Nežádoucí mikroorganismy mohou způsobit kažení potravin, čímž negativně ovlivňují jejich organoleptické vlastnosti nebo mohou být původcem onemocnění konzumenta. Mikrobiální znečištění je považováno za jednu z nejčastějších příčin otrav z potravin a onemocnění trávicího traktu, tzv. alimentárních onemocnění (Demnerová 2016). Podle Světové zdravotnické organizace jsou nemoci přenášené potravinami celosvětově rostoucím problémem veřejného zdraví, a to především u kojenců, dětí a starších osob. Mikroorganismy, které způsobují alimentární onemocnění, se nazývají patogenní a řadí se mezi ně bakterie, viry, fungi (houby, plísně, kvasinky) a parazité (Hamplová et al. 2015).

Podle dat Světové zdravotnické organizace z roku 2019 jsou patogenní bakterie a viry odpovědné za nejvyšší počet ohnisek alimentárních onemocnění na celém světě. Z údajů Amerického střediska pro kontrolu nemocí vyplývá, že hlavními patogeny jsou noroviry, virus hepatitidy E, *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* a patogenní kmeny *Escherichia coli* (Foddai & Grant 2020).

3.2 Patogenní mikroorganismy

Konzumací kontaminovaných potravin se patogenní mikroorganismy dostávají do organismu, kde způsobují různá onemocnění. Mohou postihovat pouze gastrointestinální trakt nebo se přes střevní epitel rozšířit i do ostatních orgánových soustav. Průjemová onemocnění, od lehčích až po závažnější, jsou nejčastějším projevem infekcí zažívacího traktu způsobených potravními patogeny (Goering et al. 2016). Zastoupení nejčastějších původců průjemových onemocnění je znázorněno na grafu 1.



Graf 1 – Původci průjemových onemocnění podle údajů WHO (Goering et al. 2016)

3.2.1 Bakterie

Každý člověk má přirozenou mikrobiotu, která sídlí v různých tělních soustavách lidského těla, zejména v zažívacím traktu. Tyto bakterie jsou pro člověka prospěšné, protože se podílejí na řadě tělesných funkcí. Naproti tomu patogenní bakterie mohou vylučovat toxické látky, které poškozují lidské tkáně nebo tyto bakterie vytváří kolonie, čímž narušují normální funkce organismu. Některé bakterie mohou produkovat rezistentní formy zvané spory (Fritz et al. 2008).

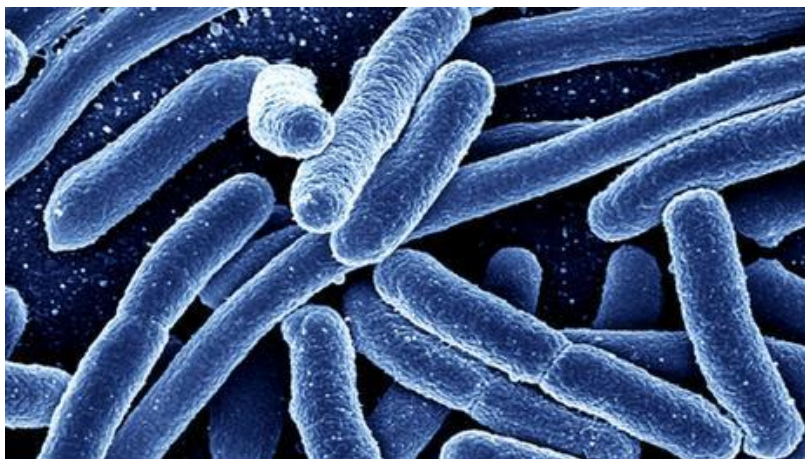
Tvorba spor u bakterií je způsobena drastickými změnami v prostředí a je jedním z příkladů extrémní strategie přežití. Endospory vznikají komplexním procesem v mateřských buňkách bakterií a umožňují jim tak přežít nepříznivé podmínky v klidovém stádiu po delší dobu. Je známo více než 25 rodů bakterií tvořících endospory. Dva největší bakteriální rody, které jsou také velmi důležité pro mikrobiologii potravin, jsou fakultativně anaerobní *Bacillus* a striktně anaerobní *Clostridium*. Bakterie obou těchto rodů zapříčiňují kažení potravin. Jejich spory přežívají extrémní teplo a další stresy, jako je záření nebo biocidní chemikálie, což může komplikovat konzervaci potravin. Některé z těchto sporotvorných bakterií způsobují otravu

jídlem kvůli produkovaným toxinům a mohou zapříčinit mírné až závažné nebo život ohrožující onemocnění (Wohlgemuth & Kämpfer 2014). Vybrané mikroorganismy jsou častými potravinovými kontaminanty, které způsobují alimentární onemocnění.

3.2.1.1 *Escherichia coli*

Escherichia coli je gramnegativní, nesporulující, fakultativně anaerobní bakterie patřící do čeledi Enterobacteriaceae. Řadí se mezi mezofilní bakterie. Její identifikace v prostředí poukazuje na špatné hygienické podmínky nebo přítomnost střevních patogenů. Je velmi důležitá v oblasti bezpečnosti a hygieny potravinářství, protože slouží jako indikátor fekálního znečištění potravin a pitné vody (Ekici & Dümen 2019). Řada kmenů *Escherichia coli* jsou komenzálové a jsou přirozenou součástí střevní mikrobioty většiny teplokrevných živočichů. Patogenní kmeny mají chromozomální a epizomální geny kódující patogenní mechanismy a jsou původci mnohých infekčních onemocnění. (Chart 2012) Podle rozsahu infekce dělíme patogenní kmeny na intestinální, způsobující hlavně průjemová onemocnění a extraintestinální, které mohou vyvolat infekci močových cest, septická onemocnění nebo meningitidu (Kaper et al. 2004).

Nejčastějším zdrojem infekce bývá nemocný člověk, který slouží jako nosič a přenašeč. U enterohemoragické *Escherichia coli* mohou být zdrojem infekce i hospodářská nebo divoce žijící zvířata. Přenos *Escherichia coli* je nejčastěji fekálně-orální, ale šíření je možné i přímým kontaktem s kontaminovanými předměty nebo konzumací znečištěných potravin či vody (Hamplová et al. 2015). Podle studie asociace veřejného zdraví z roku 2012 má identifikovanou *Escherichia coli* na ruce téměř 11 % kuchařů v pětihvězdičkových hotelech, 47 % kuchařů v menších restauracích a až 84 % prodejců potravin v pouličních stravovacích zařízeních (Todd 2014). Z této studie vyplývá, že pracovníci v potravinářských zařízeních jsou velmi rizikovým faktorem přenosu *Escherichia coli*, na obrázku 1.



Obrázek 1 – *Escherichia coli* (<https://www.bbc.com/news/health-13639241>)

Na základě antigenních rozdílů a mechanismů patogenity lze *Escherichia coli* způsobující střevní infekce klasifikovat do šesti skupin (Mirhoseini et al. 2018), které jsou vypsány v tabulce 1.

Tabulka 1 – Patogenní kmeny *Escherichia coli* (Allocati et al. 2013)

Patogenní <i>E. coli</i>	Onemocnění	Symptomy	Faktor virulence
EPEC	Průjem u dětí	Vodnatý průjem Zvracení	Intimin Bfp fimbrie A/E léze
EHEC	Hemoragická kolitida Hemolyticko – uremický syndrom	Průjem Krev ve stolici	Shiga toxin Intimin Hemolysin
ETEC	Cestovatelský průjem	Vodnatý průjem Zvracení	Termolabilní a termostabilní enterotoxiny Fimriální adheziny
EAEC	Průjem u dětí	Průjem Hlen ve stolici Zvracení	Cytotoxiny Fimbrie agregativní adherence
EIEC	Jako <i>Shigella</i>	Vodnatý průjem Krev ve stolici Úplavice	Hemolysin
DAEC	Akutní průjem u dětí	Vodnatý průjem Infekce močových cest	Afa / Dr nebo AIDA-I adhesiny

Enteropatogenní *Escherichia coli*

EPEC je příčinou nákazy u novorozenců a kojenců, velmi vzácně pak u starších dětí. Časté jsou zde séro skupiny O26, O55, O111 a inkubační doba bývá 9-12 hodin (Hamplová et al. 2015). Na základě genetické charakteristiky, sérotypu a vlastnostech virulence lze EPEC rozdělit na kmeny typické a atypické. Typické kmeny EPEC bývají hlavní příčinou průjmových onemocnění u dětí v rozvojových zemích a postihují pouze lidi. Naproti tomu atypické kmeny EPEC postihují lidi i zvířata. Mechanismus patogeneze EPEC je těsné přilnutí bakterií k intestinálnímu epitelu a destrukcí mikrokloků střeva, v němž vzniká A/E léze (attaching and effacing). Schopnost produkce A/E léze byla zjištěna i u kmenů EHEC a jiných bakterií (Trabulsi et al. 2002).

Enterohemoragická *Escherichia coli*

EHEC nazývaná také jako *Escherichia coli* produkující shiga toxin (STEC) nebo verotoxin (VTEC) je považována za nejzávažnější patogenní kmen. Shiga toxin vykazuje cytotoxické účinky na tlusté střevo a duodenum. Způsobuje hromadění tekutin ve střevech, což má za následek vodnaté až krvavé průjmy – hemoragickou kolitidu. Dále způsobuje trombotický

trombocytopenický syndrom a hemolyticko-uremický syndrom (HUS), který je příčinou akutního renálního selhání u dětí do 5 let (Ekici & Dümen 2019).

Enterotoxigenní *Escherichia coli*

EPEC je průjmová onemocnění u dětí a dospělých v oblasti tropů a subtropů. Nejfrekventovanější séro skupinou je O6 a O8. Inkubační doba této bakterie je 9-12 hodin (Hamplová et al. 2015). U lidí žijících v rozvojových zemích je tento patotyp často identifikován v exkrementech a je potvrzeno, že si proti němu obyvatelé těchto zemí vytvořili imunitu. EPEC je nejčastěji pozorovaný mikroorganismus u dětí s průjmovým onemocněním a v zemích s nedostatečnou zdravotní péčí a nedostatkem čisté pitné vody bývá i příčinou úmrtí dětí do pěti let (Ekici & Dümen 2019). Postihuje také lidi cestující do chudších oblastí s výskytem nálezů *Escherichia coli*, hlavně do zemí Afriky, Asie a Latinské Ameriky. Celosvětově je hlášeno přibližně 10 milionů cestovatelských průjmů za rok, z čehož 60 % je způsobeno právě enterotoxigenní *Escherichia coli*. K infekci dochází ve chvíli, kdy se bakterie dostanou do tenkého střeva, kde se pomocí kolonizačního faktoru uchytlí na střevní sliznici. Hlavním faktorem virulence EPEC je produkce termolabilních nebo termostabilních enterotoxinů, které ovlivňují buňky střevního epitelu. Termolabilní enterotoxiny se na základě imunologických, biochemických a genetických vlastností dělí na dva typy – typ LTI a LTII (Mirhoseini et al. 2018).

Enteroagregativní *Escherichia coli*

EPEC je patotyp vznikající v potravinách, ve kterých bývá zodpovědný za případy akutního i chronického průjmu u dětské populace, pacientů se sníženou imunitou nebo u cestovatelů vracejících se z endemických oblastí. Je zde charakteristická patogenezé probíhající ve třech krocích. Adheze k intestinálnímu epitelu je první fází bakteriální kolonizace a je usnadněna fimbriemi, které se vážou na buňky střevního epitelu. Současně s adhezí probíhá sekrece nadměrného hlenu a tvorba mukoidního biofilmu, který bakterie brání před imunitní reakcí organismu a zabraňuje přenosu antibakteriálních látek, včetně antibiotik. Druhým krokem patogenezé je produkce enterotoxinů a cytotoxinů, které jsou zodpovědné za sekreci průjmu, což je hlavním klinickým projevem infekce EPEC. Poslední fází je indukce zánětu sliznice, která je závislá na vrozeném imunitním systému hostitele a typu kmene enteroagregativní *Escherichia coli* (Elias & Navarro-Garcia 2016).

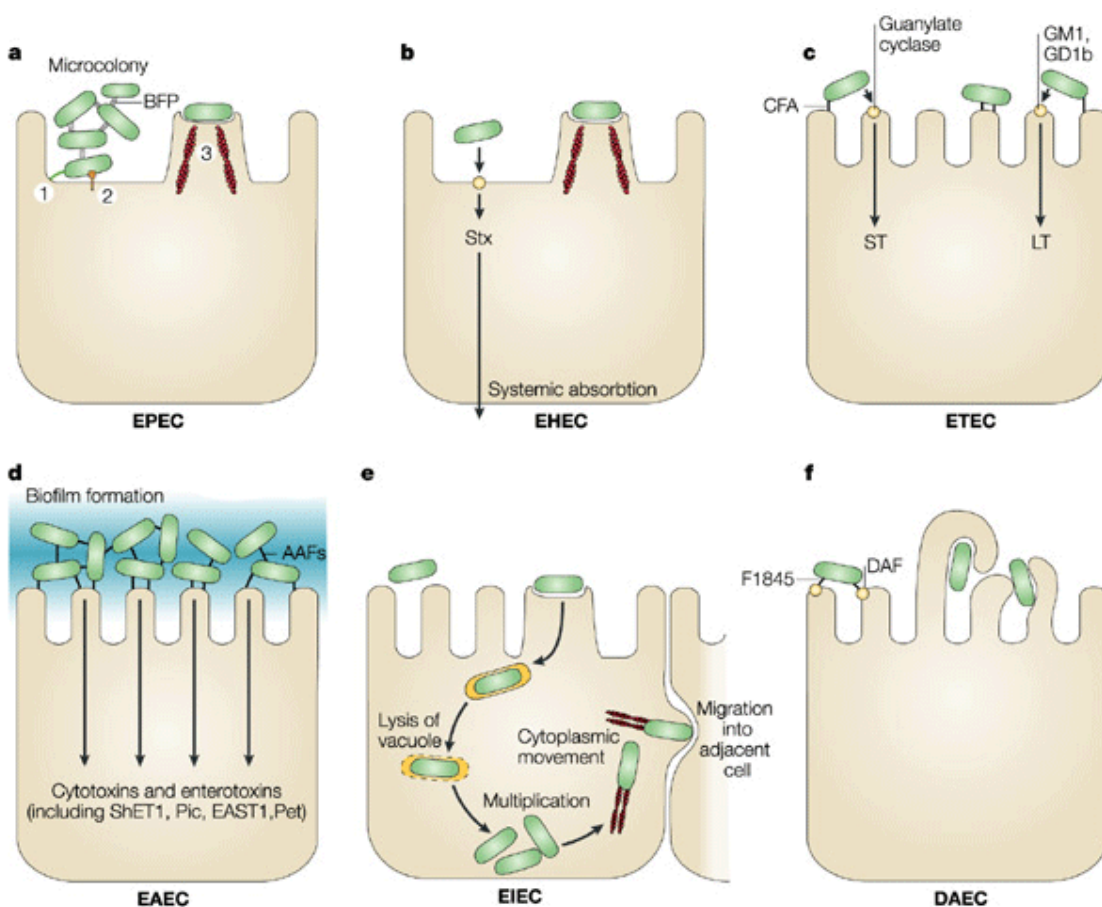
Enteroinvazivní *Escherichia coli*

EPEC je původcem úplavice u dospělých jedinců převážně v rozvojových zemích. Tyto bakterie se specificky vážou na sliznici tlustého střeva a endocytózou napadají enterocyty, čímž způsobují podobnou infekci jako *Shigella*. Tento fakt může zkomplikovat správnou identifikaci tohoto patotypu. Vzhledem k podobnosti enteroinvazivní *Escherichia coli* a *Shigella* lze předpokládat, že tyto dvě bakterie mají společný původ a v průběhu vývoje došlo k jejich rozdělení (Gomes et al. 2016). Patogenezé infekce se vyznačuje schopností bakterie napadat sliznici tlustého střeva. Po proniknutí do buněk epitelu se EPEC intracelulárně replikuje a šíří do dalších buněk, což způsobuje zničení intestinální bariéry epitelu. Následkem je tzv. syndrom úplavice charakteristický přítomností krve, hlenu a leukocytů ve stolici (Pasqua et al. 2017).

Difúzně adherentní *Escherichia coli*

Pro DAEC je typická adheze k buňkám epitelu v rozptýlené formě (Gomes et al. 2016). Podle exprese adhesinů byly identifikovány dvě skupiny kmenů DAEC, Afa / Dr DAEC a AIDA-I DAEC (Javadi et al. 2020). Tento patotyp je definován třemi hlavními faktory – difúzním uspořádáním adherence prokázaný při infekci kultivovaných buněk, přítomností Afa / Dr nebo AIDA-I adhesinů a absencí markerů virulence typických pro jiné patotypy *Escherichia coli*. Při definování kmene *Escherichia coli* jako DAEC by neměla být zvažována jenom adheze, protože některé izoláty EPEC známé jako difúzně adheující také vykazují tento druh adheze (Kyaw et al. 2003).

Patogenní mechanismy vybraných kmenů *Escherichia coli* jsou znázorněné na obrázku 2.



Nature Reviews | Microbiology

Obrázek 2 – Schéma patogenity *Escherichia coli* (Kaper et al. 2004)

3.2.1.2 *Bacillus cereus*

Bacillus cereus, na obrázku 3, je grampozitivní, fakultativně anaerobní sporotvorná bakterie rodu *Bacillus*. Ve formě spor přežívá v různých oblastech životního prostředí, především v půdě, ve vodě nebo v rostlinách, odkud se pak dostává do obilnin a cereálních výrobků. Způsobuje dvě různé formy onemocnění přenášených potravinami – průjemový a emetický syndrom. Průjemové onemocnění je způsobeno produkcí enterotoxinu ve střevě, zatímco emetický syndrom je charakteristický produkcí tepelně stabilního toxinu v kontaminovaných potravinách. Pro jednotlivé syndromy jsou typické potraviny, ve kterých se vyskytují. Masné a mléčné výrobky bývají častým nositelem toxinu způsobující průjemová onemocnění, zatímco pro emetický syndrom je hlavním nositelem rýže (Griffiths & Schraft 2017; Demnerová 2016). Podniky zpracovávající tyto potraviny jsou velmi rizikové pro přenos této bakterie.



Obrázek 3 – *Bacillus cereus* (<https://www.nzip.cz/clanek/220-bacillus-cereus-infekce>)

3.2.1.3 *Clostridium* spp.

Rod *Clostridium* jsou mezofilní, striktně anaerobní bakterie vytvářející spory. Tato skupina bakterií se skládá z více než 200 známých druhů, včetně patogenních kmenů souvisejících s chorobami lidí a zvířat. Většina druhů *Clostridií* jsou saprofytické bakterie, které se nijak nepodílejí na chorobném procesu a prostřednictvím produkce bioaktivních sloučenin mají ochranný účinek proti některým patogenům. Patogenní kmeny *Clostridium* spp. jsou zodpovědné za lidská onemocnění, jako je tetanus, botulismus, plynová gangréna a pseudomembranózní kolitida. *Clostridium botulinum* a *Clostridium perfringens* jsou dva z nejčastějších potravinových patogenů (Pahalagedara et al. 2020). *Clostridium botulinum* je na obrázku 4. Kontaminace je způsobena fekálně-orální cestou infikovanými pacienty nebo asymptomatickými nosiči, kteří nedodržením zásad osobní hygieny napomáhají přenosu a šíření této bakterie (Hasannejad-Bibalan et al. 2020).



Obrázek 4 – *Clostridium botulinum* (<https://regulatory.mxns.com/en/clostridium-botulinum-food-safety-issue>)

3.2.1.4 *Salmonella* spp.

Bakterie rodu *Salmonella* z čeledi Enterobacteriaceae jsou gramnegativní bakterie způsobující onemocnění salmonelóza. Toto onemocnění se projevuje křečemi břicha, nechutenstvím a zvracením. V současné době je přes 2000 typů salmonel (Hamplová et al. 2015) rozdělujících se podle O-antigenů a H-antigenů (Goering et al. 2016). V České republice je nejčastější *Salmonella enteritidis*, která způsobuje 98 % onemocnění (Hamplová et al. 2015). *Salmonella* žije ve střevním traktu zvířat (Kopper et al. 2014), a proto nejčastějším zdrojem primární nákazy jsou hospodářská zvířata, která byla infikována krmivem nebo stelivem (Hamplová et al. 2015).

Salmonella, na obrázku 5, je jednou z nejčastějších příčin nemocí přenášených potravinami. Lidé se mohou nakazit přímým kontaktem s infikovanými zvířaty nebo konzumací kontaminovaných živočišných produktů, převážně drůbežích a hovězích (Kopper et al. 2014).



Obrázek 5 – *Salmonella* ssp. (<https://mundoeducacao.uol.com.br/doencas/salmonelose.htm>)

3.2.1.5 *Shigella* spp.

Jedná se o gramnegativní, fakultativně anaerobní, nepohyblivé bakterie patřící do čeledi Enterobacteriaceae. Jsou patogenní jen pro lidi. Způsobují onemocnění zvané bacilární úplavice neboli shigelóza. *Shigellu* lze klasifikovat do čtyř druhů – *Shigella dysenteriae*, *flexneri*, *boydii*

a *sonnei*, z čehož *Shigella flexneri* způsobuje až 60 % infekcí. Příznaky jsou od mírnějšího vodnatého průjmu až po těžší formu zánětlivé bacilární úplavice s horečkami, křečemi v břiše a krví ve stolici. *Shigella dysenteriae* může produkovat shiga toxiny, způsobující kolitidu a hemolytickou uremii. Tento typ *Shigelly* má nemocniční úmrtnost až 20 %.

Shigelóza se řadí mezi nemoci špinavých rukou a potraviny nebývají klasickým vektorem přenosu, ale jsou i případy nákaz z konzumace kontaminovaných potravin. Rizikové jsou hlavně potraviny s ruční manipulací během procesu výroby za nedostatečného dodržení hygienických podmínek (Demnerová 2016; Yang et al. 2015). Na obrázku 6 je zobrazena *Shigella*.



Obrázek 6 – *Shigella* ssp. (<https://www.cbs7.com/content/news/Two-More-Cases-of--331267332.html>)

3.2.1.6 *Vibrio cholerae*

Vibrio cholerae je gramnegativní tyčinkovitá bakterie z čeledi Vibrionaceae. Tato bakterie je běžnou součástí vodních ekosystémů a způsobuje vodou přenášené průjmové onemocnění zvané cholera. V současnosti způsobuje cholera sérotyp O1, který se vyskytuje ve dvou biotypech, klasický a El Tor, jenž je častější, ale má mírnější projevy a nižší smrtelnost. Projevy tohoto onemocnění jsou vodnaté průjmy, bolesti břicha, zvracení a hypotenze. Rizikový je zde deficit tekutin a minerálů, který může v nejhorsích případech končit i smrtí. Jsou dva nejdůležitější faktory virulence této bakterie. Toxin cholery, který způsobuje vodnaté průjmy a fimbrie, které jsou nezbytné pro kolonizaci střeva (Hamplová et al. 2015; Silva et al. 2016). Fimbrie této bakterie jsou viditelné na obrázku 7.

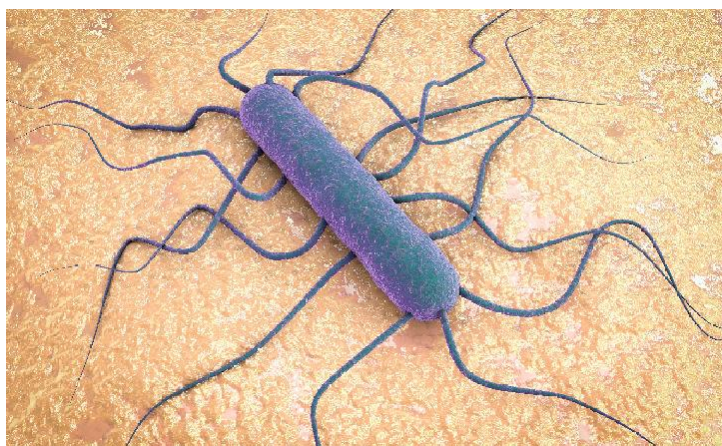


Obrázek 7 – *Vibrio cholerae* (<https://www.amr-insights.eu/antibiotic-resistance-in-vibrio-cholerae-understanding-the-ecology-of-resistance-genes-and-mechanisms/>)

3.2.1.7 *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes, na obrázku 8, je grampozitivní bakterie způsobující závažné zánětlivé onemocnění listerióza, která postihuje centrální nervovou soustavu, vnitřní orgány, kůži a uzliny. V České republice jsou hlášeny desítky případů za rok. Toto onemocnění je největším nebezpečím pro starší osoby, jedince se sníženou imunitou a těhotné ženy. U těhotných žen je v případě infekce riziko potratu nebo předčasného porodu dítěte s vrozeným onemocněním.

Hlavním zprostředkovatelem přenosu je infikovaný člověk a potraviny, které byly během procesu výroby kontaminovány (Hamplová et al. 2015; Kopper et al. 2014).



Obrázek 8 – *Listeria monocytogenes* (<https://www.rapidmicrobiology.com/news/compliant-detection-of-listeria-monocytogenes-in-food-environmental-samples>)

3.2.1.8 *Campylobacter* spp.

Bakterie rodu *Campylobacter*, patřící do čeledi Campylobacteriaceae, jsou gramnegativní, nesporulující, spirálovitě zakřivené tyčinky. Zakřivení do spirály je vidět na obrázku 9 (Montville a Matthews 2008). Mezi nejčastěji identifikované zástupce způsobující akutní infekční průjemy patří *Campylobacter jejuni* a *Campylobacter coli*.

Onemocnění kampylobakterií se projevuje chronickou gastritidou, enterokolikou nebo septikémií. K infekci dochází nejčastěji konzumací kontaminovaných potravin (Kopper et al.

2014), převážně zeleniny, mléčných výrobků nebo drůbežích masných výrobků (Sher et al. 2021).



Obrázek 9 – *Campylobacter* spp. (<https://www.eurolab.net/sk/testler/gida-analizleri/isiya-direncli-campylobacter-turlerinin-aranmasi-campylobacter-spp/>)

3.2.1.9 *Yersinia* spp.

Yersinia spp. patří mezi fakultativně anaerobní, gramnegativní, krátké tyčinkovité bakterie (Demnerová 2016) patřící do čeledi Enterobacteriaceae (Marsicano et al. 2020). V současné době zahrnuje rod *Yersinia* 17 druhů, z čehož pro člověka jsou patogenní tyto tři – *Yersinia pseudotuberculosis*, *Yersinia pestis* a *Yersinia enterocolitica*. *Yersinia enterocolitica*, na obrázku 10, je důležitou bakterií v mikrobiologii potravin jako patogen gastrointestinálního traktu (Falcão 2014). *Yersinia enterocolitica* nejčastěji projevuje jako enteritida s bolestmi břicha a průjmem, ale mohou se objevovat i mimointestinální onemocnění (Marsicano et al. 2020).

Enterická yersinióza je onemocnění, které se přenáší fekálně-orální cestou skrze kontaminované potraviny. Po kampylobakterióze a salmonelóze je třetí nejčastější příčinou bakteriálních průjmů v Evropě (Saraka et al. 2017).

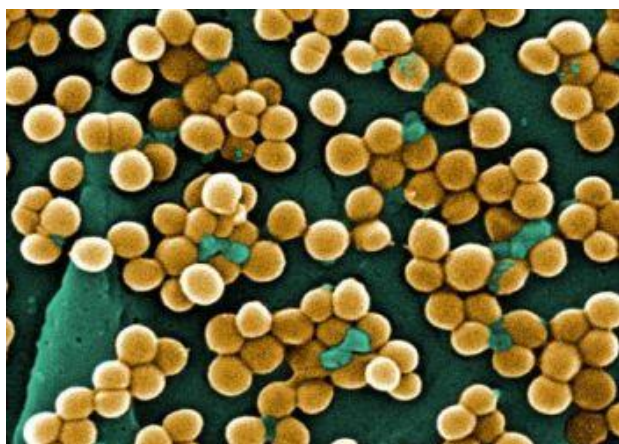


Obrázek 10 – *Yersinia enterocolitica* (<https://www.foodsafetynews.com/2021/02/sweden-investigates-rise-in-yersinia-infections/>)

3.2.1.10 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus je nesporulující, fakultativně anaerobní, kulovitá bakterie tvořící typické hroznovité útvary, které jsou vidět na obrázku 11. Řadí se mezi koaguláza pozitivní druhy, které jsou schopné produkovat hemolysin, toxiny syndromu toxického šoku nebo enterotoxiny. Stafylokok se vyskytuje u většiny teplotokrevných živočichů, včetně člověka, převážně na sliznicích dýchacích cest a zažívacího ústrojí (Demnerová 2016). Bývá často identifikován u 25 % až 50 % populace, častěji u dětí nebo jedinců s dermatologickým onemocněním. Pro tuto bakterii je typická produkce extracelulárního enzymu koagulázy a proteinu A, který se váže na molekulu imunoglobulinu G, čímž stafylokoka chrání před imunitní reakcí organismu (Daum 2018).

Onemocnění se projevuje křečemi v žaludku, zvracením nebo nauzeou. Nejčastějším zdrojem infekce je člověk a k přenosu dochází přes kontaminované potraviny (Hamplová et al. 2015).



Obrázek 11 – *Staphylococcus aureus* (<https://hcs-pharma.com/invasion-of-staphylococcus-aureus-on-human-keratinocytes-from-animals-to-humans/>)

3.2.2 Viry

Viry přenášené potravinami jsou v posledních letech celosvětově uznávány jako důležité možné příčiny alimentárních onemocnění. Jejich vlastnosti se významně liší od běžněji studovaných bakteriálních patogenů přenášených potravinami. Viry se skládají z nukleových kyselin uzavřených v proteinovém obalu nazývaném kapsida. Viry nejsou volně žijící a jsou schopné replikace pouze v živých buňkách jiných organismů. Na rozdíl od bakterií se nemohou replikovat v potravinách, takže schopnost kontaminovaných potravin sloužit jako nosič infekce závisí na stabilitě viru a citlivosti hostitele. Většina virů přenášených potravinami je v prostředí extrémně stabilní a některé z nich jsou schopné odolat technikám zpracování potravin regulující bakteriální patogeny. Viry mohou dlouhodobě přežít v potravinách, na rukou, ve stolici nebo na materiálech, které přichází do kontaktu s potravinami. Potravinové virové infekce jsou obvykle způsobeny enterickými viry a tyto infekce se šíří prostřednictvím virových částic vylučovaných stolicí nebo zvratky infikovaných jedinců. Za nejrizikovější jsou považovány potraviny, které jsou podávány syrové nebo jen lehce uvařené. Měkkýši, čerstvé ovoce a zelenina patří mezi potraviny, které jsou velmi často spojovány s rizikem přenosu enterických

virů, protože prochází rozsáhlou manipulací lidmi a nejsou dále zpracovány. Nejčastějšími příčinami virových onemocnění přenášených potravinami bývají noroviry, rotaviry a viry hepatitidy A a E (Miranda & Schaffner 2019).

Jsou identifikovány tři hlavní zdroje virové kontaminace (Di Cola et al. 2021):

- odpadní voda a lidské výkaly
- infikovaní lidé manipulující s potravinami
- infikovaná zvířata

3.2.2.1 Noroviry

Dříve nazývané Norwalk-like viry (NLV) nebo small round structured viruses (SRCV) patří do čeledi Caliciviridae (Goering et al. 2016). Noroviry jsou příčinou akutní gastroenteritidy, infekce způsobuje zvracení, průjem, křeče v břiše i horečku, která se objevuje u více než 40 % pacientů. V nejhorších případech dochází u slabších a chronicky nemocných jedinců v důsledku dehydratace i k úmrtí (Mattison 2011).

Zdrojem nákazy bývá člověk a k přenosu dochází přímo fekálně-orální cestou, případně konzumací znečištěných potravin (Hamplová et al. 2015).

3.2.2.2 Rotaviry

Celosvětově jsou rotaviry nejčastější příčinou akutní gastroenteritidy u kojenců a malých dětí. Rotaviry jsou tvořeny devíti druhy A až I, z čehož rotavirus A způsobuje více než 90 % rotavirových infekcí. Rotaviry postihují převážně buňky střevního epitelu, kde svou replikací narušují transportní systémy střev a způsobují tak dehydrataci organismu a následnou ztrátu minerálů a solí. V menší míře mohou rotaviry napadat i nervovou soustavu, játra, slinivku a další orgány. Infekce může být zcela bez příznaků, v opačném případě se projevuje vodnatými průjmy, zvracením, horečkami a bolestmi břicha. Přenos je uskutečněn převážně fekálně-orální cestou (Gómez-Rial et al. 2020; Goering et al. 2016).

3.2.2.3 Viry hepatitidy

Virus hepatitidy A (HAV) a virus hepatitidy E (HEV) jsou celosvětově nejčastějšími příčinami virové hepatitidy a jsou přenášeny fekálně-orální cestou (Lhomme et al. 2021).

Častým zdrojem viru hepatitidy A jsou hotové pokrmy připravené k přímé spotřebě, mlži a čerstvé tepelně neopracované potraviny. Rezervoárem viru hepatitidy E bývá lovná zvěř a masné produkty. K přenosu dochází také přes kontaminovanou pitnou vodu a existují i alternativní cesty přenosu, jako jsou transfuze krve a vertikální přenos (Di Cola et al. 2021).

Obrázek 12 ukazuje možné zdroje infekce pro člověka a způsoby zavlečení virů hepatitidy A a E do potravinového řetězce.

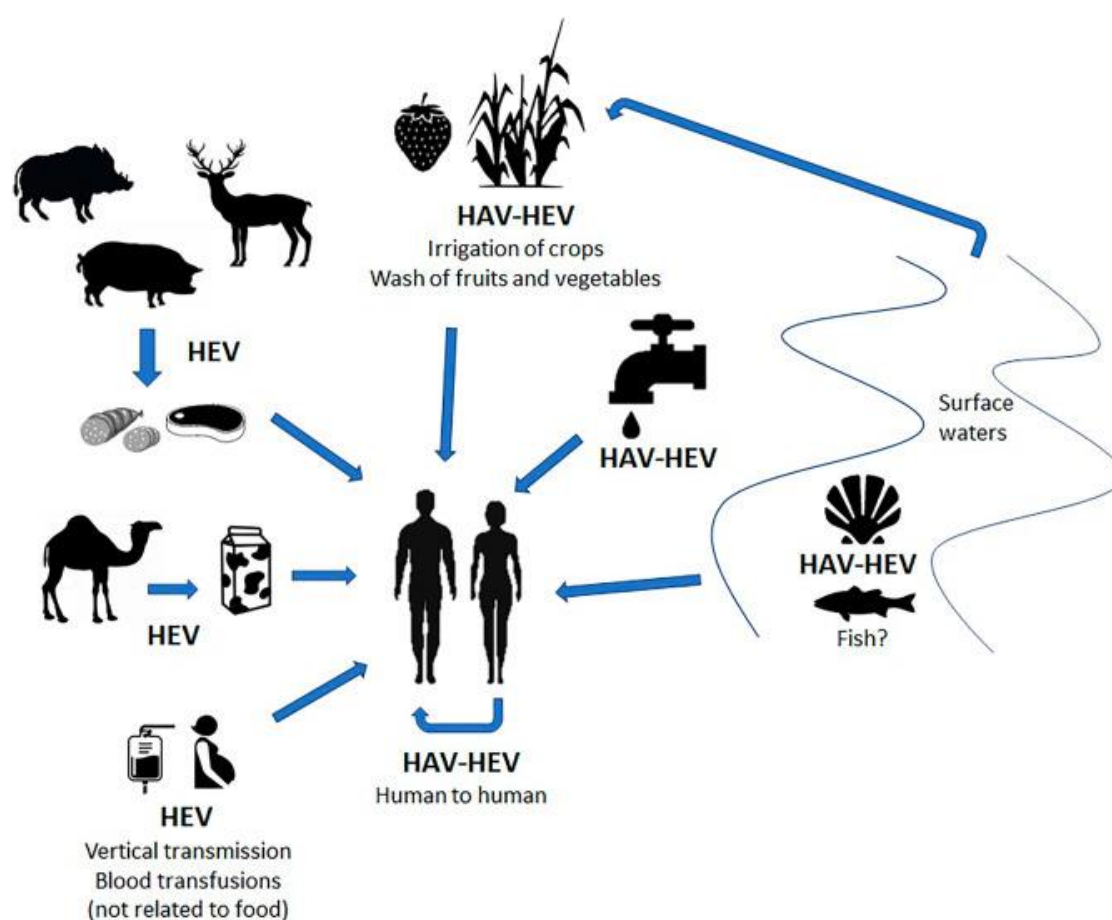
Virus hepatitidy A

Existuje šest genotypů HAV (I až VI), ale všechny patří pouze k jednomu sérotypu. Genotypy I, II a III, rozdělené na podtypy A a B, infikují člověka. HAV je původcem akutní hepatitidy, která ve velmi málo případech může vést k fulminantní hepatitidě (Di Cola et al. 2021). Způsobuje tedy spíše mírné onemocnění, u kterého příznaky začínají čtrnáct dní po

infekci, což se kryje s rostoucí hladinou transamináz a vylučováním viru ve stolici. Protilátky IgM a IgG anti-HAV stoupají. IgM, jehož přítomnost slouží k diagnostice onemocnění, označuje akutní infekci a zmizí během 3–12 měsíců. IgG pak zůstává na celý život (Grover & Keays 2011).

Virus hepatitidy E

Tento RNA virus se šíří hlavně fekálně-orální cestou, ale může se také přenášet ze zvířat, zejména prasat (Grover & Keays 2011). Je klasifikován do 8 genotypů (HEV-1 až HEV-8), z čehož genotypy 1 až 4 a genotyp 7 infikují člověka. Tento virus způsobuje akutní infekce, u kterých je většina případů bez příznaků, ale u těhotných žen a osob s onemocněním jater může způsobit fulminantní hepatitidu. U imunosuprimovaných jedinců se může vyvinout i chronická hepatitida (Di Cola et al. 2021).



Obrázek 12 – možné způsoby zavlečení HAV a HEV do potravinového řetězce a zdroje infekce pro člověka (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160520304803>)

3.3 Metody identifikace patogenů

Přítomnost patogenů v potravinách lze detekovat na základě různých vlastností mikroorganismů, jako jsou morfologie kolonií, nukleové kyseliny, proteiny, antigeny a metabolity. Patogeny se dokážou rychle množit, přizpůsobovat různým prostředím a produkovat toxiny, jimiž ohrožují lidské zdraví. Proto je vývoj rychlých a přesných detekčních technologií zásadní pro prevenci nemocí a úmrtí způsobených patogeny přenášenými potravinami (Kim & Oh 2021).

3.3.1 Kultivační metody

Tyto metody založené na kultivaci jsou v mikrobiologii považovány za zlatý standard a jsou známé svou efektivitou, citlivostí, schopností potvrdit životaschopnost buněk a snadnou standardizací. Kultivační metody jsou navrženy tak, aby byly schopny detekovat jednu cílovou buňku v systému. Posledních 60 let mikrobiologové vyvíjeli spolehlivé metody pro detekci potravinových patogenů v kontaminovaných potravinách (Dwivedi & Jaykus 2010). Klasické kultivační metody detekce mikroorganismů jsou tradičním způsobem k prokázání mikrobiální aktivity, ale bývají složité, časově náročné a pomalé na vyhodnocení výsledků. V posledních letech bylo objeveno několik nových metod, které oproti klasickým kultivačním metodám umožňují rychlejší a přesnější identifikaci mikroorganismu. K zabránění konzumace kontaminovaných potravin a tím i následným komplikacím je zapotřebí včasného odhalení patogenu pomocí rychlých testů na přítomnost patogenních mikroorganismů (Foddai & Grant 2020).

Metody rychlé detekce mikroorganismů lze klasifikovat do kategorií – molekulárně biologické metody založené na nukleových kyselinách, imunochemické metody, které využívají vazby antigenu a protilátky a metody založené na biosenzorech (Zhao et al. 2014).

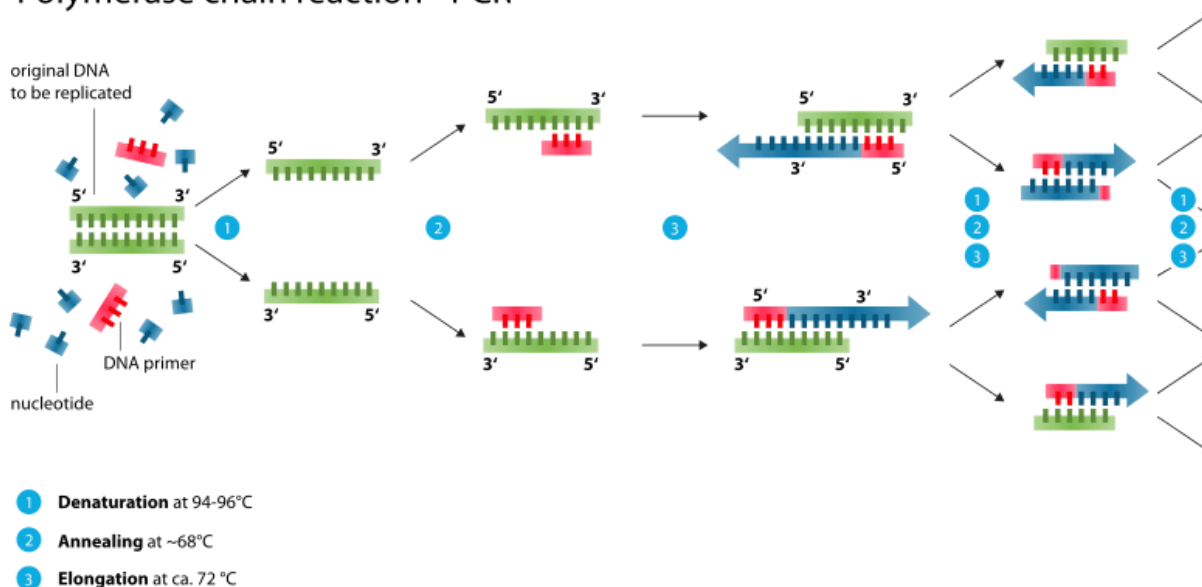
3.3.2 Molekulárně biologické metody

Tyto metody jsou založeny na detekci specifických sekvencí DNA nebo RNA cílového patogenního organismu. Nejběžněji používanou molekulárně biologickou metodou je polymerázová řetězová reakce neboli PCR, která využívá amplifikace nukleových kyselin (Foddai & Grant 2020).

3.3.2.1 Polymerázová řetězová reakce

Dvouvláknová DNA je vysokou teplotou denaturována na dvě samostatná vlákna a pomocí specifických primerů a DNA polymerázy dochází k syntéze nového vlákna DNA komplementárního k původnímu řetězci DNA. Opakováním těchto kroků dochází s každým cyklem ke zdvojnásobení počátečního počtu cílových sekvencí. Jednotlivé fáze PCR jsou znázorněny na obrázku 13. Identifikace na základě PCR je považována za spolehlivou techniku, jejíž výhodou je rychlost, specifita a citlivost. Oproti klasickým kultivačním metodám je u PCR potřeba menšího množství vzorku. Metody PCR jsou vhodné pro detekci řady bakteriálních druhů, včetně *Vibrio cholerae*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* a může být použita i pro identifikaci bakteriálních toxinů (Zhao et al. 2014).

Polymerase chain reaction - PCR



Obrázek 13 – Jednotlivé fáze PCR (<https://microbiologyinfo.com/polymerase-chain-reaction-pcr-principle-procedure-types-applications-and-animation/>)

3.3.3 Imunochemické metody

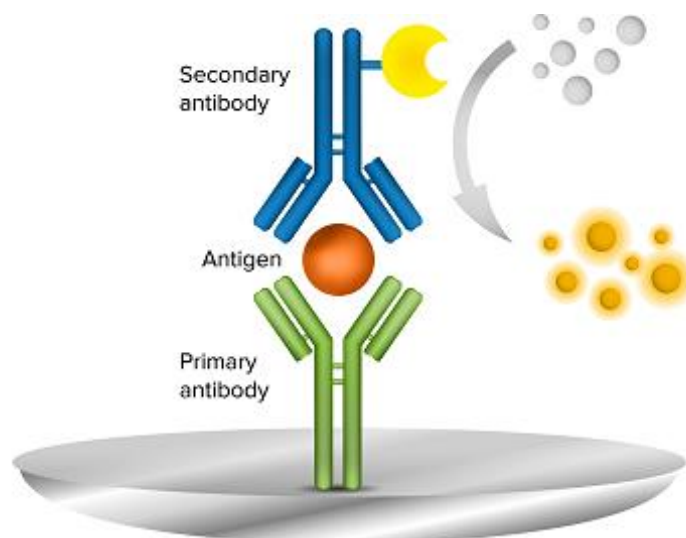
Imunochemické metody jsou velmi často používané metody ke stanovení patogenů v potravinách. Jsou založené na specifické vazbě antigenu a protilátky a vhodnost využití komplexu antigen – protilátka závisí hlavně na specifitě protilátky (Zhao et al. 2014). Protilátka použitá jako činidlo detekuje požadovaný analyt – antigen (Dodig 2009). Tyto metody detekce jsou vysoce specifické a citlivé. Umožňují přímou detekci nebo kvantifikaci stop analytu v komplexním médiu bez nutnosti extrakce sloučeniny. Většina z nich je rychlá a umožňuje analýzu vzorku během několika minut. Z různých dostupných imunochemických metod jsou nejrozšířenější testy ELISA (Dupont 2020).

3.3.3.1 ELISA

ELISA je zkratka z anglického názvu enzyme-linked immuno sorbent assay. Tato metoda zahrnuje chromogenní reportéry a substráty, které produkují nějakou pozorovatelnou změnu barvy a indikují přítomnost antigenu nebo analytu (Zhao et al. 2014).

Antigen nebo protilátka je spojena s enzymem za vzniku konjugátu, který má jak enzymatickou, tak imunologickou reaktivitu v závislosti na typu použitého testu. Stanovení se poté provádí buď antigenem nebo protilátkou imobilizovanou na pevném povrchu. Tato imobilizace je důležitá pro jednoduché promývací kroky, které jsou nezbytné pro oddělení reagujícího činidla od nezreagovaného činidla. Po inkubaci antigenu s protilátkou a provedení příslušných promývacích kroků k odstranění přebytečných činidel se enzymatická aktivita kvantifikuje přidáním nechromatického substrátu, který se konvertuje připojeným enzymem na vysoce chromatický produkt (Masoodi et al. 2021). Nejpoužívanější test ELISA se nazývá sendvičový, protože antigen je vázán mezi dvěma protilátkami, jak je vidět na obrázku 14. Elisa

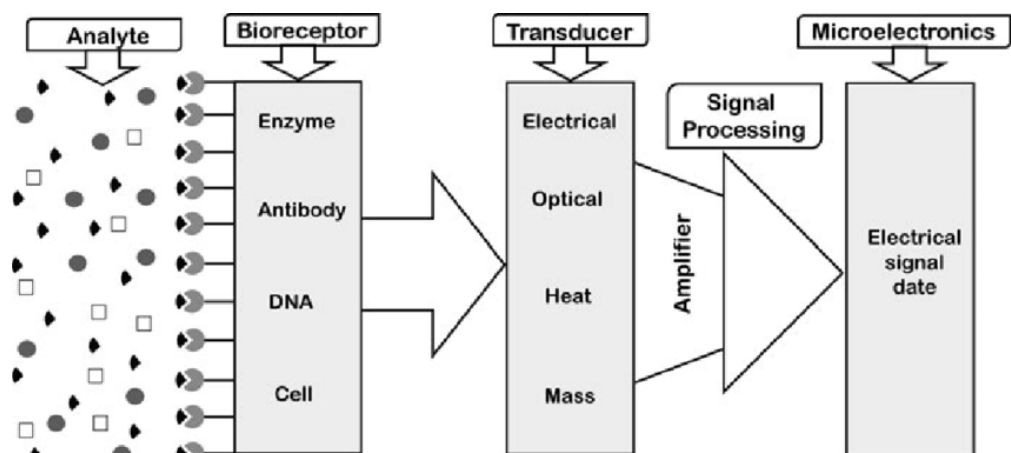
se používá pro detekci toxinů, včetně botulotoxinů a enterotoxinů produkovaných *Escherichia coli* (Zhao et al. 2014).



Obrázek 14 – Sendvičový test ELISA (<https://www.moleculardevices.com/node/4710#gref>)

3.3.4 Biosenzory

Biosenzor je zařízení určené k detekci cíle – analytu pomocí kombinace rozpoznávacího prvku a detektoru. Biosenzory mají dvě hlavní součásti – bioreceptor a převodník, jak je znázorněno na obrázku 15. Bioreceptor, který produkuje primární signál, funguje jako prvek k rozpoznávání cíle. Převodník má funkci detektoru a převádí signál získaný z rozpoznávacího prvku do detekovatelné formy. Získané signály jsou uloženy, zesíleny, analyzovány a zobrazeny. Převodníky pracují na různých principech včetně fluorescence, optiky a hromadné detekce. Signály lze detekovat buď přímo nebo nepřímo. Přímá detekce je založena na kvantifikaci přítomnosti cíle pomocí jediného ligandu. Nepřímá detekce používá dva ligandy. Primární ligand, navázaný na povrch biosenzoru, který působí jako záchytná molekula a sekundární ligand, jehož účelem je generovat signál (Dwivedi & Jaykus 2010). Biosenzory jsou používány na mikrobiální analýzu potravinářských patogenů, včetně *Escherichia coli* O157: H7, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* a *Listeria monocytogenes*, ale i na různé mikrobiální toxiny, jako jsou stafylokokové enterotoxiny a mykotoxiny (Zhao et al. 2014).



Obrázek 15 – Schéma biosenzoru

(https://www.researchgate.net/publication/323365059_Nanofiber_Electrodes_for_Biosensors)

3.4 Zásady osobní a provozní hygieny

Zaměstnanec v potravinářském podniku je osoba, která pracuje s nebaleným jídlem, potravinářským vybavením nebo kuchyňským náčiním, čímž přímo nebo nepřímo přichází do kontaktu s potravinou. Pracovníci se potencionálně podílejí na šíření nemocí přenášených potravinami od doby zpracování prvotní suroviny až po finální úpravu podávaného jídla v restauraci. Hlášené případy alimentárních nákaz uvádějí infikované pracovníky jako zdroj infekce jsou poměrně časté. Některé případy mají za následek i úmrtí. Studie ukazují, že skoro polovina ohnisek nákaz pochází ze stravovacích zařízení, převážně z restaurací.

U nákaz způsobených infikovaným pracovníkem jsou nejčastěji uváděnými faktory např. přímý kontakt holé ruky pracovníka s potravinou, nesprávná technika mytí rukou, nedostatečné čištění zpracovatelského nebo přípravného zařízení a nádobí nebo křížová kontaminace. K přenosu infekce z člověka na potravinu dochází z částí lidského těla, které jsou vystaveny znečištěnému vnějšímu prostředí. Patogeny z těchto oblastí jsou nejčastěji přenášeny rukama, zejména konečky prstů a dlaněmi. Rizikový je výskyt průjmů, zvracení a nasofaryngeální nebo orofaryngeální tělních sekretů. Pravděpodobnost, že dojde ke kontaminaci potravin z rukou pracovníka, závisí na počtu mikroorganismů potřebných k zahájení infekce, místu kolonizace a délce trvání infekce u infikovaného zaměstnance. Osobní hygiena a zdravotní stav pracovníků je zásadní pro snížení rizika přenosu patogenů (Todd 2014).

Mezi nejčastěji uváděné faktory, které přispívají k propuknutí nákazy, patří (Ekici & Dümen 2019):

- Špatná hygiena pracovníků
- Použití syrových potravin
- Použití kontaminovaných materiálů a nástrojů
- Infikovaní pracovníci na pracovišti
- Křížová kontaminace
- Špatné zpracování potravin
- Nedostatečná teplená úprava
- Nedostatečné chlazení
- Příliš dlouhá doba skladování
- Kontaminace ve finální fázi

Návrhy na zlepšení prevence kontaminace potravin podle Todda (2014):

- Správné dodržování zásad hygieny
- Správné dodržování výrobních postupů
- Sanitace nástrojů a povrchů, které přichází do kontaktu s potravinami
- Školení pracovníků v oblasti hygieny
- Motivace pracovníků ke hlášení onemocnění
- Dohled nad pracovníky ze strany vedení
- Pravidelné vyšetření zdravotního stavu pracovníků

3.4.1 Hygiena rukou

Hlavním odůvodněním nutnosti mytí rukou je odstranění odumřelých kožních buněk, potu, mazu, přechodných mikroorganismů a organického materiálu, který zůstává na rukou. Správná technika mytí rukou by měla většinu z nich odstranit a je dobré ji zefektivnit pomocí různých antiseptických přípravků (mýdel, detergentů a gelů). Antiseptikum je antimikrobiální látka, která po aplikaci na kůži přispívá ke snížení mikrobiální flóry a k potlačení růstu mikroorganismů. Mýdlo působí jako emulgátor, který suspenduje mastnotu a nečistoty a snížením povrchového napětí vody umožňuje jejich omytí. Detergenty jsou povrchově aktivní látky, které mají čisticí účinek. Skládají se z hydrofilních a lipofilních částí a lze je rozdělit do čtyř skupin – aniontové, kationtové, amfoterní a neiontové. Kvůli přirozené kožní bariéře není možné mytím rukou dosáhnout naprosté sterility pokožky a ihned po umytí jsou ruce opět náchylné ke kontaminaci. Účinnost mikrobiálního odstranění závisí na typu a úrovni kontaminace mikroorganismy a organickými látkami. Dalšími důležitými faktory jsou použití pitné a nepitné vody, délka mytí rukou či typ a množství použitého antiseptika. Důležité je nevynechat žádné části rukou a důkladně umýt prsty, dlaně, hřbety rukou, oblast pod nehty i zápěstí. Nedodržením správné techniky mytí rukou po toaletě dochází ke kontaminaci rukou a tím k fekálně – orálnímu přenosu, který je v případě enterických infekcí nejčastějším způsobem přenosu patogenů nacházejících se ve stolici infikovaných osob (Todd 2014).

3.4.2 Inkubační doba

U infikovaných osob se inkubační doba může pohybovat od několika hodin, dnů a ve výjimečných případech i týdnů. Čím je toto období delší, tím je víc příležitostí k přenosu patogenu na další osoby a vzrůstá pravděpodobnost kontaminace potravin. Stejně tak doba trvání nemoci je důležitým aspektem ovlivňující šíření nákazy. Příznaky gastroenteritidy mohou trvat dny, týdny a v případě chronických průjmů i měsíce (Todd 2014).

Inkubační dobu a délku trvání nemoci u vybraných patogenních bakterií podle Goeringa et al. (2016) uvádí tabulka 2.

Tabulka 2 – Inkubační doba a trvání nemoci u vybraných patogenů (Goering et al. 2016)

Patogen	Inkubační doba	Trvání
EPEC	1–2 dny	týdny
EHEC	3–4 dny	5–10 dní
ETEC	1–7 dní	2–6 dní
EIEC	1–3 dny	7–10 dní
<i>Salmonella</i>	6 hodin až 2 dny	48 hodin až 7 dní
<i>Vibrio cholerae</i>	2–3 dny	až 7 dní
<i>Campylobacter</i>	2–11 dní	3 dny až 3 týdny
<i>Shigella</i>	1–4 dny	2–3 dny
<i>Bacillus cereus</i>	8–12 hodin	12 hodin až 1 den
<i>Yersenia enterocolitica</i>	4–7 dní	1–2 týdny

Vzhledem k tomu, že se zaměstnanci po prodělané nemoci chtějí vrátit rychle do práce, je zde nebezpečí, že budou infekční i po odeznění klinických příznaků. U některých patogenních mikroorganismů, např. *Campylobacter*, *Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio cholerae*, *Yersinia* a enterických virů, hrozí dlouhodobé postsymptomatické vylučování patogenů. Podle průzkumů někteří jedinci infikovaní salmonelou vylučovali tento patogen po dobu 102 dnů (Todd 2014).

3.4.3 Čištění a sanitace

Čištění a dezinfekce prostor potravinářského podniku jsou důležité k zajištění bezpečného prostředí pro manipulaci s potravinami. Neefektivní postupy, které nedokážou odstranit znečištění, mohou vést k nahromadění nečistot či mikrobiálních patogenů a být potenciálním zdrojem kontaminace následné výroby potravin.

Účinnou dezinfekci prostor ovlivňují tyto čtyři faktory:

- Čas
- Teplota
- Chemická aktivita
- Mechanická energie

Délka trvání čištění a dezinfekce bývá často opomíjena a podceňována. Ale čas, který je věnován úklidu, je důležitým faktorem pro účinné odstranění nečistot z povrchu. Zbytečné uspěchání procesu úklidu může mít za následek nedbalé vyčištění všech prostor a tím potenciální ohrožení bezpečnosti hygieny provozu.

Vliv teploty na čištění a dezinfekci se liší v závislosti na typu znečištění a kvalitě vody. Platí, že při každém zvýšení teploty o 10 °C se dezinfekční aktivita zdvojnásobuje, což má za následek snazší odstranění nečistot.

Chemická aktivita ovlivňuje rozpouštění nečistot ze znečištěných povrchů a je faktorem pro jejich emulgaci, která zabraňuje jejich opětovnému usazování. Sanitační chemikálie likvidují nebo potlačují mikrobiální kontaminaci. Aby bylo chemické čištění účinné, je zapotřebí zvolit vhodnou chemickou látku vzhledem k povaze znečištění a aplikovat ji ve správné koncentraci.

K odstranění nečistot z povrchu je nutný mechanický zásah s použitím síly. V potravinářských podnicích jsou kromě ručních metod čištění používány i automatické systémy, které pomocí tlakové vody nebo vzduchu zajišťují onu mechanickou sílu. Potřebu mechanické síly lze minimalizovat optimální kombinací ostatních tří faktorů, ale k dokonalému vyčištění prostor je vždy nutná určitá síla (Ryther 2014).

3.4.4 Požadavky na skladování potravin

Faktory jako místní klima, především teplota a vlhkost, stupeň znečištění ovzduší a půdy, přítomnost živočichů nebo blízkost zemědělského podniku či chemické továrny, mohou potenciálně ohrozit bezpečnost provozu v potravinářském podniku. Konstrukce budovy potravinářského provozu (včetně skladovacích místností vhodně upravených k uchování potravin) významně ovlivňují přístup škůdců, mikroorganismů, prachu a znečištěného ovzduší

k potravinám. Proto je potřeba zajistit, aby tyto prostory byly z hygienického hlediska maximálně vyhovující pro skladování a manipulaci s potravinami. Je nezbytné nepřetržitě monitorovat podmínky ve skladovacích místnostech a udržovat optimální vlhkost a teplotu vhodnou pro skladování daných potravin. Stropy a stěny by měly být vodotěsné, hladké bez trhlin a štěrbin, ve kterých by se mohl ukrývat nežádoucí hmyz a škůdci. Ideální umístění skladovacích prostor je na zvýšené úrovni s dostatečným osvětlením vhodným pro důkladnou kontrolu při hledání stop po škůdcích (Lelieveld 2014).

3.5 Hodnocení a řízení rizik bezpečnosti potravin

Světová zdravotnická organizace definuje bezpečnost potravin jako záruku, že jídlo nezpůsobí spotřebiteli žádnou újmu, za předpokladu, že je připraveno a konzumováno v souladu s jeho určením. Podle odhadů je každoročně až třetina populace v rozvojových zemích postižena alimentárními onemocněními a celosvětově zemře na nemoci způsobené kontaminovanými potravinami a vodou přibližně 1,8 milionu lidí (Bertolatti & Theobald 2019).

Věda o potravinách je obor zabývající se všemi technickými aspekty jídla, počínaje sklizní rostlinných produktů nebo porážkou hospodářských zvířat a konče jeho kulinářskou úpravou a následnou konzumací. Jedná se o interdisciplinární aplikovanou vědu, která zahrnuje koncepty z mnoha oborů, včetně mikrobiologie, chemického inženýrství, biochemie a mnoha dalších. Moderní věda o potravinách poskytuje stále více informací o funkcích a mechanismech konkrétních složek potravin, které mohou sloužit jako podpůrný prostředek pro zdraví nebo jako prevence nemocí. V potravinářském průmyslu je cílem zajistit vyhovující potraviny s vynikající senzoryckou jakostí, nutriční hodnotou a především potraviny zdravotně nezávadné (Enne et al. 2010).

Vznikající rizika v oblasti bezpečnosti potravin tedy představují možné ohrožení zdraví spotřebitelů. Tato rizika vyplývají buď z neznámých nebezpečí nebo ze známých, která podléhají novým vlivům a měnícímu se prostředí. Vznik těchto rizik bývá často složitý a ve většině případů má dopady mimo hranice jednoho státu. Strategie při identifikaci a následném řešení vznikajících problémů v oblasti bezpečnosti potravin musí zohledňovat globalizaci a provázanost jednotlivých potravinových řetězců (Maphosa 2019).

Úspěšné odhalení vznikajících rizik vyžaduje tři klíčové faktory:

- spolehlivé zdroje dat
- kvalifikovaný lidský zásah
- zpravodajské strategie

Odborníci v oblasti bezpečnosti potravin hrají důležitou roli v náročném úkolu ochrany veřejnosti před chorobami přenášenými potravinami. Musí velmi dobře rozumět současným i nově se objevujícím nebezpečím, příčinám a následkům alimentárních onemocnění. S použitím dostupných nástrojů k identifikaci a kontrole rizik bezpečnosti potravin mohou odborníci rozvíjet zásady bezpečnosti potravin na základě spolehlivých vědeckých důkazů. Tyto informace jsou sdělovány všem zúčastněným stranám, včetně průmyslu, vládám i spotřebitelům. Výsledné integrované systémy bezpečnosti potravin mohou tak fungovat na obchodní, místní, národní nebo i mezinárodní úrovni, aby zajistily veřejné zdraví a usnadnily obchod s potravinami (Bertolatti & Theobald 2019).

Pro bezpečnost potravin je důležité pochopit podstatu kontaminace, její zdroje, případná rizika pro spotřebitele a možnosti eliminace nebo snížení úrovně kontaminace (Hussain 2016).

3.5.1 Codex Alimentarius

Codex Alimentarius, z latinského překladu „potravinářský zákoník“ (Heggum 2002), vypracovala roku 1963 Komise pro Codex Alimentarius (CAC), která byla založena Organizací

pro potraviny a zemědělství (FAO) a Světovou zdravotnickou organizací (WHO) (Cheng 2019). Jedná se o soubor mezinárodních potravinových norem, pokynů, postupů a doporučení, jejichž hlavním cílem je ochrana zdraví spotřebitelů a zajištění spravedlivých postupů v obchodu s potravinami. Codex Alimentarius je referenčním bodem pro výrobce potravin, spotřebitele a pro organizace zabývající se kontrolou potravin a mezinárodním obchodem s potravinami (Stankovic 2016).

3.5.2 Systém analýzy rizik a stanovení kritických kontrolních bodů

Hazard Analysis and Critical Control Points (HACCP) je systém, který monitoruje, identifikuje, analyzuje a kontroluje rizika, která jsou klíčová v oblasti bezpečnosti potravin. Systém byl v šedesátých letech minulého století primárně navržen pro kontrolu bezpečnosti potravin pro kosmonauty, ale později začal být propagován mezinárodními organizacemi a uplatňován v potravinářském průmyslu. Systém HACCP původně sloužil k zajištění mikrobiologické bezpečnosti potravinářské výroby, ale postupně bylo jeho použití rozšířeno na všechny druhy možných nebezpečí v potravinářství, včetně alergenů a chemické či fyzikální kontaminace potravin. V roce 1993 uznala Komise pro Codex Alimentarius systém HACCP jako účinný nástroj pro zlepšení bezpečnosti potravin a zavedla směrnice pro jeho aplikaci v praxi. V roce 1995 se v důsledku zřízení Světové obchodní organizace a zavedení dohody o sanitárních a fytosanitárních předpisech stal systém HACCP mezinárodním požadavkem na zajištění bezpečnosti potravin (Motarjemi 2014).

Systém HACCP tvoří sedm principů:

- Provedení analýzy rizik
- Stanovení kritických kontrolních bodů (CPP)
- Stanovení kritických limitů
- Zavedení systému pro sledování kontroly nad CPP
- Stanovení nápravných opatření pro CPP
- Stanovení postupů pro ověření efektivity systému
- Vypracování dokumentace ohledně záznamů a postupů

Provozovatel potravinářské výroby musí identifikovat možné zdroje kontaminace potravin pro všechny produkty i pro výrobní proces a zavést preventivní kroky ke snížení nebo eliminaci potencionálních rizik. V případě selhání těchto preventivních kroků je jeho povinností uvést další postupy, co dělat s výrobkem. K zajištění zdravotní nezávadnosti potravin je potřeba nepřetržitého sledování a ověřování, zda přijatá opatření byla správná (Montville a Matthews 2008).

3.5.3 Systém rychlého varování pro potraviny a krmiva

Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF) je účinný prostředek sloužící k zajištění bezpečnosti potravin, který vytvořila Evropská komise v roce 1979. Zajišťuje hlášení naléhavých oznámení ohledně vážných rizik zjištěných v souvislosti s potravinami, krmivy nebo materiály, které přišly do styku s potravinami, a následné kolektivní sdílení těchto informací se všemi členskými státy Evropské unie. Oznámení nahlášená v RASFF jsou

dostupná prostřednictvím oficiálního portálu, který obsahuje online databázi s podrobnými informacemi o všech oznámeních. Je zde uvedena země, která oznámení uvedla, typ, důvod a datum oznámení, hlavní nebezpečí, kategorie produktu a přijatá opatření. Nejsou tu zveřejněné údaje o velikosti šarží, počtech vzorků a totožnosti provozovatelů potravinářských a výrobních podniků. Podle závažnosti identifikovaných rizik jsou oznámení klasifikována jako výstraha, informace nebo odmítnutí na hranicích. Výstraha značí vysoké riziko ohrožující bezpečnost potravin, které vyžaduje rychlé jednání, což je obvykle stažení výrobku z trhu. Oznámení informačního charakteru nevyžadují tak rychlou reakci, protože jsou spojena s méně závažnými riziky nebo potenciálně kontaminované produkty nejsou v současné době na trhu. Informační oznámení mohou být velmi důležitá pro posouzení rizik u spotřebitelů s potravinovými alergiemi. Odmítnutí na hranicích se týká potenciálně rizikových produktů vyrobených mimo Evropskou unii (Pádua et al. 2019).

3.5.4 Evropský úřad pro bezpečnost potravin

European Food Safety Authority (EFSA) je agentura Evropské unie odpovědná za hodnocení rizik v souvislosti s bezpečností potravin a krmiv. Úzce spolupracuje s vnitrostátními orgány a poskytuje nezávislé vědecké poradenství a informace o stávajících a vznikajících rizicích Evropské komisi, Evropskému parlamentu a dalším institucím (Ramos-Peralonso 2014).

EFSA je pověřena sběrem údajů o zoonózách, původcích zoonóz, antimikrobiální rezistenci a ohniskách alimentárních onemocnění přenášených potravinami v celé Evropské unii. Každý rok EFSA společně s Evropským střediskem pro prevenci a kontrolu nemocí vytváří souhrnné zprávy, které sjednocují informace napříč všemi potravinovými řetězci. Tento přehled shrnuje úspěchy dosažené tímto integrovaným systémem ve sběru dat a informací. Zaznamenává získané zkušenosti a popisuje výzvy ke zlepšení kvality potravin a využití shromážděných údajů o potravinách, zvířatech a krmivech. Pouze monitorovací systémy v souladu s EU mohou poskytnout platná a přesná data umožňující analýzu časových a prostorových trendů (Boelaert et al. 2016).

3.6 Příklady, kdy došlo ke kontaminaci

3.6.1 Ohnisko *Escherichia coli* O157: H7 v roce 2006

V srpnu roku 2006 bylo nahlášeno několik případů nákazy *Escherichia coli* O157: H7, nakonec ve 26 státech USA bylo zjištěno více než 200 případů, včetně 3 úmrtí. Zdrojem nákazy byl balený čerstvý špenát, který byl nejpravděpodobněji kontaminován závlahovou vodou. Vyšetřování zdroje nákazy dospělo ke zpracovatelskému závodu a čtyřem výrobním farmám v oblasti Kalifornie, kde se dále zjišťovali potenciální souvislosti mezi kontaminovanou vodou a prostředím (Gelting et al. 2011).

3.6.2 Ohnisko *Escherichia coli* O104: H4 v roce 2011

Začátkem května roku 2011 byly v Německu zaznamenány případy hemolyticko – uremického syndromu a krvavých průjmů způsobených zmutovaným patogenním kmenem enterohemoragické *Escherichia coli* O104: H4 produkující shiga toxin (Bielaszewska et al. 2011). Celkem bylo nahlášeno 4055 nakažených, z čehož 885 případů mělo těžký průběh nemoci a 48 lidí zemřelo (Marejková et al. 2011).

Chromozomální plasticita genomu *Escherichia coli* a schopnost produkovat nové kombinace genů urychluje adaptaci na různá prostředí, včetně získání rezistence na řadu antibiotik. I z toho důvodu by mělo být používání antibiotik k léčbě bakteriálních onemocnění předepisováno v omezené míře (Denamur 2011). Začátkem července zveřejnila EFSA závěrečnou zprávu, ve které za nejpravděpodobnější zdroj patogenní *Escherichia coli* byly označeny semena pískavice dovezená z Egypta. Až do konce října roku 2011 byl zakázán dovoz semen a zrn z této oblasti (Spáčil 2011).

3.6.3 Ohnisko *Listeria monocytogenes* v roce 2016

Od začátku července roku 2015 do konce ledna roku 2016 bylo identifikováno 19 případů listeriózy v 9 státech USA. Všichni pacienti vyžadovali okamžitou hospitalizaci v nemocnici a jeden člověk v důsledku onemocnění zemřel. Jeden případ listeriózy u těhotné ženy vedl k předčasnému porodu (Self et al. 2019). Při vyšetřování zdroje nákazy pacienti uvedli konzumaci balené listové zeleniny zpracované jistou společností. To vedlo k inspekci v zařízení společnosti v Ohio, kde byly odhaleny dva vzorky listerie, které byly identické s klinickým izolátem. V lednu 2016 bylo zahájeno stahování všech balených salátových produktů vyrobených v tomto zařízení. V roce 2016 byla v USA nahlášena dvě další ohniska listerie spojená se syrovým mlékem a mraženou zeleninou (Self et al. 2016).

Invazivní infekce *Listeria monocytogenes* (listerióza) je ve Spojených státech třetí nejčastější příčinou úmrtí na nemoci přenášené potravinami a každoročně způsobuje odhadem 1 500 infekcí, 1 400 hospitalizací a 250 úmrtí. Přestože je výskyt listeriózy nižší než u jiných alimentárních onemocnění, často vede k těžkým průběhům, včetně sepse a meningitidy a bývá spojována s vysokou úmrtností dítěte nebo ztrátou plodu u těhotných žen (Self et al. 2019).

4 Závěr

Hlavním cílem této bakalářské práce bylo vytvořit literární rešerši popisující možné zdroje kontaminace potravin se zaměřením na pracovníky potravinářských podniků.

Součástí práce bylo popsat vybrané nežádoucí mikroorganismy způsobující alimentární onemocnění. Bakterie a viry jsou nejčastějšími patogenními mikroorganismy kontaminující potraviny. Mezi nejvýznamnější bakteriální patogeny patří *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Clostridium* spp., *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Vibrio cholerae*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter* spp., *Yersinia* spp. a *Staphylococcus aureus*. Z virů jsou významnými kontaminanty noroviry, rotaviry a viry hepatitid A a E.

Závěrem této práce bylo zjištění, že kontaminace potravin způsobená lidským faktorem se významně podílí na ohrožení bezpečnosti potravin na celém světě. Úloha pracovníků v potravinářských podnicích je tudíž klíčová pro produkci kvalitních a zdravotně nezávadných potravin vhodných ke konzumaci.

Účinnými prostředky ke snížení úrovně kontaminace potravin jsou preventivní opatření předcházející jejich nežádoucímu znečištění. Dodržování osobní hygieny, správných výrobních postupů a monitoring současné situace v oblasti bezpečnosti potravin jsou velmi důležitými nástroji, které je nezbytné provádět v zájmu ochrany veřejného zdraví spotřebitelů.

5 Literatura

- Allocati N, Masulli M, Alexeyev M, Di Ilio C. 2013. Escherichia coli in Europe: An Overview. *International Journal of Environmental Research and Public Health* **10**:6235-6254.
- Bertolatti D, Theobald C. 2019. Food Safety and Risk Analysis. Pages 57-67 in Nriagu J, editor. *Encyclopedia of Environmental Health*. Elsevier.
- Bielaszewska M, Mellmann A, Zhang W, Köck R, Fruth A, Bauwens A, Peters G, Karch H. 2011. Characterisation of the Escherichia coli strain associated with an outbreak of haemolytic uraemic syndrome in Germany, 2011: a microbiological study. *The Lancet Infectious Diseases* **11**:671-676.
- Boelaert F, Amore G, Van der Stede Y, Hugas M. 2016. EU-wide monitoring of biological hazards along the food chain: achievements, challenges and EFSA vision for the future. *Current Opinion in Food Science* **12**:52-62.
- Daum RS. 2018. Staphylococcus aureus. Pages 692-706 in Long SS, Prober CG, Fischer M, editors. *Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases*. Elsevier.
- Demaurex G, Sallé L. 2014. Detection of Physical Hazards. Pages 511-533 in Motarjemi Y, Lelieveld H, editors. *Food Safety Management*. Academic Press.
- Demnerová K. 2016. Laboratoř mikrobiologického zkoumání potravin. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Praha.
- Denamur E. 2011. The 2011 Shiga toxin-producing Escherichia coli O104: H4 German outbreak. *Clinical Microbiology and Infection* **17**:1124-1125.
- Di Cola G, Fantilli AC, Pisano MB, Ré VE. 2021. Foodborne transmission of hepatitis A and hepatitis E viruses: A literature review. *International Journal of Food Microbiology* DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108986.
- Dodig S. 2009. Interferences in quantitative immunochemical methods. *Biochemia Medica* **19**:50-62.
- Dupont D. 2020. Immunochemical Methods. Reference Module in Food Science. Elsevier.
- Dwivedi HP, Jaykus L-A. 2010. Detection of pathogens in foods: the current state-of-the-art and future directions. *Critical Reviews in Microbiology* **37**:40-63.
- Ekici G, Dümen E. 2019. Escherichia coli and Food Safety. *The Universe of Escherichia coli* DOI: 10.5772/intechopen.82375.
- Elias WP, Navarro-Garcia F. 2016. Enteroaggregative Escherichia coli (EAEC). Pages 27-57 in Torres A, editor. *Escherichia coli in the Americas*. Springer International Publishing, Cham.
- Enne G, Serrantoni M, Greppi G. 2010. Science for Food Safety, security and quality: A review – part 1. *Quality of life* **1**:26-40.
- Falcão JP. 2014. YERSINIA | Introduction. Pages 831-837 in Batt CA, Tortorello ML, editors. *Encyclopedia of Food Microbiology*. Elsevier.

- Foddai ACG, Grant IR. 2020. Methods for detection of viable foodborne pathogens: current state-of-art and future prospects. *Applied Microbiology and Biotechnology* **104**:4281-4288.
- Fritz S, Chaitow L, Hymel GM. 2008. Sanitation. *Clinical Massage in the Healthcare Setting* DOI:10.1016/B978-0-323-03996-3.X5001-6.
- Fung F. 2018. Food safety in the 21st century. *Biomedical Journal* **41**:88-95.
- Gelting RJ, Baloch MA, Zarate-Bermudez MA, Selman C. 2011. Irrigation water issues potentially related to the 2006 multistate E. coli O157: H7 outbreak associated with spinach. *Agricultural Water Management* **98**:1395-1402.
- Goering RV, Dockrell HM, Zuckerman MA, Chiodini PL. 2016. *Mimsova lékařská mikrobiologie*. Triton, Praha.
- Gomes TAT, Elias WP, Scaletsky ICA, Guth BEC, Rodrigues JF, Piazza RMF, Ferreira LCS, Martinez MB. 2016. Diarrheagenic Escherichia coli. *Brazilian Journal of Microbiology* **47**:3-30.
- Gómez-Rial J, Rivero-Calle I, Salas A, Martínón-Torres F. 2020. Rotavirus and autoimmunity. *Journal of Infection* **81**:183-189.
- Griffiths MW, Schraft H. 2017. Bacillus cereus Food Poisoning. Pages 395-405 in Dodd CER, Aldsworth T, Stein RA, Cliver DO, Riemann H, editors. *Foodborne Diseases*. Academic Press.
- Grover V, Keays R. 2011. Viral Hepatitis. *Trends in Anaesthesia and Critical Care* **1**:35-38.
- Hamplová L. 2015. *Mikrobiologie, imunologie, epidemiologie, hygiena*. Triton, Praha.
- Hasannejad-Bibalan M, Yousefi Avarvand A, Malekzadegan Y, Sabati H, Amini ME, Sedigh Ebrahim-Saraie H. 2020. Prevalence of Clostridium difficile contamination in Iranian foods and animals: A systematic review and meta-analysis. *Gene Reports* DOI: 10.1016/j.genrep.2020.100898.
- Heggum C. 2002. CODEX ALIMENTARIUS. Pages 463-473 in Roginski H, editor. *Encyclopedia of Dairy Sciences*. Elsevier.
- Hussain MA. 2016. Food Contamination: Major Challenges of the Future. *Foods* **5**:2.
- Chart H. 2012. Escherichia. Pages 280-289 in Greenwood D, Mike B, Slack R, Irving W, editors. *Medical Microbiology*. Churchill Livingstone.
- Cheng C. 2019. Codex Alimentarius Commission. Pages 50-55 in Ferranti P, Berry EM, Anderson JR, editors. *Encyclopedia of Food Security and Sustainability*. Elsevier.
- Javadi K, Mohebi S, Motamedifar M, Hadi N. 2020. Characterization and antibiotic resistance pattern of diffusely adherent Escherichia coli (DAEC), isolated from paediatric diarrhoea in Shiraz, southern Iran. *New Microbes and New Infections* DOI: 10.1016/j.nmni.2020.100780.
- Kaper JB, Nataro JP, Mobley HLT. 2004. Pathogenic Escherichia coli. *Nature Reviews Microbiology* **2**:123-140.

- Kim JH, Oh SW. 2021. Pretreatment methods for nucleic acid-based rapid detection of pathogens in food: A review. *Food Control* DOI: 10.1016/j.foodcont.2020.107575.
- Kopper G, Mirecki S, Kljujev IS, Raicevic VB, Lalevic BT, Jovicic-Petrovic J, Stojanovski S, Blazekovic-Dimovska D. 2014. Hygiene in Primary Production. Pages 559-621 in Motarjemi Y, Lelieveld H, editors. *Food Safety Management*. Academic Press.
- Kyaw CM, De Araujo CR, Lima MR, Gondim EGS, Brígido MM, Giugliano LG. 2003. Evidence for the presence of a type III secretion system in diffusely adhering *Escherichia coli* (DAEC). *Infection, Genetics and Evolution* **3**:111-117.
- Lelieveld H. 2014. Site Selection, Site Layout, Building Design. Pages 661-672 in Motarjemi Y, Lelieveld H, editors. *Food Safety Management*. Academic Press.
- Lhomme S, Abravanel F, Peron J-M, Kamar N, Izopet J. 2021. Management of Hepatitis A and E Virus Infection. Pages 206-216 in Bamford DH, Zuckerman, editors. *Encyclopedia of Virology*. Academic Press.
- Maphosa F. 2019. Emerging Food Safety Risks. Pages 690-698 in Melton L, Shahidi F, Varelis P, editors. *Encyclopedia of Food Chemistry*. Elsevier.
- Marejková M, Roháčová H, Reisingerová M, Petráš P. 2011. Státní zdravotní ústav v Praze. Available from http://www.szu.cz/uploads/documents/CeM/NRLs/ecoli/publikace/Aktualita_Z_CEM_5_2011.pdf (accessed March 2021).
- Marsicano E, Jani B, Narayanan M, Westrich D. 2020. *Yersinia enterocolitica*. Pages 746-749 in Kuipers EJ, editor. *Encyclopedia of Gastroenterology*. Academic Press.
- Masoodi KZ, Lone SM, Rasool RS. 2021. ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay). Pages 127-131 in Masoodi KZ, Lone SM, Rasool RS, editors. *Advanced Methods in Molecular Biology and Biotechnology*. Academic Press.
- Mattison K. 2011. Norovirus as a Foodborne Disease Hazard. *Advances in Food and Nutrition Research* **62**:1-39.
- Miranda RC, Schaffner DW. 2019. Virus risk in the food supply chain. *Current Opinion in Food Science* **30**:43-48.
- Mirhoseini A, Amani J, Nazarian S. 2018. Review on pathogenicity mechanism of enterotoxigenic *Escherichia coli* and vaccines against it. *Microbial Pathogenesis* **117**:162-169.
- Montville TJ, Matthews KR. 2008. *Food Microbiology An Introduction*. ASM Press, Washington, DC.
- Motarjemi Y. 2014. Hazard Analysis and Critical Control Point System (HACCP). Pages 845-872 in Motarjemi Y, Lelieveld H, editors. *Food Safety Management*. Academic Press.
- Motarjemi Y. 2014. Management of Chemical Contaminants. Pages 919-935 in Motarjemi Y, Lelieveld H, editors. *Food Safety Management*. Academic Press.

- Pádua I, Moreira A, Moreira P, Melo de Vasconcelos F, Barros R. 2019. Impact of the regulation (EU) 1169/2011: Allergen-related recalls in the rapid alert system for food and feed (RASFF) portal. *Food Control* **98**:389-398.
- Pahalagedara ASNW, Flint S, Palmer J, Brightwell G, Gupta TB. 2020. Antimicrobial production by strictly anaerobic *Clostridium* spp. *International Journal of Antimicrobial Agents* DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2020.105910.
- Pasqua M, Michelacci V, Di Martino ML, Tozzoli R, Grossi M, Colonna B, Morabito S, Prosseda G. 2017. The Intriguing Evolutionary Journey of Enteroinvasive *E. coli* (EIEC) toward Pathogenicity. *Frontiers in Microbiology* DOI: 10.3389/fmicb.2017.02390.
- Ramos-Peralonso MJ. 2014. European Food Safety Authority (EFSA). Pages 554-556 in Wexler P, editor. *Encyclopedia of Toxicology*. Academic Press.
- Roller S. 2012. *Essential Microbiology and Hygiene for Food Professionals*. Taylor & Francis Ltd, London.
- Ryther R. 2014. Development of a Comprehensive Cleaning and Sanitizing Program for Food Production Facilities. Pages 741-768 in Motarjemi Y, Lelieveld H, editors. *Food Safety Management*. Academic Press.
- Saraka D et al. 2017. *Yersinia enterocolitica*, a Neglected Cause of Human Enteric Infections in Côte d'Ivoire. *PLOS Neglected Tropical Diseases* DOI: 10.1371/journal.pntd.0005216.
- Self JL et al. 2016. Notes from the Field: Outbreak of Listeriosis Associated with Consumption of Packaged Salad — United States and Canada, 2015–2016. *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report* **65**:879-881.
- Self JL et al. 2019. Multistate Outbreak of Listeriosis Associated with Packaged Leafy Green Salads, United States and Canada, 2015–2016. *Emerging Infectious Diseases* **25**:1461-1468.
- Sher AA, Ashraf MA, Mustafa BE, Raza MM. 2021. Epidemiological trends of foodborne *Campylobacter* outbreaks in the United States of America, 1998–2016. *Food Microbiology* DOI: 10.1016/j.fm.2021.103751.
- Silva AJ, Benitez JA, Baker S. 2016. *Vibrio cholerae* Biofilms and Cholera Pathogenesis. *PLOS Neglected Tropical Diseases* DOI: 10.1371/journal.pntd.0004330.
- Spáčil M. 2011. Státní zemědělská a potravinářská inspekce. Available from <https://www.szpi.gov.cz/docDetail.aspx?docid=1031554&nid=11845&hl=e.coli> (accessed March 2021).
- Stankovic I. 2016. *Codex Alimentarius*. Pages 191-196 in Caballero B, Finglas PM, Toldrá F, editors. *Encyclopedia of Food and Health*. Academic Press.
- Todd ECD. 2014. Personal Hygiene and Health. Pages 769-798 in Motarjemi Y, Lelieveld H, editors. *Food Safety Management*. Academic Press.
- Trabulsi LR, Keller R, Gomes TAT. 2002. Typical and Atypical Enteropathogenic *Escherichia coli*. *Emerging Infectious Diseases* **8**:508-513.

WHO. 2020. World Health Organization. Available from <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/food-safety> (accessed April 2021).

Wohlgemuth S, Kämpfer P. 2014. BACTERIA | Bacterial Endospores. Pages 160-168 in Batt CA, Tortorello ML, editors. Encyclopedia of Food Microbiology. Academic Press.

Yang SC, Hung CF, Aljuffali IA, Fang JY. 2015. The roles of the virulence factor IpaB in *Shigella* spp. in the escape from immune cells and invasion of epithelial cells. *Microbiological Research* **181**:43-51.

Zhao X, Lin C-W, Wang J, Oh DH. 2014. Advances in Rapid Detection Methods for Foodborne Pathogens. *Journal of Microbiology and Biotechnology* **24**:297-312.