

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky



**Česká zemědělská
univerzita v Praze**

**Toxigenní *Staphylococcus aureus* v potravinách
Bakalářská práce**

**Anna Tlapáková
Kvalita produkce**

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

© 2020 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Toxigenní *Staphylococcus aureus* v potravinách" 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 neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 16.07. 2020

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala prof. Ing. Evě Vlkové, Ph.D. za odborné vedení, trpělivost, ochotu poradit a pomoci, a za rady, které mi velmi pomohly při psaní této bakalářské práce. Dále bych chtěla poděkovat celé mé rodině a příteli za podporu a oporu, které se mi dostávalo a dostává nejen při psaní mé bakalářské práce, ale i v průběhu celého studia a v životě.

Toxigenní *Staphylococcus aureus* v potravinách

Souhrn

Tato bakalářská práce se zabývá výskytem bakterie *Staphylococcus aureus* v potravinách. *Staphylococcus aureus* (v češtině někdy nazýván zlatý stafylokok) je grampozitivní kokovitá buňka s průměrem 0,8 až 1,2 μm , která vykazuje rezistenci na různé typy antibiotik a může být původcem řady onemocnění. V mé práci se věnuji především stafylokokové enterotoxikóze, která vzniká pozřením potravy kontaminované stafylokokovými enterotoxiny.

Potraviny samy o sobě jsou velmi náchylné na bakteriální kontaminaci. Některé bakterie mohou být v potravinách užitečné, jiné naopak. Pokud mají tendenci poškozovat lidské zdraví, nazýváme je patogeny. Jeden z těchto patogenů velmi často přítomný v potravinách je právě i *S. aureus*, který se běžně vyskytuje v různých typech prostředí. Co se týče člověka, tak až u jedné třetiny osob může být přítomen na kůži, či sliznicích nosu a úst bez jakékoliv klinické symptomatologie, což může způsobovat jisté problémy, které zahrnují například určitá onemocnění, která mohou být vyvolána *S. aureus*, například při snížení přirozené odolnosti organismu.

Dalším problémem spojeným s přítomností *S. aureus* na pokožce či sliznicích může být pouze nosičství této bakterie, díky čemuž mohou vznikat rezervoáry a *S. aureus* se může potenciálně šířit dále. Tento problém je nejvíce řešen právě v potravinářských provozech, kdy personál osídlený těmito stafylokoky může kontaminovat potraviny při kontaktu s ní. Vyjma nejsou ani jiné cesty kontaminace, například z okolního prostředí, nebo při nedodržení hygienických předpisů na výrobních linkách. Významným problémem v potravinářských provozech může být i přítomnost biofilmů například v trubkách, nebo na různých površích, které mohou potraviny kontaminovat též. V neposlední řadě může kontaminace pocházet i ze zvířat, buď z kožního povrchu, nebo například z vemene s mastitidou.

Pokud ke kontaminaci dojde, může se *S. aureus* v potravine, nebo v hotových pokrmech pomnožit a při vhodných podmínkách (například při nedodržení skladovacích podmínek) může začít produkovat stafylokokové enterotoxiny, které jsou jeho metabolitem. Tyto toxiny mohou při pozření určité dávky vyvolat již zmíněnou stafylokokovou enterotixokózu, což je alimentární onemocnění s rychlým nástupem i průběhem, jehož součástí je například bolest hlavy, zvracení a někdy i průjem. Toto onemocnění je řazeno k jedněm z nejčastějších onemocnění z potravin na světě. Jeho případy byly hlášeny po celém světě, v dnešní době se to týká nejvíce rozvojových zemí, kde je nižší úroveň hygieny. Nejrizikovější potraviny pro pomnožení *S. aureus* a vznik tohoto onemocnění jsou potraviny živočišného původu.

Prevence tohoto onemocnění spočívá především v dodržování hygieny ve výrobních procesech i domácnostech, správné výrobní praxi, edukaci obyvatelstva o stafylokokové enterotoxikóze a také ve správném stanovení kritických bodů (HACCP).

Klíčová slova: *Staphylococcus aureus*, potraviny, biofilm, MRSA, stafylokoková enterotoxikóza, patogenita

The Toxicogenic *Staphylococcus aureus* in Foodstuffs

Summary

This Bachelor's Thesis deals with the occurrence of the bacteria *Staphylococcus aureus* in foodstuffs. *Staphylococcus aureus* (commonly known as MRSA) is a Gram-positive coccoid cell with its diameter ranging from 0,8 to 1,2 μm , which displays a resistance against various types of antibiotics, and can be the cause of several different diseases. In my thesis, I am dealing in particular with Staphylococcal Enterotoxigenesis, which arises with the ingestion of a foodstuff contaminated with Staphylococcal Enterotoxigenesis.

Foodstuffs themselves are very prone to bacterial contamination. Some bacteria in foodstuffs can be beneficial, and other the opposite. Those that are prone to affect human health in a negative way, we call pathogens. One of those pathogens that is commonly present in foodstuffs is also *S. aureus*, that is usually present in different kinds of environments. When it comes to humans, with up to one third of population the pathogen can be found on skin, or nasal and oral mucosa with no clinical symptomatology, which can cause certain issues which include for instance certain diseases that can be caused by *S. aureus* for example with the decline of the immunity of organism.

Another issue connected to the presence of *S. aureus* on the skin or mucosa can be the mere carrying of the bacteria, which can lead to creation of reservoirs and *S. aureus* can potentially spread further. This issue is mainly being dealt with in food-processing institutions, where the staff contaminated by these staphylococci can then contaminate the foodstuff when in direct contact with it. Different ways of contamination are also possible, for instance the contamination from the surrounding environment, or the contamination caused by non-observance of the hygiene regulations at the production lines. A very prominent issue in the food-processing institutions can also be the presence of biofilms present for instance in the piping systems, or on different surfaces which can contaminate the foodstuff, too. Last but not least, the contamination can also originate from animals, either from skin, or, for instance from an udder with mastitis.

If the contamination occurs, *S. aureus* can multiply in foodstuffs or in produced meals, and in ideal conditions (of instance by non-observance of) it can also start producing the Staphylococcal Enterotoxigenesis which are its metabolite. These toxins can, with the ingestion of a certain amount, cause the aforementioned Staphylococcal Enterotoxigenesis, which is a foodborne illness with rapid onset and course, which may include for example headache, vomiting and sometimes even diarrhea. This illness is one of the most common foodborne illnesses in the World, and today it is mostly prevalent in the developing countries, where the level of hygiene is generally lower. The foodstuffs that are the highest in risk of multiplication of the *S. aureus* bacteria, and development of this illness, are generally those of animal origin. The prevention of this illness entails mostly the observance of the hygiene regulations at the food-processing institutions as well as in households, the correct producing practices, the education of the population about the Staphylococcal Enterotoxigenesis, and also in the correct establishment of the Hazard analysis and critical control points (HACCP).

Keywords: *Staphylococcus aureus*, foodstuffs, biofilm, MRSA, Staphylococcal Enterotoxigenic toxin, pathogenicity

Obsah

1	Úvod.....	8
2	Cíl práce.....	9
3	Literární rešerše	10
3.1	Rod <i>Staphylococcus</i>	10
3.2	Historie výzkumu stafylokoků	11
3.3	<i>Staphylococcus aureus</i>	11
3.4	Rezistentní kmeny	13
3.5	Stafylokoky a biofilm	14
3.6	Virulentní faktory stafylokoků.....	18
3.6.1	Stafylokokové enterotoxiny.....	20
3.7	Stafylokoková enterotoxikóza.....	21
3.7.1	Rizikové potraviny.....	22
3.7.2	Cesty kontaminace.....	23
3.8	Mikrobiologické hodnoty pro <i>Staphylococcus aureus</i> v potravinách	24
3.9	Vybrané rizikové potraviny a přítomnost <i>Staphylococcus aureus</i>	25
3.9.1	Ovoce, ovocné šťávy a zelenina	25
3.9.2	Maso a masné produkty	26
3.9.3	Mléko a mléčné výrobky	27
3.10	Prevence.....	28
4	Závěr	30
5	Literatura	31
6	Samostatné přílohy	I
6.1	Příloha I: Příklady celosvětových otrav z potravin kontaminovaných stafylokokovými enterotoxiny (upraveno dle Le Loir & Hennekinne 2014; Paparella et al. 2018).	I
6.2	Příloha II: Nařízení komise (ES) č. 2073/2005 ze dne 15. listopadu 2005 o mikrobiologických kritériích pro potraviny (upraveno dle (ES) č. 2073/2005).....	III

1 Úvod

Mikroorganismy se nachází téměř v každém prostředí na zemi, potraviny nevyjímaje. Každá potravina (krom těch, které vyžadují obchodní sterilitu) obsahuje četné množství mikroorganismů, které interagují jak mezi sebou, tak i s potravinou. Některé mikroorganismy mohou být v potravíně užitečné, například produkcí žádoucích metabolitů, které dávají potravíně charakteristické vlastnosti, nebo jí mohou konzervovat. Jiné mikroorganismy mohou potravinu znehodnocovat a mít nežádoucí vliv na lidské zdraví. Tyto mikroorganismy jsou nazývány alimentární patogeny. Jedním z těchto patogenů je i *Staphylococcus aureus*, jehož přítomností v potravinách se zabývá tato práce. *Staphylococcus aureus* je mimo jiné schopen produkce škály enterotoxinů, které jsou při určitém množství v potravíně schopné vyvolat onemocnění s názvem stafylokoková enterotoxikóza.

2 Cíl práce

Staphylococcus aureus je bakterie kontaminující potraviny, podílí se na jejich kažení a je také poměrně častou příčinou alimentárních onemocnění, které způsobují její toxiny. Zdrojem nákaz jsou zejména potraviny živočišného původu, ale i pracovníci potravinářských provozů. Cílem bakalářské práce je vytvořit ucelený literární přehled o výskytu a faktorech ovlivňujících produkci toxinů *S. aureus* v potravinách.

3 Literární rešerše

3.1 Rod *Staphylococcus*

Taxonomické zařazení rodu *Staphylococcus* je následující: doména Bacteria, kmen Proteobacteria, třída Bacilli, řád Bacillales, čeleď *Staphylococcaceae*, rod *Staphylococcus*.

V současnosti zahrnuje rod *Staphylococcus* 49 různých druhů, 9 druhů má dva poddruhy, jeden tři a jeden čtyři poddruhy. Stafylokoky jsou kulovité buňky o velikosti 0,5 – 1,5 μm . Buňky bakterií mají velký specifický povrch ve vztahu ke svému objemu, čímž je umožněna intenzivní kvantitativní a kvalitativní výměna látek, podmiňující jejich rychlý růst a rozmnožování. Vyskytují se samostatně, ale mohou být i v párech, tetradách, nebo v krátkých řetězcích, které obsahují tři až čtyři buňky. Charakteristicky vytváří nepravidelné hroznovité shluky, sestávající se z více řad buněk (Görner & Valík 2004; Schleifer & Bell 2009; Švec et al. 2015).

Dle Gramova barvení jsou stafylokoky pozitivní, nevytváří spory, buňky jsou nepohyblivé. Obvykle buňky nemají kapsulu, nebo jen velmi omezenou. Jsou fakultativně anaerobní, to znamená, že rostou jak v nepřítomnosti, tak v přítomnosti vzdušného kyslíku. Bez vzdušného kyslíku mohou svůj metabolismus přeměnit na fermentaci. Některé druhy jsou hlavně respirační, a některé naopak hlavně fermentační. Pro většinu druhů je hlavním produktem fermentace glukózy kyselina mléčná. Za přítomnosti kyslíku jsou hlavními produkty kyselina octová a oxid uhličitý. S výjimkou *S. aureus* subsp. *anaerobius* a *S. saccharolyticus* rostou rychleji za anaerobních podmínek (Görner & Valík 2004; Schleifer & Bell 2009).

Obvykle jsou kataláza-pozitivní a oxidáza-negativní. Většina stafylokoků roste při 10% NaCl (Schleifer & Bell 2009), ale dle Sutherland et al. (1994) mohou růst při koncentracích 0,5 – 13,5 % NaCl, což znamená, že jsou halotolerantní. Jejich optimální teplota je 37 °C, ale rostou i při 10 °C, nebo 45 °C. Stafylokoky jsou značně odolné proti desinfekčním přípravkům, nášejí zářev na 60 °C po dobu 30 minut a dobře se rozmnožují, dokonce i v potravinách s vysokým obsahem cukrů nebo soli. Nesnáší kyselé prostředí, hlavně to, které je tvořeno C1 až C4 nižšími mastnými kyselinami (Görner & Valík 2004). Dle Sutherland et al. (1994) je jejich rozmezí pH od 4,0 až do 7,0. Výživové nároky těchto bakterií se různí, většina druhů vyžaduje organický zdroj dusíku, což mohou být nejčastěji aminokyseliny, jiné druhy mohou využívat síran amonný. Některými druhy je při anaerobním růstu vyžadován uracil jako růstový faktor. Stafylokoky využívají jako zdroj uhlíku a energie řadu sacharidů. Dobře rostou na agarových médiích, některé tvoří žlutavý až oranžový pigment (zejména za přítomnosti chloridu sodného (Görner & Valík 2004; Schleifer & Bell 2009).

Koaguláza-pozitivní *S. aureus* je potenciálně vážně patogenní, ale z koaguláza-pozitivních stafylokoků je jediný klinicky významný. Ostatní stafylokoky náležící do této skupiny jsou většinou patogenní pouze pro zvířata. Koaguláza negativní stafylokoky se vyskytují převážně na kůži a sliznicích, tak jako i *S. aureus*. K infekcím způsobeným touto skupinou stafylokoků dochází především po implantaci zdravotnických pomůcek díky jejich schopnosti tvorby biofilmu. Hlavními patogeny této skupiny jsou *S. epidermidis* a *S.*

haemolyticus, kteří jsou oportunními lidskými patogeny. Jejich patogenita spočívá v již zmíněně tvorbě biofilmu na zdravotnických potřebách, což ztěžuje jejich eradikaci. Stafylokoková koaguláza, která od sebe tyto skupiny odděluje, je sekreční protein, který s modifikovaným protrombinem vytváří aktivní komplex přeměňující rozpustný fibrinogen na nerozpustný fibrin v krevní plazmě, což může přispívat k ohraničení zánětlivé reakce vytvořením lemu z fibrinu kolem léze, která je poté přeměněna na stafylokokový absces. Dle schopnosti tvorby sekrečního proteinu mohou být stafylokoky rozděleny na koaguláza-pozitivní a koaguláza-negativní. Schopnost koagulace krve je prvním krokem při diagnostice těchto mikroorganismů, protože sekrece tohoto proteinu je jednou z klíčových virulentních strategií, které stafylokokům pomáhají překonat ochranou bariéru ze strany hostitele (Vuong & Otto 2002; Votava 2003; Pantůček 2007; Fredheim et al. 2009; Schleifer & Bell 2009; Auwaerter & Bartlett 2016; Bonar et al 2018).

Stafylokoky kolonizují především kůži a sliznice, dále jsou hlavně v hnisavých ranách či požívatinách. Dále byly stafylokoky izolovány z veliké škály různých typů prostředí jako jsou půda, prach, vzduch, plážový písek, sladká i mořská voda, povrch rostlin a rostlinné produkty, krmiva, maso, mléčné výrobky, nádobí, nábytek, oděvy, a dále též na kobercích, povlečení, nebo dokonce na papírových peněžích (Görner & Valík 2004; Schleifer & Bell 2009).

3.2 Historie výzkumu stafylokoků

Jako jedni z prvních mikrobiologů, kteří si uvědomili souvislost mezi kokovitými bakteriemi a vznikem hnisu byli Louis Pasteur (francouzský přírodovědec) a Alexander Ogston (skotský chirurg). Jako letopočet tohoto objevu je obvykle uváděn rok 1880. A. Ogston byl prvním, kdo rozlišoval dva typy pyogenních koků – *Streptococcus*, s buňkami uspořádanými do řetízků, a *Staphylococcus*, s buňkami v hroznovitých shlucích. To vše však bylo pouhým popisem, dokud německý bakteriolog F. Rosenbach nepoužil termín v taxonomickém smyslu (1884), a k tomu byl poskytnut i formální popis rodu *Staphylococcus* s druhem *Staphylococcus aureus*. Na začátku 19. století patřily všechny bakterie do čeledi *Coccaceae*, ale v roce 1886 rozlišil Flüge na základě hydrolýzy želatiny rody *Staphylococcus* a *Micrococcus*. Později oba rody byly zařazeny do čeledi *Micrococcaceae*, kde zůstaly až do nedávna. Na počátku 60. let 20. století byly Baird-Parkerem provedeny rozsáhlé studie mikrokoků a stafylokoků, kde byly tyto bakterie klasifikovány do skupin na základě snadno stanovitelné morfologie, fyziologie a biochemie. O několik let později na základě taxonomických studií byly mikrokoky přeřazeny do aktinomycetové linie (Pantůček 2007).

3.3 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus (v češtině někdy nazýván zlatý stafylokok) je kokovitá buňka s průměrem 0,8 až 1,2 μm . Roste v intervalu 6,5 – 46 °C, s tím, že její optimum je 35–37 °C. Dobře roste v médiu obsahujícím 10 % NaCl, špatně v médiu s 15 % NaCl. Pozitivní reakce má na: alkalickou fosfatázu, katalázu, koagulázu, tepelně stabilní nukleázu, hyaluronidázu a hemolýzu. Stafylokoky nemají aktivitu oxidázy, beta-galaktosidázy a beta-glukuronidázy. Při

anaerobních podmínkách produkuje kyselinu z fruktózy, sacharózy a maltózy. Typ peptidoglykanu v buněčné stěně je L-Lys–Gly5–6. *Staphylococcus aureus* má dva poddruhy. Prvním je *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*, který má vystouplé, průsvitné, lesklé, hladce vyhlízející, kruhové ucelené kolonie, které jsou obvykle větší než 5 mm. Barva pigmentu je od šedé po žlutou až oranžovou barvu. Je fakultativně anaerobní, a za těchto podmínek i nejlépe roste. Druhým poddruhem je *Staphylococcus aureus* subsp. *anaerobius*, který se od *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* liší tím, že může růst i při mikroaerobních podmínkách a subkultivací u něj lze dosáhnout slabého aerobního růstu. Kolonie na krevním agaru jsou bílé, neprůhledné, lesklé, hladké a konvexní. Průměr kolonie je 1-3 mm (Rosenbach 1884; de la Fuente et al. 1985; Görner & Valík 2004).

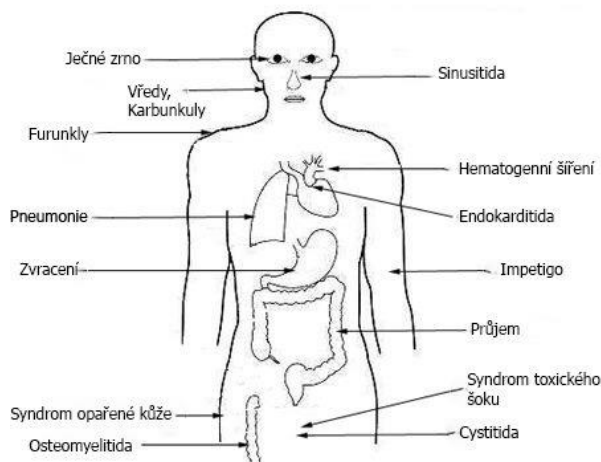
Staphylococcus aureus je řazen ke známým původcům infekcí zvířat i člověka. Až u jedné třetiny osob však může být i součástí mikrobioty a kolonizovat nejčastěji slizce dutiny nosní či ústní, kožní povrch, pokožku hlavy, vlasy, či být přítomen ve stolici bez jakékoliv klinické symptomatologie. Stačí však i drobná porucha přirozené odolnosti a stává se patogenem. Nosič osídlený těmito stafylokoky je vystaven vyššímu riziku infekce a také představuje rezervoár *S. aureus*, díky němuž se bakterie může potenciálně šířit dále. Je odhadováno, že 25–35 % zdravých osob je tímto stafylokokem osídleno, což znamená, že v současné době je na světě až dvě miliardy nosičů (Votava 2003; Görner & Valík 2004; Štork 2008; Chambers & DeLeo 2009; Stefani et al. 2012).

Dále je *Staphylococcus aureus* též častým původcem hnisavých vředů, pooperačních infekcí v ranách, kde následně pomocí krevního oběhu může vyvolat bakteriemií či sepsi, nebo napadnout určitý orgán. Pro člověka je negativní zároveň fakt, že u zmíněných hnisavých zánětů kůže může dojít k chronicitě nebo recidivám. Další nemoci způsobené tímto druhem mohou být například pneumonie, osteomyelitida, myokarditida, akutní endokarditida, perikarditida, enterokolitida, mastitida, cerebritida, meningitida, bakteriémie, nemoci urogenitálního traktu, centrální nervové soustavy nebo nemoci různých nitrobřišních orgánů. V neposlední řadě může být *S. aureus* původcem alimentární gastroenteritidy po pozření potravin obsahujících stafylokokové enterotoxiny (Votava 2003; Görner & Valík 2004; Štork 2008; Schleifer & Bell 2009).

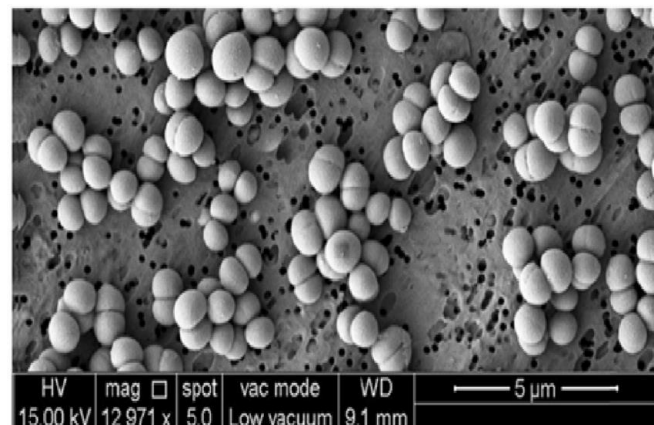
K závažným onemocněním se řadí i dva stafylokokové syndromy: syndrom toxického šoku a syndrom opařené kůže. Stafylokokový syndrom toxického šoku je způsobován toxinem syndromu toxického šoku TSST-1, a může se projevit ve dvou formách. První z nich se vyskytuje u žen v souvislosti s menstruací, kdy je *S. aureus* přítomný ve vaginální mikroflóře, a zvláště ideální podmínky pro propuknutí syndromu jsou při používání vaginálních tampónů. Druhou formou jsou případy, kdy dochází ke komplikacím jakéhokoliv jiného onemocnění způsobeného stafylokoky. Tato choroba se projevuje vysokou horečkou, vyrážkou, hypotenzí, nervovými poruchami, multiorgánovým selháním a šokem, kde následuje za 1 až 2 týdny po začátku nemoci olupování kůže. Onemocnění je ve 3-5 % smrtelné. Oproti tomu syndrom opařené kůže je vyvolán epidermolytickými toxiny, které způsobují odloučení vrchní vrstvy pokožky, čímž vznikají epidermální trhliny, které vyplňuje tkáňová tekutina, dochází k tvorbě puchýřů a posléze se začnou odlupovat povrchové vrstvy pokožky. Nejvíce náchylnou

skupinou jsou novorozenci v porodnicích, ale onemocnění mívá obvykle pouze mírnou formu projevující se puchýři (Pantůček 2007).

Dle Pantosti (2012) je *S. aureus* nejenom typickým lidským patogenem, ale může kolonizovat i zvířata. Nedávné zjištění ukázalo, že i zvířata, především hospodářská, jsou velkým rezervoárem kmenů *S. aureus*, což vyvolalo jisté obavy. Zatímco tyto kmeny získané z domácích zvířat jsou obecně podobné lidským, kmeny izolované z hospodářských zvířat vykazují specifické vlastnosti přizpůsobené zvířatům. Velmi časté nemoci u zvířat způsobené *Staphylococcus aureus* jsou záněty typu mastitida, synovitida, artritida, endometritida, nebo hnisavé záněty kůže. Zmíněná mastitida způsobená právě stafylokoky v klinické nebo subklinické formě může mít značné negativní důsledky v mléčném průmyslu. Dále je *Staphylococcus aureus* subsp. *anaerobius* například etiologickým agens abscesů u ovcí, podobně jako u kaseózní lymfadenitidy (de la Fuente et al. 1985). Na obrázku číslo 1 jsou znázorněny riziková místa pro vstup *S. aureus* do organismu a vybraná onemocnění, která tato bakterie způsobuje. Na obrázku č. 2 je fotografie *S. aureus* pořízená elektronovým mikroskopem.



Obrázek 1: Riziková místa pro vstup *S. aureus* do organismu a vybraná onemocnění, která může tato bakterie způsobit (upraveno dle Todor 2008).



Obrázek 2: *Staphylococcus aureus* – elektronový mikroskop (Al-Dujaily et al. 2019).

3.4 Rezistentní kmeny

Bakteriální rezistence na antimikrobiální léky je stále rostoucím problémem s ekonomickými důsledky. Rezistence může být přirozená, nebo ji k jedné, popřípadě několika třídám antimikrobiálních látek může bakterie získat. Rezistence vzniká mutacemi, nebo přenesením genu z jednoho mikroorganismu na druhý mikroorganismus pomocí konjugace, transformace nebo transdukce. Po získání genů rezistence může bakterie použít několik biochemických pochodů k tvorbě rezistence samotné. Tyto pochody jsou: enzymatická inaktivace antibiotika (u patogenních bakterií velmi častá), zábrana přístupu antibiotika k cílovému místu (bakterie může vytvářet různé bariéry tvořící zábranu), aktivní transport antibiotika z buňky, náhrada zablokované metabolické dráhy, nebo vytvoření cílových míst

v nadbytku (zvýšená produkce určitého enzymu nebo jiné cílové molekuly). Stejně pochody byly pozorovány i u *Staphylococcus aureus*, což ve zkratce znamená, že u něj byly pozorovány běžné bakteriální mechanismy k tvorbě rezistence na léčiva, což zahrnuje mutaci v chromozomálních genech, následnou selekci rezistentních kmenů vedoucí k získání rezistentních genů (Todar 2008; Giedratienė et al. 2011; Beneš 2018).

Samotné tvorbě rezistence napomáhá už pouhé podávání antibiotik, nezdá se, že jsou stafylokoky přítomny v místě infekce i po ukončení antibiotické léčby, jako jedny z mála mikrobů. Kmeny vykazující rezistenci vůči antibiotikům jsou od 80. let 20. století řešeny jako závažný klinický epidemiologický problém, od té doby se začínají šířit do dalších prostředí (Scheifler a Bell 2009; Pazderková et al. 2012).

S. aureus je často rezistentní k methicilinu, díky čemuž je nazýván MRSA – Methicilin-rezistentní *Staphylococcus aureus*. Výskyt MRSA se stále zvyšuje a představuje vysoké možné epidemiologické riziko pro pacienty. *S. aureus* je velmi dobrým příkladem adaptivního vývoje bakterií v antibiotické éře. Tyto bakterie mají jedinečnou schopnost rychle reagovat na každé nové antibiotikum, počínaje penicilinem, methicilinem až po jedny z nejnovějších antibiotik – linezolid a daptomycin. Paradoxem je, že penicilin byl objeven právě podle svého účinku na zlatého stafylokoka. Postupem času se objevují kmeny rezistentní například na tetracykliny nebo chloramfenikol. MRSA kmeny jsou též rezistentní vůči příbuzným beta-laktamovým antibiotikům, jako například oxacilin, nebo amoxicilin. Je zde několik kmenů, které jsou rezistentní na všechna klinicky užitečná antibiotika s výjimkou vankomycinu, ale poslední dobou jsou stále více hlášeny kmeny rezistentní i na vankomycin (Votava 2003; Žišková a Herecová 2005; Pantosti et al. 2007; Todar 2008).

Kromě toho *S. aureus* vykazuje rezistenci vůči antiseptikům a desinfekčním přípravkům, jako mohou být například kvartérní amoniové sloučeniny. Vzhledem k omezeným možnostem terapie má velký význam prevence šíření, a především profylaxe stafylokokových nákaz. Nejdůležitější je zamezit šíření rizikových kmenů a vzniku nových MRSA. Vzhledem ke značné odolnosti stafylokoků má velmi důležitý význam důsledné dodržování hygieny a dekontaminace prostředí (Dietze et al. 2001; Todar 2008).

Tato problematika je v celkovém důsledku velmi aktuální. Je vhodné zmínit nutnost racionálního použití antimikrobních přípravků, s cílem efektivního terapeutického zásahu a minimalizace nežádoucích účinků, vzhledem k pacientovi, tak i v širším měřítku pro oddálení vzniku a šíření bakteriální rezistence. V souvislosti s obtížnou terapií infekcí způsobenými MRSA, se stávají čím dál více důležitější profylaktická opatření, jako jsou edukace personálu a dodržování hygienických zásad, což je důležité pro udržení, popřípadě zlepšení stávající situace, a oddálení doby, kdy již nebude, čím infekci léčit, kvůli nevládnutí dalšího šíření multirezistence mezi bakteriálními patogeny (Lovečková 2013).

3.5 Stafylokoky a biofilm

Biofilm je společenstvo mikroorganismů, vázané k určitému povrchu a obklopené polysacharidy, které buňky v biofilmu vylučují. Na začátku dojde k reverzibilnímu připoutání buněk na povrch, a toto spojení se stává nevratným. Poté se struktura biofilmu započne

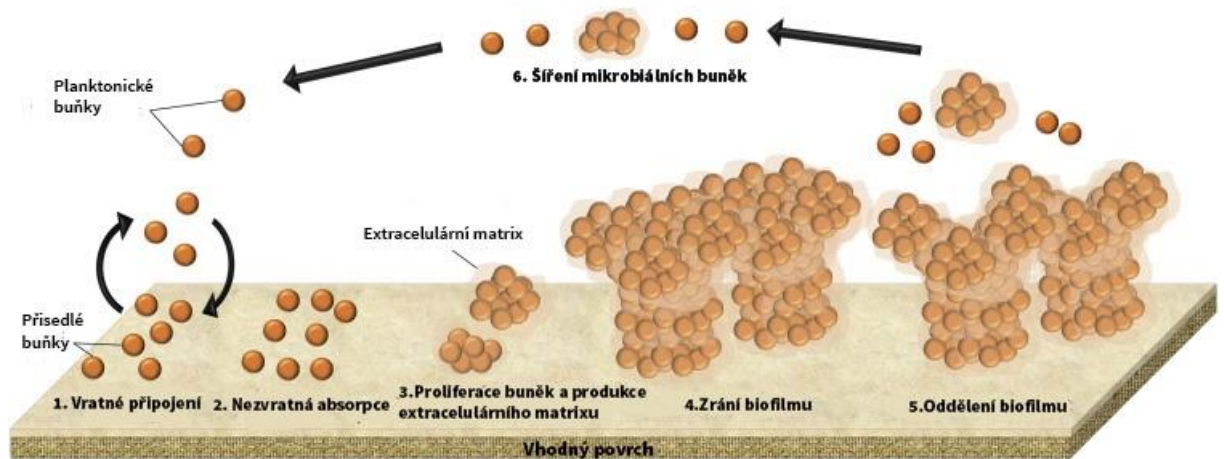
rozvíjet vytvářením mikrokolonií, díky čemuž vytvoří biofilm zralou formu, ze které se mohou připojené buňky znovu rozptýlit a vázat na jiné povrchy (Schindler 2001; Vitale et al. 2015).

Biofilm tedy vzniká přichycením mikrobiálních buněk pomocí jejich aktivních molekul – adhezínů – na pevný povrch s dostatečným množstvím živin. Podmínkou pro vznik biofilmu je tedy již zmíněný vhodný povrch, přítomnost vody a živin. Tvorba biofilmu je ovlivněna několika faktory, jako jsou druh či kmen bakterií (například dle studie Folsom & Frank (2006) bylo zjištěno, že *S. aureus* dokáže vyprodukovat více biofilmu než *Salmonella typhimurium*, *E. coli*, či *Bacillus cereus*), druh kontaktní plochy a faktory prostředí, což zde zastupuje pH, dostupné živiny, teplota a přítomnost antimikrobiálních sloučenin (Julák 2001; Schindler 2001; Folsom & Frank 2006; Vitale et al. 2015).

Po přichycení změní bakterie svůj fenotyp a začnou produkovat velké množství polysacharidu, který má lepidivé schopnosti. Hmotnost polysacharidu může být až stokrát větší než hmotnost těl bakterií, které ho vyprodukovaly. Z této látky vzniká hlenová matrice, která drží buňky pohromadě a dělá biofilm viskózním a elastickým (Schindler 2001).

Tloušťka biofilmu je ovlivněna dostupností živin, a závisí též na tom, z kolika bakteriálních druhů, které jsou nerovnoměrně rozloženy do mikrokolonií, je biofilm tvořen (může být z jednoho či více druhů, což je běžnější). Jeho struktura není homogenní – skládá se z četných kanálků a dutin. Pro vzájemné soužití aerobních a anaerobních bakterií je v biofilmu důležitá koncentrace kyslíku, která kolísá od povrchu do hloubky vrstvy, ale v základní vrstvě je nulová. Též elektrický náboj má v různých vrstvách různé hodnoty, což napomáhá transportu živin. Živiny jsou transportovány z povrchu, kde je biofilm omýván kapalinou, která molekuly živin obsahuje. Funkce biofilmu je ochrana před nízkým pH, dehydratací, UV zářením, salinitou a zároveň je pro biofilm velmi charakteristická odolnost vůči antimikrobiálním látkám a desinfekčním prostředkům (Schindler 2001; Hall-Stoodley et al. 2004). Na obrázku 3 je znázorněn mechanismus tvorby biofilmu.

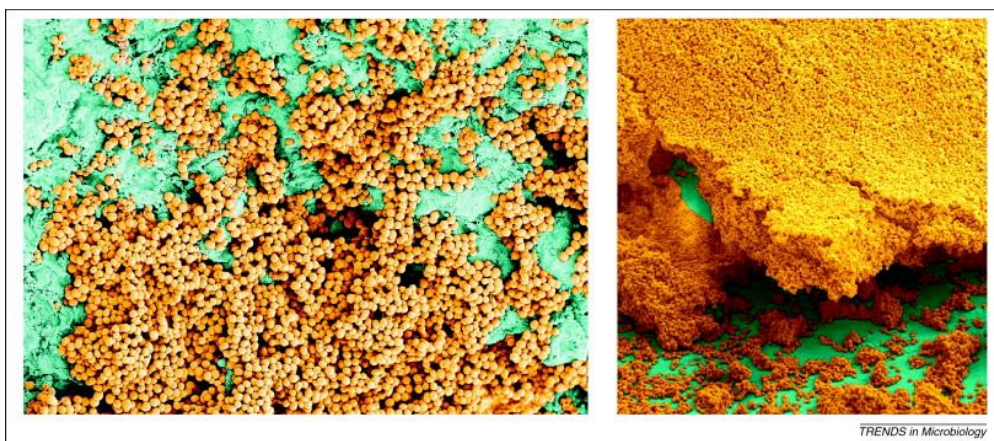
Pokud se biofilm vytvořil, obzvláště v prostředí potravinářských provozů, musí být účinně odstraněn. Existují tři možnosti odstraňování – fyzikální, chemická a biologická. Fyzikální metody zahrnují ultrazvuk, vysoké pulzní elektrické pole, nebo slaboproud v kombinaci s antibiotiky. Chemické metody mohou být desinfekční prostředky, povrchové aktivní látky, nebo detergenty obsahující chelatační činidla. Z biologických metod se používá hlavně aplikace bakteriocinu přímo na povrchy, které přicházejí do styku s potravinami. Nejběžnější je však manuální aplikace prostředku ve formě pěny nebo gelu, který obsahuje aktivní sloučeniny. Především na chemické a biologické metody existuje v potravinářském průmyslu řada omezení, v závislosti na jejich bezpečnosti, toxicitě a omyvatelnosti z různých zařízení a povrchů (Kumar & Anand 1998; Cleto et al. 2012; Paparella et al. 2018).



Obrázek 3: Mechanismus tvorby biofilmu (upraveno dle Vázquez – Sánchez & Rodríguez López 2018).

Konkrétně u stafylokoků je známo, že většina zástupců tohoto rodu má tendenci tvořit biofilm jak během různých fází zpracování potravin, tak v rozmanitých typech biotických a abiotických prostředí a na různých površích, což zde může zastupovat jak nemocniční prostředí (přilnavost na lékařské vybavení, či implantáty), tak celý potravinářský průmysl (Vitale et al. 2015; Miao et al. 2017).

Díky tomuto mechanismu vzniká rezervoár enterotoxigenních stafylokoků, které mohou v pozdějších fázích kontaminovat potraviny a jejich výrobky, nebo pracovní povrchy a nástroje. Biofilmy mohou být přítomny v rozvodech vody, klimatizacích, nebo průmyslových potrubích. Biofilm se obvykle vytváří v obtížně čistitelných místech, což může způsobovat problémy při výrobě potravin. Biofilmy zde mohou být tvořeny přímo ve výrobních zařízeních, protože právě potravinářské provozy jsou bohatými zdroji živin. Některé potravinářské provozy jsou k tvorbě biofilmů náchylnější – například mlékárenské, kde je desinfekce mnohem obtížnější, protože mléko je velmi bohaté na lipidy a proteiny, které se sráží na površích, v trubkách, kolem těsnění nebo v obtížně čistitelných místech (Mattila et al. 1990; Hall-Stoodley a Stoodley 2002; Stoodley et al. 2002; Doulgeraki et al. 2017). Na obrázku číslo 4 je fotografie biofilmu *S. aureus*. V tabulce číslo 1 jsou uvedeny příklady kontaminací potravin díky biofilmu včetně místa původu kontaminace, a počtů nakažených osob (pokud jsou data známa) s příznaky.



Obrázek 4: Obrázky biofilmů *S. aureus* na hostitelských površích (Boles & Horswill 2011).

Tabulka 1: Kontaminace přítomné v potravinářském průmyslu způsobené *S. aureus* v biofilmu (upraveno dle Miao et al. 2017).

<i>Původ kontaminace</i>	<i>Druhy bakterií izolované z biofilmu</i>	<i>Místo</i>	<i>Počty nakažených</i>	<i>Příznaky/důsledky</i>
Výrobní prostředí	<i>Staphylococcus</i>	Austrálie	492 (z toho 25 hospitalizovaných a 1 mrtvý)	Zvracení, průjem a křeče v břiše
Výrobní prostředí	<i>Staphylococcus</i>	Japonsko	329	Otrava stafylokokovými enterotoxiny
Továrna na zpracování mořských plodů	<i>S. aureus</i>	Brazílie	-	Otrava stafylokokovými enterotoxiny
Fermentované masné produkty	<i>Staphylococci</i>	Brazílie	-	Otrava enterotoxinem typu A
Produkty rybolovu	<i>S. aureus</i>	Evropa	26	Otrava stafylokokovými enterotoxiny
Mléčné cisterny	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Nový Zéland	6	Hořká chuť a rosolovatění UHT mléka během skladování
Mléčný průmysl	<i>S. aureus</i>	Spojené státy americké	458 (z toho 167 potvrzeno a 291 podezření)	Průjem, zvracení a křeče v břiše
Mléčný průmysl	<i>S. aureus</i>	Sicílie	102	Epidermolytický toxin, syndrom toxického šoku,

				otrava stafylokokovými enterotoxiny
Výrobní zařízení	<i>S. aureus</i>	-	-	Znečištění na polystyrénu, polypropylenu, nerezové oceli a skle

3.6 Virulentní faktory stafylokoků

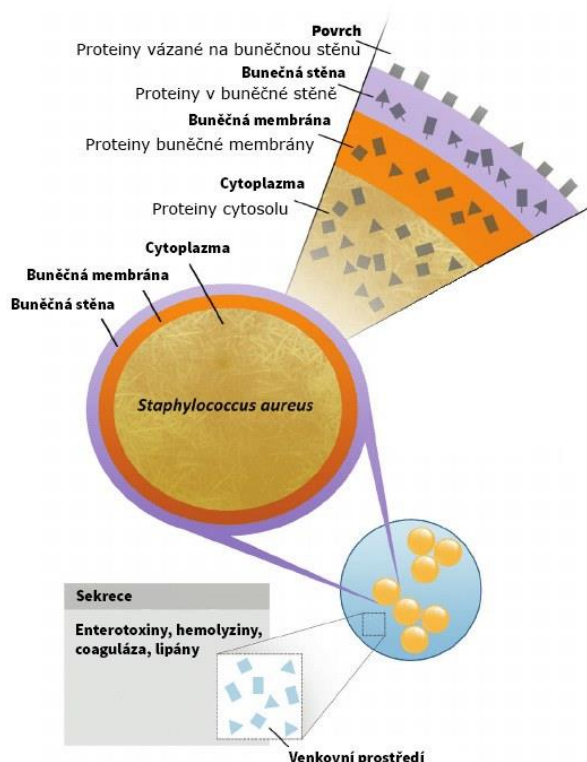
Staphylococcus aureus je schopen produkce velkého množství rozmanitých faktorů virulence, kam se řadí velké množství biologicky aktivních látek, které jsou buď v buněčné stěně (pouzdro, aglutinogeny, stafylokokový protein A, shlukovací faktor a adheziny, nebo jsou uvolňovány do prostředí (koaguláza, hyaluronidáza, hemolyziny, leukocidiny, exfoliativní toxiny, enterotoxiny, toxin 1 syndromu toxického šoku, inhibitor diferenciacie epidermálních buněk, inhibitor chemotaxe nebo inhibitor komplementu). Obecně řečeno faktory virulence pomáhají mikroorganismům osídlit hostitele, infikovat ho a vyhnout se obranným reakcím, které vyvolá jeho imunitní systém (Pantůček 2007; Goering et al. 2016).

Faktory virulence *S. aureus* se dají rozdělit do několika skupin:

- a) Povrchové struktury podporující kolonizaci:
 - a. adhezivní molekuly, které se zároveň mohou řadit i k imunologickým faktorům – Protein A, nebo vázaná koaguláza (clumping faktor), která přeměňuje fibrinogen na fibrin a zapřičiňuje tím shlukování stafylokoků
 - b. polysacharidové pouzdro (kapsula), které je na povrchu buňky a chrání bakterii před interakcí s bakteriofágy, protilátkami, fagocyty a komplementem, čím může lépe docházet ke vzniku hnisavých ložisek
 - c. peptidoglykan, který je přítomen v buněčné stěně gram pozitivních bakterií, má schopnost stimulovat produkci cytokinů a vyvolat zánětlivou reakci na kůži
 - d. kyselina teichoová, která slouží bakteriím k přilnutí na povrchy
- b) Invaziny, které podporují šíření bakterií v tkáních, jako jsou leukocidin, kinázy, nebo hyaluronidáza, která hydrolyzuje kyselinu hyaluronovou (přítomnou v mezibuněčném tmelu), což umožňuje šíření jak stafylokoků samotných, tak i jejich extracelulárních produktů
- c) Biochemický soubor vlastností, které zvyšují jejich přežití ve fagocytech, například produkce katalázy

- a) Toxiny lyzující některé eukaryotické buněčné membrány – Panton-Valentinův leukocidin, který je typický antileukocytární aktivitou, leukotoxiny, nebo hemolysiny, které se mohou dělit na:
- Hemolyzin alfa, který v červených krvinkách tvoří póry, což vede k lýze buňky
 - Hemolyzin beta, který má specifitu na sfingomyelin a katalyzuje hydrolýzu tohoto fosfolipidu v membránách citlivějších buněk
 - Hemolyzin delta má detergentní účinek hlavně na lidské červené krvinky a je produkován většinou kmenů *Staphylococcus aureus*
 - Hemolyzin gama, o kterém v dnešní době ještě nemáme dostatek informací, protože jeho průkaz je znemožněn inhibicí agarem
- d) Exotoxiny, které poškozují buněčné tkáně, nebo vyvolávají příznaky onemocnění
- e) Vlastní i získaná odolnost proti antimikrobním látkám

V neposlední řadě je zde celá řada enzymů, která stafylokokům slouží k rozkladu hostitelské tkáně, čímž je umožněno jejich šíření. Jsou to například stafylokináza, lipázy, termostabilní nukleáza, hyaluronidáza, penicilináza, která aktivuje beta-laktamová antibiotika nebo kataláza, která je produkována všemi stafylokoky a rozkládá peroxid vodíku na molekulární kyslík a vodu (Bednář 1996; Votava 2003; Pantůček 2007; Todar 2008; Votava 2010; Murray 2013). Na obrázku číslo 5 jsou znázorněny některé z virulentních faktorů stafylokoků.



Obrázek 5: Příklady faktorů virulence *S. aureus* (upraveno dle Bonar et al. 2015).

3.6.1 Stafylokokové enterotoxiny

Velmi důležitým faktorem virulence jsou stafylokokové toxiny, z nichž některé vyvolávají závažná onemocnění, například již zmíněný syndrom opažené kůže, syndrom toxického šoku, a především alimentární enterotoxikózy (otravy z potravy kontaminované stafylokokovými enterotoxiny) (Pantůček 2007).

Stafylokokové enterotoxiny – SEs jsou proteiny o molekulové hmotnosti mezi 24–29 kDa. Jsou složené z jednoduchých polypeptidových řetězců, s velmi podobným zastoupením aminokyselin. Polypeptidové řetězce obsahují disulfidickou vazbu, jsou bohaté na kyselinu asparagovou, glutamovou, tyrosin a lysin (Strickler et al. 1989; Le Loir et al. 2003; Rusnak et al. 2004).

V současné době je známých dvacet typů stafylokokových enterotoxinů. Většinu stafylokokových nákaz způsobuje enterotoxin A (SEA), protože jeho tvorba není tolik závislá na okolním prostředí, tudíž jeho tvorbě nebrání ani snížené pH nebo vodní aktivita. Všechny známé enterotoxiny jsou SEA, SEB, SEC, SED, SEE, SEG, SEH, SEI, SEJ, SEK, SEL, SEM, SEN, SEO, SEP, SEQ, SER, SES, SET, SEU, přitom SEC se ještě dále dělí na subtypy. Všechny tyto enterotoxiny se dále mohou rozdělit do dvou skupin – SEA až SEE je skupina tak zvaných klasických SEs. Jako typy nové se označují enterotoxiny SEG – SEU (Le Loir et al. 2003; Görner & Valík 2004; Løvseth et al. 2004; Ono et al. 2008).

Schopnost produkce enterotoxinů lze prokázat asi u jedné poloviny kmenů *Staphylococcus aureus* izolovaných z potravy. I zde je však rozdíl mezi poddruhy *S. aureus* – *S. aureus* subsp. *aureus* enterotoxiny tvoří, *S. aureus* subsp. *anaerobius* nikoliv. Všechny dosud známé enterotoxiny jsou typické několika společnými vlastnostmi – vysokou termostabilitou (mají schopnost snášet až půlhodinový var, na rozdíl od samotných buněk stafylokoků, jenž jsou v průběhu tepelného ošetření zničeny), odolností proti proteolytickým enzymům, jako jsou chymosin nebo trypsin, snášením působení krátkovlnného ionizujícího záření, a u části SEs schopností vyvolat zvracení či průjem. Lišit se od sebe mohou například složením a obsahem aminokyselin, obsahem dusíku, izoelektrickým bodem, a emetickou dávkou (ED_{50}) (Bergdoll 1983; de la Fuente et al. 1985; Dinges et al. 2000; Görner & Valík 2004; Normanno et al. 2005; Štástková et al. 2012).

Dimmitt et al. (2017) definuje ED_{50} jako střední efektivní dávku, což znamená, že tato dávka vyvolá specifický účinek (v tomto případě zvracení) u 50 % populace, která tuto dávku požila. SEs způsobují příznaky otravy tím, že mají přímý vliv na střevní epitel a na nervus vagus, který končí ve stěně žaludku, což vede ke stimulaci emetického centra v mozku a peristaltiky střev (Bergdoll 1983; Arbuthnott et al. 1990).

K tvorbě těchto enterotoxinů dochází během exponenciální a na počátku růstové fáze těchto bakterií, míra koncentrace enterotoxinu je závislá na hustotě stafylokokové kultury. K vytvoření takového množství enterotoxinu, aby byly vyvolány klinické příznaky otravy je zapotřebí nejméně 10^6 až 10^7 počtu buněk (s generační dobou okolo 15 minut v ideálních podmínkách) v jednom gramu substrátu, které za 10 až 20 hodin vytvoří 0,5 až 5 μg toxinu typu A, což je na vyvolání stafylokokové enterotoxikózy dostačující (Troller 1975; Göckler et al. 1988; Bergdoll 1989; Görner & Valík 2004).

Ideální podmínky pro tvorbu enterotoxinů se liší dle typu enterotoxinu a druhu potraviny, dále jsou ovlivněny vlhkostí, nutriční hodnotou média, pH, teplotou a velikostí a typem konkurenčních mikroorganismů. Obecně lze konstatovat, že podmínky vhodné pro růst a pomnožování zlatého stafylokoka jsou vhodné i pro produkci enterotoxinů, viz tabulka 2. V celkovém důsledku musí být brán ohled na potenciál stafylokokových kontaminací při zjišťování zdravotních rizik, protože právě součet těchto faktorů určuje závadnost/nezávadnost potraviny pro konzumenta (Troller 1975; Roberts et al. 1996).

Tabulka 2: Limity pro růst *Staphylococcus aureus* a produkci enterotoxinů (upraveno dle Paparella et al. (2018)).

Faktory	Optimum pro růst	Rozsah	Optimum pro produkci enterotoxinů	Rozsah
Teplota	35–41 °C (37 °C)	6–48 °C	34–40 °C	10–46 °C
pH	6.0–7.5	4.2–9.8	7.0–8.0	5.0–9.6
Vodní aktivita	0.98	0.83 až > 0.99 (aerobní podmínky) 0.90 až > 0.99 (anaerobní podmínky)	0.98 až > 0.99	0.86 až > 0.99 (aerobní podmínky) 0.92 až > 0.99 (anaerobní podmínky)
NaCl (%)	0	0-20	0	0-12
Atmosféra	Aerobní	Aerobní/Anaerobní	Aerobní (5 %–20 % O ₂)	Aerobní/Anaerobní

3.7 Stafylokoková enterotoxikóza

Přítomnost zlatého stafylokoka v potravinách představuje potenciální riziko pro zdraví konzumenta právě díky schopnosti produkovat stafylokokové enterotoxiny vykazující emetickou aktivitu. Tyto zdraví nebezpečné enterotoxiny jsou vytvořeny v potravě enterotoxigenními kmeny této bakterie (Hennekinne et al. 2012). Potravina může být i vektorem pro stafylokoky, které mohou následně způsobovat infekce.

Onemocnění s názvem „Stafylokoková enterotoxikóza“ je jedním z nejběžnějších onemocnění z potravin na světě. Způsobují ho pouze stafylokoky, které jsou pozitivní na koagulázu. Dominantním spouštěčem tohoto onemocnění je právě *S. aureus*, zřídka kdy se může jednat o jiné stafylokoky, například *S. intermedius* (Genigeorgis 1989; Khambaty et al. 1994; Jablonski & Bonach 1997).

Různé studie ukazují, že ne všechny SEs vyvolávají u konzumentů intoxikaci z potravin. Schopnost vyvolat gastroenterický syndrom byla zatím prokázána u klasických SEs (SEA – SEE), z nových typů enterotoxinů se emetická aktivita ukázala pouze u SEH (Omoe et al. 2002).

Enterotoxikóza vyvolaná stafylokoky má rychlý nástup i průběh. Hlavní příznaky tohoto onemocnění jsou zvracení, bolest hlavy, břicha, někdy spojená s průjmem. Na rozdíl od infekce gastrointestinálního traktu, toto onemocnění probíhá obvykle bez zvýšené teploty. Příznaky onemocnění se objevují 2-6 hodin po zkonsumování potravy obsahující SEs, symptomy však obvykle zmizí po 24 až maximálně 48 hodinách. Velice často se nakazí společně větší skupina konzumentů, kteří pozřeli stejný pokrm. Po pozření se stafylokokový toxin dostane do střev, kde působí na sliznice, a vyvolává zrychlení střevní peristaltiky (Le Loir et al. 2003; Hudecová 2012).

Síla projevů a jejich intenzita závisí množství pozřených bakterií, a především na dávce toxinu, který tyto bakterie vyprodukovaly. Na začátku mají příznaky poměrně těžký průběh, ale vše většinou odezní po jednom nebo dvou dnech, kdy dojde k vyloučení enterotoxinů z těla pryč. Někdy si onemocnění může vyžádat hospitalizaci, zejména pokud jde o kojence, nebo starší či oslabené osoby. Diagnostika onemocnění je prováděna v laboratoři, kde se analyzuje samotná potrava, zvratky, krev či stolice pacienta. Pokud stafylokokovou enterotoxikózou člověk onemocní, je nutná správná léčba, což znamená dostatečný pitný režim k rehydrataci organismu, dodržování optimálního stravovacího režimu a klid na lůžku (Görner & Valík 2004; Murray 2005; Hudecová 2012). V příloze č. I jsou uvedeny celosvětově významné příklady otravy z potravin kontaminovaných stafylokokovými enterotoxiny, počty nakažených, pokud jsou známy, druh potravy a místo nakažení.

Co se týče České republiky, tak Státní zdravotní ústav neuvádí zvlášť údaje o stafylokokové gastroenteritidě, ale hodnoty jsou uvedeny pod pojmem „jiné bakteriální otravy z potravin bez botulismu“, kde jsou od 2008 do roku 2017 následující hodnoty: (viz tabulka číslo 3).

Tabulka 3: Jiné bakteriální otravy z potravin bez botulismu v ČR v letech 2008–2017 (upraveno dle SZÚ 2007).

Rok	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017
Počty nakažených	84	106	100	381	14	203	177	793	127	2

3.7.1 Rizikové potraviny

Mezi hlavní rizikové potraviny se řadí obecně potraviny živočišného původu, jako jsou mléko a mléčné výrobky včetně smetan, maso a masné výrobky, drůběž a výrobky z vajec. Dále též saláty, a pekařské výrobky, především dorty plněné krémem, cukroví, smetanové omáčky, lahůdkářské výrobky, sekaná nebo paštiky. Stafylokoky se také dobře rozmnožují v solených potravinách sacharidové i bílkovinné povahy. Další potraviny náchylné na kontaminaci *S. aureus* mohou být například majonézy, polévky, omáčky, a především hotová jídla, která byla déle a nevhodně skladována, čímž došlo k jejich bakteriální kontaminaci, nebo byly kontaminovány již dříve například z rukou pracovníka v potravinářském provozu při výrobě.

V neposlední řadě můžeme výskyt *Staphylococcus aureus* pozorovat i například na těstovinách kam se stafylokoky mohou dostat v sušených vejcích nebo ze zbytků těsta na výrobním zařízení, ale po zvýšení sušiny na cca 90 % opět odumírají (Wieneke et al. 1993; Qi & Miller 2000; Tamarapu et al. 2001; Görner & Valík 2004; Hudecová 2012).

3.7.2 Cesty kontaminace

V poslední době se bakteriální kontaminace potravin dostává do centra pozornosti i u laické veřejnosti. Kontaminace potravin a následné pomnožení mikroorganismů se stala celosvětovým globálním problémem, co se týče veřejného zdraví, protože v posledních několika desetiletích byl zaznamenán velký nárůst onemocnění z potravin způsobených mikroorganismy (Fong 2017).

Jelikož je *S. aureus* téměř všudypřítomný, může dojít ke kontaminaci v kterékoliv části potravinového řetězce, nebo ve všech fázích zpracování. Spousta druhů potravin jsou díky svému chemickému složení, fyzikálním vlastnostem a obsahu vody ideálním živným prostředím pro růst a pomnožení této i jiných bakterií, jako například druhu *Salmonella* nebo *E. coli*. Nejvíce *S. aureus* přenáší člověk, bacilonosič, který je osídlen stafylokoky na kůži v hnisavých ložiscích, nosohltanu a dýchacích cestách. Ten potom může stafylokoky přenášet při kontaktu s potravinami a při přípravě pokrmů, díky čemuž se mohou nakazit další jedinci (Görner & Valík 2004; Hudecová 2012; Zafar et al. 2016; Pal et al. 2018).

Dále se potraviny mohou kontaminovat:

- a) Z okolního prostředí – půda, vzduch, prostředí výroby, prach, na který mohou stafylokoky adhedovat, nebo voda (napájecí, zavlažovací, která v sobě může nést enterální patogeny, nebo voda používaná k oplachování potravin, nástrojů, ...) (Johnson et al. 1991; Johnson et al. 1992; Janisiewicz et al. 1999; Janisiewicz et al. 1999; Cupáková et al. 2001).
- b) Při zpracování a výrobě u vybraných rizikových potravin:
 - a. U ovoce a zeleniny především při špatném chlazení, přepravě (například z vozidel kontejnerů na přepravu zeleniny, zejména pokud se používají opakovaně a bez čištění), nebo při celkovém nehygienickém zacházení, kde mohou ruce personálu (především při nedodržení hygienických postupů) kontaminovat zeleninu při sběru, třídění, balení či přípravě pokrmu, například salátu (ICMSF 1988; ICMSF 2005).
 - b. U mléka a mléčných výrobků mohou patogeny nejvíce pocházet z:
 - i. Nedostatečné hygieny stáda (především nedostatečně očištěného vemene, které mohlo přijít do kontaktu se stolicí, půdou, nebo blátem
 - ii. Špatného zdravotního stavu stáda – rizikové jsou především mastitidy
 - iii. Dojení samotného – z rukou dojiče (obzvláště pokud má na rukou hnisavé vřídky), nebo ze špatně očištěného dojícího stroje (Oliver et al. 2009; Gillespie et al. 2009).

c. U masa se hlavní podíl mikroorganismů dostane na produkt během jatečného procesu a při opracování a zpracování masa. Po každé této fázi se počet bakterií zvyšuje asi o jeden logaritmický řád. (Görner & Valík 2004). Problémy mohou způsobovat především:

i. Nehygienické porážky (kde je maso vystaveno mnoha zdrojům kontaminace a hygienický stav zvířat před, při i po porážce má rozhodující vliv na klalitu konečného produktu)

ii. Špatné podmínky zpracovatelského provozu, špatná manipulace s masem, skladování

iii. Normální mikroflóra přítomná na těle zvířete

iv. Nástroje používané při zpracování masa

v. Ruce a oděv personálu ve zpracujících provozech, nebo i pouhá nedostatečná edukace personálu (Bell 1997; Görner & Valík 2004; Kozačinski et al. 2006; Tachbele et al. 2006; Marais a kol. 2007; Fong 2017; Pal et al. 2018).

c) Při nedodržení hygienických a skladovacích podmínek ve zpracovatelských provozech a v domácnostech. Stewart (2005) uvádí, že ideální potravina pro pomnožení *S. aureus* by měla být spíše vařená nebo jinak zpracovaná, protože *S. aureus* moc dobře nekonkuruje mikrobiotě v čerstvé nebo nezpracované potravíně, naopak Hudecová (2012) uvádí, že se *S. aureus* se vyskytuje zejména v potravinách, jejíž chuť se vylepšuje uležením, nebo v těch, které se distribuují studené či jen ohřáté.

3.8 Mikrobiologické hodnoty pro *Staphylococcus aureus* v potravinách

V tabulce číslo 4 jsou uvedena mikrobiologická kritéria pro potraviny dle normy ČSN 56 9609 (2008), konkrétněji hodnoty pro přítomnost koaguláza pozitivních stafylokoků (*Staphylococcus aureus* a další druhy) v potravinách a jejich toxiny.

Tabulka 4: Hodnoty pro přítomnost *S. aureus* v potravinách (upraveno dle ČSN 56 9609 (2008)).

Potraviny neurčené k přímé spotřebě	10^5
Potraviny určené k přímé spotřebě	10^4
Potraviny určené pro kojence a dětskou výživu, neurčené k přímé spotřebě	10^3
Potraviny určené pro kojence a dětskou výživu, určené k přímé spotřebě	10^2
Stafylokokové enterotoxiny	Negativní (neprokazatelné ve hmotnosti (objemu) vzorku určené použitou metodou zkoušení)

3.9 Vybrané rizikové potraviny a přítomnost *Staphylococcus aureus*

3.9.1 Ovoce, ovocné šťávy a zelenina

U ovoce a zeleniny obecně platí, že za syrova nepodporují tolik růst potravinárních patogenů, na rozdíl od produktů živočišného původu, protože jejich povrch tvoří dobrou ochrannou bariéru. Syrová zelenina a ovoce začnou být náchylnější na mikrobiální kontaminaci, jakmile dojde k vadnutí, stárnutí nebo poranění plodu, což může zastupovat i sekání, drcení, otlaky nebo odšťavňování (ICMSF 2005).

Existují studie, které poukazují na výskyt *S. aureus* na ovoci a zelenině, například studie Seo et al (2010), kteří v Koreji, našli *Staphylococcus aureus* na 40 vzorcích z 345. Bylo zde nalezeno 25 různých kmenů a většina z nich byla schopná produkce enterotoxinů A, I a G.

Jiná studie, prováděná Tambekar & Muhanda (2006) v Indii poukazuje na potenciální přítomnost *S. aureus* v zeleninových salátech, které jsou konzumovány bez jakéhokoliv tepelného opracování, někdy dokonce i bez omytí, tudíž je zde vysoká možnost bakteriálního pomnožení. Z 50 vzorků salátů z 80 různých typů zeleniny bylo izolováno 86 bakteriálních patogenů. *Staphylococcus aureus* zde byl přítomen na 15, 1 % vzorků.

Problém může nastat i při konzumaci salátu, který byl připraven dopředu, zabalen a prodáván pro přímou konzumaci. Pokud byl například přišel do kontaktu s nosičem *S. aureus* a poté byl nevhodně skladován, může se zde tato bakterie pomnožit a začít produkovat enterotoxiny.

V neposlední řadě byly hlášeny na několika místech v Indii i případy onemocnění z potravin spojených s konzumací ovocných šťáv. Byla tedy provedena rychlá revize, aby byla vyhodnocena jejich bezpečnost pro konzumenta. Celkem bylo analyzováno 52 vzorků, kde *S. aureus* byl přítomen v 6 % vzorků. Nevíce kontaminována různými druhy bakterií byla citrónová šťáva, poté anansová, a nakonec šťáva z granátového jablka, jablečná a pomerančová. Znečištění šťáv ale nejvíce pocházelo především ze špatné kvality vody používané k ředění, jakož i z převládajících nehygienických podmínek souvisejících s mytím nádobí, špatnou osobní i domácí hygienou, či ručním loupáním ovoce (Tambekar et al. 2009).

Na závěr je nutno podotknout, že i když jisté studie na přítomnost *S. aureus* na ovoci a zelenině existují, jejich výsledky by neměly vyvolávat obavy, protože *S. aureus* se zřídka kdy pomnoží na ovoci a zelenině tak, aby byl schopen vyvolat stafylokokovou enterotoxikózu. Když toto onemocnění přesto propukne, je to nejčastěji díky kontaminaci z okolního prostředí především v rozvojových zemích kvůli například špatné kvalitě vody a nízké úrovni hygieny. V našich podmínkách je pomnožení *S. aureus* na ovoci a zelenině bráněno ku příkladu řádným chlazením, dobrými skladovacími podmínkami a omýváním těchto druhů potravin před konzumací.

3.9.2 Maso a masné produkty

Pokud není maso a výrobky z něj řádně zpracovány, mohou být rychle kontaminovány různými mikroorganismy, kvůli tomu, že je pro ně maso především díky svému vysokému obsahu vody ideálním živným prostředím (Görner & Valík 2004; Pal et al. 2018).

Kvůli těmto faktorům musí být maso a masné výrobky řádně zpracovány, skladovány, zabaleny a distribuovány, aby se zabránilo pomnožení a rozvoji bakteriální mikroflóry (Heetun et al. 2015). I u masa existují studie zaměřené na přítomnost *Staphylococcus aureus* a jeho případnou produkci enterotoxinů v těchto produktech.

Například Štávková et al. (2011) se zaměřily na izoláty *S. aureus* schopné produkce enterotoxinů. Stanovovali 45 izolátů získané z masných výrobků zakoupených v maloobchodech. 10 z nich produkovalo SEA, 8 z nich SEB, 10 izolátů produkovalo SEC, 7 produkovalo SED a 9 z izolátů produkovalo SEH. Pouze jeden izolát produkoval dohromady více typů enterotoxinů, a to SEB a SED. Dle této studie se po dalších analýzách dá dohledat zdroj kontaminace – například tím, jestli kmeny *S. aureus* jsou lidského nebo živočišného původu. Zde všechny izoláty byly pravděpodobně lidského původu, díky čemuž je závěrem této studie potvrzení, že lidé jsou hlavním zdrojem *S. aureus* v potravinářském průmyslu, především v maloobchodu.

Ve studii Moon et al. (2007) zkoumali také 139 vzorků syrového masa, kde byly pouze 4 vzorky (7,8 %) schopny produkce stafylokokových enterotoxinů. Zde izoláty produkovaly především SEA, a nebyly schopny produkce žádného jiného typu toxinu.

Existují i studie zaměřené například na kontrolu kritických bodů HACCP. Jednou takovou se zabývali Grispoldi et al. (2019), kteří analyzovali možnou kontaminaci prostředí produkce masných konzerv. Z devíti kontrolních kritických bodů odebrali 108 vzorků, z toho 13 vzorků bylo pozitivní na *S. aureus*, ale žádný z nich neprodukoval toxiny. Aby určili možnou dobu vytvoření toxinu, zkoumali tři kmeny produkující enterotoxin A v konzervovaném masu před sterilizací při teplotách 37, 20 a 10°C. Použili též dva druhy masa – jedn s dusičnanem sodným a druhý bez něj. Zjistili, že produkce enterotoxinu začíná 10 hodin po inkubaci při 37 °C a po 48 hodinách při 20°C. Při 10 °C nebyl enterotoxin detekován. Rozdíly v použití nebo nepoužití dusičnanů se ukázaly jako méně významné.

Co se týče přímo stafylokokové enterotoxikózy, tak na území České republiky propukla v nedávných letech alimentární intoxikace s názvem „Kebabová epidemie“. Celkem bylo evidováno 82 postižených, kteří zkonsumovali tortillu s kuřecím masem ve stejné provozovně rychlého občerstvení. Průběh onemocnění si vyžádal hospitalizaci u 44 osob. Izolováno bylo 15 kmenů od pacientů, 8 kmenů z potravin, 5 kmenů od personálu a 3 kmeny z prostředí provozovny. Většina těchto kmenů vykazovala schopnost produkce enterotoxinu A (Kekláková et al. 2019).

Ze studií vyplývá, že v mase jsou nejčastěji nalézány stafylokoky schopné produkce enterotoxinu A, který je jedním z hlavních toxinů schopných vyvolat stafylokokovou enterotoxikózu. Souhrně lze tedy říci, že maso a masné výrobky jsou náchylnější na kontaminaci, pomnožení a produkci enterotoxinů *S. aureus* více než ovoce nebo zelenina – kvůli většímu kontaktu člověka s masem při zpracování, případným chybám při porážce, nebo

kvůli většímu množství dalších faktorů, které mohou významně ovlivnit pomnožení patogenní mikrobioty). Samotný problém zde však nevzniká při pouhé kontaminaci čili přítomnosti *S. aureus* na mase a jeho produktech, ale při pomnožení této bakterie, čemuž by napomohlo například nedodržení správného belení či skladování těchto produktů. Pokud jsou ale dodrženy teploty skladování a předepsané hygienické a výrobní normy ve všech fázích výroby, významě se sníží riziko kontaminace a pomnožení *S. aureus*. Další možné způsoby prevence před pomnožením *Staphylococcus aureus* v mase a výrobcích z něj je i správná kulinární úprava a dostatečná hygiena jak v domácnostech, tak ve větších stravovacích zařízeních.

3.9.3 Mléko a mléčné výrobky

Bakterie rodu *Staphylococcus*, především *S. aureus* mohou významně ovlivnit i zdravotní nezávadnost mléka a mléčných výrobků. V příloze II. je uveden výtah z nařízení komise (ES) č. 2073/2005 ze dne 15. listopadu 2005 o mikrobiologických kritériích pro potraviny, který se týká mléka a mléčných výrobků. Ani mléko totiž není výjimka, a i zde je *S. aureus* schopen produkce enterotoxinů (Cupáková et al. 2001; Fujikawa & Morozumi 2006).

I zde, v případě mléka a mléčných výrobků existují studie zabývající se přítomností *S. aureus* v mléce a jeho případnou schopností produkce enterotoxinů.

Například ve studii Moon et al. (2007) se zabývali mastitidním mlékem, kterého měli 714 vzorků. Zde našli bakterie schopné produkce enterotoxinů v 57 vzorcích (31,8 %). Vysoký podíl těchto stafylokoků produkoval více než dva typy enterotoxinů, oproti zelenině a masu. Nejvíce se kombinovaly toxiny SEA s toxiny SEB a/nebo SEC.

Další studii prováděli například Necidova et al. (2016), cílem bylo posoudit vliv teploty pasterizace na inaktivaci stafylokokových enterotoxinů. Do vzorků naočkovaly 40 různých kmenů *S. aureus* majících schopnost produkovat toxiny typu A, B nebo C. Po dobu 24 hodin jim byla udržována teplota na 37° C. Následně byly vzorky ohřáty po dobu 15 sekund při 72, 85 a 92 °C. Naočkovaný počet stafylokoků neovlivnil množství toxinu. Při detekci před pasterizací byl nejméně detekován SEB, ve srovnání s jinými enterotoxiny. Množství toxinů bylo pasterací výrazně sníženo, ale toxiny mohou stále v malé míře v mléce přetrvávat, i když samotné bakterie jsou zničeny pasterizací. Jako klíčové opatření proti stafylokokovým enterotoxinům se tedy jeví zabránění případné kontaminace a pomnožení během produkce a zpracování mléka.

Pro zajímavost je zde studie z Etiopie zaměřená na *S. aureus* v mléce. Je zde poukázáno na nedostatečnou znalost problematiky a celkové špatné hygienické podmínky v rozvojových zemích při práci s mlékem a mléčnými výrobky. Studie byla provedena Ayele et al. (2017). Ti zkoumali 291 vzorků, z toho bylo 68 pozitivních (23,4 %). Ve vzorcích pasterizovaného mléka nebyl *S. aureus* přítomen. Dále byl *S. aureus* nalezen v 32 % (8 vzorcích) z 25 vzorků odebraných z rukou dojičů. Z celkem 23 dotazovaných mléčných farmářů 35 % konzumovali syrové mléko, ale pouze 13 % ze všech dotázaných si bylo vědomo možnosti onemocnění z potravin konzumací syrového mléka. 82 % farmářů neměli vemena a struky, a žádný z nich si před dojením nemyl ruce antiseptickými přípravky. Naopak všichni dotázaní čistili mlékárenské vybavení horkou vodou a saponáty. Tato studie poukazuje na výskyt možných

kontaminací v celém řetězci mléčné produkce. Dále bylo zjištěno, že i bakterie z rukou dojičů či nádob na mléko jsou potenciálním problémem. Studie též poukázala na špatné postupy manipulace s mlékem, chování konzumentů, a především na nedostatečné znalosti o možném onemocnění z potravin. Jako důležité se ukázalo zvyšování povědomí veřejnosti o správném zacházení s mlékem, a o prevenci onemocnění.

Z nastudované literatury zde plyne, že detekované kmeny *S. aureus* zde, na rozdíl od masa či zeleniny byly schopny produkce více druhů enterotoxinů najednou. U mléka musí být dodržovány veškeré skladovací teploty a hygienické postupy v celém řetězci výroby, kam spadají jako prevence i například antimastitidní programy, protože *S. aureus* se může do mléka dostat nejen z okolního prostředí, ale i z tohoto typu zánětu. Pokud se i přes to mléko kontaminuje, *Staphylococcus aureus* se v něm pomnoží a vyprodukuje enterotoxiny, budou zničeny včasnou pesterací a uchováváním mléka a mléčných produktů v chladu.

3.10 Prevence

Prevence spočívá v dodržování osobní hygieny zaměstnanců potravinářských a kulinářských závodů a provozoven. Pracovníci s hnisavými ranami na těle, nebo infekcemi nosohltanu a podobnými nemocemi po dobu trvání onemocnění nesmí pracovat v provozovně přicházející do kontaktu s potravinami. Vzhledem k tomu, že stafylokoková enterotoxikóza je do značné míry způsobena chybnými postupy při manipulaci s potravinami, je velmi důležitá edukace personálu v potravinářství a následné dodržování kritických bodů (Weese et al. 2010; Hudecová 2012).

Například u ovoce a zeleniny by tento systém by měl vzít v úvahu možnost, že ač ovoce a zelenina mohou nést patogenní organismy, jsou často konzumovány syrové, aniž by byly vystaveny procesu, který by spolehlivě eliminoval patogeny, stejně jako produkty z něj. Proto je nezbytné zabránit kontaminaci ovoce na všech místech, od pěstování, zpracování, skladování, přes distribuci a prodej. Mezi tyto postupy se řadí například zabránění neodborným zemědělským postupům, nevhodného použití organických hnojiv nebo sklizni padlého ovoce (například jablek), které by mohlo být vystaveno zvířecímu trusu. Během sběru, balení a třídění musí být též dodržovány hygienické postupy (Brackett 1992; Beuchat 1996).

V případě syrového mléka v prvovýrobě spočívá prevence kontaminace a pomnožení *S. aureus* v dodržování antimastitidních programů, sanitačního režimu v provozovnách a dojárnách, hygieně při dojení a následném chlazení nadojeného mléka na teplotu 8 °C, respektive 6 °C a jeho uchování při této teplotě až do dalšího zpracování (Cupáková et al. 2001).

Co se týče masa a masných výrobků, tak je třeba dodržovat správné hygienické postupy, jako například správné mytí rukou či důkladné omytí nástrojů přicházejících do kontaktu se syrovým masem (například prkénka, či nože). Též by mělo být zabráněno kontaktu mezi syrovým masem a hotovým pokrmem, například tím, že jedno krájecí prkénko bude pro syrové maso a jiné pro hotová jídla. Dalšími důležitými body je i správná výrobní praxe a správně stanovené kritické kontrolní body analýzy rizik (HACCP). Ke konzumentovi by se tím pádem mělo dostat zdravé a bezpečné maso, čehož lze dosáhnout i dobrými podmínkami pro

zvířata, dobrou osobní hygienou a poskytováním znalostí o potravinové bezpečnosti pro všechny zpracovatele přicházející do kontaktu s masem (Haileselassie et al. 2013; Sofos 2014; Fong 2017; Pal et al. 2018).

Dále by se potraviny obecně citlivé na mikrobiální kontaminaci měly podrobit dostatečnému tepelnému opracování. Ideální teplota vaření potravin by měla být nad 60 °C a teplota skladování by měla být pod 5°C. Pokrmy poté není vhodné dlouhodobě skladovat, proto je doporučeno je připravit těsně před konzumací. A v neposlední řadě je důležité dodržování osobní hygieny konzumenta, především mytí rukou při kontaktu s potravinami a při přípravě pokrmu (Görner & Valík 2004; James et al. 2008; Weese et al. 2010; Hudecová 2012).

Spotřebitelé si musí být vědomi možné kontaminace potravin i v domácnosti a při vaření. Základem pro prevenci stafylokokové enterotoxikózy by mohl být vzdělávací program týkající se bezpečnosti potravin zaměřený na různé sociodemografické skupiny obyvatel. V neposlední řadě by měla fungovat další preventivní opatření, jako je kontrola surovin, řádná manipulace s potravinou s důrazem na její zpracování, odpovídající čištění a dezinfekce zařízení přicházejících do kontaktu s potravinami. V neposlední řadě se k těmto opatřením řadí i přísné dodržování a provádění mikrobiologických pokynů, správná výrobní praxe a správné hygienické postupy vyvinuté WHO (Lammerding 1997; Weese et al. 2010; Hennekinne et al. 2012; Byrd-Bredbenner et al. 2013; Syne et al. 2013).

4 Závěr

Z nastudované literatury vyplývá, že *Staphylococcus aureus* je běžně přítomen v různých typech prostředí, včetně kůže nebo sliznic člověka, ale při snížení imunity jedince, nebo při pomnožení v potravinách především živočišného původu může vyvolat různě závažná onemocnění. Tato bakterie disponuje rozmanitými faktory virulence, z čehož nejdůležitější je schopnost rezistence na různá antibiotika a tvorba stafylokokových enterotoxinů, které po pozření mohou vyvolat stafylokokovou enterotoxikózu. Stafylokoková enterotoxikóza není řazena k nejzávažnějším onemocněním z potravin, možná proto jí není věnována taková pozornost a může zde docházet i k určitým chybným statistikám, protože má většinou rychlý průběh, který doprovází zvracení a průjemy. Tyto příznaky většinou odezní do 24-48 hodin.

Nejnáchylnější provozy pro vypuknutí tohoto onemocnění jsou školní jídelny a velká stravovací zařízení, kde se nejčastěji nakazí větší skupina konzumentů kvůli pozření stejných pokrmů, především živočišného původu, které jsou dobrou živnou půdou pro mikroorganismy, například kvůli jejich vodní aktivitě a chemickému složení. Tyto produkty mohou být kontaminovány různými cestami, ale nejrizikovější je přímý kontakt potravin s člověkem, který může mít *S. aureus* na pokožce či sliznicích, ale neméně důležitými zdroji kontaminace může být i kůže či vemeno zvířete, především při nedostatečné hygieně v potravinářských provozech.

Po kontaminaci a následném nevhodném uskladnění produktu či nedodržení jiných hygienických norem se může *S. aureus* pomnožit a začít produkovat již zmiňované enterotoxiny. Izoláty z masa a masných produktů produkovaly většinou enterotoxinů typů SEA, SEB, SEC, SED, SEH. Většinou byl produkován pouze jeden typ enterotoxinu, a v některých případech se toxin ani nevytvořil. Oproti tomu u mléka a mléčných výrobků byla pozorována tvorba více enterotoxinů najednou, a též bylo zjištěno, že enterotoxiny i když v malém množství mohou být v mléce i po pasterizaci, avšak ve velmi malých koncentracích, které jsou pro konzumenta nezávadné.

Prevencí tohoto onemocnění je dodržování správných výrobních postupů a hygienických předpisů ve všech fázích výroby, od porážky, dojení či sběru až po čištění, porcování či krájení, balení, transport a případné skladování. U skladování je nutné zároveň dodržet správné postupy a teploty. V neposlední řadě je důležitá i informovanost o možných alimentárních onemocněních z potravin jak v případě personálu, tak spotřebitelů.

5 Literatura

Al-Dujaily AH, Al-Alo KZK, Mohmoud MHS. 2019. Hematology, bacteriology and antibiotic resistance in milk of water buffalo with subclinical mastitis. *Online Journal of Veterinary Research* **23**(1): 1-8.

Arbuthnott JP, Coleman DC, de Azavendo JS. 1990. Staphylococcal toxins in human disease. *Journal of Applied Bacteriology* **69**: 101S-107S.

Auwaerter PG, Bartlett JG. 2016. Johns Hopkins ABX Guide. The Johns Hopkins University. Available from www.hopkinsguides.com/hopkins/view/Johns_Hopkins_ABX_Guide/540517/all/Staphylococci_coagulase_negative (Accessed March 2020).

Ayele Y, Gutema FD, Edao BM, Girma R, Tufa TB, TJ Beyene, Tadesse F, Geloye M, Beyi AF. 2017. Assessment of *Staphylococcus aureus* along milk value chain and its public health importance in Sebeta, central Oromia, Ethiopia. *BMC microbiology* **17**(1): 141.

Bednář M, Fraňková V, Schindler J, Souček A, Vávra J. 1996. *Lékařská mikrobiologie: bakteriologie, virologie, parazitologie*. Marvil, Praha.

Bell RG, 1997. Distribution and sources of microbial contamination on beef carcasses. *Journal of Applied Microbiology* **82**(3): 292-300.

Beneš J. 2018. *Antibiotika: systematika, vlastnosti, použití*. Grada Publishing, Praha.

Bergdoll MS, 1983. Enterotoxins. Pages 559–598 in Easmon CSF, Adlam C, editors. *Staphylococci and staphylococcal infections*. Academic Press, London.

Bergdoll MS, 1989. *Staphylococcus aureus*. Pages 463-523 in Doyle MP editors. *Foodborne Bacterial Pathogens*. Marcel Dekker, Inc., New York

Beuchat LR, 1996. Pathogenic Microorganisms Associated with Fresh Produce. *Journal of Food Protection* **59**(2): 204-216.

Boles BR, Horswill AR, 2011. Staphylococcal biofilm disassembly. *Trends in Microbiology* **19**(9): 449-455.

Bonar E, Wójcik I, Władyka B. 2015. Proteomics in studies of *Staphylococcus aureus* virulence. *Acta biochimica Polonica* **62**(3): 367–381.

Bonar E, Międzobrodzki J, Władyka B, 2018. The Staphylococcal Coagulases. Pages 95–102 in Savini V, editors. *Pet-to-Man Travelling Staphylococci*. Elsevier

Brackett RE, 1992. Shelf stability and safety of fresh produce as influenced by sanitation and disinfection. *Journal of Food Protection* **55**: 808–814.

Byrd-Bredbenner C, Berning J, Martin-Biggers J, Quick V, 2013. Food Safety in Home Kitchens: A Synthesis of the Literature. *International Journal of Environmental Research and Public Health* **10**(9): 4060-4085.

Cleto S, Matos S, Kluskens L, Vieira MJ, Kaufmann GF. 2012. Characterization of Contaminants from a Sanitized Milk Processing Plant. *PLoS ONE* (e40189) DOI: 10.1371/journal.pone.0040189.

Cupáková Š, Janštová B, Navrátilová P, Necidová L. 2001. Rizika konzumace syrového kravského mléka. *Veterinářství* **51**: 182–184.

de la Fuente R, Suarez G, Schleifer KH. 1985. *Staphylococcus aureus* subsp. *anaerobius* subsp. nov., the Causal Agent of Abscess Disease of Sheep. *International Journal of Systematic Bacteriology* **35**(1): 99-102.

ČSN 56 9609. 2008. Pravidla správné hygienické a výrobní praxe – Mikrobiologická kritéria pro potraviny. Principy stanovení a aplikace. Český normalizační institut, Praha.

Dietze B, Rath A, Wendt C, Martiny H. 2001. Survival of MRSA on sterile goods packing. *The Journal of Hospital Infection* **49**(4): 255–261.

Dimmitt S, Stampfer H, Martin JH. 2017. When less is more – efficacy with less toxicity at the ED50. *British Journal of Clinical Pharmacology* **83**(7): 1365-1368.

Dinges MM, Orwin PM, Schlievert PM. 2000. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clinical Microbiology Reviews* **13**(1): 16-34.

Doulgeraki AI, Di Ciccio P, Lanieri A, Nychas G-JE. 2017. Methicillin-resistant food-related *Staphylococcus aureus*: a review of current knowledge and biofilm formation for future studies and applications. *Research in Microbiology* **168**(1): 1-15.

(ES) č. 2073/2005. 2005. Nařízení komise (ES) č. 2073/2005 ze dne 15. listopadu 2005 o mikrobiologických kritériích pro potraviny (text s významem pro EHP). Komise evropských společenství.

Fredheim EGA, Klingenberg C, Rohde H, Frankenberger S, Gaustad P, Flaegstad T, Sollid JE. 2009. Biofilm Formation by *Staphylococcus haemolyticus*. *Journal of Clinical Microbiology* **47**(4): 1172-1180.

Folsom JP, Frank JF. 2006. Chlorine resistance of *Listeria monocytogenes* biofilms and relationship to subtype, cell density, and planktonic cell chlorine resistance. *Journal of Food Protection* **69**(6): 1292-1296.

Fong F, 2017. Bacteria in Raw Meat vs Cooked Meat. *Food Safety Focus* **130**: 3-4.

Fujikawa H, Morozumi S. 2006. Modeling *Staphylococcus aureus* growth and enterotoxin production in milk. *Food Microbiology* **23**(3): 260-267.

Gillespie BE, Headrick SI, Boonyayatra S, Oliver SP. 2009. Prevalence and persistence of coagulase-negative *Staphylococcus* species in three dairy research herds. *Veterinary microbiology* **134**(1-2): 65-72.

Genigeorgis CA. 1989. Present state of knowledge on staphylococcal intoxication. *International journal of food microbiology* **9**(4): 327-360.

Giedratienė A, Vitkauskienė A, Naginienė R, Pavilionis A. 2011. Antibiotic Resistance Mechanisms of Clinically Important Bacteria. *Medicina* **47**(3): 137-146.

Goering RV, Dockrell HM, Zuckerman MA, Chiodini PL, Julák J. 2016. *Mimsova lékařská mikrobiologie*. 5. vydání. Stanislav Juhaňák – Triton, Praha.

Göckler L, Notermans S, Krämer J. 1988. Production of enterotoxins and thermonuclease by *Staphylococcus aureus* in cooked egg-noodles. *International Journal of Food Microbiology* **6**(2): 127-139.

Görner F, Valík Ľ. 2004. Aplikovaná mikrobiológia požívateľin: princípy mikrobiológie požívateľin, potravinársky významné mikroorganizmy a ich skupiny, mikrobiológia potravinárskych výrob, ochorenia mikrobiálneho povodu, ktorých zárodky sú prenášané požívateľinami. Malé centrum, Bratislava.

- Grispoldi et al. 2019. Study on the Growth and Enterotoxin Production by *Staphylococcus aureus* in Canned Meat before Retorting. *Toxins* **11**(5): 1-11.
- Haileselassie M, Taddele H, Adhana K, Kalayou S, 2013. Food knowledge and practices of abattoir and butcher shops and the microbial profile of meat in Mekelle city, Ethiopia. *Asia Pacific Journal of Tropical Biomedicine* **3**: 407-412.
- Hall-Stoodley L, Stoodley P. 2002. Developmental regulation of microbial biofilms. *Current Opinion in Biotechnology* **13**(3): 228–233.
- Hall-Stoodley L, Costerton JW, Stoodley P. 2004. Bacterial biofilms: from the Natural environment to infectious diseases. *Nature Reviews Microbiology* **2**(2): 95-108.
- Heetun I, Goburdhun D, Neetoo H, 2015. Comparative microbiological evaluation of raw chicken from markets and chilled outlets of Mauritius. *Journal of World's Poultry Research* **5**(1): 10-18.
- Hennekinne J-A, De Buyser M-L, Dragacci S. 2012. *Staphylococcus aureus* and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation. *FEMS Microbiology Reviews* **36**(4): 815-836.
- Hudecová K. 2012. Medixa.org. Medixa.org. Available from <https://cs.medixa.org/nemoci/stafylokokova-enterotoxikoza> (accessed March 2020).
- Chambers HF, DeLeo FR. 2009. Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era. *Nature Reviews Microbiology* **7**(9): 629–641.
- International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF). 1988. *Microorganisms in Foods 4: Application of the Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) System to Ensure Microbiological Safety and Quality*. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF). 2005. *Microorganisms in Foods 6: Microbial Ecology of Food Commodities*. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York.
- James SJ, Evans J, James C, 2008. A review of the performance of domestic refrigerators. *Journal of Food Engineering* **87**(1): 2-10.
- Janisiewicz WJ, Conway WS, Brown MW, Sapers GM, Fratamico P, Buchanan RL, 1999. Fate of *Escherichia coli* O157:H7 on fresh-cut apple tissue and its potential for transmission by fruit flies. *Applied and Environmental Microbiology* **65**(1):1-5.
- Janisiewicz WJ, Conway WS, Leverentz B, 1999. Biological Control of Postharvest Decays of Apple Can Prevent Growth of *Escherichia coli* O157: H7 in Apple Wounds. *Journal of Food Protection* **62**(12): 1372-1375.
- Johnson GI, Mead AJ, Cooke AW, Dean JR, 1991. Mango stem end rot pathogens — Infection levels between flowering and harvest. *Annals of Applied Biology* **119**(3): 465-473.
- Johnson GI, Mead AJ, Cooke AW, Dean JR, 1992. Mango stem end rot pathogens – Fruit infection by endophytic colonisation of the inflorescence and pedicel. *Annals of Applied Biology* **120**(2): 225-234.
- Julák J. 2001. Mikrobiální koroze kovů: Biofilm škůdcem staveb uložených v zemi. *Vesmír* **80**: 206-209.

Jablonski LM, Bonach GA, 1997. *Staphylococcus aureus*. Pages 353–375 in Doyle MP, Beuchat LR, Montville TJ, editors. *Food microbiology fundamentals and frontiers*. American Society for Microbiology, Washington, DC.

Kekláková J, Hutníková R, Petráš P. 2019. Laboratorní diagnostika v NRL pro stafylokoky CEM – SZÚ v roce 2018. *Zprávy CEM (SZÚ, Praha)* **28**(2): 59–63.

Khambaty FM, Bennett RW, Shah DB. 1994. Application of pulsed-field gel electrophoresis to the epidemiological characterization of *Staphylococcus intermedius* implicated in a food-related outbreak. *Epidemiology & Infection* **113**(1): 75–81.

Kozačinski L, Hadžiosmanović M, Zdolec N, 2006. Microbiological quality of poultry meat on the Croatian market. *Veterinarski arhiv* **76**(4): 305–313.

Kumar CG, Anand SK. 1998. Significance of microbial biofilms in food industry: a review. *International Journal of Food Microbiology* **42**(1-2): 9–27.

Lammerding AM, 1997. An Overview of Microbial Food Safety Risk Assessment. *Journal of Food Protection* **60**(11): 1420–1425.

Le Loir Y, Baron F, Gautier M. 2003. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genetics and molecular research* **2**(1): 63–76.

Le Loir Y, Hennekinne J-A. 2014. STAPHYLOCOCCUS | Detection of Staphylococcal Enterotoxins. Pages 494–500 in Batt CA, Tortorello ML, editors. *Encyclopedia of Food Microbiology*. Elsevier

Lovečková Y. 2013. Problematika MRSA v dermatologii z pohledu mikrobiologa. *Dermatologie pro praxi* **7**(3): 132–133.

Løvseth A, Loncarevic S, Berdal KG, 2004. Modified Multiplex PCR Method for Detection of Pyrogenic Exotoxin Genes in Staphylococcal Isolates. *Journal of Clinical Microbiology* **42**(8): 3869–3872.

Marais M, Conradie N, Labadarios D, 2007. Small and micro-enterprise aspects of knowledge, attributes and practices of managers and food handlers' knowledge of food safety in the proximity of Tygerberg Academic Hospital, Western Cape. *South African Journal of Clinical Nutrition* **20**: 50–61.

Mattila T, Manntnen M, Kyläsiurola A-L. 1990. Effect of cleaning-in-place disinfectants on wild bacterial strains isolated from a milking line. *Journal of Dairy Research* **57**(1): 33–39.

Miao J, Liang Y, Chen L, Wang W, Wang J, Li B, Li L, Chen D, Xu Z. 2017. Formation and development of *Staphylococcus* biofilm: With focus on food safety. *Journal of Food Safety* (e12358) DOI: 10.1111/jfs.12358.

Moon JS, Lee AR, Jaw SH, Kang HM, Joo YS, Park YH, Kim MN, Koo HC. 2007. Comparison of antibiogram, staphylococcal enterotoxin productivity, and coagulase genotypes among *Staphylococcus aureus* isolated from animal and vegetable sources in Korea. *Journal of food protection* **70**(11): 2541–2548.

Murray RJ. 2005. Recognition and management of *Staphylococcus aureus* toxin-mediated disease. *Internal Medicine Journal* **35**(s2): S106–S119.

Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. 2013. *Medical microbiology*. 7th Edition. Elsevier/Sanders, Philadelphia.

Necidova L, Bogdanovicova K, Harustiakova D, Bartova K. 2016. Short communication: Pasteurization as a means of inactivating staphylococcal enterotoxins A, B, and C in milk. *Journal of Dairy Science* **99**(11): 8638-8643.

Oliver SP, Boor KJ, Murphy SC, Murinda SE. 2009. Food Safety Hazards Associated with Consumption of Raw Milk. *Foodborne Pathogens and Disease* **6**(7): 793-806.

Omoe K, Ishikawa M, Shimoda Y, Hu D-I, Ueda S, Shinagawa K. 2002. Detection of seg, seh, and sei genes in *Staphylococcus aureus* Isolates and Determination of the Enterotoxin Productivities of *S. aureus* Isolates Harboring seg, seh, or sei Genes. *Journal of Clinical Microbiology* **40**(3): 857-862.

Ono HK, Omoe K, Imanishi K, Iwakabe Y, Hu D, Kato H, Saito N, Nakane A, Uchiyama T, Shinagawa K. 2008. Identification and Characterization of Two Novel Staphylococcal Enterotoxins, Types S and T. *Infection and Immunity* **76**(11): 4999-5005.

Pal M, Ayele Y, Patel AS, Dulo F, 2018. Microbiological and hygienic quality of Meat and Meat Products. *BEVERAGE & FOOD WORLD* **45**(5): 21-27.

Pantosti A, Sanchini A, Monaco M, 2007. Mechanisms of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. *Future Microbiology* 2007 **2**(3): 323-334.

Pantosti A, 2012. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Associated with Animals and Its Relevance to Human Health. *Frontiers in Microbiology* **3**(127): 1-12.

Pantůček R. 2007. Bakterie *Staphylococcus* jako častý zdroj nebezpečí pro člověka. *Universitas – revue Masarykovy univerzity* **40**: 17-29.

Paparella A, Serio A, Rossi C, Mazzarrino G, Chalves López C, 2018. Food-Borne Transmission of Staphylococci. Pages 71–94 in Savini V, editors. *Pet-To-Man Travelling Staphylococci*. Elsevier

Pazderková J, Krejčí J, Dlouhý P. 2012. Padesát let s MRSA: Pokus o zhodnocení postupů používaných k omezení výskytu infekcí vyvolaných kmeny *Staphylococcus aureus* rezistentními k metilcinu (MRSA). *Klinická mikrobiologie a infekční lékařství* **18**(5): 132-141.

Qi Y, Miller KJ. 2000. Effect of low water activity on staphylococcal enterotoxin A and B biosynthesis. *Journal of food protection* **63**(4): 473-478.

Roberts TA, Tompkin RB, Baird-Parker AC, International Commission on Microbiological Specifications for Foods. 1996. *Microorganisms in foods 5: microbiological specifications of food pathogens*. Chapman and Hall, London.

Rosenbach FJ. 1884. *Micro-organismen bei den Wund-Infektions-Krankheiten des Menschen*. J.F.Bergmann, Weisbaden.

Rusnak JM, Kortepeter M, Ulrich R, Poli M, Boudreau E. 2004. Laboratory Exposures to Staphylococcal Enterotoxin B. *Emerging Infectious Diseases* **10**(9): 1544-1549.

Seo, Y., Jang, J. & Moon, K., 2010. Occurrence and characterization of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* isolated from minimally processed vegetables and sprouts in Korea. *Food Science and Biotechnology* **19**: 313–319.

Schindler J. 2001. Mikrobiální biofil: Jak žijí bakterie v přirozeném prostředí?. *Vesmír* **80**: 203-205.

Schleifer KH, Bell JA. 2009. Genus *Staphylococcus*. Pages 392-421 in De Vos P, Garrity G, Jones D, Krieg NR, Ludwig W, Rainey FA, Schleifer KH, Whitman W, editors. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Springer, New York.

Sofos JN, 2014. Meat and Meat Products. Pages 119–162 in Motarjemi Y, Lelieveld H, editors. *Food Safety Management. A practical Guide for the food industry*. Elsevier.

Stefani S, Chung DR, Lindsay JA, Friedrich AW, Kearns AM, Westh H, Mackenzie FM. 2012. Meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): global epidemiology and harmonisation of typing methods. *International Journal of Antimicrobial Agents* **39**(4): 273-282.

Stewart GC, 2005. *Staphylococcus aureus*. Pages 273–284 in Fratamico PM, Bhunia AK, Smith JL, editors. *Foodborne pathogens: Microbiology and Molecular Biology*. Caister Academic Press; Norfolk, UK.

Stoodley P, Sauer K, Davies DG, Costerton JW. 2002. Biofilms as Complex Differentiated Communities. *Annual Review of Microbiology* **56**(1): 187–209.

Strickler MP, Neill RJ, Stone MJ, Hunt RE, Brinkley W, Gemski P. 1989. Rapid purification of staphylococcal enterotoxin B by high-pressure liquid chromatography. *Journal of Clinical Microbiology* **27**(5): 1031-1035.

Sutherland JP, Bayliss AJ, Roberts TA. 1994. Predictive modelling of growth of *Staphylococcus aureus*: the effects of temperature, pH and sodium chloride. *International Journal of Food Microbiology* **21**(3): 217–236.

Syne S-M, Ramsabhag A, Adesiyun A, 2013. Microbiological hazard analysis of ready-to-eat meats processed at a food plant in Trinidad, West Indies. *Infection Ecology & Epidemiology* **3**(1).

SZÚ. 2007. Vybrané infekční nemoci v ČR v letech 2008–2017 – absolutně, SZÚ. Available from <http://www.szu.cz/publikace/data/2017/vybrane-infekcni-nemoci-v-cr-v-letech-2008-2017-absolutne> (accessed June 2020).

Štork J. 2008. *Dermatovenerologie*. Galén, Praha.

Štástková Z, Karpíšková R, Borkovcová I. 2012. MOŽNOSTI DETEKCE STAFYLOKOKOVÝCH ENTEROTOXINŮ. *Chemické listy* **106**: 745–749.

Štástková Z, Karpíšková R, Koukalová K, Bogdanovičová K. 2011. Differentiation of toxigenic *Staphylococcus aureus* strains isolated from retail meat products. *Czech Journal of Food Sciences* **29**(Special Issue): S17-S22.

Švec P, Pantůček R, Sedláček I, Petráš P. Aktuální změny v rodu *Staphylococcus* 2013–2015. *Zprávy CEM (SZÚ, Praha)* **24**(4): 140-143.

Tachbele E, Erku W, Gebre-Michael T, Ashenafi M, 2006. Cockroach-associated food-borne bacterial pathogens from some hospitals and restaurants in Addis Ababa, Ethiopia: Distribution and antibiograms. *Journal of Rural Tropical Public Health* **5**: 34–41.

Tamarapu S, Mckillip JL, Drake M. 2001. Development of a Multiplex Polymerase Chain Reaction Assay for Detection and Differentiation of *Staphylococcus aureus* in Dairy Products. *Journal of Food Protection* **64**(5): 664-668.

Tambekar DH, Mundhada RH, 2006. Bacteriological quality of salad vegetables sold in Amravati City (India). *Journal of biological Sciences* **6**(1): 28-30.

Tambekar DH, Jaiswal V, Dhanorkar DV, Gulhane P, Dudhane MN, 2009. Microbial Quality and safety of street vended fruit juices: A case study of Amravati city. *Internet Journal of Food Safety* **10**(7): 72-76.

Todar K. 2008. Online Textbook of Bacteriology. Kenneth Todar, PhD, Wisconsin. Available from <http://textbookofbacteriology.net/staph.html> (accessed March 2020).

Troller JA. 1975. Staphylococcal Growth and Enterotoxin Production-Factors for Control. *Journal of Milk and Food Technology* **39**(7): 499–503.

Vitale M, Scatassa ML, Cardamone C, Oliveri G, Piraino C, Alduina R, Napoli C. 2015. Staphylococcal Food Poisoning Case and Molecular Analysis of Toxin Genes in *Staphylococcus aureus* Strains Isolated from Food in Sicily, Italy. *Foodborne Pathogens and Disease* **12**(1): 21-23.

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

Votava M. 2010. *Lékařská mikrobiologie – vyšetřovací metody*. Neptun, c2010, Brno.

Vuong C, Otto M. 2002. *Staphylococcus epidermidis* infections. *Microbes and Infection* **4**(4): 481-489.

Weese JS, Avery BP, Reid-Smith RJ, 2010. Detection and quantification of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) clones in retail meat products. *Letters in Applied Microbiology* **51**(3): 338-342.

Wieneke AA, Roberts D, Gilbert RJ. 1993. Staphylococcal food poisoning in the United Kingdom, 1969–90. *Epidemiology & Infection* **110**(3): 519-531.

Zafar A, Ahmed E, Wajiha H, Khan A. 2016. Microbiological evaluation of raw meat products available in local markets of Karachi, Pakistan. *Pakistan Academy of Sciences B. Life and Environmental Sciences* **53**(2): 103-109.

Žišková B, Hercová K. 2005. Linkos: Česká onkologická společnost České lékařské společnosti J. E. Purkyně. Linkos.cz. Available from <https://www.linkos.cz/lekar-a-multidisciplinari-tym/kongresy/po-kongresu/databaze-tuzemskych-onkologickych-konferencnich-abstrakt/mrsa-nemocnicni-superbakterie/> (accessed May 2020).

6 Samostatné přílohy

6.1 Příloha I: Příklady celosvětových otrav z potravin kontaminovaných stafylokokovými enterotoxiny (upraveno dle Le Loir & Hennekinne 2014; Paparella et al. 2018).

<i>Rok</i>	<i>Místo</i>	<i>Inkriminovaná potravina</i>	<i>Počet případů</i>
1968	Děti ve škole, Texas	Kuřecí salát	1300
1971	Armáda, Anglie	Párky v těstíčku, šunkové sendviče	100
1975	Cestující z Japonska do Německa v letadle	Šunka	197
1976	Cestující z Ria do New Yorku v letadle	Čokoládové zákusky	80
1980	Kanada	Sýrový tvaroh	62
1982	Severní Karolína a Pensylvánie	Šunkovo-sýrový sendvič, plněné kuře	121
1983	Karibská výletní loď	Pečivo s krémem	215
1984	Skotsko	Sýr z ovčího mléka	27
1985	Francie, Anglie, Itálie, Lucembursko	Sušené lasagne	50
1985	Děti ve škole, Kentucky	2% čokoládové mléko	>1000
1986	Country Club, Nové Mexiko	Krůtí, drůbeží maso a masová šťáva	67
1989	USA	Konzervované houby	102
1990	Thajsko	Čokoládové zákusky	485
1992	Základní škola, Texas	Kuřecí salát	1364
1997	Oslava, Florida	Předvařená šunka	18
1998	Minas Gerais, Brazílie	Kuře, pečené hovězí maso, rýže a fazole	4000
2000	Osaka, Japonsko	Nízkotučné mléko	13 420
2001	Francie	Polotvrdé sýry z mléka, syrové ovčí mléko	-
2003	Francie	Bramborový salát	-
2003	Norsko	Bramborová kaše vyrobená ze syrového kravského mléka	-
2005	Indie	Bhalla (smažené bramborové koule)	-

2006	Ile de France, Francie	Čínský desert	17
2006	Rakousko	Kuře s rýží	-
2007	Skautský tábor, Belgie	Hamburger	15
2007	Švýcarsko	Sýr Robiola	-
2007	Paraguay	UHT mléko	-
2007	Základní škola, Rakousko	Mléko, kakaové a vanilkové mléko	166
2008	Svatební hostina, Ile de France, Francie	Karibské pokrmy	47
2008	Německo	Palačinky plněné mletým kuřecím masem	-
2008	Francie	Těstovinový salát	100
2009	Univerzitní festival, Japonsko	Palačinky (Crepes)	75
2009	Francie	Sýr z nepasterovaného mléka	23
2011	Španělsko	Makaróny se syrovými rajčaty	-
2011	Itálie	Salát z mořských plodů	-
2012	Rumunsko	Mléko	-
2012	Itálie	Smažené rýzové kuličky	-
2013	Německo	Zmrzlina	-
2014	Lucembursko	Těstovinový salát s pestem	-
2014	Spojené státy americké	Krocaní maso	-
2015	Spojené státy americké	Kuřecí maso	-
2015	Bulharsko	Pečená kuřecí stehna	-
2016	Japonsko	Sushi, bramborový salát, smažené kuřecí maso a krevety, sendviče, zelenina	-

6.2 Příloha II: Nařízení komise (ES) č. 2073/2005 ze dne 15. listopadu 2005 o mikrobiologických kritériích pro potraviny (upraveno dle (ES) č. 2073/2005).

Kategorie potravin	Mikroorganismy	Plán odběru vzorků		Limity		Fáze, na niž se kritérium vztahuje	Opatření v případě nevyhovujících výsledků
		n	c	m	M		
Sýry, sušené mléko a sušená syrovátka	Stafylokokové enterotoxiny	5	0	Neprokázány ve 25 g		Produkty uvedené na trh během doby údržnosti	
Interpretace výsledků vyšetření: vyhovující, pokud nejsou enterotoxiny zjištěny v žádné jednotce vzorku/nevhovující, pokud jsou enterotoxiny zjištěny v kterékoliv jednotce vzorku							
Sýry vyrobené ze syrového mléka	Koaguláza pozitivní stafylokoky	5	2	10 ⁴ KTJ/g	10 ⁵ KTJ/g	V takovém okamžiku během výrobního procesu, kdy se přepokládá nejvyšší počet stafylokoků	Zlepšení hygieny výroby a výběru surovin; pokud jsou zjištěny hodnoty > 105 KTJ/g, musí být příslušná partie sýra vyšetřena na stafylokokové enterotoxiny
Sýry vyrobené z mléka, které bylo podrobeno nižšímu tepelnému ošetření než pasterizaci, a zrající sýry vyrobené z pasterizovaného či silněji tepelně ošetřeného mléka nebo z pasterizované či silněji tepelně ošetřené syrovátky Vyjma sýrů, u nichž je výrobce schopen ke spokojenosti příslušných orgánů prokázat, že výrobek nepředstavuje riziko stafylokokových enterotoxinů.	Koaguláza pozitivní stafylokoky	5	2	100 KTJ/g	1000 KTJ/g		
Nezrající měkké sýry (čerstvé sýry) vyrobené z pasterizovaného či silněji tepelně ošetřeného mléka nebo z pasterizované či silněji tepelně ošetřené syrovátky Vyjma sýrů, u nichž je výrobce schopen ke spokojenosti příslušných orgánů prokázat, že výrobek nepředstavuje riziko stafylokokových enterotoxinů.	Koaguláza pozitivní stafylokoky	5	2	10 KTJ/g	100 KTJ/g	Konec výrobního procesu	Zlepšení hygieny výroby; pokud jsou zjištěny hodnoty > 105 KTJ/g, musí být příslušná partie sýra vyšetřena na stafylokokové enterotoxiny

Sušené mléko a sušená syrovátka – Kritérium se nevztahuje na výrobky určené k dalšímu zpracování v potravinářském průmyslu.	Koaguláza pozitivní stafylokoky	5	2	10 KTJ/g	100 KTJ/g	Konec výrobního procesu	Zlepšení hygieny výroby; pokud jsou zjištěny hodnoty > 105 KTJ/g, musí být příslušná partie vyšetřena na stafylokokové enterotoxiny
<p>Interpretace výsledků: vyhovující, pokud jsou všechny zjištěné hodnoty $\leq m$/přijatelný, pokud se nejvýše c/n hodnot nachází mezi m a M a zbývající zjištěné hodnoty jsou $\leq m$/nevhovující, pokud je jedna nebo více zjištěných hodnot $> M$ nebo se více než c/n hodnot nachází mezi m a M</p>							
Krunýře a lastury zbavené výrobky z vařených korýšů a měkkýšů se schránkami	Koaguláza pozitivní stafylokoky	5	2	100 KTJ/g	1000 KTJ/g	Konec výrobního procesu	Zlepšení hygieny výroby
<p>Interpretace výsledků: vyhovující, pokud jsou všechny zjištěné hodnoty $\leq m$/přijatelný, pokud se nejvýše c/n hodnot nachází mezi m a M a zbývající zjištěné hodnoty jsou $\leq m$/nevhovující, pokud je jedna nebo více zjištěných hodnot $> M$ nebo se více než c/n hodnot nachází mezi m a M</p>							

Vysvětlivky: n = počet jednotek tvořících vzorek; c = počet jednotek vzorku, jejichž hodnoty leží mezi m a M