

Česká zemědělská univerzita v Praze



BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2013

Romana Kašíková Richterová

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky



Salmonella jako živočišný patogen a kontaminant potravin

Bakalářská práce

Autor práce: Romana Kašíková Richterová

Vedoucí práce: prof. Ing. Karel Voříšek, CSc.

© 2013 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Salmonella jako živočišný patogen a kontaminant potravin" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne:

podpis:

Romana Kašíková Richterová

Poděkování

Ráda bych poděkovala prof. Ing. Karlu Voříškovi, CSc. za pomoc při vypracování bakalářské práce, za přínosné praktické zkušenosti, za konzultace, trpělivost a čas, který mi věnoval. Dále bych ráda poděkovala Katedře mikrobiologie, výživy a dietetiky za poskytnutí potřebných materiálů.

Salmonella jako živočišný patogen a kontaminant potravin

Salmonella as animal pathogen and food contaminant

Souhrn

Salmonely ve střevním traktu hostitele převažují poté, co nastane částečná absence normální střevní mikroflóry a pomnoží se daný kmen. Do těla se dostávají buď přímou cestou, čili požitím infekční dávky (potravin, voda) či nepřímou cestou, kontaktem s již nakaženým hostitelem či bacilonosičem. K propuknutí salmonelózy neboli střevního průjmového onemocnění, je potřebná vysoká infekční dávka, která se u každého živočicha pohybuje jinak, avšak v literatuře se popisuje nejčastěji rozmezí mezi 10^3 až 10^9 , přičemž je důležitá vnímavost k infekci, závislost na sérotypu, stavu imunity, přirozené ochranné bariéry a věku hostitele. Průnik se děje ve střevní sliznici vazbou na epitelální buňky a M buňky, které překrývají lymfatický aparát. Virulentní kmen proniká dále do lymfatických cest a krevního oběhu.

Onemocnění u zvířat je nebezpečné hlavně u čerstvě narozených mláďat, zvířata mohou dále infikovat stelivo a krmivo svým trusem nebo močí a nakazit jiná zvířata. Další cestou nákazy je voda z rybníků a povrchových toků kontaminovaná různými splašky. Onemocnění u mladých zvířat probíhá jako akutní septikémie, kdy mláďata hynou mezi 24-48 hodinami, u starších zvířat probíhá onemocnění jako chronická enteritida, se střídavými průjmy, nechutenstvím a hubnutím. Těžké infekce končí úhynem zvířete.

Významný vzestup počtu onemocnění v ČR nastal po roce 1989, kdy byl zaznamenán trojnásobný vzrůst počtu hlášených případů, souvisejících se změnou životního stylu a rozmachem stravovacích zařízení typu fast-food. Dnešní stav salmonelové populace není vysoký, nelze však tuto nákazu podceňovat.

Informace o salmonelové populaci jsou centrálně analyzovány na úrovni referenčních laboratoří, zaznamenávány v hygienických stanicích a veterinárních správách, kde umožňují hodnocení regionálních situací, přijímání preventivních opatření a hodnocení vývoje epidemiologické situace jak u nás, tak ve světě.

Klíčová slova: *Salmonella*, kultivace, patogen, rezistence, prevence

Summary

The multiplication of *Salmonella* sp. strains in the gastrointestinal tract of the host usually follows the remarkable reduction of the mass of the normal intestinal microflora in the host. The *Salmonella* sp. strains enter the host organism either directly, via ingestion of the sufficient amount of the pathogenic strain, or indirectly, via contacting another host organism, already infected (one with manifestative symptoms or a carrier in which the symptoms are not apparent). For the outburst of the salmonellosis (which means diarrhoea or gastroenteritis caused by *Salmonella* sp.), relatively high bacterial load is necessary - it varies in different animal species (approximately.....) and depends also on other factors, mainly the responsiveness of the host (influenced by the immunity, age, natural protective barriers etc.) and the serotype of the strain. The penetrance of the pathogen occurs in the intestinal mucosa via the attachment to the intestinal epithelial cells and the M cells and further transport to the lymphatic system and the bloodstream.

The disease is most dangerous in the newborn animals, in which it manifests as acute septicaemia with death occurring in 24 - 48 hours after the onset of the symptoms. In adult animals the disease manifests as chronic enteritis, anorexia and weight loss, in most severe cases ending with death as well. The transmission is possible via the bedding or food contaminated with stools or urine from the animals already infected or via the water contaminated with sewage.

The case number started to increase remarkably after 1989, when it increased thrice. This was thought to be due to the changes of the lifestyle, the expansion of the fast food type of boarding. Nowadays the state of the *Salmonella* sp. population is not particularly high but the situation must not be underrated.

The data regarding salmonellosis occurrence in Czech Republic is being gathered via the regional public health centres, the National Reference Laboratory and the veterinary authorities so that both the situation in the regions and the general history, progress and trends can be evaluated and the precautions can be planned with regard to these facts.

Keywords: *Salmonella* sp., culture, pathogen, resistance, precautions

Obsah

1	ÚVOD.....	8
2	CÍL PRÁCE	9
3	LITERÁRNÍ REŠERŠE	10
3.1	Historie salmonelové infekce	10
3.2	Charakteristika rodu <i>Salmonella</i> spp.	11
3.3	Diagnostika.....	13
3.3.1	Morfologie a kultivační podmínky	14
3.3.2	Biochemické vlastnosti.....	18
3.3.3	Antigenní struktura	19
3.3.4	PCR metoda (Polymerase Chain Reaction)	21
3.4	Výskyt.....	25
3.5	Onemocnění zvířat.....	27
3.6	Příznaky a průběh onemocnění u lidí.....	31
3.7	Prevence a léčba	32
3.8	Mapování	34
4	ZÁVĚR	39
5	LITERATURA.....	41
6	Seznam zkratk	48
7	Přílohy	49
7.1	Seznam obrázků	49
7.2	Seznam tabulek a grafů.....	50

1 ÚVOD

Akutní průjmová onemocnění neboli salmonelózy, způsobené bakteriemi *Salmonella* spp., patří mezi onemocnění lidí a zvířat, nejčastěji drůbeže. *Salmonella* spp. je schopna epidemického či hyperendemického rozsevu v hostitelské populaci a zodpovídá za většinu případů gastroenteritid jak u nás, tak ve světě. V posledních letech je v zemích Evropské unie pozorován mírně klesající trend výskytu hlášených salmonelóz, avšak v ČR bylo v roce 2011 hlášeno více jak 8500 případů v souvislosti se salmonelovou infekcí, nicméně epidemiologická situace je v jednotlivých státech odlišná. Musíme přihlídnout k faktu, že tento rod způsobuje velké problémy i v rozvinutých zemích, například v USA způsobí ročně až 1 300 000 onemocnění, což řadí tuto infekční nákazu na první místo nejčastějších zoonóz ve světě.

Přítomnost tohoto mikroorganismu v těle hostitele může být příčinou široké škály projevů – akutní průjmy, bolesti břicha, horečky, zvracení, až bezprostřední nástup kolikových bolestí. Onemocnění často nastupuje po konzumaci špatně opracovaného masa, vajec, případně výrobků obsahující tyto suroviny. U zvířat se nejčastěji izolují z drůbeže a drůbežích produktů, jelikož jsou nejdůležitějšími rezervoáry salmonel v přírodě.

Díky prevenci ve formě správné osobní hygieny a dodržování předepsaných standardů při zpracování a uchování potravin, především masa, vajec a produktů z nich, výskyt salmonelóz v posledních letech výrazně poklesl. V současné době máme k dispozici celosvětově sjednocenou databázi, díky níž jsme schopni monitorovat kmene po celém světě.

Ve své bakalářské práci se zabývám bakterií *Salmonella* jako živočišným patogenem a kontaminantem potravin, současným stavem struktury salmonelové populace u lidí i zvířat a mikrobiologickým stanovením pro charakterizaci tohoto kmene. Dále se věnuji výskytu zoonóz a situaci v bezpečnosti potravin.

2 CÍL PRÁCE

- Charakterizace rodu *Salmonella*, zaměření na jeho fyziologické vlastnosti a patologické působení.
- Zpracování literární rešerše na téma nemoci a kontaminace potravin způsobené bakterií *Salmonella* spp.
- Zpracování údajů o daném rodu a použití dat veterinárních orgánů, potravinářské inspekce, hygienické služby, aj.
- Upozornění na případná opatření pro eliminaci nemocí způsobené tímto rodem

3 LITERÁRNÍ REŠERŠE

3.1 Historie salmonelové infekce

Onemocnění, podobající se břišního tyfu, popsal již Hippokrates. První lékař, který podle nálezů patologicky zvětšených intestinálních uzlin a nálezů na slezině vyčlenil onemocnění břišním tyfem ze skupiny horečnatých nemocí, byl v roce 1829 francouzský chirurg P. Ch. A. Louis. Velký rozvoj bakteriologie v 19. století s sebou přinesl objev původce tyfu, ale i původců onemocnění, která byla do té doby popisována jako akutní záněty žaludku a střeva (Beneš a kol., 2009).

První mikroorganismy rodu *Salmonella* byly popsány zhruba před 120 lety a od té doby byly rozpoznány pouze dva druhy tohoto rodu: *Salmonella enterica*, se šesti poddruhy a *Salmonella bongori*. Většina významných salmonel patří do poddruhu *Salmonella enterica* subsp. *enterica*. V druhu *S. enterica* existuje více jak 2500 sérotypů, které se označují např. *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sérovar Typhi, resp. zkráceným názvem *Salmonella* Typhi (Internet 1, SZÚ Praha, 2005).

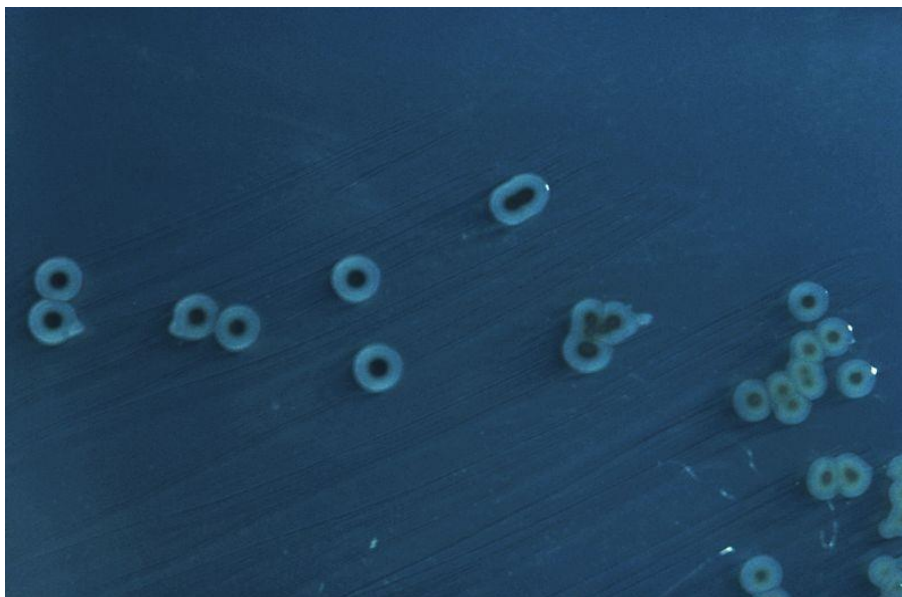
Rod *Salmonella* dostal své jméno v roce 1900 jako původce onemocnění prasat a byl kodifikován roku 1933. Baktérie byla ale objevena dříve. Prvním objevem byla tyfová salmonela. V roce 1880 ji našel v lymfatických orgánech zemřelého pacienta bakteriolog Karl Joseph Eberth. Původní jméno tedy znělo *Eberthella typhi*. První kultivace byla provedena v roce 1884. Ve stejném roce americký veterinární lékař Daniel Elmer Salmon a americký patolog Theobald Smith baktérii popsali v odborné literatuře. Popsán byl druh, který je dnes znám jako *Salmonella Choleraesuis* (Macela a kol., 2006).

Bakterie *Salmonella choleraesuis* byla vyizolována z prasečího střeva. Původce tzv. průjmového onemocnění po požití masa objevil německý bakteriolog a hygienik A. A. H. Gärtner v roce 1888. Označení *Bacterium enteritidis* Gärtner bylo později nahrazeno názvem *Salmonella enteritidis* Gärtner (Beneš a kol., 2009).

V roce 1934 byly Kauffmannem vyizolovány kmeny *Salmonella typhimurium* var. *Kopenhagen*, z případu onemocnělé paní z Kodaně (Kopenhagen). Nezávisle na tom popsal

Edwards stejné kultury, pocházející z holubů, a pojmenoval je jako *Salmonella aertrycke* var. *storrs* (Rosický a kol., 1994). Po roce 1900 byly vyizolovány a pojmenovány další druhy např. *Salmonella typhosum* (později *typhi*), *paratyphosum A* a *B* (*paratyphi A* a *B*) či *gallinarium* (Bell et Kyriakides, 2002).

Obrázek č. 1: *S. enterica* sérovar *typhimurium*



(Zdroj, dostupné z: http://en.wikipedia.org/wiki/File:Salmonella_enterica_serovar_typhimurium_01.jpg)

3.2 Charakteristika rodu *Salmonella* spp.

Salmonely jsou jednobuněčné organismy, patřící do skupiny střevních bakterií, žijící v zažívacím traktu člověka i zvířat (Rosický a kol., 1994). Rod *Salmonella* ssp. tvoří největší komplex ze všech enterobakterií (Votava a kol., 2003). Salmonely jsou vesměs pohyblivé fakultativně anaerobní gramnegativní tyčinky patřící do čeledi *Enterobacteriaceae* (Beneš a kol., 2009). Čeleď *Enterobacteriaceae* je intenzivně zkoumána v různých oborech včetně lékařství, potravinářského průmyslu, mikrobiologie vody, biochemie či genetiky (Bednář a kol., 1996).

Salmonely obvykle žijí jako komensálové a příležitostní parazité ve střevním traktu různých obratlovců. Některé druhy jsou značně virulentní, dokážou přežívat uvnitř

makrofágů, a řadí se proto mezi fakultativně intracelulární parazity. Naopak v prostředí bohatém na bílkoviny mohou salmonely žít jako saprofyty. Odolávají vyschnutí i teplotám pod bodem mrazu, jsou schopny množení v potravinách při teplotách kolem 5°C. Rychle je však ničí kyselé pH, teplota nad 70°C a běžné dezinfekční prostředky (Beneš a kol., 2009).

Teprve na základě vyšetření jednotlivých kmenů pomocí DNA-DNA hybridizace bylo prokázáno, že celý rod *Salmonella* lze v podstatě rozdělit do dvou základních skupin, *Salmonella enterica* a *Salmonella bongori*. *Salmonella enterica* zahrnuje kmeny: subsp. *enterica* (I) obsahující 1 454 sérotypů, které lze izolovat pouze u člověka a teplotokrevných zvířat. Další kmeny *S. enterica* s rozdílnými druhy, *salamae* (II), *arizonae* (IIIa), *diarizonae* (IIIb), *houtenae* (IV) a *indica* (VI), se podobně jako kmeny *Salmonella bongori* (V) vyskytují pouze u studenokrevných živočichů a obsahují 1009 sérotypů. (Ewing, 1986; Le Minor et al., 1987; Penner, 1988). Původní typový název *Salmonella choleraesuis*, který označoval zároveň druh i sérotyp, byl nahrazen skupinovým názvem *Salmonella enterica* a označení *choleraesuis* se udržuje pouze v názvu sérotypu. V současné době tedy rod *Salmonella* obsahuje 2 463 sérotypů (Popoff, 1998).

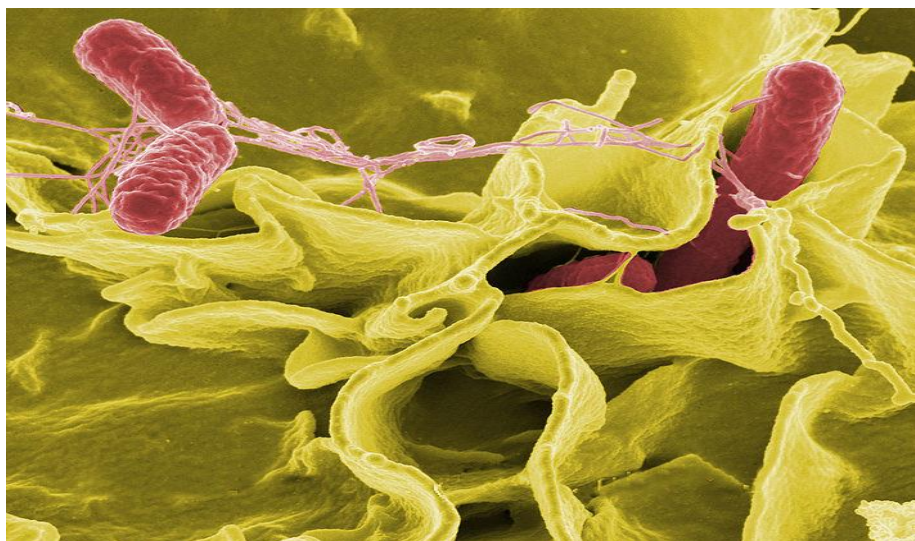
Zpravodaj časopisů Veterinářství a Veterinární kliniky (2008) uvádí, že antigenních odlišností jednotlivých salmonel si jako první všiml White, který vypracoval základní postup k jejich odlišování. Ke zdokonalení jeho metodiky přispěl Kauffmann, a tak postupně vzniklo Kauffmann-Whiteovo schéma identifikace jednotlivých sérotypů (Internet 2).

Salmonely jsou v Kaufmann-Whiteově schématu rozděleny do skupin A, B, C atd., dle základních tělových antigenů a dále do sérotypů podle bičkových antigenů 1. a 2. fáze (Votava a kol., 2003). Bednář a kol. (1994) uvádí, že v tomto schématu jsou salmonely primárně rozříděny podle společných O antigenů, je-li více než 1 somatický antigen, pak je jeden z nich hlavní a podle něho se salmonela řadí do skupiny. Skupiny jsou označeny velkými písmeny (A-Z), dnes se toto označení nahradilo označením hlavního O antigenu tj. číslicemi (2-50). Toto schéma poprvé publikoval Kaufmann v Kodani v roce 1934 a obsahovalo pouhých 44 sérotypů. Do konce své kariéry se mu podařilo rozšířit jej na 958 sérotypů. Později byla tato činnost prováděna v Pasteurově institutu v Paříži. V poslední době jsou nové sérotypy ověřovány a schvalovány jen se souhlasem laboratoří v Hamburku (IHU) a v Atlantě (CDC). V roce 2009 vydala Národní referenční laboratoř pro salmonely prohlášení, že se toto schéma nově označuje jako White-Kaufmann-Le Minor, na paměť

všech významných autorů, kteří se v průběhu let podíleli na rozšiřování a aktualizaci dokumentu (Internet 3).

Nejjednodušší rozdělení dle Rosického a kol. (1994), je rozlišení podle klinických, patologických a epidemiologických hledisek na břišní tyfus a paratyfy A, B, C a gastroenteritické salmonelózy, které vyvolávají nákazy z potravin. Tyfózní salmonelózy, tvořené původci *S. typhi* a *S. paratyphi* A, B, C, jež jsou patogenní pro člověka a enteritické salmonelózy zoonotického původu, které jsou rovněž patogenní i pro člověka.

Obrázek č. 2: *Salmonella* spp. pod skenovacím mikroskopem



(Zdroj, dostupné z: http://cs.wikipedia.org/wiki/Salmonel%C3%B3zy_dr%C5%AFbe%C5%BEe)

3.3 Diagnostika

Mezi hlavní metody průkazu se řadí kultivační metody. Diagnostika salmonel je prováděna převážně z klinického materiálu, jako jsou výkaly, rektální výtěry, krev, moč, ale také z potravin, vody či krmiv. Diagnostika se může provádět u jakéhokoliv vzorku, u kterého máme podezření na přítomnost tohoto patogenu, musíme však nejprve zajistit čistotu kmene (Rosický a kol., 1994).

Salmonely můžeme objevit ve stolici, v moči (gastroenterická a asymptomatická forma), v hemokultuře (u tyfoidní formy), ve žluči a jiných hnisavých ložiscích (u formy s lokální manifestací). Odběr stolice je možné provést pomocí tampónu s DC agarem nebo s transportním činidlem. Salmonely se za vhodných podmínek v potravinách dobře pomnožují. Optimální teplota růstu se pohybuje okolo 37 °C (El-Gazzar et al., 1992).

Minimální teplota růstu je 5 °C, maximální 47 °C. Rozmezí hodnot pH, při kterých se salmonely mohou pomnožovat je od 3,8 – 9,5. Diagnostiku salmonelóz lze provádět jak přímým průkazem, tak i nepřímým. Přímý průkaz spočívá v kultivaci. U infekcí s celkovými příznaky (tyfus a paratyfus) se využívá úvodní bakteriémie a salmonely se zpravidla daří izolovat z hemokultur. Až od druhého týdne onemocnění je reálný jejich průkaz ve stolici, někdy též i v moči. Nepřímý průkaz spočívá v tzv. Widalově reakci, což je průkaz protilátek v séru pacienta proti tělovým i bičíkovým antigenům. Při vyhledávání bacilonosiče je možné využít i průkazu protilátek proti kapsulárnímu V antigenu. Jako významné se u Widalovy reakce hodnotí titry 100 a vyšší. Méně používanou metodou průkazu protilátek je pasivní hemaglutinace (Votava a kol., 2000).

Po enormním nárůstu salmonelóz v předchozích letech vznikaly nové citlivé metody sérotypizace, fagotypizace (lyzotypizace), biotypizace, klasifikace plazmidů, profilizace plazmidů a další biochemické a molekulárně biologické postupy (Rosický a kol., 1994).

Další metody, používané k diagnostice, jsou tzv. rychlé metody, kam se řadí PCR (Polymerase Chain Reaction), neboli polymerázová řetězová reakce, metoda ELISA (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay), real-time PCR, MLST (multilokusová sekvenční typizace), MALDI-TOF MS (ionizační hmotnostní spektrometrie) (Millar et al., 2007; internet 13).

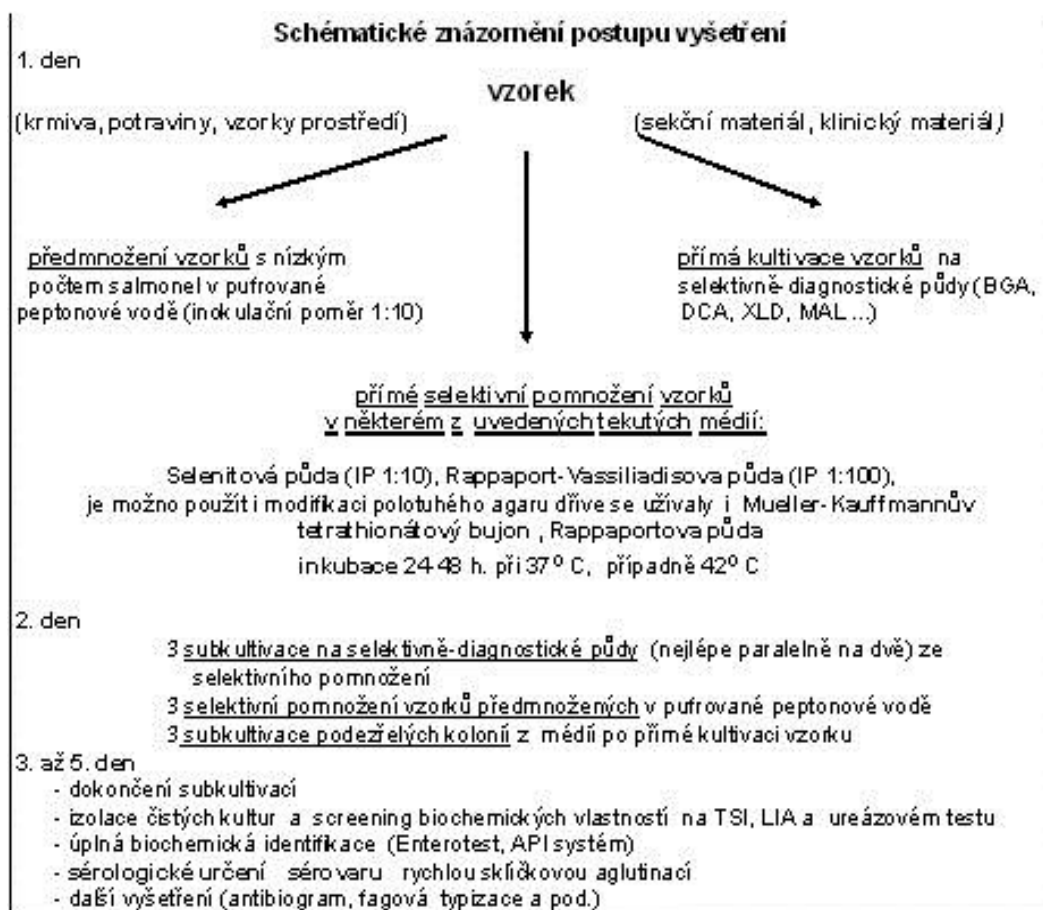
3.3.1 Morfologie a kultivační podmínky

Bednář a kol. (1996) uvádí, že morfologicky jde o gramnegativní tyčky se zaoblenými konci, 2-3 µm dlouhé, 0,6 µm široké, barví se homogenně, bičíky jsou umístěny peritrichózně a mají společné fimbrie typu I. Kultivace salmonel není náročná, tyto bakterie rostou na běžných kultivačních půdách, na nichž však nemohou být od ostatních enterobakterií

odlišeny, proto se také dále využívá fagotypizace (lyzotypizace) (Rosický a kol., 1994; Bednář a kol., 1994).

Kolonie salmonel rostou na krevním agaru, Endově půdě, McConkeyho agaru, na MAL či XLD agaru - agar s xylozou, lyzinem a adezoxycholatem. Na krevním agaru vyrostou kolonie již za 18- 24 hodin inkubace, kolonie bývají relativně velké, obvykle jen lehce vypouklé, hladké, lesklé a šedavě zbarvené (Votava a kol., 2003). Pro záchyt se využívá selektivních a selektivně diagnostických půd (Bednář a kol., 1994).

Obrázek č. 3: Kultivační průkaz - schéma



(Zdroj: Internet 4)

Rozdělení půd podle funkce (Votava a kol., 2003):

- ✓ **Základní půdy** – připravují se z nich ostatní půdy, základní půdou je masopeptonový bujon, který je složen z masového extraktu, z peptonu, což je směs peptidů, a z malého množství NaCl. Přidáním 1-2 % agaru z bujonu vznikne masopeptonový agar žlutohnědé barvy. K základním půdám se přidávají jiné složky např. cukry, růstové faktory, krev aj., čímž vznikají půdy **obohacené** nebo se naopak přidávají složky, které potlačují růst bakterií, např. přidáním antibiotik, solí či barviv a vznikají půdy **selektivní**.
 - ✓ **Diagnostické půdy**- půdy základní s přidáním složek, které různě reagují na způsob metabolismu. Výsledkem je pak odlišný růst jednotlivých rodů nebo druhů bakterií. Patří sem nejdůležitější půda v bakteriologické diagnostice - **krevní agar**, na kterém sledujeme rozdílné hemolytické vlastnosti bakterií.
 - ✓ **Selektivní půdy** – obsahují látky potlačující růst některých skupin bakterií, ale nebrání růstu zkoumaných bakterií. Přidávají se zde vyšší koncentrace solí, antibiotik, barviv aj. Patří sem např. **krevní agar s 10 % NaCl**.
 - ✓ **Selektivně diagnostické půdy** – patří sem kombinace obou předchozích půd, nejpoužívanější médium v diagnostice je **Endova půda**, která obsahuje selektivní složku fuchsin a diagnostickou složku laktózu a fuchsin obarvený siřičitanem. Dále sem řadíme **XLD** nebo **MAL** půdy pro detekci salmonel.
 - ✓ **Půdy pomnožovací** – většinou půdy tekuté, sloužící k pomnožení bakteriálních patogenů. Patří sem půda **selenitová**, sloužící k pomnožení salmonel, dále médium **BHI** pro kultivaci náročných bakterií z hemokultur či výtěrů z horních cest dýchacích.
 - ✓ **Půdy transportní** – neobsahují žádné živiny, slouží pouze k zajištění přežití bakterií během transportu do laboratoře (**Amiesova půda** s aktivním uhlím).
- Půdy se sníženým redox-potenciálem** – pro kultivaci aerobních a fakultativně anaerobních bakterií, do půdy se přidávají redukující látky do (např. cystein, glukóza, thiosloučeniny aj.)

Při diagnóze salmonel se využívají bakteriologické izolace kmenů z příslušného klinického materiálu. K identifikaci *Salmonella* spp. se v laboratořích využívají biochemické testy. Biologický materiál (výkaly, krev, moč aj.) by měl být naočkován na neselektivních a selektivních agarových médiích a živných půdách obohacených o minerální látky (selenitový bujón – selektivně pomnožovací půda). Biochemické reakce na agaru TSI (triple sugar iron agar) a LIA (lysine-iron agar) poté dourčí sledované kolonie (Baron et al., 1986).

Kolonie salmonel vyrostlé na selektivně diagnostických půdách mají vcelku charakteristický vzhled: na Endově půdě bledé laktózonegativní kolonie (obdobně i na McConkeyho agaru), na půdách MAL (maltóza, arabinóza, laktóza) a XLD (xylóza, laktóza, deochycholát) jahodově červené kolonie s černým středem (mimo *S. typhi*, kde centrum kolonie nemusí být černě zbarveno). Další využívanou selektivně diagnostickou půdou je tzv. Rambachův agar (Votava a kol., 2003; Mims et al., 1993).



Obrázek č. 4: BGA medium



Obrázek č. 5: MCA medium



Obrázek č. 6: XLD medium



Obrázek č. 7: Rambach agar

(Zdroj: obr. č. 4 – 7: upraveno dle SZÚ)

3.3.2 Biochemické vlastnosti

Identifikace salmonel se provádí na základě jejich biochemické aktivity. Bývá to pozitivní test na produkci sirovodíku, štěpí glukózu a mannitol, ale neštěpí laktózu a sacharózu, tvoří plyn a dekarboxylují lysin. Test ONPG (nebo též ONP) bývá negativní. Jedná se o test využívající činidla orthonitrophenyl – β - galaktopyranosid, schopný velice rychle detekovat přítomnost plně funkční β -galaktosidázy. Postup ONPG testu je jednoduchý - suspendujeme kličku zkoumaného kmene v malém množství fyziologického roztoku, poté vložíme detekční proužek a odečítáme. Při pozitivním výsledku vidíme zežloutnutí terčíku proužku i obsahu zkumavky. Završení určení sérotypu izolovaného kmene je sklíčková aglutinace s hyperimunními séry proti tělovým i bičíkovým antigenům (Votava a kol., 2003; Rosický a kol., 1994).

Nepřímým průkazem salmonelové invazivní infekce je stoupající titr specifických protilátek, používáme tzv. aglutinační Widalovu reakci (Bednář a kol., 1994). I v době velkého rozvoje molekulárně-biologických metod v mikrobiologii je sérová typizace klasická a neopomenutelná metoda identifikace tohoto kmene, zejména pro svou dostupnost a nezastupitelný přínos pro epidemiologickou praxi. Enterobakterie mohou vyvolávat velmi pestrou škálu infekcí postihující kterýkoli orgán či systém lidského organismu. Naštěstí, až na výjimky je většina enterobakterií vcelku velmi odolná vůči podmínkám vnějšího prostředí, a proto jejich přímý průkaz obvykle nečiní větších potíží (Votava a kol., 2003).

Rod *Salmonella* spp. fermentuje glukózu, maltózu, manitol a sorbitol s tvorbou plynu a kyseliny, většina tvoří H_2S , neprodukuje indol, nehydrolyzuje močovinu a nedeaminuje fenylalanin. Jak už bylo řečeno, jedná se o gramnegativní pohyblivé tyčinky (s výjimkou *S. gallinarium*), které mají společné fimbrie typu I. Další významný proces u salmonel je tvorba endotoxinů, tj. toxinů vázaných na buňku, jsou lipopolysacharidové povahy a způsobují vážná onemocnění hostitelského organismu, která mohou končit i smrtí (Šilhánková, 2008).

U salmonel se také určuje rezistence na antibiotika, kde se podle určitého schématu bakterie namnoží, zředí a rozetřou na dvě agarové plotny DST. Dvanáct antibiotik, jež se k tomuto dourčení používají, se rozdělí do dvou rozplňovačů a nanesou se na plotny, poté se 18 hod inkubuje při $37^\circ C$, změří se inhibiční zóny pomocí pravítka a závěrem se hodnoty zanesou do tabulek a porovnávají se s testovými kmeny (Rosický a kol., 1994).

Salmonely se vyznačují okyselováním glukózy s tvorbou plynu a dále produkcí sirovodíku. Jejich metabolismus je tímto velice podobný dalšímu rodu čeledi *Enterobacteriaceae*, rodu *Trabulsiella* (Sedláček, 2007). Od rodu *Escherichia* se odlišuje schopností využívat citrát jako zdroj uhlíku a slabší schopností až neschopností využívat laktózu (Šilhánková, 2002). Dalším významným znakem (Spicer, 2000) je produkce H₂S a schopnost tvorby plynu z glukózy (kromě sérotypu *typhi*).

3.3.3 Antigenní struktura

Antigenní specifita u střevních bakterií je velmi vysoká, takže u některých druhů je možno rozlišit velké množství sérotypů (sérovarů) s rozdíly ve složení stěnových lipopolysacharidů. U rodu *Salmonella* spp., který byl z tohoto hlediska nejlépe prostudován a který má pouze čtyři druhy, bylo rozlišeno přes 2000 sérovarů (Šilhánková, 2008).

Salmonely mají tři hlavní antigeny (Baron et al., 1986; Bednář a kol., 1994): H bičíkový (flagelární) antigen, O somatický (v buněčné stěně) antigen a antigen V, který je přítomen pouze u několika sérotypů.

Flagelární antigeny se u rodu *Salmonella* vyskytují ve dvou takzvaných fázích (jsou kódovány geny *fliC* a *fljB*), z nichž jedna nebo druhá nemusí být exprimována. Jak již bylo řečeno, některé sérotypy přirozeně postrádají gen pro jednu nebo druhou fázi (například nejčastější sérotyp v České republice *S. Enteritidis* ve svém genomu nenese gen *fljB*, nekóduje tudíž protein druhé bičíkové fáze). Jiné sérotypy mohou být v těchto genech defektní a není zatím zcela jisté, jestli takto činí záměrně a tento defekt jim přináší nějakou výhodu (typickým příkladem je nově prevalující monofazická varianta *S. Typhimurium* defektní v druhé bičíkové fázi). Podle McQuistona et al. (2008) je druhá bičíková fáze (*fljB*) exprimována méně často než první fáze (*fliC*), tudíž je pro rod *Salmonella* něco jako „náhradní pneumatika“. Propůjčuje například buňce další antigenní rozmanitost.

U rodu *Salmonella* se vyskytuje 46 různých somatických antigenů, na jejichž základě jsou sérotypy rozděleny do několika skupin. Tyto skupiny byly dříve značeny 6 písmeny, dnes jsou obvykle označovány antigenem nebo kombinací antigenů, které skupina na svém

povrchu vykazuje, přičemž je v závorce ponecháno staré označení písmenem – např. skupina dříve označovaná jako O: B je dnes značena jako O: 4 (B) (Grimont a Weill, 2007). Podstata antigenu O spočívá v tom (Baron et al., 1986), že polysacharidová část molekuly vyčnívá ze zevní membrány a je tvořena různými sacharidy specifickými pro určitý druh či sérotyp bakterie.

V antigen je povrchový antigen překrývající O antigen. Je přítomen pouze u několika sérotypů, nejdůležitější je *Salmonella typhi* (Baron et al., 1986). Povrchové antigeny polysacharidové překrývají somatické antigeny a brání jejich aglutinaci. Antigenní specifitu určují až postranní řetězce, jelikož dřevná část O antigenu je společná pro všechny enterobakterie (Bednář a kol., 1994). V antigen je základem vakcíny používané jako prevence proti onemocnění břišním tyfem. Její aplikace je doporučována především při cestování do zemí jihovýchodní Asie, účinnost očkování je udávána v rozmezí 35 % – 96 % v závislosti na dodržení doporučených postupů (Whitaker a kol., 2009).

Biochemická identifikace salmonel byla zjednodušena systémy, které umožňují rychlé testování 10-20 různých biochemických parametrů současně. Biochemická identifikace salmonel může být poté dourčena analýzou O a H antigenů použitím specifických polyvalentních antisér. Naštěstí přibližně 95% všech klinických izolátů může být identifikováno pomocí typovacích antisér skupin A-E. Izoláty salmonel mohou být poslány do Národní referenční laboratoře pro další serologické dourčení a konfirmaci (Baron et al., 1986).

Některé sérotypy jsou úzce adaptovány na svého hostitele, můžeme zde jmenovat např. *S. typhi* a *S. paratyphi* s adaptací na člověka. Představují přechodný typ mezi tyfoidními gastroenterickými salmonelami. *S. gallinarium*, vyskytující se u drůbeže, způsobující tyfus dospělé drůbeže. *S. choleraesuis*, projevující se u prasat, způsobuje enteritidy, latentní infekce střeva a septikémie. *S. dublin*, sérovar primárně adaptovaný na skot, způsobuje gastroenteritidy a septikemická onemocnění telat, potraty krav a latentní infekce dospělého skotu. Mnohé sérotypy však tuto vazbu na hostitele nemají, jsou to tzv. sérovary bez adaptace na jeden hostitelský druh, vyvolávají infekce zvířat a jsou přenosné na člověka nejčastěji prostřednictvím kontaminovaných potravin a vyvolávají tzv. sekundární salmonelózy. K nejčastějším z nich patří tyto sérovary: *S. typhimurium*, *S. enteritidis*, *S. agona*, *S. infantis*, *S. heidelberg*, *S. derby* a další (Bednář a kol., 1994; Internet 5). *Salmonella paratyphi* C je

vzácný sérovar, který se pravděpodobně vyvinul z prasečí salmonely (*S. choleraesuis*) (Beneš a kol., 2009).

Tabulka č. 1: Počty sérovarů v jednotlivých druzích/poddruzích *Salmonella enterica* a *Salmonella bongori*

DRUH/PODDRUH	POČET SÉROVARŮ	%
<i>Salmonella enterica</i>	2557	
- subsp. <i>enterica</i> / I	1 531	59%
- subsp. <i>salamae</i> / II	505	19%
- subsp. <i>arizonae</i> / IIIa	99	4%
- subsp. <i>diarizonae</i> / IIIb	336	13%
- subsp. <i>houtenae</i> / IV	73	3%
- subsp. <i>indica</i> / VI	13	1%
<i>Salmonella bongori</i>	22	1%
CELKEM	2579	100%

(Zdroj: Internet 6)

3.3.4 PCR metoda (Polymerase Chain Reaction)

Polymerázová řetězová reakce je metoda založená na amplifikaci daného úseku DNA zkoumané bakterie. Základem je matricová DNA, která se pomnoží pomocí enzymu polymerázy a primerů, které jsou smíchány v tzv. master mixu, navíc obsahují vodu, MgCl₂, pufr a dNTP. Velkou výhodou je rychlá, citlivá a spolehlivá detekce salmonel ze vzorků potravinového i klinického původu. Po namnožení DNA využíváme k vizualizaci

elektroforézu na agarózovém gelu, po obarvení např. ethidium bromidem či syber greenem (který se také využívá v metodě real-time PCR) (Persing et al., 2004).

Podstatou PCR je opakování se cyklů amplifikace vybrané sekvence nukleové kyseliny (Tang et al., 1997). Každý cyklus je složen ze tří jednoduchých reakcí, které probíhají za stejných podmínek a liší se pouze hodnotou použité reakční teploty. Tři reakce zahrnují denaturaci, annealing a extenzi (Millar et al., 2007). Výsledkem procesu je nově vytvořená dvouřetězcová DNA, tzv. amplikon. Protože dochází k amplifikaci obou řetězců matricové DNA, vzniknou v průběhu cyklu z jedné výchozí molekuly dva amplikony. V každém následujícím cyklu je počet amplikonů opět zdvojnásoben (Pavlík, 2005). Po proběhnutí n cyklů by mělo být ve finálním produktu obsaženo 2^n kopií původního templátu DNA (Millar et al., 2007).

Od roku 2012 se také využívá MLST (multilokusová sekvenační typizace) salmonel, která navazuje na klasickou metodu PCR a zařazuje bakterie do sekvenčních typů, které jsou dále vkládány do celosvětově sjednocené databáze na <http://mlst.ucc.ie/mlst/dbs/Senterica>. V poslední době se též hojně využívá metoda real-time PCR, která je výhodná oproti klasické metodě PCR v použití optického víka, které umožňuje sledovat průběh reakce. Další moderní metodou používanou k detekci salmonel je ionizační hmotnostní spektrometrie (MALDI-TOF MS), která má obrovský potenciál k identifikaci těchto bakterií a daný výsledek je odečitatelný během několika minut (Upraveno dle SZÚ).

Obrázek č. 8: Pracoviště pro přípravu amplifikačních reakcí (PCR metoda)



Obrázek č. 9: Termocykléry pro amplifikaci DNA fragmentů



Obrázek č. 10: Chlazená centrifuga pro čištění DNA fragmentů precipitací



Obrázek č. 11: Genetický analyzátor – sekvenátor ABI 3100xl



(Zdroj: Obrázek č. 8 – 11: Upraveno dle SZÚ)

3.4 Výskyt

Salmonely jsou všeobecně nenáročné na vnější podmínky, přežívají měsíce i léta v odpadcích, půdě a ve vodě. Mohou se rozmnožovat mimo tělo živočichů, především v potravinách živočišného či rostlinného původu (Rosický a kol., 1994). Tento rod je citlivý k běžným dezinfekčním prostředkům, dobře přežívají teploty okolo 4 °C i teploty zamražení, spolehlivě je však ničí teploty nad 70°C (Sedlák a Tomšíčková, 2006).

Salmonely jsou střevními patogeny u lidí i zvířat, domácích i divokých. Je těžké je vymýtit z prostředí, jelikož hlavním rezervoárem je drůbež a skot (Sedlák a Tomšíčková, 2006). Až na výjimky se nešíří z člověka na člověka. K nákaze u člověka dochází téměř výlučně orální cestou, a to potravinami, které nejsou zpracovány za vyšších teplot. Potraviny mají tedy ústřední postavení v šíření a pomnožování salmonel (Rosický a kol., 1994).

Denní činnost přípravy a výroby jídla se velmi úzce spojuje se zdravím planety, jelikož ingredience v jednom pokrmu mohou pocházet z četných místních i globálních zdrojů, přičemž si někteří spotřebitelé neuvědomují, že právě jejich zásoby jsou propojené v potravinovém řetězci po celém světě (Choffnes, 2012). Mezi typické potraviny, vhodné k šíření této bakterie, neodmyslitelně patří vejce či vaječné produkty, pocházející z různých průmyslů (cukrárenský, lahůdkářský atd.), dále maso, nejčastěji se jedná o maso drůbeží, ale není vyloučeno ani hovězí, vepřové či zvěřina. Z tohoto vyplývá, že potřebná a dostatečná hygiena musí být i u samotného ustájení zvířat a následného transportu a zpracování na jatkách, jelikož k prvotní kontaminaci dochází při samotné porážce (Brogden, 2002).

Salmonely také přežívají ve vodě, mléce, krmivech, ovoci či zelenině. Nedostatečnou hygienou se pak velice snadno dostanou přes zažívací trakt do těla hostitele (Rosický a kol., 1994).

Hlavními zdroji salmonelových infekcí lidí jsou rezervoárová zvířata. Zahrnují drůbež (slepice, brojler, krůty, husy a kachny), skot, prasata a všechny jejich produkty konzumované ve formě potravin. Drůbež se nakazí: a) infikovaným krmivem (v minulých letech hlavně prostřednictvím kostních, masokostních a rybích mouček), b) vertikálním přenosem z infikované kloaky na vejce, c) ze zevního prostředí kontaminovaného volně žijícími ptáky, hlodavci, domácími miláčky, ale i člověkem (Smith, 1971).

Přítomností salmonel nebyl ušetřen ani automobilový průmysl, letecký průmysl, železniční doprava, lodní doprava či turismus. S velkým přesunem lidí, zvířat i potravin dochází také k většímu šíření různých sérovarů salmonel a jejich následné rezistenci k antibiotikům (Rosický a kol., 1994). Kmen *Salmonella* spp., stejně jako *E. coli*, snadno získávají rezistenci vůči antibiotikům díky hojnému využívání u lidí či zvířat, využíváním ve velké míře v nemocnicích a u zvířat převážně v přídatku do krmných směsí, kde jsou antibiotika jedním ze základních komponentů (Bergey et al., 1984).

V řadě evropských zemí se v posledních letech v humánní populaci snižuje počet onemocnění vyvolaných *S. enteritidis* a narůstá počet *S. typhimurium*, fagotyp DT 104. Tento původce byl poprvé popsán v roce 1994 ve Velké Británii u skotu. Jde o patogen, který je charakterizován multirezistencí k antimikrobiálním látkám (ampicillinu, chloramfenikolu, streptomycinu, sulfonamidům a tetracyklinu) a jsou popsány případy rezistence i k trimetoprimu a ciprofloxacinu (Mastroeni et al., 2006).

3.5 Onemocnění zvířat

Rosický a kol. (1994) napsali, že většina hlavních kmenů obratlovců, kromě ryb může být typickými hostiteli nebo roznašeči různých sérovarů salmonel. Příslušný obratlovec buď onemocní, nebo je latentně nakažen, je rezervoárem salmonelózy nebo ji po určitou dobu roznáší. Onemocnění salmonelózou má poměrně krátkou inkubační dobu od několika hodin až po 7 dnů. Nejprve začíná horečkou, schváceností, netečností a po dvou dnech se dostavuje silný průjem.

U zvířat rozeznáváme tři hlavní syndromy, jedná se o septikémii, akutní enteritidu a chronickou enteritidu. Čerstvě narozená mláďata kolonizována touto bakterií hynou mezi 24-48 hodinami. Akutní enteritida je doprovázena horečkou, vodnatým trusem a vysokou mortalitou. U starších zvířat s chronickou enteritidou se setkáváme s vyhublostí a přerušovanou horečkou. Infekce je dále doprovázena častým zmetáním, pneumonií, selháním oběhu aj. Na srdci jsou histologicky prokazatelné změny. Salmonely se přenáší kontaminovaným krmivem, vodou, z jednoho zvířete na druhé (*S. typhimurium*), ale existují i jiné způsoby přenosu (Internet 7).

Salmonelóza u dojnic probíhá jako celkové onemocnění, lokální nebo latentní infekce. Latentní infekce bývá spojena i s bacilonosičstvím. Salmonelóza mléčné žlázy a celková sepse je vzácná. Nejčastější příčinou výskytu salmonel v mléce bývá sekundární kontaminace mléka během dojení, po nadojení nebo v průběhu zpracování mléka. Rezervoárem salmonel v prvovýrobě jsou zvířecí bacilonosiči - hospodářská a volně žijící zvířata a ptáci, méně často lidé (Rohrbach, 1992).

Některé zemědělské praxe přispěly ke zvýšení výskytu salmonel u hospodářských zvířat používáním některých proteinových doplňků v krmivech, jež měly za následek zvýšení hmotnosti zvířat, ale také byly vhodnými živinami pro bakterie kolonizující zažívací trakt zvířete. Dospělá hospodářská zvířata s touto bakterií v zažívacím traktu nejsou obvykle nemocná, takže jejich detekce je velice obtížná a bez použití drahých a časově náročných testů téměř nemožná. Během porážky může dojít velice snadno ke kontaminaci masa a kostry a následné rozšíření bakterií do potravin vyrobených z tohoto produktu. Například kontaminace vepřových půlek na jatkách, prostřednictvím střevního obsahu a mizních uzlin, je vysokým rizikem pro zdraví lidí. Výzkumný ústav veterinárního lékařství Brno uvádí:

„Zajištění kvality a zdravotní nezávadnosti živočišných produktů v celém produkčním řetězci je prioritou nejen veterinární služby, ale i celého agropotravinářského komplexu. Stoupající výskyt salmonelových infekcí v chovech prasat vyvolaný kmeny *S. choleraesuis* rezistentními k antibiotikům a přenos těchto patogenů živými zvířaty na jatka, kde kontaminují vepřové maso, je významný mezinárodní problém z hlediska ochrany zdraví lidí, který byl zjištěn teprve nedávno. Má dopady na ekonomiku a hygienicko-technologickou úroveň celého sektoru prasat – u chovatelů a producentů vepřového masa. Z těchto důvodů některé země Evropské unie přistoupily k povinnému bakteriologickému a sérologickému monitorování salmonel v chovech prasat“ (Internet 7).

Například u kuřat může infekce dosahovat úmrtnosti až 80 % zvířat v chovu. V prvních 3 až 5 dnech si ovšem mláďata vybudují proti salmonelám imunitu a poté k akutním průběhům nemoci již obvykle nedochází (Hui et al., 2001).

Dospělí jedinci (Torrence a Isaacson, 2003) většinou vykazují bezpříznakové nosičství, což pak může způsobit problém u potravinových zvířat, kdy může docházet ke kontaminaci produktů (masa, mléka a vajec).

Další přenos může probíhat prostřednictvím nakaženého vejce, kdy k osídlení může dojít na vnitřní či vnější straně pláště vajec a pokud jsou kontaminovaná vejce vystavena při pokojové teplotě po dlouhou dobu, bakterie se dále pomnožují (Salyers and Dixie, 2002).

Drůbeží maso a vejce mají u nás velký význam pro lidskou výživu a proto se v komerčních podmínkách chová velké množství drůbeže. Ve snaze zabránit přenosu salmonel do potravinového řetězce se provádějí rozsáhlé kontroly a depistáže hejn drůbeže v rámci ozdravovacích programů. Zlepšení hygieny, zdravotní péče a životních podmínek však také vedly ke zvýšení kvality a délky našeho života (Forsytie, 2010; Sedlák a Tomšíčková, 2006).

Nejrozšířenějším kmenem v chovu brojlerových kuřat je *S. gallinarium*, pokud se vyskytne v chovech tato zoonóza, musí se zahájit protinákazová opatření, která zpravidla vedou k uzavření chovu, povolí se (či nepovolí) mimořádné porážky a u nakažených nosnic dojde k neškodnému odstraňování vajec, jelikož světová zdravotnická organizace považuje nemoci přenosné potravinami za velmi významný zdravotní problém současné doby (Rosický a kol., 1994).

U nemocných kuřat je možno izolovat salmonely z povrchu tenkého, tlustého a slepého střeva. Sliznice tlustého střeva bývá ztenčena, v kryptách se vytváří četné abscesy. Nekroticky změněné buňky lze prokázat v celé šíři lamina propria. V luminu střev se hromadí odumřelé leukocyty a zbytky slizničních buněk. V zánětlivě změněných úsecích cekální sliznice i v obsahu střev lze prokázat velké množství salmonel. Přibližně třetí den po infekci pronikají salmonely do tkáně jater prostřednictvím makrofágů, v nichž se pomnožují. Klinicky se u kuřat onemocnění projevuje nechutenstvím, nervovými příznaky, průjemem nebo naopak ucpáním kloaky výkaly. K úhynům dochází v prvních dvou týdnech života. Nejvyšší ztráty se zjišťují šestý až desátý den po vylíhnutí. U dospělých slepic, krůt, kachen a hus probíhá onemocnění asymptomaticky. Výsledkem je však vznik bacilonosičů, kteří vylučují salmonely po celý zbytek života. Stejně je tomu u mladých jedinců, kteří infekci přežijí. K častým vylučovatelům salmonel patří kuřata a kachňata (2,6 – 55 %), zatímco u krůt a housat dochází k vylučování salmonel vzácněji (přibližně 5,2 %). Počet salmonelózních infekcí lidí, v důsledku špatně připravovaných krutích specialit se v poslední době značně zvyšuje. V USA se v těchto případech nejčastěji jedná o infekce *S. Agona* a *S. Hadar* (Prost et al., 1967; Luby et al., 1993; Henderson et al., 1999).

U dospělého skotu začíná onemocnění vysokou horečkou a příměsí sražené krve ve výkalech. V další fázi se objevuje průjem, při kterém teplota těla klesá na fyziologické hodnoty. Nápadná je bolestivost břišní krajiny. V důsledku masivního pomnožení salmonel v placentě často dochází k potratům. Část infikovaných zvířat během několika dnů uhynie. Zbývající část, která se uzdraví, se stává bacilonosiči. U dospělého skotu převažuje sporadický výskyt onemocnění. U telat, která jsou vnímavější, naopak převládá epizootický výskyt s častými úhyny. Klinické příznaky se projevují horečkou a profúzními průjmy. Dehydratace vede k rychlému hubnutí. Dochází ke stimulaci exkrece chloridů a k inhibici vstřebávání sodíku. U telat následně vzniká fatálně probíhající septikémie anebo těžká pneumonie (Girdwood et al., 1985; Acha, 1989).

U prasat bývá zdrojem infekce nakažené zvíře nebo kontaminované prostředí stájí. Největší význam pro přenos infekce mají asymptomní bacilonosiči, kteří dlouhodobě vylučují salmonely výkaly. Kontinuální vylučování se zjišťuje zřídka. I když mohou onemocnět prasnice a jejich vrhy (tzn. vertikální přenos), nejdůležitější je fekálně-orální přenos nebo přenos přímým stykem s nakaženým prasetem. Nevylučuje se ani aerogenní šíření infekce, ke kterému dochází především na kratší vzdálenosti, přibližně do vzdálenosti 1,5 m. Pitnou

vodou se prasata nakazí zřídka. Dochází k tomu jedině v případech, kdy se k napájení používá kontaminovaná povrchová voda. Přenos infekce se uskutečňuje i kontaminovaným krmivem. Na vzniku průběhu onemocnění se podílejí hlavně stresory. K infekci dochází v prvních týdnech po přesunu prasat. Za dva až tři týdny po smíchání selat z různých zdrojů v odchovnách nebo u mladých prasat ve výkrmu, se zjišťuje 80 – 100 % prevalence salmonel v chovu. Část prasat (5 – 30 %) vylučuje salmonely i v konečných fázích výkrmu (Williams et al., 1969).

V poslední době nabývá na významu výskyt salmonel v rostlinných produktech a nákazy spojené s konzumací těchto produktů. Zde se může jednat o kontaminaci půdy organickým hnojivem nebo závlahovou vodou (Buck et al., 2003).

3.6 Příznaky a průběh onemocnění u lidí

K přenosu na člověka dochází kontaktem s infikovanými zvířaty, aerogenní infekcí a hlavně kontaminovanými potravinami. Přímému kontaktu jsou vystaveni především lidé, kteří opakovaně, v důsledku svého povolání, přicházejí do styku s infikovanými zvířaty, která vylučují různé sérotypy salmonelových výkalů. Jedná se zejména o chovatele hospodářských zvířat, veterinární lékaře a zootekny, ale také o lidi, kteří přicházejí do styku s jejich masem, tedy zaměstnance jatek pracujících v porážkových halách, ale i o řezníky v bourárnách masa. Dále jsou to zaměstnanci restaurací, jídelen, podniků rychlé obsluhy (fast-food), ale i pracovníci hygienické služby, zabývající se kanalizací a odpadními vodami (Clarenburg, 1964). Děti a rodinní příslušníci se mohou nakazit od zvířat chovaných v domácnostech, tedy převážně od psů a koček nebo i od exotických zvířat. V USA 3 % a v Kanadě 5 % domácností běžně chová papoušky, králíky, leguány, hady, želvy a ježky (Cohen et al., 1980). K hromadným infekcím dětí *S. Enteritidis* dochází při návštěvě pavilonů plazů v zoologických zahradách (Friedman et al., 1998).

Naprostá většina salmonelových infekcí lidí probíhá asymptomaticky nebo s mírným průběhem, při kterém pacient lékaře nevyhledává. Proto skutečná incidence těchto infekcí mnohokrát (průměrně 38 krát) převyšuje počet hlášených onemocnění. Gastrointestinální forma je nejčastějším projevem netyfoidních salmonelových infekcí. Může být vyvolána kterýmkoliv ze známých sérotypů *Salmonella enteritidis*. Inkubační doba závisí na velikosti inokula. Kolísá od 5 – 72 hodin (průměr 12 – 48 hodin). Onemocnění začíná tím, že se člověk „necítí ve své kůži (tzv. malaise)“ a má nucení na zvracení (nausea). Později se objevuje mírná horečka, bolest hlavy a zvracení. Značná část těchto onemocnění probíhá mírně a pacient se uzdraví bez léčení. Občas se objeví jen vodnatá stolice nebo průjmy, které trvají dva až tři dny. U těžší formy akutní gastroenteritidy se zjišťuje horečka (38 – 39 °C), která trvá jeden až dva dny, jindy pět až sedm dní. Zprvu vodnatá, značně zapáchající stolice a mírné průjmové onemocnění se mění na profúzní průjmy s kolikovými bolestmi lokalizovanými nejprve v periumbilikální krajině, později i v pravém spodním kvadrantu. Vodnatá až zeleně zbarvená stolice, doprovázená těžkou dehydratací, značně pacienty vyčerpává. Kůže bývá studená a pokrytá lepkavým potem. Celkový stav pacienta připomíná cholera (tzv. cholera nostras). Silné bolesti v pravém spodním hypogastriu mohou imitovat

akutní apendicitidu, zánět žlučového měchýře nebo prasklý žaludeční či duodenální vřed. Pocit bolestivého nutkání na stolicí často přetrvává (Saphra a Winter, 1957).

Salmonelové infekce většinou postihují tenké střevo. Někdy se však mohou projevovat i kolitidami doprovázenými ulcerací sliznice slepého střeva a krvácením s následnou trvalou dilatací tlustého střeva, která se označuje jako toxický megacolon. V takovém případě se u pacienta zjistí intenzivní a stále se stupňující bolest v břišní krajině. Střevní peristaltika je výrazně snížena. Horečnatý stav, doprovázený dehydratací a výraznou leukocytózou, přechází v celkovou apatii. Suspektní diagnózu potvrdí RTG vyšetření, kterým se prokáže dilatace kolonu, dosahující v příčném průměru 6 až 8 cm a pozitivní průkaz salmonel v krvi anebo ve stolici. V takovém případě život pacienta zachrání jen rychlý chirurgický zákrok, zaměřený na resekci postiženého úseku střeva doplněný o ileorektální anastomózu. Nutná je intenzivní léčba antibiotiky, doplněná o vysoké dávky kortikosteroidů (Chaudhuri a Bekdash, 2002).

3.7 Prevence a léčba

Prevence salmonelových infekcí lidí musí vycházet z tlumení salmonelózy u zvířat. U prasat se osvědčily národní kontrolní programy, které v některých zemích (např. Dánsko, Švédsko apod.) vedly nejen k výraznému snížení počtu zamořených chovů, ale i ke snížení výskytu salmonelových infekcí u lidí (Wahlström et al., 2000; Nielsen et al., 2001). U drůbeže kromě vyšetřování šťávy masa z brojlerů se všechny větší (tj. nad 250 ks) plemenné chovy a líhně monitorují na případný výskyt *S. enteritidis* a *S. typhimurium*. U všech slepic (ve věku čtyř týdnů a dva týdny před snůškou) se kultivačně vyšetřují skupinové vzorky výkalů. V líhních se každých 14 dní kultivačně vyšetřuje mekonium a uhynulá kuřata ve vejcích (OIE World Organisation for Animal Health, 2004).

Z preventivních opatření se v chovech doporučuje uzavřený obrat stáda. Pokud se však nelze bez nákupu obejít, je třeba získávat zvířata z nezamořených chovů a ustátit je v malých skupinách. Je nutno omezit na nejmenší míru míchání zvířat z různých zdrojů a jednotlivé komponenty pro přípravu krmiv sterilizovat. Zároveň je nutno zajistit zdroje nezávadné pitné vody (zejména na pastvě) a zabránit přístupu volně žijících ptáků a hlodavců do stájí. Před nákupem nových turnusů je třeba důsledně provádět mechanickou očistu, dezinfekci a deratizaci. Stejně tak je nutno monitorovat zvířata v chovu a následně vylučovat pozitivní

reagenty. V chovech drůbeže se doporučuje provádět očistu vajec a fumigovat inkubátory (WHO, 1993; Hancock et al., 2000).

Jelikož byl v mnohých studiích prokázán vztah mezi používáním antibiotik k podpoře růstu hospodářských zvířat a zvyšováním antibiotické rezistence u humánních bakteriálních izolátů, platí od 1. 1. 2006 v Evropské unii zákaz používání antibiotik jako růstových stimulátorů (Nařízení evropského parlamentu a rady (ES), 2003).

Akutní gastroenteritidu není nutno léčit antibiotiky (Havlík a kol., 2002), protože by mohlo dojít k prodloužení doby exkrece salmonel stolicí. Důraz se klade na symptomatickou léčbu. Rozhodující je perorální rehydratace, ať už se použijí roztoky elektrolytů, čaj nebo stolní minerálky bez CO₂. Důležitá je častá aplikace, která se zprvu provádí pouze po lžičkách. Později již nemocný pije podle žízně. Po dobu průjmů (+ 1 den navíc) lze z léků použít Endiaron (u dospělých 3x denně 1 – 2 tbl.). U dětí se spíše doporučují suspenze (3 x 1/2 – 2 odměrky denně) doplněné o adstringentní látky s obsahem kyseliny tříslové a dalších adsorbencí (např. Smecta nebo živočišné uhlí či kaolin).

3.8 Mapování

Zoonózy jsou infekce, které jsou přenosné mezi zvířaty a lidmi. V roce 2008 předložilo 25 členských států Evropské unie a dvě další země, Evropské komisi a Evropskému úřadu pro bezpečnost potravin, informace o výskytu antimikrobiální odolnosti u zoonotických bakterií pocházejících ze zvířat a potravin. Kvantitativní a kvalitativní údaje o antimikrobiální rezistenci byly hlášeny u bakterií *Salmonella*, *Campylobacter* a *Escherichia coli*, jež byly izolovány z drůbeže, prasat a skotu. Byla hlášena vysoká hodnota rezistence na fluorochinolony u salmonel v drůbeži. Jedná se o znepokojující informaci, jelikož fluorochinolony patří do velmi důležitých antimikrobiálních látek v humánní medicíně (Internet 10).

Výskyt salmonel u krůt je považován za velké riziko u široké veřejnosti, z důvodu konzumace kontaminovaného masa těchto zvířat. Agenda EFSA bude podporovat každou snahu Evropské komise o stanovení nových cílů kontroly salmonel u krůt.

V novém stanovisku experti z vědeckého Panelu EFSA pro biologická rizika (BIOHAZ) identifikovali hlavní sérovary salmonel vyskytující se u krůt a naznačují, že přenos z uznaných chovů drůbeže do výkrmových hejn je významným zdrojem infekce salmonelou, stejně jako z takových zdrojů, jakými jsou kontaminovaná krmiva nebo technologická zařízení pro chov krůt. Pomocí modelu hodnocení vyvinutého k poskytování kvantitativních odhadů a analýzy údajů harmonizovaných na úrovni EU o výskytu salmonel u užitkových zvířat a na základě počtu hlášených případů salmonelózy u lidí (infekce způsobená salmonelami postihující lidský organismus), provedl Panel odhad relativního dopadu salmonel přenosných na člověka na veřejné zdraví u čtyř živočišných zdrojů: krůt, brojlerových slepic, nosnic a prasat. Snížení hladiny salmonel v roce 2012 o 1 % nebo méně u všech v modelu uvažovaných sérovarů v hejnech krůt ve výkrmu by vedlo podle odhadu k 2,2% redukci všech případů salmonelózy u lidí v rámci EU v porovnání s rokem 2010. Panel zdůraznil, že příspěvek jednotlivých členských zemí EU k odhadnutému snížení výskytu případů salmonelózy u lidí se velmi liší.

Cíle jsou stanoveny pro redukci některých sérovarů salmonely v různých populacích drůbeže a prasat v rámci právních předpisů EU o kontrole zoonóz (infekce nebo onemocnění přenosná mezi zvířaty a lidmi např. prostřednictvím konzumace kontaminovaného masa). Z doporučení týkajících se shromažďování údajů a kontrolních opatření Panel zdůraznil potřebu

posílit aktivní dozor ve všech členských zemích EU s cílem lépe odhadnout skutečný výskyt případů salmonelózy u lidí. Případy salmonelózy nemusí být vždy správně rozpoznány jako takové a také často mohou zůstat neohlášené (Internet 11).

Stoupající výskyt salmonelových infekcí v chovech prasat vyvolaný kmeny *Salmonella typhimurium* rezistentními k antibiotikům a přenos těchto patogenů živými zvířaty na jatka, kde kontaminují vepřové maso, je významný mezinárodní problém z hlediska ochrany zdraví lidí, který byl zjištěn teprve nedávno. Má dopady na ekonomiku a hygienicko-technologickou úroveň celého sektoru prasat – u chovatelů a producentů vepřového masa. Přímé ztráty způsobené klinickými projevy onemocnění a náklady na léčbu jsou mnohem nižší oproti nepřímým ztrátám na porážkách prasat, které ohrožují zdravotní nezávadnost vepřových produktů. Kontaminace vepřových pulek a technologických zařízení na jatkách salmonelami prostřednictvím střevního obsahu a mízních uzlin je vysokým rizikem pro zdraví lidí. Z těchto důvodů některé země Evropské unie přistoupily k povinnému bakteriologickému a sérologickému monitorování salmonel v chovech prasat (Van der Wolf, 2000).

Evropská komise podpořila řešení tohoto závažného problému a financovala v letech 1996 - 2000 výzkumný projekt s názvem „SALINPORK“ v programu FAIR, na němž se podílelo šest zemí – Dánsko, Holandsko, Německo, Řecko, Švédsko a Velká Británie. Cílem projektu bylo získat epidemiologické údaje o výskytu salmonel v jednotlivých zemích, vyvinout a ověřit nové diagnostické metody (zejména metodu ELISA k průkazu salmonelových protilátek v séru prasat a v masové šťávě) a vyhodnotit účinnost metod pro tlumení salmonel na farmách prasat a na jatkách.

Výměna informací na mezinárodním fóru a počet publikovaných prací týkajících se salmonel a jiných původců alimentárních nákaz přenášených vepřovým masem má vzestupný trend. V posledních letech byla uskutečněna v této problematice čtyři monotematická světová sympozia. První bylo v roce 1996 v USA v Ames, druhé v roce 1997 v Kodani, třetí v roce 1999 ve Washingtonu a čtvrté se konalo v roce 2001 v Lipsku (Van der Wolf, 2001).

Ve většině zemí Evropy převládá subklinická forma salmonelózy, kdy prasata po celou dobu výkrmu neustále vylučují salmonely trusem a přenášejí je na jatka. Prevalence salmonel v průběhu výkrmu prasat v trusu se pohybuje v rozmezí od 0 až do 60 % i více. Nejvyšší je zpravidla v odchovnách a v předvýkrmu u mladých prasat. Část prasat (5 – 10 %)

vylučuje salmonely trusem v nízkých počtech i po ukončení výkrmu. V průběhu transportu na jatka a při ustájení těsně před porážkou se infekce rozšiřuje na další prasata. Po porážení prasat a jejich evisceraci, která je hlavním rizikem, dochází ke znečištění vepřového masa trusem a tkání rozříznutých mízních uzlin. Při nedodržování technologických postupů a hygienických předpisů na jatkách jsou suroviny křížově kontaminovány salmonelami (Baggesen et al., 1996; Stege et al., 2000).

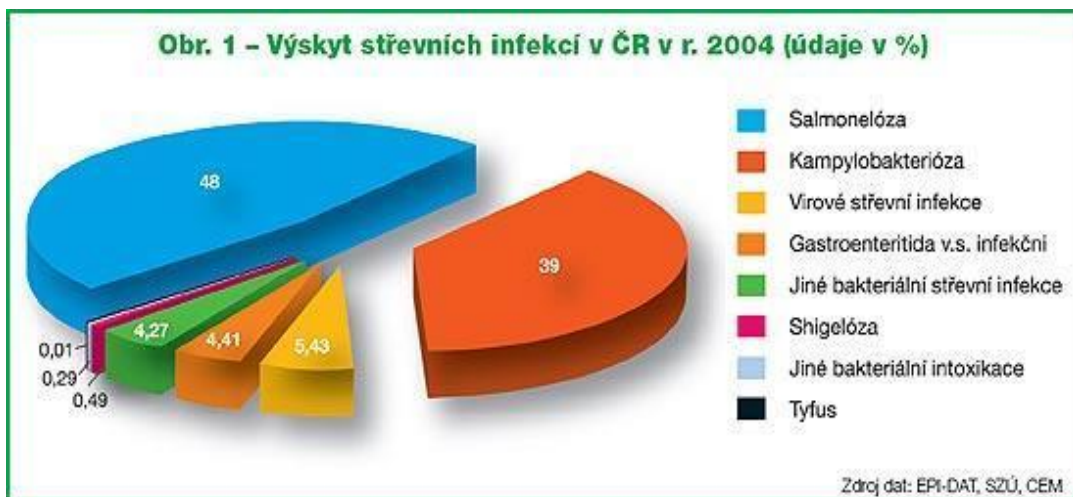
Tabulka č. 2: Na základě údajů z databáze EPIDAT byl vytvořen přehled o počtu případů vybraných hlášených infekcí v České republice. Rok 2009 byl porovnán s lety 2000–2008.

Rok	Salmonelóza
2000	40233
2001	33594
2002	27964
2003	26899
2004	30724
2005	32927
2006	25102
2007	18204
2008	11009
2009	10805

(Zdroj, dostupný z: Zprávy epidemiologie a mikrobiologie (SZÚ, Praha) 19, 2010, č. 1–2, s. 1–2)

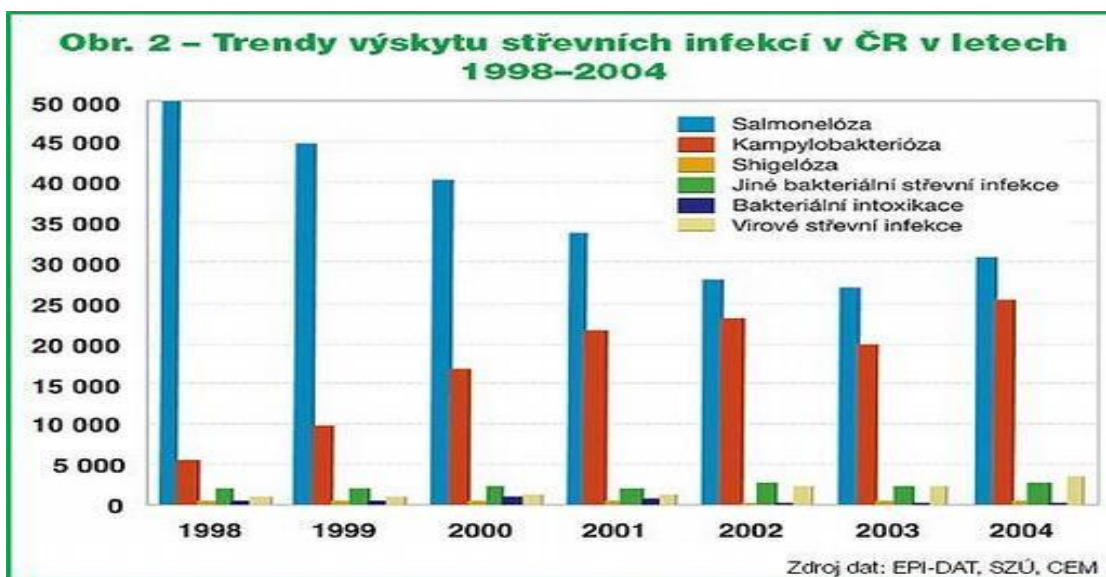
Salmonelóza byla v roce 2008 v EU druhou nejčastěji hlášenou zoonózou u člověka. Celkem bylo hlášeno 131 468 potvrzených případů. Statisticky významný pokles salmonelóz v EU pokračoval již pátý rok po sobě. Zejména se výrazně snížily případy u lidí vyvolané *S. enteritidis*, přičemž je pozorován nárůst *S. typhimurium* v potravinách. Salmonely byly nejčastěji zjištěny v čerstvém drůbežím mase (5,1 %), krůtím mase (5,6 %) a vepřovém mase (0,6 %). Častější případy kontaminace byly hlášeny v klíčcích, bylinách a koření. Salmonela byla zřídka zjištěna u jiných potravin, jako jsou mléčné výrobky, ovoce a zelenina. Významné snížení výskytu *S. enteritidis* a *S. typhimurium* bylo zaznamenáno u nosnic. I v ČR se zaznamenal významný pokles salmonel v chovech drůbeže, a to především díky programům na tlumení salmonel. To zřejmě mělo i vliv na výskyt salmonelóz u lidí, kdy v roce 2008 došlo v rámci EU k nejvýznamnějšímu poklesu právě v ČR (Internet 12).

Graf č. 1: Výskyt střevních infekcí v ČR v roce 2004



(Zdroj: Internet 8)

Graf č. 2: Trendy výskytu střevních infekcí v ČR v letech 1998-2004



(Zdroj: Internet 9)

4 ZÁVĚR

V Evropské unii je zaveden systém sledování a shromažďování informací o zoonózách, který je postaven a založen na směrnici 2003/99/ES, jež zavazuje členské státy Evropské unie ke sběru dat o výskytu zoonóz, jejich původců, populací zvířat, antimikrobiální rezistence a mapování nebezpečných potravinových ohnisek. EFSA má za úkol zkoumání těchto údajů a zveřejňování ročních zpráv Evropské unie, společně ve spolupráci s Evropským střediskem pro prevenci a kontrolu nemocí (ECDC). ECDC poskytuje a analyzuje údaje o původcích infekcí u lidí. Tyto zprávy tedy ukazují na měnící se stav daného patogena, způsobující infekce u lidí a zvířat.

Výskyt salmonelové populace v ČR každým rokem klesá a díky správné hygieně, pravidelně probíhajícím kontrolám, mapování, výměně informací mezi státy EU a dostatečné informovanosti široké veřejnosti, lze tuto zoonózu dobře kontrolovat a tlumit. I přes velkou snahu však nelze tento kmen zcela vymístit.

Význam zdravotní nezávadnosti potravin je velice důležitý v prevenci alimentárních onemocnění. K ochraně před zdravotně nezávadnými potravinami slouží hygienická pravidla, z nichž ta nejdůležitější shrnula WHO pod názvem **10 zlatých pravidel**.

- 1) Správný výběr potravin - zejména aby byly potraviny vyrobeny technologií, která podporuje zdravotní nezávadnost (pasterované mléko, radiačně ošetřená kuřata).
- 2) Dokonalá tepelná úprava potravin - dosáhnout teploty nejméně 70 °C ve všech částech potraviny.
- 3) Konzumace pokrmů - ihned po jejich uvaření.
- 4) Skladování potravin po jejich tepelné úpravě - při 60 °C by se měly uchovávat uvařené potraviny do doby jejich podávání. Po vychladnutí uvařeného pokrmu by skladování mělo být v lednici při teplotě 10 °C. Potraviny po uvaření, které jsou určeny pro děti, by se neměly uchovávat vůbec. Vložit velké množství teplé potraviny do chladničky je zásadní chybou, z důvodu množení mikroorganismů.

- 5) Ohřívání již jednou uvařených potravin velice důkladně - opět platí teplota 70 °C ve všech částech potraviny.
- 6) Zabránění styku mezi syrovými a uvařenými potravinami - nepoužívat stejné kuchyňské náčiní pro syrové a již uvařené potraviny.
- 7) Opakované mytí rukou - které by mělo probíhat po návratu z toalety, po každém přerušení a návratu k práci v kuchyni, po manipulaci s dětmi, zvířaty a syrovým masem.
- 8) Udržování čistoty na kuchyňských plochách.
- 9) Ochrana potravin před hmyzem, hlodavci a jinými zvířaty.
- 10) Používání nezávadné vody (WHO, 1989).

5 LITERATURA

ACHA, P. N., SZYFRES, B. 1989. Zoonoses and communicable diseases common to man and animals. Pan American Health Organization Publishing No. 500. p. 147-155.

BARON, S., PARK, M. 1986. Medical microbiology. 2nd ed.. California: Addison-Wesley, Health Sciences Division. p. 1262. ISBN: 02-011-0176-9.

BEDNÁŘ, M., FRAŇKOVÁ, V., SCHINDLER, J., SOUČEK, A., VÁVRA, J. 1996. Lékařská mikrobiologie. 1. vydání. Praha: Marvil.

BEDNÁŘ, M., SOUČEK, A., VÁVRA, J. 1994. Lékařská speciální mikrobiologie a parazitologie. 3. vyd. Academia. Praha: Triton. s. 226. ISBN: 80-901-5214-7.

BELL, C. H., KYRIAKIDES, A. 2001. Salmonella: a practical approach to the organism and its control in foods. Malden, MA: Blackwell Science. p. 330. ISBN: 06-320-5519-7.

BENEŠ, J. 2009. Infekční lékařství. 1. vydání. Praha: Galén. s. 651. ISBN: 978-807-2626-441.

BERGEY, D., KRIEG, N. D., HOLT, J. G. 1984 – 1989. Bergey's manual of systematic bacteriology. Baltimore: Williams, 4th ed. p. 2648. ISBN: 0683041088.

BROGDEN, K. A., GUTHMILLER, J. M.. 2002. Polymicrobial diseases. Washington, D.C. ASM Press. p. 427. ISBN: 15-558-1244-9.

BUCK, J. W., WALCOTT, R. R., BEUCHAT, L. R. 2003. Recent trends in microbiological safety of fruits and vegetables. Plant health progress, 10..1094/PHP-2003-0121-01-RV.

CLARENBURG, A. 1964. Salmonellosis. In: Zoonoses. Van der Hoeden eds. Elsevier. p. 131-161.

COHEN, M. L., POTTER, M., POLLARD, R., FELDMAN, R. A. 1980. Turtle-associated salmonellosis in the United States. Effect of Public Health Action. JAMA, 243. p. 1247-1249.

EL - GAZZAR, F. E., MARTH, E. H. 1992. Salmonellae, salmonellosis, a dairy foods: a review. Journal of dairy science, 75(9): 2327-2343.

- EWING, W. H. 1986. Edwards and Ewing's identification of Enterobacteriaceae. New York; 4th ed. Elsevier Science Publishing Company Inc. p. 536. ISBN: 0-444-00981-7.
- FORSYTHE, S. 2010. The microbiology of safe food. 2nd ed. Ames, Iowa: Blackwell Pub. p. 496. ISBN: 978-140-5140-058.
- FRIEDMAN, C. R., TORIGIAN, C., SHILLAM, P. Y. 1998. An outbreak of salmonellosis among children attending a reptile exhibit at a zoo. *Journal Pediatr*, 132: 802-807.
- GIRDWOOD, R. W. A., FRICKER, C. R., MUNRO, D. 1985. The incidence and significance of salmonella carriage by gulls (*Larus* spp.) in Scotland. *The Journal of hygiene*, 95(2): 229-241.
- GRIMONT P. A. D., WEILL, F. X. 2007. Antigenic formulae of the Salmonella serovars. WHO Collaborating Centre for Reference and Research on Salmonella, Institut Pasteur, Paris. p. 7-8, 13, 17-107.
- HANCOCK, D., BESSER, T., GAY, J., RICE, D., DAVIS, M., GAY, C. 2000. The Global Epidemiology of multiresistant Salmonella enterica Serovar Typhimurium DT 104. In: *Emerging Diseases of Animals*. Washington D.C.; Brown C. and Bolin C. eds. ASM Press, p. 217-243.
- HAVLÍK, J., GÖPFERTO VÁ, D., MAREŠOVÁ, V., ROHÁČOVÁ, H., VANIŠTA, J. 2002. *Infekční nemoci*. Galén-Praha. s. 174.
- HENDERSON, S., BOUNOUS, D. I., LEE, M. D. 1999. Early events in the pathogenesis of avian salmonellosis. *Infection and immunity*, 67(7): 3580-3586.
- HUI, Y. H., PIERSON, M. D., GORHAM, J. K. 2001. *Foodborne disease handbook, volume 1: Bacterial pathogens*. 2nd ed.. Dekker/CRC Press, New York. p. 269.
- CHAUDHURI, A., BEKDASH, H. 2002. Toxic megacolon due to Salmonella: a case report and review of the literature. *International journal of colorectal disease*, 17(4): 275-279.
- CHOFFNES, E. R. 2012. Improving food safety through a one health approach: workshop summary. Washington, D.C.: National Academies Press. p. 395. ISBN: 03-092-5933-9.

- LE MINOR, L., POPOFF, M. Y. 1987. Request for an opinion. Designation of *Salmonella enterica* sp. nov., nom.rev., as the type and only species of the genus *Salmonella*. *International journal of systematic bacteriology*, 37(4): 465-468.
- LUBY, S. P., JONES, J. L., HORAN, J. M. 1993. A Large salmonellosis outbreak associated with a frequently penalized restaurant. *Epidemiology and infection*, 110(01): 31-39.
- MACELA, A., STULÍK, J., TREBICHA VSKÝ, I., KROČA, M., JANO VSKÁ, S. 2006. *Infekční choroby a intracelulární parazitismus bakterií*. Grada Publishing, Praha, s. 30-31
- MASTROENI, P., MASKELL, D. 2006. *Salmonella infections: clinical, immunological, and molecular aspects*. 1st edition. New York, Cambridge University Press. p. 381. ISBN: 10-0-521-83504-6.
- McQUISTON, J. R., FIELDS, P. I., TAUXE, R. V., LOGSTON, J. M. 2008. Do *Salmonella* carry spare tyres? *Trends in microbiology*, 16(4): 142–148.
- MILLAR, B. C., XU, J., MOORE, J. E. 2007. Molecular diagnostics of medically important bacterial infections. *Molecular Diagnostics: Current Technology And Applications*. p. 179.
- MIMS, C. A., PLAYFAIR, J. H. L., ROITT, I. M., WAKELIN, D., WILLIAMS, R. 1993. *Medical microbiology: cellular and molecular biology*. 2nd ed. St. Louis: Mosby. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 11: 164–167. ISBN: 03-974-4631-4.
- Molecular Methods for *Salmonella*. Biotracer.org [online]. 2008 [cit. 2013-01-02]. Dostupné z: <http://www.biotracer.org/molecular-methods-for-salmonella/>
- NAŘÍZENÍ EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY (ES) 1831/2003, ze dne 22. září 2003, o doplňkových látkách používaných ve výživě zvířat. *Úř. věst.* 2003, L 268, s. 29.
- NEIDHARDT, F. C., CURTISS, R.. 1996. *Escherichia coli* and *Salmonella*: cellular and molecular biology. 2nd ed. Washington, D.C.: ASM Press. p. 2822. ISBN: 15-558-1084-5.
- NIELSEN, B., ALBAN, L., STEGE, H., SORENSEN, L. L., MOGELMOSE, V., BAGGER J. 2001. A new salmonella surveillance and control programme in Danish pig herds and slaughterhouses. *Berl Münch Tierztl Wochenschr*; 114: 323-326.

- O., WOZNICOVÁ, V. 2000. Lékařská mikrobiologie. Přehled vyšetřovacích metod v lékařské mikrobiologii. 1. vydání. Brno. Masarykova univerzita v Brně. s. 310. ISBN: 80-210-2272-8.
- OIE WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH. 2004. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. 5th edit. p. 1-20.
- PAVLÍK, E. 2005. Molekulárně biologické techniky pro mikrobiologickou diagnostiku - část 3. Univerzita Karlova, 1. LF UK, Ústav pro lékařskou mikrobiologii. s. 25.
- PENNER, J. L. 1988. International committee on systematic bacteriology taxonomic subcommittee on enterobacteriaceae. International Journal of Systematic Bacteriology, 38(2): 223-224.
- PERSING, D. H., TENOVER, F. C., VERSALOVIC, J., TANG, Y. W., UNGER, E. R., RELMAN, D. A., WHITE, T. J. 2004. Molecular microbiology: diagnostic principles and practice. Washington, D.C.: ASM Press. p. 724. ISBN: 15-558-1221-X.
- POPOFF, M. Y., BOCKEMÜHL, J., BRENNER, F. W. 2000. Supplement 1998 (no. 42) to the Kauffman-white scheme. Research in microbiology, 151(1): 63-65.
- PROST, E., RIEMAN, H. 1967. Food-Borne Salmonellosis. Annual Reviews in Microbiology, 21(1): 495-528.
- ROHRBACH, B. W. 1992. Prevalence of *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter jejuni*, *Yersinia enterocolitica* and *Salmonella* in Bulk Tank Milk: Risk Factors and Risk of Human Exposure. Journal of Food Protection, 55: 93-97.
- ROSICKÝ, B., SIXI, W. 1994. Salmonelózy: aktuální informace pro lékaře, veterinární lékaře a potravinářskou praxi. 1. Vydání. Praha: Scientia Medica. s. 199. ISBN: 80-855-2623-9.
- SALYERS, A. A., WHITT, D. D. 2002. Bacterial pathogenesis: a molecular approach. 2nd ed. Washington, D.C.: ASM Press. p. 539. ISBN: 15-558-1171-X.
- SAPHRA, I., WINTER, J. W. 1957. Clinical manifestations of salmonellosis in man.: An evaluation of 7779 human infections identified at the New York Salmonella Center. The New England journal of medicine, 256(24): 1128-1136.

- SEDLÁČEK, I. 2007. Taxonomie prokaryot. 1. vydání. Brno: Masarykova univerzita. s. 270. ISBN: 80-210-4207-9.
- SEDLÁK, K., TOMŠÍČKOVÁ, M. 2006. Nebezpečné infekce zvířat a člověka. 1. vydání. Praha. s. 167. ISBN: 80-869-6007-2.
- SMITH, H. W. 1971. The epizootiology of salmonella infection in poultry. In: Poultry disease and world economy. eds. Gordon R. F., Freeman B. M. Poultry Disease and World Economy. p. 37-46.
- SPICER, J. W. 2000. Clinical bacteriology, mycology and parasitology. Edinburgh: Churchill Livingstone. Harcourt Publishers limited. p. 42.
- ŠILHÁNKOVÁ, L. 2002. Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology. Academia 2002. s. 260-262.
- ŠILHÁNKOVÁ, L. 2008. Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology. 3. vyd. Praha: Academia. s. 363. ISBN: 978-802-0017-031.
- TANG, Y. W., PROCOP, G. W., PERSING, D. H. 1997. Molecular diagnostics of infectious diseases. Clinical Chemistry, 43(11): 2021-2038.
- TAYLOR-PICKARD, J. A. 2008. Formula for the future: nutrition or pathology? : elevating performance and health in pigs and poultry. Wageningen: Wageningen Academic. p. 272. ISBN: 978-908-6860-883.
- TORRENCE, M. E., ISAACSON, R. E. 2003. Microbial food safety in animal agriculture: Current topics. Iowa state press, Iowa. p. 75–79.
- VAN DER WOLF, P. J. 2000. Salmonella in the pork production chain. Feasibility of salmonella-free pig production. Wijk bij Duurstede; ADDIX. p. 199.
- VAN DER WOLF, P. J., HENSEL, A. 2001. Towards successful control of Salmonella in pigs and pork. Berl Münch Tierärztl Wschr; 114: 321-322.
- VOTAVA, M. 2003. Lékařská mikrobiologie. 1. vydání. Brno: Masarykova univerzita. s. 309. ISBN: 80-210-2272-8.

- VOTAVA, M., OBDRŽÁLEK, V., ONDROVČÍK, P., RŮŽIČKA, F., ZAHRADNÍČEK, WAHLSTRÖM, H., ERIKSSON, E., NOLL, B., PLYM FORSELL, L., WIERUP, M., WOLLIN, R. 2000. The Swedish control of pig and pork production during 1999. In Proceedings of the 16th International Pig Veterinary Society Congress, Melbourne, Australia. p. 215.
- WHO Surveillance Newsletter. 1989. Golden Rules for Safe Food Preparation, Vol. 22. p. 5.
- WHO, FOODS. 2001. Expert Consultation on Risk Assessment of Microbiological Hazards in. Joint FAO / risk characterization of *Salmonella* spp. in eggs and broiler chickens and *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods: FAO headquarters, Rome, 30 April-4 May 2001. risk characterization of *Salmonella* spp. in eggs and broiler chickens and *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods. Rome: FAO and WHO. ISBN: 92-510-4608-5.
- WHO. 1993. Food safety measures for eggs and foods, containing eggs. World Health Forum, 14. p. 437-439.
- WILLIAMS, L. P., VAUGHN, J. P., SCOTT, A., BLANTON, V. A. 1969. Ten-mouth study on salmonella contamination in animal protein meals. Journal of the American Veterinary Medical Association. p. 155-174.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. 2002. Geneva: World Health Organization. ISBN: 925104872X.
- Zdroje a způsob přenosu salmonelových infekcí jako zoonóz – review. Zdroje a způsob přenosu salmonelových infekcí jako zoonóz – review [online]. 2008 [cit. 2012-11-27]. Dostupné z: http://www.vetweb.cz/informace-z-oboru/hospodarska-zvirata/Zdroje-a-zpusob-prenosu-salmonelovych-infekci-jako-zoonoz-%96-review__s1494x53730.html
- ZHANG, G. E., BROWN, W., GONZALEZ-ESCALONA, N. 2013. Comparison of real-time PCR, reverse transcriptase real-time PCR, loop-mediated isothermal amplification, and the FDA conventional microbiological method for the detection of *Salmonella* spp. in produce. Applied and environmental microbiology, 77(18). p. 6495-6501.

Elektronické zdroje:

Internet 1, dostupné z: <http://www.szu.cz/salmonely-identifikovane-v-nrl-pro-salmonely-v-letech-2005>

Internet 2, dostupné z: http://www.vetweb.cz/informace-z-oboru/hospodarska-zvirata/Zdroje-a-zpusob-prenosu-salmonelovych-infekci-jako-zoonoz-%96-review_s1494x53730.html

Internet 3, dostupné z:

http://www.szu.cz/uploads/documents/CeM/Zpravy_EM/18_2009/3_brezen/99_salmon.pdf

Internet 4, dostupné z:

http://fvl.vfu.cz/sekce_ustavy/mikrobiologie/mikrobiologie/praktikum11/index.html

Internet 5, dostupné z:

http://fvl.vfu.cz/sekce_ustavy/mikrobiologie/mikrobiologie/praktikum11/index.html

Internet 6, dostupné z:

http://www.szu.cz/uploads/documents/CeM/Zpravy_EM/18_2009/3_brezen/99_salmon.pdf

Internet 7, dostupné z: http://www.vetweb.cz/informace-z-oboru/hospodarska-zvirata/Salmonelove-infekce-prasat-%96-narustajici-zdravotni-problem_s1494x50085.html

Internet 8, dostupné z: <http://zdravi.e15.cz/clanek/postgradualni-medicina/virove-gastroenteritidy-173276>

Internet 9, dostupné z: <http://zdravi.e15.cz/clanek/postgradualni-medicina/virove-gastroenteritidy-173276>

Internet 10, dostupné z: <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/1658.htm>

Internet 11, dostupné z: http://www.vetweb.cz/Stanovisko-EFSA-k-odhadu-dopadu-novych-cilu-snizeni-salmonely-u-krut-na-verejne-zdravi_s1501x59805.html

Internet 12, dostupné z: <http://www.bezpecnostpotravin.cz/zoonoz-v-eu-ubyva.aspx>

Internet 13, dostupné z: <http://www.biotracer.org/molecular-methods-for-salmonella/>

6 Seznam zkratek

DNA - deoxyribonucleic acid

dNTP – deoxynukleotid trifosfát

ECDC - European Centre for Disease Prevention and Control

EFSA - European Food Safety Agency

ELISA - Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay

LIA - lysine-iron agar

MAL - maltóza, arabinóza, laktóza

MLST – multilokusová sekvenční typizace

PCR – Polymerase Chain Reaction

SZÚ – Statni zdravotni ustav

TSI - triple sugar iron agar

WHO – World Health Organization

WHOSIS – World Health Organization Statistical Information System

XLD - xylóza, laktóza, deochycholát

7 Přílohy

7.1 Seznam obrázků

Obrázek č. 1: <i>S. enterica</i> sérovar <i>typhimurium</i>	11
Obrázek č. 2: <i>Salmonella</i> spp. pod skenovacím mikroskopem.....	13
Obrázek č. 3: Kultivační průkaz – schéma.....	15
Obrázek č. 4: BGA medium.....	17
Obrázek č. 5: MCA medium.....	17
Obrázek č. 6: XLD medium.....	17
Obrázek č. 7: Rambach agar.....	17
Obrázek č. 8: Pracoviště pro přípravu amplifikačních reakcí (PCR metoda).....	23
Obrázek č. 9: Termocykléry pro amplifikaci DNA fragmentů.....	23
Obrázek č. 10: Chlazená centrifuga pro čištění DNA fragmentů precipitací.....	24
Obrázek č. 11: Genetický analyzátor – sekvenátor ABI 3100xl.....	24

7.2 Seznam tabulek a grafů

Tabulka č. 1: Počty sérovarů v jednotlivých druzích/poddruzích	21
Tabulka č. 2: Na základě údajů z databáze EPIDAT byl vytvořen přehled o počtu případů vybraných hlášených infekcí v České republice.	36
Graf č. 1: Výskyt střevních infekcí v ČR v roce 2004.....	38
Graf č. 2: Trendy výskytu střevních infekcí v ČR v letech 1998-2004.....	38