

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra mikrobiologie**



**Fakulta agrobiologie,  
potravinových a přírodních zdrojů**

**Patogenní mikroorganismy v potravinách**

**Bakalářská práce**

**Barbora Moravcová**

**Výživa a potraviny**

**Vedoucí práce Ing. Eva Popelářová, Ph.D.**

**© 2021 ČZU v Praze**

## **Čestné prohlášení**

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

V Praze dne 3.5. 2021

---

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala paní Ing. Evě Popelářové, Ph.D. za pomoc a odborné vedení při zpracování bakalářské práce, za vlídný přístup, trpělivost a cenné rady, které mi po celou dobu poskytovala.

Poděkování patří i mé rodině za umožnění studia a podporování při něm.

# Patogenní mikroorganismy v potravinách

## Souhrn

Alimentární onemocnění způsobená patogenními mikroorganismy ohrožují lidské zdraví, a i přes dodržování striktních hygienických zásad a postupů v potravinářském průmyslu počty hlášených onemocnění neklesají. Zajistit bezpečnost potravin nadále zůstává prioritou v národním systému bezpečnosti potravin České republiky a zemí Evropské unie.

Cílem práce byl literární přehled o patogenních mikroorganismech v potravinách. Bakterie rodu *Campylobacter*, *Salmonella*, *Yersinia*, *Listeria* a patogenní kmeny *Escherichia coli* jsou nejčastějšími původci zoonóz v zemích Evropské unie. Na prvním místě v počtu nakažených zůstává kampylobakterií, která se nejčastěji přenáší drůbežím masem. Z infekčních nemocí je dlouhodobě pozorována nejvyšší úmrtnost u listeriózy. Většina patogenních bakterií se nejrychleji množí v rozmezí teplot 10-50 °C. Nejvhodnější podmínky pro růst bakterií v potravinách jsou pH vyšší než 5 a hodnota vodní aktivity nad 0,95.

Ke vstupu patogenů do potravin může docházet v celém potravinářském řetězci během chovu zvířat, pěstování plodin, skladování, zpracování nebo také špatnou výrobní praxí. K eliminaci vstupu patogenů do potravin se využívá mezinárodně uznávaný systém HACCP, díky kterému lze lépe dohledat kritická místa pro vstup patogenů, a ty následně odstranit. Konečný spotřebitel představuje důležitý článek v kontaminaci potravin a může z velké části ovlivnit, zda k ní dojde či ne. Předpokladem je správné zacházení s potravinami během skladování a přípravy pokrmů, kdy je nezbytné používat odlišná náčiní na manipulaci se syrovými potravinami, které budou tepelně opracovány, a potravinami konzumovanými v syrovém stavu.

Rostoucí zájem spotřebitelů o čerstvé potraviny s minimálními konzervačními postupy vede ke snaze vyvíjet nové technologie, které jsou účinné, a zároveň šetrné k potravinám. Jsou zkoumány nové metody eliminace mikroorganismů, jako například ozonizace,  $\gamma$ -záření nebo použití bakteriofágů, které zanechávají potraviny čerstvé. Některé patogeny se přizpůsobily novým podmínkám prostředí a jejich přítomnost byla objevena v neobvyklých potravinách. Pro neustálý vývoj a přizpůsobování bakterií stále méně přívětivým podmínkám je nutné dále provádět výzkum a hledat nová řešení pro jejich eliminaci.

**Klíčová slova:** *Campylobacter*; *Escherichia coli*; kontaminace; *Listeria*; *Salmonella*

# Pathogenic microorganisms in food

## Summary

Alimentary infections caused by pathogenic microorganisms endanger human health and, despite strict hygiene in the food industry, the number of reported diseases is not declining. Ensuring food safety remains a priority in the national food safety system of the Czech Republic and the countries of the European Union.

The aim of this bachelor thesis is a literature review of pathogenic microorganisms in food. Genera of *Campylobacter*, *Salmonella*, *Yersinia*, *Listeria*, and pathogenic strains of *Escherichia coli* are the most common infectious agents of zoonoses in the European Union. Campylobacteriosis is the most common infectious disease in the countries of the European Union with poultry being the main source of infection. The highest mortality is long observed in listeriosis. The bacteria grow the fastest in the temperature range of 10–50 °C and the best conditions for the growth in food are pH above 5 and water activity above 0.95.

Food contamination occurs throughout the food chain during livestock farming, crop production, storage, food processing or poor hygiene during food preparation. HACCP is an international system that helps to eliminate pathogens in food through recognizing critical points in food processing. The end consumers have a significant influence on microbial food contamination. Furthermore, cautious food preparation and using different tools for handling heat-treated food and raw food is the best prevention.

The growing interest of consumers in fresh food is leading to developing new technologies while new methods eliminating microorganisms (ozonation,  $\gamma$ -radiation, bacteriophages) that leave food fresh are under research. Some pathogens have adapted to new environmental conditions and have been found in unusual foods. For the constant development and adaptation of bacteria to constantly less favourable conditions, further research and looking for new solutions to eliminate them are necessary.

**Keywords:** *Campylobacter*; *Escherichia coli*; food contamination; *Listeria*; *Salmonella*

## Obsah

<b>1</b>	<b>Úvod</b> .....	<b>8</b>
<b>2</b>	<b>Cíl práce</b> .....	<b>9</b>
<b>3</b>	<b>Mikroorganismy</b> .....	<b>10</b>
<b>3.1</b>	<b>Patogenita mikroorganismů</b> .....	<b>10</b>
<b>3.2</b>	<b>Mikroorganismy v potravinách</b> .....	<b>11</b>
3.2.1	Indikátorové mikroorganismy.....	12
3.2.2	Mikroorganismy způsobující kažení potravin .....	12
3.2.3	Původci alimentárních onemocnění.....	13
<b>4</b>	<b>Mikrobiální kontaminace potravin</b> .....	<b>15</b>
<b>4.1</b>	<b>Kontaminace v primární produkci</b> .....	<b>15</b>
<b>4.2</b>	<b>Kontaminace v potravinářském průmyslu</b> .....	<b>15</b>
<b>4.3</b>	<b>Kontaminace při přípravě pokrmů</b> .....	<b>16</b>
<b>5</b>	<b>Faktory ovlivňující růst mikroorganismů</b> .....	<b>17</b>
<b>5.1</b>	<b>Obsah živin</b> .....	<b>17</b>
<b>5.2</b>	<b>pH</b> .....	<b>17</b>
<b>5.3</b>	<b>Vodní aktivita</b> .....	<b>19</b>
<b>5.4</b>	<b>Teplota</b> .....	<b>20</b>
<b>5.5</b>	<b>Relativní vlhkost prostředí</b> .....	<b>21</b>
<b>6</b>	<b>Metody konzervování potravin</b> .....	<b>22</b>
<b>6.1</b>	<b>Tepelné zpracování</b> .....	<b>22</b>
<b>6.2</b>	<b>Snížení vodní aktivity</b> .....	<b>23</b>
<b>6.3</b>	<b>Ozařování</b> .....	<b>23</b>
<b>6.4</b>	<b>Antimikrobiální látky</b> .....	<b>24</b>
<b>6.5</b>	<b>Ozonizace</b> .....	<b>26</b>
<b>6.6</b>	<b>Protektivní mikroorganismy</b> .....	<b>26</b>
<b>6.7</b>	<b>Použití bakteriofágů</b> .....	<b>27</b>
<b>7</b>	<b>Přehled vybraných mikroorganismů přenášených potravinami</b> .....	<b>28</b>
<b>7.1</b>	<b>Rod <i>Campylobacter</i></b> .....	<b>28</b>
7.1.1	Výskyt.....	28
7.1.2	Kampylobakterióza .....	29
<b>7.2</b>	<b>Rod <i>Escherichia</i></b> .....	<b>29</b>
7.2.1	Výskyt.....	30
7.2.2	Onemocnění vyvolaná patogenními kmeny <i>Escherichia coli</i> .....	31
<b>7.3</b>	<b>Rod <i>Salmonella</i></b> .....	<b>31</b>
7.3.1	Výskyt.....	32
7.3.2	Salmonelóza.....	33
<b>7.4</b>	<b>Rod <i>Yersinia</i></b> .....	<b>33</b>

7.4.1	Výskyt.....	34
7.4.2	Yersinióza .....	35
<b>7.5</b>	<b>Rod <i>Listeria</i> .....</b>	<b>35</b>
7.5.1	Výskyt.....	36
7.5.2	Listerióza.....	37
<b>8</b>	<b>Monitoring výskytu nemocí.....</b>	<b>38</b>
8.1	Evropský úřad pro bezpečnost potravin.....	38
8.2	Evropské středisko pro prevenci a kontrolu nemocí .....	38
8.3	Informační systém infekční nemoci ISIN.....	38
<b>9</b>	<b>Výskyt nemocí v Evropě .....</b>	<b>40</b>
9.1	Kampylobakteriíza.....	40
9.2	Salmonelóza .....	42
9.3	Infekce vyvolané STEC.....	43
9.4	Yersinióza.....	45
9.5	Listerióza.....	46
<b>10</b>	<b>Bezpečnost potravin .....</b>	<b>48</b>
10.1	Legislativa .....	48
10.2	System HACCP.....	49
10.3	Preventivní opatření .....	49
<b>11</b>	<b>Závěr .....</b>	<b>51</b>
<b>12</b>	<b>Literatura.....</b>	<b>52</b>

# 1 Úvod

Potraviny představují ideální prostředí pro růst mikroorganismů, nicméně některé mikroorganismy mohou znehodnocovat potraviny a poškozovat zdraví člověka. Stupně závažnosti onemocnění způsobených patogenními mikroorganismy se liší od jednodenních nevolností po smrtelné následky (Maddox 2020). Ohrožené skupiny v populaci jsou především senioři, osoby se sníženou imunitou, těhotné ženy a malé děti. V důsledku toho je nezbytné zajistit zdravotní nezávadnost potravin (Tham & Danielsson-Tham 2013). Zabránit pronikání mikrobů do potravin má o to větší význam v důsledku neustále nově vznikajících rezistencí mikroorganismů na antibiotika (WHO 2017).

Nemoci způsobené patogenními látkami významně ovlivňují zdraví populace a mají velký dopad i na celosvětovou ekonomiku. Přibližně 40 % všech infekcí souvisejících s potravinami mají na svědomí patogenní bakterie (Ali et al. 2020). Světová zdravotnická organizace (WHO) v roce 2015 uvedla, že ročně onemocní přibližně 600 milionů osob v souvislosti s konzumací potravin. Podle odhadů ročně zemře okolo 420 000, z toho až 125 000 představují děti mladší pěti let. I přes neustálý výzkum a využití nejmodernějších potravinářských technologií představují choroby přenášené potravinami jeden z hlavních faktorů ohrožující veřejné zdraví a socioekonomický vývoj (Rai & Bai 2018).



## 2 Cíl práce

Kvalitní a nezávadné stravování je jednou z hlavních podmínek zdraví člověka, ale patogenní bakterie vyskytující se v potravinách mohou způsobovat závažná onemocnění.

Cílem bakalářské práce je vytvořit ucelený literární přehled významných patogenních mikroorganismů v potravinách (se zaměřením na bakterie rodu *Salmonella*, *Campylobacter*, *Listeria* a patogenní kmeny *Escherichia coli*), popsat jejich výskyt a aktivitu. Dalším cílem je zjistit možnosti eliminace těchto mikroorganismů.

### 3 Mikroorganismy

Mikroorganismy jsou jednobuněčné nebo mnohobuněčné organismy mikroskopické velikosti. Rozměry jejich těl se pohybují od několika  $\mu\text{m}$  po desetiny mm. Zahrnují viry, bakterie, sinice, kvasinky, mikroskopické houby, prvoky a některé mnohobuněčné živočišné organismy (Klaban 2001). Mikroorganismy jsou důležitou součástí naší planety a mají zásadní vliv na zachování života na Zemi. Svou činností přeměňují odumřelou rostlinnou a živočišnou hmotu na živiny, které slouží k růstu nových jedinců. Zajišťují důležité procesy v trávicím traktu živočichů, včetně člověka. Vybrané druhy mají široké uplatnění a jsou pro člověka velmi prospěšné. Jiné naopak člověku škodí a způsobují různé závažná onemocnění (Šilhánková 2002).

Fylogeneticky jsou rozlišovány tři domény: Archaea, Bacteria a Eucarya. Archaea a Bacteria mají prokaryotní konstrukci buňky, nicméně dle sekvence homologních molekul bylo zjištěno, že Archaea mají blíže spíše k eukaryotním organismům než k bakteriím. Archaea se výrazně liší od zbývajících domén chemickým složením fosfolipidů v membránách (Kaprálek 1999).

Nejrozmanitější skupinu mikroorganismů tvoří jednobuněčné prokaryotní bakterie. Po morfologické stránce jsou poměrně různorodé. Tvoří např. koky, diplokoky, tyčinky, vlákna nebo mají spirálovitý tvar. Rozmnožují se přímým dělením, výjimečně pučením. Za předpokladu konstantně ideálních podmínek kultivačního prostředí je jejich množivá schopnost prakticky neomezená (Klaban 2001). Mikroorganismy se rozlišují dle způsobu zisku uhlíku na autotrofní a heterotrofní. Autotrofní mikroorganismy využívají světelnou energii získávají uhlík z oxidu uhličitého. Většina bakterií jsou heterotrofové, kteří využívají organické látky jako zdroj uhlíku a oxidací organických sloučenin (především uhlíku, vodíku a kyslíku) získávají energii. Uhlík získávají především z jednoduchých cukrů (Šilhánková 2002).

#### 3.1 Patogenita mikroorganismů

Makroorganismus je od narození osídlen mikroorganismy, se kterými může existovat v symbióze nebo ve vztahu hostitel-parazit. Některé parazitické mikroorganismy vyvolávají svou přítomností onemocnění hostitelského organismu. Mikroorganismy se schopností vyvolat onemocnění se označují jako patogenní. Jedná se o specifický druh parazitismu, ve kterém dochází k narušení rovnováhy mezi parazitem a jeho hostitelem. Imunitní systém hostitele reaguje na přítomnost mikroorganismu vznikem onemocnění. Zda vztah skončí smrtí hostitele nebo záhubou parazita, závisí na schopnosti parazita tvořit dostatečné množství biochemických látek, které poškozují hostitele, a na obranyschopnosti hostitele zneškodnit parazita (Kaprálek 1999; Klaban 2001). Schopnost vyvolat chorobu vznikla u určitých druhů vlivem fylogenetického vývoje a je u nich geneticky podmíněna.

Většina parazitických mikroorganismů hostitele nijak nepoškozují, a naopak výzkumy s bezmikrobními zvířaty ukazují kladný vliv přítomnosti mikroorganismů na zdraví hostitele. Přítomnost přirozených mikrobiálních společenstev zabraňuje přemnožení jednoho druhu, který by mohl hostitele poškodit. Kromě toho přítomnost mikrobů podněcuje k produkci a udržení protilátek. Navíc některé mikroorganismy produkují prospěšné vitaminy.

K přemnožení může dojít následkem léčby širokospektrálními antibiotiky, která ničí přirozené složení střevní mikroflóry (Kaprálek 1999).

Mikroorganismy mohou být podmíněně nebo striktně patogenní. U striktně patogenních mikroorganismů dochází téměř vždy k propuknutí nemoci a patří mezi ně bakterie rodu *Salmonella*, *Shigella*, druhy *Bacillus anthracis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* a další (Klaban 2001). Podmíněně patogenní mikroorganismy téměř nevyvolávají onemocnění u zdravých jedinců. K vyvolání choroby dochází při přemnožení mikroorganismu nebo pokud se dostane do míst, kde není jeho přítomnost obvyklá, například při chirurgickém zákroku. Přemnožení nastává po léčbě širokospektrálními antibiotiky nebo při snížení obranyschopnosti imunosupresivní léčbou. Mezi podmíněně patogeny patří například *Escherichia coli* nebo koaguláza-negativní stafylokoky, které se běžně vyskytují u člověka na kůži nebo sliznicích. Zmíněné bakterie svou přítomností zabraňují přemnožení striktně patogenních mikroorganismů (Greenwood et al. 1999).

Rozdělení mikroorganismů na podmíněně a striktně patogenní není zcela jednoznačné a záleží spíše na jejich kvantitativním zastoupení. Virulence označuje, do jaké míry je organismus schopen vyvolat chorobu. Při nízké virulenci, obvykle nedochází k propuknutí nemoci (Klaban 2001).

Původně nepatogenní mikroorganismus se může stát patogenním, pokud získá plasmidy se schopností vyvolat onemocnění. Plasmidy je možné získat při horizontálním spájení buněk. Na stejném principu získávají mikroorganismy odolnost vůči antibakteriálním látkám a antibiotikům. Získaná rezistence přenosem plazmidů byla pozorována u rodů *Proteus*, *Salmonella*, *Shigella* a *Escherichia*. Rezistentní plasmidy jsou obecně rozšířeny u čeledi Enterobacteriaceae. Dokonce může docházet k přenosu rezistentních plazmidů mezi různými rody. Přenos byl pozorován z kmenů rodu *Shigella* na *Serratia marcescens* a z *E. coli* na *Yersinia pseudotuberculosis* (Klaban 2018).

### 3.2 Mikroorganismy v potravinách

Potraviny jsou běžně osídleny mikroorganismy. Některé jsou v potravinách žádoucí a prospěšné, jiné způsobují zkázu a patogenní mikroorganismy vyvolávají choroby (Šilhánková 2002). Patogenní mikroorganismy, které se dostanou do těla spolu s potravou jsou původci alimentárních onemocnění. Úkolem potravinářské mikrobiologie je zajistit zdravotní nezávadnost potravin. Pro tyto účely probíhá mikrobiologická kontrola od vstupních surovin po finální produkty. Mikrobiologickým rozbořem se zjišťuje přítomnost a množství mikroorganismů v potravine. Ten však charakterizuje pouze současný stav výrobku, ale množení mikroorganismů může pokračovat dál. Určením doby skladovatelnosti a použitelnosti potravin se zabývá prognostická mikrobiologie, která využívá různých pravděpodobnostních modelů na matematické bázi. Mikrobiologický obraz za určitou dobu při určité teplotě pomáhají určit vlastnosti potravin, které ovlivňují rychlost růstu mikroorganismů (Klaban 2018). Mnoho druhů potravin slouží jako ideální prostředí pro jejich růst. Pro potravinářský průmysl představuje důležitou výzvu zajistit zpracování potravin takovým způsobem, aby v nich patogeny nebyly přítomny (Maddox 2020).

### 3.2.1 Indikátorové mikroorganismy

Indikátorové mikroorganismy podávají informaci o stavu potravin a využívají se k určení možné přítomnosti mikroorganismů způsobujících onemocnění (Klaban 2001). Patogeny se mohou vyskytovat v těžce stanovitelném množství. Indikátorový organismus slouží jako upozornění na možnou přítomnost patogenního mikroorganismu.

Ke konkrétnímu patogenu je přidružen vhodný indikátorový mikroorganismus, který splňuje následující podmínky: 1. Indikátor je vždy přítomný v případě možnosti výskytu patogenního mikroorganismu. 2. Hojně se vyskytuje v prostředí, čímž se zjednodušuje jeho detekce. 3. Přidružený indikátor má podobné podmínky k přežití jako patogen (Adams & Moss 2008).

Původci alimentárních onemocnění se často šíří výkaly. Indikátory fekálního znečištění naznačují, že potravina byla v kontaktu s exkrementy, a může být osídlena patogenními druhy. Ke stanovení fekální kontaminace se využívají koliformní bakterie, které přirozeně obývají střeva lidí a jiných živočichů. Koliformní bakterie patří do čeledi Enterobacteriaceae tvořící gramnegativní tyčinky, které zahrnují některé kmeny *Escherichia coli*, *Citrobacter* a *Enterobacter*. Mohou být aerobní nebo fakultativně anaerobní. Koliformní bakterie se rutinně stanovují v laboratořích hygienické služby, kontrolující kvalitu potravin a vody včetně pitné, povrchové i odpadní (Klaban 2001; Adams & Moss 2008).

*Escherichia coli* se přirozeně vyskytuje ve střevní mikroflóře člověka a její v prostředí signalizuje, že pravděpodobně došlo k fekálnímu znečištění. Tato detekce se uplatňuje při kontrole kvality vody v mírném podnebí, ale nemá spolehlivé výsledky u potravin. Například byla prokázána jen malá souvislost mezi přítomností *E. coli* a rodem *Salmonella* s typicky fekálně-orálním přenosem v masných výrobcích. V důsledku toho se častěji detekuje výskyt celé čeledi Enterobacteriaceae, která zahrnuje více rodů nefekálního původu v porovnání s koliformními kmeny. Enterobacteriaceae stanovuje přesněji mikrobiologickou kvalitu potravin (Adams & Moss 2008).

V potravinách se sleduje výskyt pozitivních indikátorů, kterými jsou bakterie mléčného kvašení (BMK) a jsou v potravinách žádoucí, neboť mají pozitivní vliv na zdraví člověka. Částečně slouží jako ochrana před nepříznivými mikroby (Klaban 2001).

### 3.2.2 Mikroorganismy způsobující kažení potravin

Na povrchu potravin se vyskytuje celá řada mikroorganismů, které způsobují kažení potravin doprovázené změnou barvy, vůně, tvaru a chuti (Babička 2012). První známkou kažení bývá osliznutí následované hnilobnými procesy. Konzumace zkažených potravin nemusí nutně vyvolat onemocnění, nicméně taková potravina není sensoricky přívětivá a ke konzumaci zcela nevhodná (Demnerová 2012; Maddox 2020).

Bakterie způsobující kažení jsou například rody *Pseudomonas*, *Erwinia*, *Enterobacter*, které se přirozeně vyskytují na plodech ovoce a zeleniny. Ke kažení dochází při zvýšení počtu řádově na  $10^4$  až  $10^6$  KTJ/g. Náchylnost ke zkáze se zvyšuje porušením povrchu (Tylšová et al. 2016). Při kažení zeleniny dominují bakterie produkující měkkou hnilobu například *Pectobacterium carotovorum* a pseudomonády. U kyselejších potravin jako kyselé druhy

ovoce, ovocné džusy, ocet a víno je častější výskyt kvasinek a plísní (Matyáš 1993; Rodrick 2003).

U masa nejčastěji vyvolávají kažení *Pseudomonas* spp., bakterie z čeledi Enterobacteriaceae, *Brochothrix thermosphacta*. Především za aerobních podmínek se prudce množí bakterie rodu *Pseudomonas*. Konkrétně kmen *Pseudomonas fragi* není závislý na přístupu kyslíku a v kažení masa je dominantním druhem. Při počtu  $10^7$ – $10^8$  KTI pseudomonád se projevuje oslizenutí a zápach, který souvisí se spotřebováním glukózy a kyseliny mléčné. Začínají se rozkládat dusíkaté látky spojené s uvolňováním amoniaku, aminů a sulfidů (Kameník et al. 2014).

### 3.2.3 Původci alimentárních onemocnění

Původci alimentárních onemocnění vstupují trávicím traktem spolu s potravou do organismu hostitele. Jedinec se nakazí požitím kontaminované potravy či tekutiny. Alimentární onemocnění způsobují z největší části bakterie. Patogenní mikroorganismy jsou původci alimentárních infekcí nebo alimentární intoxikaci (Demnerová 2012).

#### Alimentární infekce

Alimentární infekce vzniká při přemnožení aktivních forem mikroorganismů v trávicím traktu člověka. Tedy samotné vegetativní buňky vedou ke vzniku onemocnění. Alimentární infekce způsobují například rody *Campylobacter*, *Salmonella*, *Yersinia* nebo *Listeria*. Alimentární infekce vzniká požitím kontaminované potravy, která může být pouhým nositelem patogenů. Mikroorganismy se následně pomnoží v trávicím traktu, a tím způsobí onemocnění. Pokud jsou podmínky pro patogeny příznivé, může dojít k pomnožení do počtu vyvolávající infekci již v potravíně (Schindler 2014). Infekce zažívacího traktu mají průběh od mírného průjmu až po těžké formy se smrtelnými následky. Průjmem se hostitel urychleně zbavuje střevních patogenů, ale současně přispívá k šíření infekce. Onemocnění mnohdy provází horečka, nevolnost a zvracení (Goering 2016).

#### Alimentární intoxikace

Alimentární intoxikaci způsobují toxické metabolity, které produkují vegetativní buňky během svého růstu v potravinách. Po požití potravy obsahující toxiny dojde k intoxikaci organismu (Goering 2016). Existují dva druhy toxinů: endotoxiny a exotoxiny. Konkrétně u gramnegativních bakterií se endotoxiny nachází ve vnější buněčné membráně gramnegativních rodů. Exotoxiny produkují bakterie do okolí buňky a produkují je, jak gramnegativní, tak i grampozitivní rody. Toxiny účinkují v organismu hostitele na cílovou buňku nebo zasahují do imunitního systému, který uvolňuje imunologické mediátory a vede k patofyziologickému účinku (Greenwood 1999). Vegetativní buňky mikroorganismů produkující toxiny mohou být zničeny během tepelné úpravy potravin. Některé toxiny jsou termostabilní a při tepelné úpravě zůstávají nepoškozeny. Toxiny produkované bakteriemi v potravinách před jejich konzumací jsou např. emetický toxin *Bacillus cereus*, enterotoxiny *Staphylococcus aureus* a exotoxin *Clostridium botulinum* (Goering 2016). Toxiny produkují také enterotoxické kmeny *Escherichia coli* jsou původci cestovatelského průjmu. Na rozdíl

od gastrointestinální infekce probíhá intoxikace obvykle bez zvýšené teploty (Ambrožová 2011).

## 4 Mikrobiální kontaminace potravin

K mikrobiální kontaminaci potravin může dojít ve všech částech potravinářského řetězce. Zdroji kontaminace jsou zvířata, lidé, voda, vstupní suroviny, výkaly nebo vzduch (Ali et al. 2020). Kontaminaci lze rozdělit na primární a sekundární. Při primární neboli endogenní kontaminaci obsahuje potravina nebo surovina nežádoucí mikroorganismy přímo z nemocného zvířete. Pokud dojde ke kontaminaci potraviny během zpracování nebo uskladnění, jde o kontaminaci sekundární neboli exogenní (Klaban 2018).

### 4.1 Kontaminace v primární produkci

K primární kontaminaci dochází již v chovech hospodářských zvířat. Infikované zvíře často šíří patogeny do okolí spolu s výkaly. Mikroorganismy zůstávají na podestýlce nebo se dostávají do krmiva, kde nakazí další zvířata. Patogenní mikroorganismy se tak rychle šíří do celého chovu (Wassenaar 2011). Výkaly se mohou dostat na pole použitím infikovaného hnoje, kde kontaminují zemědělské plodiny (Ústav zemědělské ekonomiky a informací 2008). V poslední době se bakterie, především salmonely, hojně vyskytují v obdělávané půdě, kam se dostanou při zavlažování kontaminovanou vodou, odkud se dále šíří na rostliny. Salátová zelenina nebo rajčata jsou více citlivá na napadení patogeny než jiné druhy rostlin (Karmakar et al. 2020). Sekundární kontaminace nastává již při porážce, kde hrozí protržení střev během zbavování jatečně upraveného těla orgánů (Wassenaar 2011).

### 4.2 Kontaminace v potravinářském průmyslu

Ve zpracovatelských závodech představuje příležitost pro kontaminaci především nedostatečná dezinfekce přípravných ploch. Na povrchu ulpí mikroskopické zbytky potravin, kde se mohou bakterie uchytit a vytvářet biofilmy, který se jen těžko odstraňují (Klaban 2018). V potravinářských podnicích může být zdrojem kontaminace finálního produktu již použití kontaminované vstupní suroviny nebo při kontaktu s kontaminovaným povrchem či jinou potravinou (Rai & Bai 2018). Dalším z faktorů možného vstupu kontaminantů jsou manipulátoři s potravinami. Mohou přenášet potravinové patogeny bez symptomů, což způsobuje obtíže v prevenci a kontrole infekcí. Na bezpečnost potravin má vliv nejenom zdravotní stav a osobní hygiena pracovníků, ale také jejich znalosti a praxe (Mardu et al. 2020).

Nedostatečné postupy čištění v prodejnách potravin a skutečnost, že některé patogenní druhy přestávají být senzitivní na dezinfekční prostředky, je dalším možným rizikem vstupu patogenů. Mikroorganismy zůstávají na površích a při kontaktu potraviny s povrchem dochází ke křížové kontaminaci. Ríos-Castillo et al. (2021) zkoumal ve španělském supermarketu vzorky povrchů, které přijdou do styku s potravinami. Nejvyšší úroveň kontaminace dosahovaly povrchy v oddělení ovoce a zeleniny. Výrazně vyšší počty mikroorganismů byly pozorovány na lakovaném dřevě oproti hladkým plastovým a nerezovým povrchům. Byly detekovány *Pseudomonas* spp., koaguláza-negativní stafylokoky, *Cronobacter sakazakii* a *Escherichia coli* jako indikátory bakteriální kontaminace.

### 4.3 Kontaminace při přípravě pokrmů

V Evropské unii (EU) až třetina (36,4 %) hlášených ohnisek souvisí s nevhodným zacházením s potravinami v domácnostech. Restaurace, hotely, bary a kavárny se podílí na propuknutí onemocnění nevhodným zacházením z 20,6 % a školy a školky mají na svědomí 5,5 % ohnisek. Domácnosti jako ohniska nákazy nejsou často identifikována ani hlášena, což může reálnou situaci podceňovat (Azevedo et al. 2014).

Hlavní faktory spojené s ohnisky alimentárních onemocnění jsou: nedostatečné mytí rukou, nesprávná manipulace se surovinami, nedostatečná doba vaření a dlouhá doba skladování při nevhodných teplotách. Dodržení vhodných podmínek a postupů hraje důležitou roli v eliminaci alimentárních onemocnění a o správném zacházení s potravinami je nezbytné dostatečně informovat a edukovat širokou veřejnost. Důsledné dodržování bezpečné doby a teploty skladování je o to víc žádoucí u osob se sníženou imunitou, seniorů a malých dětí (McCabe-Sellers & Beattie 2004). Spotřebitel je posledním článkem v potravinovém řetězci a představuje důležitou roli v prevenci alimentárních nemocí a zodpovídá za bezpečnost potravin od nákupu po domácí přípravu (Azevedo et al. 2014).

Koliformní bakterie byly nalezeny nejen na toaletách, ale i v kuchyni, na rukojeti chladničky, sporáku a vodovodní baterii. Odebrané vzorky z vodovodního kohoutku, kuchyňské linky, sporáku, madel lednice a myčky a z utěrky obsahovaly více než  $10^5$  KTJ/výtěr koliformních bakterií (Azevedo et al. 2014).

Častým zdrojem křížové kontaminace se ukázaly čisticí utěrky a houbičky. Ve studii provedené v Brazílii zkoumali 35 čisticích hadříků shromážděných ze třinácti stravovacích zařízení. Úroveň kontaminace dosahovala hodnot  $6,9 \log/\text{cm}^2$  u heterotrofních mikroorganismů,  $6,2 \log/\text{cm}^2$  koliformních mikroorganismů a  $5,5 \log/\text{cm}^2$  druhu *Staphylococcus aureus*. Ke snížení počtu bakterií až o 5 log došlo vyvařením hadříků po dobu 15 minut nebo dezinfekcí pomocí roztoku 200 ppm chlornanu sodného po dobu 15 minut. V jiné studii byly naočkovány čisticí hadříky a vlhčené jednorázové utěrky patogeny *Salmonella* Enteritidis, *Staphylococcus aureus* a *Escherichia coli*. Materiál byl uchován při 30 °C a byl pozorován mikrobiální růst. První dvě hodiny nebyl pozorován výrazný růst patogenů, avšak po třech hodinách proběhl výrazný nárůst počtu buněk *S. enteritidis*. Výsledky studie vedly k závěru, že jednorázové nebo čisticí utěrky by se ve stravovacích zařízeních měly používat maximálně 3 hodiny (Rai & Bai 2018).



## 5 Faktory ovlivňující růst mikroorganismů

Růst nežádoucích mikroorganismů může vést ke zkáze potravin a v případě patogenů vážně ohrozit lidské zdraví (Nevárez-Moorillón et al. 2020). Zabránit nežádoucímu množení lze dosáhnout cílenou regulací a kombinací vnějších a vnitřních faktorů. Mezi vnitřní činitele patří obsah dostupné vody vyjádřený vodní aktivitou, hodnota pH či vlastní stav produktu jako např. porušená slupka ovocných plodů (Klaban 2018). Vnější faktory používané k inhibici růstu jsou tepelné zpracování, teplota skladování, relativní vlhkost prostředí, přítomnost a koncentrace plynů a aktivita dalších mikroorganismů (Rodrick 2003).

Zastavení růstu mikroorganismů s ohledem na zachování kvality potravin lze dosáhnout překážkovou technologií, která využívá kombinace různých obranných mechanismů. S využitím překážkové technologie lze snížit potenciálně škodlivé přísady jako například dusitany aplikované do masných produktů. Pro tento účel lze využít kombinace vakuového balení se snížením hodnot pH a aktivity vody (Nevárez-Moorillón et al. 2020).

### 5.1 Obsah živin

Na růst mikroorganismů má podstatný vliv přítomnost energetických zdrojů, vody a vitaminů. Jako nejčastější zdroj energie slouží jednoduché cukry, dále pak alkoholy a aminokyseliny. Některé mikroorganismy zpracovávají také polysacharidy jako je škrob, glykogen a celulóza. Vzácně se objevují mikroorganismy metabolizující tuky. Aminokyseliny představují primární zdroj dusíku, avšak některé druhy ho dovedou získat i ze složitějších bílkovin. Vitamin B hraje důležitou roli v rozmnožování především grampozitivních bakterií, které ho nedovedou syntetizovat. To potvrzuje i fakt, že ovoce, které má obecně nízký obsah vitamínu B, bývá častěji napadáno plísněmi, které vitamin syntetizují (Rodrick 2003).

Pro kultivaci mikroorganismů v laboratorních podmínkách je nutné zajistit dostatečný přísun konkrétních živin pro daný druh. Nicméně v přírodě tvoří některé mikroorganismy symbiotická společenství, přičemž metabolity některých mikrobů využívají další druhy jako svou potravu. V důsledku toho není možné v laboratoři, kde se mikroorganismy chovají jako individua, dané druhy kultivovat. Například bakterii *E. coli* je dnes možné pěstovat v laboratorních podmínkách s generační dobou 20 až 30 minut v porovnání s 12 hodinami v trávicím traktu člověka. V přírodě bývá nedostatek živin a může dojít k zastavení růstu, případně uvedení do stádia spor (Klaban 2018).

### 5.2 pH

Hodnota pH má významný vliv na přežití a růst mikroorganismů. Většina bakterií se nejrychleji množí při pH 6,5 – 7,0. Výjimkou jsou laktobacily, které nejlépe prospívají při nižších hodnotách okolo pH 5,5. U kvasinek je ideální hodnota pro růst v rozmezí 4,5 – 6,0. Mikroorganismy jsou schopny růst v rozmezí pH 4,5 – 8,0. U vláknitých hub je možný růst až do pH 3,5 (Rodrick 2003; Adams & Moss 2008). Při snížení pH pod 4,5 dochází u bakterií k denaturaci bílkovin na povrchu buněk a poškození vnější membrány. V bakteriální buňce se mění pH cytoplazmy, narušuje se struktura DNA a enzymů. Bakterie má proti tomu určité obranné mechanismy, avšak princip fungování není dle Nevárez-Moorillón et al. (2020) zatím

zcela objasněn. Hovoří se o takzvaném „kyselém šoku“, který vede k obnově buněčné homeostázy a korekci bílkovin. Pokud pH klesne na extrémně nízké hodnoty, tyto obranné mechanismy nestačí a dále dochází k narušení biochemických procesů až k zániku buňky.

Hodnota pH značně ovlivňuje rychlost a charakter znehodnocení potravin. Většina potravin je mírně kyselá a poskytuje ideální podmínky pro množení mikroorganismů viz tabulka č. 1. Výjimkou je například vaječný bílek, u kterého může hodnota pH dosáhnout až 9,2 (Adams & Moss 2008). Maso, mořské plody a zelenina se pohybují v rozmezí pH 5,3 – 7,0. Mezi živočišnými produkty jsou nejvíce náchylné ke zkáze ryby. Ty mají po ztuhnutí ve fázi rigor mortis obecně vyšší pH (6,2 – 6,5) oproti jiným živočichům, u kterých se pH pohybuje okolo 5,6. Bakterie rodu *Shewanella*, která je citlivá na nízké hodnoty pH, hraje významnou roli při kažení ryb, ačkoli u masa ostatních živočichů se nevyskytuje.

Pokud má potravina vyšší pH než 4,6, je zapotřebí provést určité technologické zákroky, které zabrání šíření nežádoucích bakterií (Matyáš 1993; Nevárez-Moorillón et al. 2020). Snížení pH potravin je jednou z překážek zabraňující růstu mikroorganismů, která se využívá při konzervování potravin. Jednou z možností je přidání bakterie mléčného a octového kvašení, jejichž metabolity pH u potravin snižují (Adams & Moss 2008). Při snížení pH stále není zaručeno 100% zastavení růstu všech nežádoucích mikroorganismů. Záleží na konkrétním druhu, teplotě prostředí, okyselující látce a koncentraci soli. Vliv má také přítomnost antimikrobiálních látek. Mikroorganismy jsou citlivé ke změně pH na počátku a během exponenciálního růstu než v klidové fázi (Rodrick 2003).

Tabulka č. 1: pH vybraných potravin a růst mikroorganismů

Rozsah pH	Potraviny	Patogenní mikroorganismy a jejich rozmnožování v uvedeném rozsahu pH
> 7	vaječný bílek, černé olivy	pH 7 je optimem pro mnoho mikroorganismů. Četné jsou inhibovány v rozsahu pH 8–9. Některá vibria se rozmnožují v rozsahu pH do 11.
6,5–7	mléko, drůbež, šunka	<i>Salmonella</i> , <i>Campylobacter</i> , <i>Yersinia</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Shigella</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Clostridium perfringens</i> , <i>Clostridium botulinum</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> .
5,3–6,4	hovězí, telecí maso, zelenina	<i>Salmonella</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , též ostatní výše uvedené mikroorganismy, ale ty pouze v horní části rozsahu. Rozmnožování se zpomaluje při nižších hodnotách tohoto rozsahu.
4,5–5,2	masové konzervy, měkké sýry, fermentovaná zelenina	Tak jako nahoře, ale lag fáze jsou delší a tím i rozmnožování je pomalejší. Rozmnožování některých z výše uvedených mikroorganismů ustává.
3,7–4,4	nákládané kyselé okurky, majonéza, určité druhy ovoce, sušené ovoce, jogurt, marinované ryby	Toxinogenní plísně.
<3,7	ovocné džusy, kvašené zelí, ocet	Mnohé druhy bakterií uhynou.

Zdroj: upraveno dle Matyáš (1993)

### 5.3 Vodní aktivita

Vodní aktivita udává dostupnost vody pro mikroorganismy. Vodní aktivita závisí na tlaku, teplotě a chemickém složení prostředí. Vodní aktivitu  $a_w$  lze definovat jako poměr tlaku vodní páry nad určitým neporušeným materiálem (např. potravinou) nebo roztokem, který je v úplné rovnováze s obklopujícím prostředím  $p$ , k tlaku vodní páry  $p_0$  destilované vody za stejné teploty.

$$a_w = p/p_0$$

Vodní aktivita  $a_w$  může nabývat hodnot od 0 do 1,0. Čistá voda má vodní aktivitu  $a_w$  1,00. U mikroorganismů se stanovuje limitní hodnota vodní aktivity, při které je daný mikrob stále schopen života a alespoň minimálního rozmnožování. Většina bakterií je schopna rozmnožování v kultivačních prostředích při hodnotě  $a_w$  0,93 – 0,99. Kvasinky vyžadují mírně nižší hodnoty  $a_w$  0,88 – 0,91, přičemž osmofilní kvasinky požadují hodnoty ještě nižší. Osmofilní kvasinky mohou výjimečně vést ke zkáze medu, u kterého se  $a_w$  pohybuje okolo 0,6. Vodní aktivita není totožná s obsahem vody, který určuje celkový objem vody jak volné, tak

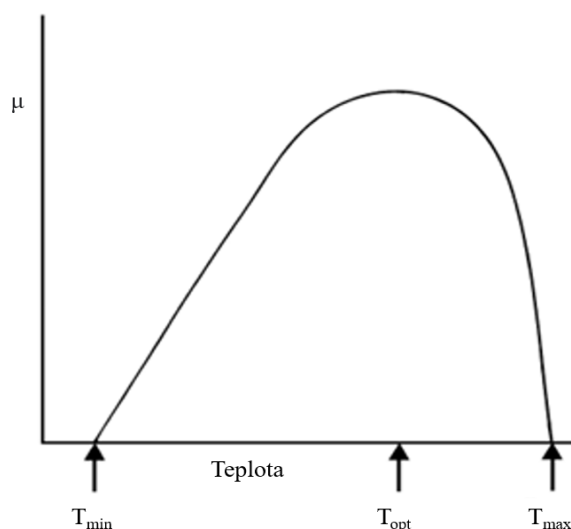
vázané. Vodní aktivitu ovlivňuje osmotický tlak prostředí. Pokud se buňka nachází v hypertonické prostředí, v zájmu vyrovnání koncentrací odevzdává vodu do prostředí, dokud nedojde k úplné ztrátě vody a zániku buňky (Rodrick 2003; Klaban 2018).

Většina čerstvých potravin se pohybuje okolo  $a_w$  0,98, což představuje ideální podmínky pro růst bakterií. Růst mikroorganismů se zastavuje při  $a_w$  0,6. Nejnižší vodní aktivitu při zachování růstu má osmofilní plíseň *Aspergillus glaucus*. U potravin s hodnotou  $a_w$  pod 0,6 (jako čokoláda, cukrovinky, sušené mléko nebo sušená zelenina) hrozí nižší riziko, že se stanou zdrojem patogenů. V koncentrovaných roztocích soli nebo cukru není voda pro mikroorganismy přístupná. Pro lepší údržnost se vodní aktivita u potravin cíleně snižuje sušením nebo sycením roztoků. Nasycený roztok soli ve vodě dosahuje hodnot  $a_w$  0,75 (Matyáš 1993; Sojková 2017; Klaban 2018).

## 5.4 Teplota

Rozpětí teplot možného růstu mikroorganismů je od  $-8\text{ }^\circ\text{C}$  do  $+100\text{ }^\circ\text{C}$ , nicméně žádný mikroorganismus nedokáže růst v celém rozpětí. Každý mikroorganismus má své rozpětí teplot, ve kterých je schopen růstu. Na grafu č. 1 jsou uvedeny kardinální teplotní body neboli teplotní milníky, při jejich dosažení je ovlivněn růst mikroorganismu. Mikroorganismus je schopen růstu při dosažení minimální teploty a zastavuje růst v okamžiku, kdy se dostane na své teplotní maximum. Při optimální teplotě se mikroorganismus rozmnožuje nejrychleji, tedy zkracuje se jeho generační interval. Každý mikroorganismus má své teplotní milníky, nicméně ty jsou ovlivňovány dalšími faktory prostředí jako je pH, vodní aktivita nebo obsah živin (Adams & Moss 2008).

Graf č. 1: Průběh množení mikroorganismů v závislosti na teplotě



Zdroj: upraveno dle Adams & Moss (2008)

Na základě kardinálních teplotních bodů se mikroorganismy člení do několika fyziologických skupin mikroorganismů. Tabulka č. 2 uvádí teplotní milníky daných skupin.

Patogenní bakterie jsou nejčastěji mezofilní s teplotním optimem okolo  $35\text{ }^\circ\text{C}$ , tedy blízká teplota lidského těla představuje ideální podmínky k množení mnoha běžných

potravinových patogenů jako například rody *Salmonella*, *Campylobacter*, *Escherichia* a *Listeria*. Rod *Yersinia* se řadí do psychrofilní skupiny (Adams & Moss 2008).

Tabulka č. 2: Teplotní rozmezí dle skupin mikroorganismů

Teplota °C			
skupina	minimum	optimum	maximum
termofilní	40–45	55–75	60–90
mezofilní	5–15	30–40	40–47
psychofilní	–5 až +5	12–15	15–20
psychrotrofní	–5 až +5	25–30	30–35

Zdroj: upraveno dle Adams & Moss (2008)

## 5.5 Relativní vlhkost prostředí

Relativní vlhkost prostředí je poměr skutečné vlhkosti vzduchu při dané teplotě k absolutní vlhkosti, jaká by byla při téže teplotě ve vzduchu nasyceném vodní parou. Relativní vlhkost se vyjadřuje v procentech, přičemž 0 % znamená úplně suchý vzduch a 100 % vzduch zcela nasycený vodní parou (Klaban 2018).

Relativní vlhkost úzce souvisí s aktivitou vody a lze ji označit za vodní aktivitu v plynné fázi. Prostředí s vysokou relativní vlhkostí, ve kterém se nachází potravina s nízkou hodnotou vodní aktivity, může způsobit přechod vody z prostředí do potraviny. Na povrchu potraviny dojde ke kondenzaci vody, což poskytne vhodné podmínky pro vyklíčení spor a růst mikrobů. Navíc fyziologicky aktivní mikroorganismy obvykle produkují vodu jako konečný produkt dýchání a tím vodní aktivitu nadále zvyšují. Původně mikrobiologicky stabilní potraviny se tak začínají kazit a přestávají být zdravotně nezávadné (Adams & Moss 2008).

Relativní vlhkost představuje důležitý faktor také u skladování čerstvé zeleniny a ovoce, které při nízké hodnotě ztrácí vodu a vysychají, naopak vysoká hodnota vytváří příznivé prostředí pro napadení mikroby. Je tedy nezbytné udržovat vyrovnanou relativní vlhkost prostředí, která nevysušuje plody, ale ani nepodporuje mikroorganismy v množení (Adams & Moss 2008).

## 6 Metody konzervování potravin

Již od pravěku se lidé snažili prodloužit životnost potravin a zabránit jejich zkáze. Z důvodu rychlé zkázy čerstvých potravin a omezení na roční období byly vynalezeny způsoby konzervace k prodloužení trvanlivosti. Konzervace je způsob skladování přebytečných potravin, které jsou dostupné v krátkém časovém období a napomáhá nejen v prodloužení trvanlivosti a zajištění zdravotní nezávadnosti, ale také zvyšuje organoleptickou kvalitu a rozmanitost produktů. Navíc minimalizuje plýtvání (Varzakas & Tzia 2015).

Mezi nejstarší způsoby konzervace se řadí sušení, solení a fermentace potravin. Následně s vývojem nových postupů přišlo tepelné zpracování, ozařování a chemické konzervační látky. V současné době roste poptávka po minimálně zpracovaných potravinách především v západním světě, kde je nadbytek potravin. Z důvodu výskytu alergických reakce na některé chemické konzervační látky a důkazů, že některé konzervanty vytváří karcinogenní vedlejší produkty jako například nitrosaminy vzniklé z nitrátů. Je nezbytné nahradit tyto škodlivé konzervační látky jinými a zdravotně nezávadnými (Rai & Bai 2014).

Významnými prostředky konzervace v potravinářském průmyslu jsou teplota (vysoká a nízká), snížená aktivita vody a pH, použití konkurenčních mikroorganismů nebo přidání konzervačních látek. Spolu s těmito základními překážkami, existuje více než 60 překážek, které lze v potravinářství použít (Rai & Bai 2014).

### 6.1 Tepelné zpracování

Tepelné zpracování funguje na principu zničení nežádoucích látek, včetně patogenních mikroorganismů, toxinů a enzymů, které vedou ke zkáze produktu. Předností je schopnost likvidovat spory, které jsou jinak velmi odolné (Nevárez-Moorillón et al. 2020).

Technologie spočívá v ohřevu produktu na poměrně vysokou teplotu (nad 60 °C) relativně krátkou dobu v přesně navrženém a správně provedeném postupu. Výrobek se před nebo po tepelném zpracování hermeticky uzavře. Účinnost metody ovlivňuje teplota, doba expozice, množství vegetativních forem a spor, druh mikroba a druh kontaminovaného předmětu. Podle těchto kritérií se určí, jak dlouhou dobu bude potravina konkrétní teplotě vystavena, aby došlo k úplnému zničení všech nežádoucích mikrobů (Greenwood 1999; Varzakas & Tzia 2015). Při zahřátí dochází k řadě morfologických a strukturálních změn ve vnější membráně. Dochází ke změně propustnosti bariéry a k odtoku periplazmatických enzymů. Zvyšuje se citlivost na povrchově aktivní látky a hydrofobní sloučeniny. Při mírném zahřátí dochází k subletálnímu poškození buněk, které nejsou schopny překonat další překážky přítomné v potravinářském prostředí (Nevárez-Moorillón et al. 2020).

V závislosti na druhu potravin je zvolena metoda tepelného zpracování. V potravinářství se hojně využívá blanšírování, pasterizace a sterilace. Blanšírování se provádí krátkým ohřátím potravin horkou vodou nebo párou, aby došlo k deaktivaci enzymů. Snižuje počáteční mikrobiální zátěž. Navíc změkčuje strukturu, odstraňuje vzduch a zachovává původní barvu. Technologie se využívá u mražených potravin (Rodrick 2003). Při pasterizaci se obvykle využívá teplot do 100 °C, při kterém dochází k usmrcení vegetativních buněk. Obvykle se pasterizace kombinuje s dalšími konzervačními postupy jako je snížení hodnoty

pH, vodní aktivity nebo skladování za snížených teplot. Záhřev se provádí v konzervárenství a u mléka. Sterilací se potraviny zahřívají nad 100 °C za účelem usmrcení všech životaschopných forem mikroorganismů včetně spor. Potraviny jsou hermeticky uzavřeny a je možné je skladovat při pokojové teplotě (Varzakas & Tzia 2015).

Ačkoli je tepelné zpracování účinné při mikrobiální redukci, často způsobuje ztrátu kvality daného výrobku. V důsledku toho vzniká tlak na vývoj nových netermálních technologií, které jsou účinné vůči mikroorganismům, a zároveň je zachována kvalita potravin citlivých na teplo. Jedná se například o použití vysokého hydrostatického tlaku, antimikrobiálních látek, vysokofrekvenčního elektrického pole, pulzního ultrafialového záření nebo ultrazvukového ošetření (Bari & Ukuku 2015).

## 6.2 Snížení vodní aktivity

Velmi stará ale účinná metoda kontroly bakteriálního a enzymatického znehodnocení potravin je odstranění vody sušením. Dříve bylo využíváno přirozené sušení na slunci, což se dnes praktikuje pouze v domácích podmínkách, popřípadě v zemích tropického pásu. Dnes k sušení slouží mechanické sušičky. Sušení se kombinuje se solením, jelikož sůl váže vodu a zamezuje případnému mikrobiálnímu znehodnocení během sušení, a dále během skladování. Sušení se využívá v kombinaci s uzením. U uzení hrozí oxidace mastných kyselin, které lze regulovat zabráněním kontaktu kyslíku s produktem pomocí vakuového balení (Rodrick 2003; Varzakas & Tzia 2015).

Snížením vodní aktivity lze efektivně regulovat růst mikroorganismů, čehož lze dosáhnout odstraněním vody z potraviny nebo zvýšením koncentrace vhodných chemických látek rozpuštěných v daném prostředí. Přídavkem sacharózy nebo chloridu sodného se zvýší osmotický tlak v prostředí a současně se sníží hodnota vodní aktivity. Solení se praktikuje především u masa a ryb (Klaban 2018).

## 6.3 Ozařování

Metody ozařování potravin fungují na principu usmrcení kontaminujících mikroorganismů bez potřeby záhřevu. Potraviny jsou ošetřovány elektromagnetickým zářením či korpuskulární emisí. Mezi elektromagnetická záření patří viditelné světlo, ultrafialové světlo (UV), rentgenové záření a ionizující  $\gamma$ -záření, které je tvrdé a velmi pronikavé. Korpuskulární emisí je elektronové  $\beta$ -záření, které je oproti  $\gamma$ -záření méně pronikavé a používá se k povrchovému ošetření potravin. V potravinářství se využívá pouze UV záření, elektronové  $\beta$ -záření a ionizující  $\gamma$ -záření. UV záření se k přímému ošetření potravin využívá jen zřídka a slouží spíše jako prevence. Při použití UV záření hrozí, že budou ovlivněny senzorké vlastnosti potravin v důsledku iniciace oxidačních reakcí. (Kadlec et al. 2012).

Ionizující  $\gamma$ -záření je nejběžnější metodou ozařování v potravinářském průmyslu. Využívá se k ničení nežádoucích mikroorganismů, hmyzu a invazivních škůdců. Záření je možné použít k neutralizaci toxinů, zastavení klíčení a prodloužení trvanlivosti. Nevýhodou metody je, že může docházet k úniku radiace ze zařízení. Úroveň ozáření se dělí na nízkou ( $\leq 1$  kGy) s označením radurizace, střední (1–10 kGy) s názvem radicidace a vysokou dávkou ( $> 10$  kGy) s označením radappertizace. Dávka 8 kGy stačí k eliminaci celkového počtu

mikroorganismů a plísní pod povolenou mez a ošetření 3 kGy stačí k odstranění všech bakterií ve vzorku (Kontominas et al. 2021; Vujčić & Mašić 2021).

V Evropské unii a Spojených státech amerických není v současné době povolena aplikace vysokých dávek záření v rámci komerčního zpracování potravin. Povolené dávky ozáření se v různých zemích liší. V Rakousku, Německu a Řecku je možné ozařování do 10 kGy, a to pouze u sušených bylinek a koření. Naproti tomu v Brazílii a Pákistánu je povoleno ozařování všech potravin. Podle Codex Alimentarius, FDA a EFSA musí být potraviny ošetřené ozářením označeny logem a prohlášením „Ošetřeno ozářením“. WHO provedla nezávislý výzkum ve Spojených státech amerických a Evropské unii a dospěla k závěru, že ozařování potravin není nebezpečné pro lidské zdraví. V důsledku ozáření může dojít ke zhoršení nutriční hodnoty a senzorickým změnám následkem působení volných radikálů (Kontominas et al. 2021).

V České republice stanovuje nejvyšší povolené limity Vyhláška č. 133/2004 Sb. o podmínkách ozařování potravin a surovin, o nejvyšší přípustné dávce záření a o způsobu označení ozáření na obalu. Tabulka 3 udává skupiny potravin a surovin, které je povoleno ozářit ionizujícím zářením a nejvyšší přípustné celkové průměrné absorbované dávky záření (NPD).

Tabulka č. 3: Podmínky ozařování potravin v České republice

Skupina potravin		NPD v kGy*
1.	Sušené byliny, koření, kořenící přípravky	10,0
2.	Zmrazené byliny	10,0
3.	Brambory	0,2
4.	Sladké brambory	0,2
5.	Cibule, šalotka	0,2
6.	Česnek	0,2
7.	Luštěniny, sušená zelenina, čerstvá zelenina s výjimkou cibule, šalotky, česneku, rebarbory	1,0
8.	Čerstvé ovoce, čerstvé houby, rebarbora	2,0
9.	Sušené ovoce	1,0
10.	Mlýnské obilné výrobky s výjimkou rýžové mouky, vloček a klíčků určených pro mléčné výrobky	1,0
11.	Vločky a klíčky pro mléčné výrobky	10,0
12.	Rýžová mouka	4,0
13.	Arabská guma	3,0
14.	Kuřecí maso, drůbeží maso (kur domácí, husy, kachny, perličky, holuby, křepelky, krocani)	7,0
15.	Drůbeží droby, drůbeží separát	5,0
16.	Mražená žabí stehýnka	5,0
17.	Sušená živočišná krev, plasma, koaguláty	10,0
18.	Ryby a ostatní mořští živočichové s výjimkou mražených krájených nebo dekapitovaných krevet a mražených žabích stehýnek	3,0
19.	Mražené krájené nebo dekapitované krevety	5,0
20.	Vaječný bílek	3,0
21.	Kasein, kaseináty	6,0

Zdroj: Vyhláška č. 133/2004 (2004)

## 6.4 Antimikrobiální látky

Antimikrobiální látky používané v potravinářství patří do skupiny přídatných látek, které lze použít při výrobě potravinářských produktů. Látky s antimikrobiálním účinkem se označují jako konzervanty. Konzervanty prodlužují údržnost potravin a zabraňují zkáze



způsobené činností mikroorganismů. U všech přídatných látek se průběžně kontroluje jejich zdravotní nezávadnost. Schválené látky jsou rozděleny do kategorií podle svých funkcí, označeny předponou „E“ a číslem. U látek je dále stanoveno nejvyšší povolené množství (NPM). Konzervanty, které se používají při výrobě potravin, nesou označení E200–E290 (Babička 2012).

Existuje celá řada látek s antimikrobiálním účinkem. Některé se vyskytují přirozeně v prostředí, jiné se vyrábí synteticky. Významným přírodním konzervantem je kyselina mléčná E270. Mezi hojně využívané uměle vyráběné látky patří kyselina benzoová E210, kyselina sorbová E200 a jejich soli. Dále se používají parabeny – alkylestery kyseliny p-hydroxybenzoové (E214–219), které na rozdíl od kyseliny benzoové a sorbové působí v kyselém i v mírně alkalickém prostředí a účinkují proti plísním a gramnegativním bakteriím, omezeně i proti grampozitivním. Nicméně výzkumy ukázaly, že v případě propyl-parabenu a jeho soli (E216 a E217), způsobuje již nízká koncentrace snížení produkce spermií u mladých samců krys a látky byly vyřazeny ze seznamu aditiv (Ministerstvo zemědělství 2004; Babička 2012).

V potravinářství se využívá kyseliny octové E260 v pečivu, kyseliny benzoové v nápojích a margarínu, kyseliny mléčné v mase a fermentovaných potravinách, dusičnanů (dusičnan sodný E251 a dusičnan draselný E252) a dusitanů (dusitan sodný E250 a dusitan draselný E249) v masných výrobcích k inhibici růstu především *Clostridium botulinum*, kyseliny sorbové ve víně či ovoci. Navíc se využívají speciální spreje s obsahem organických kyselin, které snižují výskyt patogenů na povrchu jatečně upravených těl. Mléko pro výrobu sýrů je upravováno šetrnou pasterací z důvodu vyšší výtěžnosti kaseinu, tedy neproběhla likvidace spor. K zajištění zdravotní nezávadnosti sýrů se přidává nisin E234 a lysozym E1105 k inhibici *C. botulinum*, která pronikla do sýrů ve formě spor. Dále se využívá kyselina mléčná k inhibici *Listeria monocytogenes* ve zpracovaném mase (Rai & Bai 2014).

Zelenina, která se dále neošetřuje je náchylná ke kontaminaci bakteriemi, které se do ní mohou dostat z půdy. Například salmonela roste nejen na povrchu rostlin, ale i uvnitř, je proto poměrně náročné ji ze zeleniny odstranit. Salmonela se dostává do půdy hnojem a dále se aktivně přemísťuje do kořenů rostlin a šíří se v rostlině (Ústav zemědělské ekonomiky a informací 2008). Karmakar et al. (2020) se ve svém výzkumu zaměřil na použití řepy obecné jako prostředek k redukci nežádoucích mikroorganismů v půdě, a tím zabránit průniku mikroorganismů do potravinářského řetězce. Řepa obecná obsahuje kyselinu askorbovou, betalainy a fenolické sloučeniny, které mají antibakteriální účinek. Tyto látky rostlina vypouští do rhizosféry, a tím bakterie přítomné v půdě usmrcuje. In vitro zkoumání antibakteriálních vlastností metabolitů řepy obecné odhalilo vyšší citlivost především u bakterií *Staphylococcus aureus*, *Salmonella Typhimurium* a *Bacillus cereus*. Ve studii provedl Karmakar et al. (2020) pokus, kdy do květináčů obsahující půdu kontaminovanou bakterií rodu *Salmonella* spp. umístil samostatně rajčata a řepu. V dalším květináči s kontaminovanou půdou byla pěstována rajčata s řepou dohromady. U společné kultivace vzorků rajčat a řepy došlo ke snížení KTJ salmonel v porovnání se samotnou kultivací rajčat. Využití střídání plodin či společné pěstování řepy obecné s náchylnými plodinami může snížit výskyt salmonel v půdě i na citlivých plodinách. Studie představuje ekologickou metodu kontroly výskytu salmonel v půdě.

## 6.5 Ozonizace

Ozón je konzervační látka, která se běžně využívá k dezinfekci vody a pracovních povrchů (Indiarto 2020). Ozón ( $O_3$ ) se vyrábí z kyslíku ( $O_2$ ) působením elektrických výbojů nebo UV zářením. Během produkce se dvouatomová molekula kyslíku ( $O_2$ ) rozštěpí na dva kyslíkové atomy (radikály), které se okamžitě spojí s molekulou dvouatomového kyslíku za vzniku ozonu (Pandiselvam et al. 2019).

Ozón je stejně účinný dezinfekční prostředek jako běžně používaný chlor. Rychle se rozkládá a nezanechává žádné škodlivé látky v potravinách (Aslam et al. 2020). Účinkuje proti parazitům, plísním, bakteriím a virům. Princip spočívá v rychlém poškození buněk způsobené oxidací vnitřních buněčných proteinů a nenasycených mastných kyselin v buněčném obalu. Grampozitivní bakterie vykazují vyšší odolnost oproti gramnegativním. Princip, na kterém ozón likviduje nežádoucí patogeny, zároveň urychluje oxidaci lipidů, způsobuje změnu barvy na povrchu a často vede k rozvoji zápachu (Kontominas et al. 2021). Přesto je v současné době zkoumán pro použití na čerstvých produktech, jako jsou ovoce a zelenina vzhledem k vysokému dezinfekčnímu účinku (Pandiselvam et al. 2019).

V Evropské unii byl uznán ozón ve vodné a plynné formě za bezpečnou přídatnou látku do potravin (Indiarto 2020). Ozonace se tak může stát nedílnou součástí posklizňového řízení ovoce a zeleniny. Ačkoli je zapotřebí proměnné procesy, jako je koncentrace ozonu, doba expozice a další faktory prostředí ovlivňující jeho dezinfekční účinnost, optimalizovat tak, aby bylo dosaženo maximálního snížení mikroorganismů při minimálním vlivu na kvalitu produktu (Aslam et al. 2020).

## 6.6 Protektivní mikroorganismy

V potravinářském průmyslu jsou využívány vybrané mikroorganismy, které svou činností zabraňují přemnožení nežádoucích druhů, konzervují produkty a prodlužují jejich trvanlivost. Ke konzervaci potravin se hojně využívá fermentace za použití bakterií mléčného kvašení (BMK). Za účasti BMK se vyrábí sýry, kysané mléčné výrobky, klobásy nebo kysané zelí. BMK navíc slouží jako probiotika v trávicím traktu člověka (Maddox 2020). BMK jsou grampozitivní, nesporulující, kataláza-negativní koky nebo tyčinky, které jsou acidotolerantní, striktně fermentativní, aerotolerantní nebo anaerobní. Jejich hlavním metabolitem je kyselina mléčná, která je označována jako přírodní konzervant E270. BMK patří do kmene Firmicutes, třídy Bacilli a řádu Lactobacillales. Rody *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus* a *Streptococcus* se používají v potravinářství (Babička 2012; Krejsek 2019). Konkrétně u bakterie *Lactobacillus acidophilus* byl prokázán inhibiční účinek proti patogenním bakteriím *Yersinia enterocolitica*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Clostridium* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. a *Pseudomonas* spp. (McCabe-Sellers & Beattie 2004).

BMK produkují ribozomálně syntetizované antimikrobiální peptidy a proteiny známé jako bakteriociny, které působí antagonisticky vůči příbuzným, ale i vzdáleným druhům. Významným bakteriocinem je nisin, který je produkován kmeny *Lactococcus lactis* a působí proti velkému počtu grampozitivních bakterií jako jsou *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium* spp. a *Bacillus* spp. Ačkoliv bylo zjištěno, že BMK

produkují velké množství dalších bakteriocinů, dosud byl pouze nisin schválený jako konzervační prostředek ve více než 53 zemích (Rai & Bai 2014). Samotný nisin přidáný do potravin snižuje aktivitu *Listeria monocytogenes* jen krátce a po určité době je opět zahájen růst bakterie. Dong et al. (2021) se ve svém výzkumu zaměřil na použití fermentátu kmene *Lactococcus lactis* 537 obsahující jak nisin, tak další antimikrobiální látky. Cílem bylo dlouhodobé zabránění růstu *Listeria monocytogenes* u chlazených potravin, konkrétně na ledovém salátu a krájené šunce. Přítomnost fermentátu vedla ke snížení počtu listerií u obou zkoumaných potravin po delší dobu v porovnání s nisinem.

Dalšími protektivními mikroorganismy jsou kvasinky. *Saccharomyces cerevisiae* působí přímo v trávicím traktu člověka (konkrétně v tlustém střevě) proti patogenním bakteriím rodů *Salmonella* a *Shigella*. Kvasinky spolu s probiotiky vytváří pozitivní prostředí ve střevech člověka a zvyšují odolnost hostitele proti případným patogenům (Klaban 2018). Kvasinky se uplatňují ve výrobě vína a piva, kde přeměňují cukr na ethanol. Bakterie rodu *Acetobacter*, jejichž metabolit je primárně kyselina octová přeměňují víno na ocet, který díky svému nízkému pH slouží jako konzervant u dalších potravinářských výrobků. Použití mikroorganismů v potravinářství musí zůstat pod kontrolou výrobců. V případě, že do procesu proniknou nesprávné bakterie nebo kvasinky, bude produkt znehodnocen. Proto je nezbytné důsledně dodržovat hygienické zásady a sanitární postupy (Maddox 2020).

## 6.7 Použití bakteriofágů

Přírodními antagonisty patogenních bakterií jsou specifické bakteriofágy. Využití bakteriofágů představuje způsob potlačení patogenních bakterií v potravinách bez vlivu na sensorické a nutriční vlastnosti nebo na probiotický charakter. Bakteriofágy jsou součástí přírodní mikrobiální flóry v potravinách a napadají úzce specifické hostitele. Při aplikaci není nutné použití dalších chemických prostředků nebo bakteriocinů BMK, které by mohly potlačit technologicky potřebnou mikroflóru pro výrobu potravin, jako například u sýrů, kde se využívá BMK (Plocková & Horáčková 2015).

Použití bakteriofágů v potravinářských produktech je možnou alternativou k antibiotikům. Jejich nadužívání v lékařství a potravinářství vedlo ke vzniku rezistence bakterií na antibiotika, zvláště u čeledi Enterobacteriaceae, díky vysoké genotypové podobnosti, došlo k horizontálnímu přenosu genů rezistence (Shahin et al. 2021). Fágová terapie byla zkoumána proti bakteriálním patogenům například rodům *Shigella*, *Salmonella*, *Listeria*, *Campylobacter*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus* či *Pseudomonas*. Na trh bylo zavedeno již několik produktů založených na fágové terapii například ShigaShield, ListShield, EcoShield, SalmoFresh atd. (Shahin et al. 2019).

Účinnost bakteriofágů závisí na typu potraviny. U *Listeria monocytogenes* v tekutinách byl počet bakterií snížen pod mez detekce. V pevných potravinách (zelí, sýry, drůbeží maso) byl počet snížen o  $10^5$ . Výsledky studie na účinnost bakteriofágů u sekundárně zrajících sýrů vedla ke snížení počtu *L. monocytogenes* redukce pod limit detekce ve srovnání s kontrolou bez použití bakteriofágů, kde za stejných podmínek došlo k zvýšení počtu o  $10^6$ . Počáteční koncentrace byla  $10^1$ – $10^2$  KTJ/cm<sup>2</sup> povrchu sýra. Bakteriofágy by se mohly sloužit jako ochrana před patogeny u sekundárně zrajících sýrů, u kterých je riziko výskytu *L. monocytogenes*. (Plocková & Horáčková 2015).

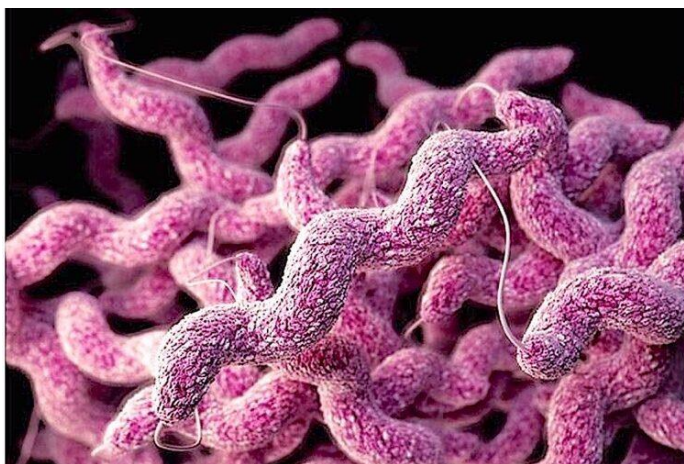
## 7 Přehled vybraných mikroorganismů přenášených potravinami

### 7.1 Rod *Campylobacter*

Rod *Campylobacter* se řadí do třídy Epsilonbacteria, řádu Campylobacteriales a čeledi Campylobacteriaceae. Rod *Campylobacter* je gramnegativní mezofilní bakterie, u které zahrnuje 18 druhů. Bakterie tvoří spirálkovitě zahnuté tyčinky o rozměrech 0,2–0,5 µm na šířku a 1,5–5,0 µm na délku (viz obr. 3). Pohybují se pomocí polárního bičíku, které se nachází na jednom nebo obou koncích. Bakterie vykazují rychlý krouživý pohyb (Demnerová 2016).

*Campylobacter* spp. vyžaduje pro svůj růst prostředí s 3–15 % kyslíku a 3–5 % oxidu uhličitého. Pro všechny druhy se ideální teplota pohybuje okolo 37 °C, ačkoli druhy *C. jejuni*, *C. coli* a *C. lari* rostou rychleji při 42 °C. Oproti většině enterických patogenních bakterií je *Campylobacter* spp. citlivější na nepříznivé podmínky (teplota, pH, dezinfekční prostředky, γ-záření).

*Campylobacter* spp. je schopen přežít ve vodě při 4 °C několik týdnů. Pokud se zvýší teplota vody na 15 °C, přežívá pouze několik dní. Při stálých teplotách –20 °C dovede přežít i několik měsíců. Pokud se bakterie zmrazí a následně rozmrazí, dojde ke snížení počtu životaschopných buněk až o 2 log<sub>10</sub>. *Campylobacter* spp. je citlivý na nízké pH, a pokud není chráněný potravou, rychle umírá při kontaktu s žaludečními kyselinami. Pro *Campylobacter* spp. je ideální pH neutrální. Naproti tomu dokáže přežít při 4 °C v solném roztoku s koncentrací 6,5 % až tři týdny (Miliotis & Bier 2003).



Obrázek č. 1: *Campylobacter jejuni*

Zdroj: <https://about-campylobacter.com/>

#### 7.1.1 Výskyt

Bakterie se primárně přenáší potravinami. Nejčastěji se vyskytuje v drůbežím masu, mléce a sýrech. K přenosu dochází také ze zvířete na člověka a mezi lidmi (Demnerová 2016). V posledních letech se *Campylobacter jejuni* vyskytuje až v 85 % drůbežích chovů. Ke kontaminaci zvířat v chovech dochází pitím infikované vody, kontaktem s hlodavci nebo je přenášen hmyzem. Tělesná teplota ptáků je 42 °C, což představuje ideální prostředí pro růst *C.*

*jejuni*. Po přemnožení v drůbežím trávicím traktu se bakterie spolu s výkaly šíří do prostředí podestýlky. V důsledku koprofágie se následně rychle rozšíří do celého chovu. U drůbeže *Campylobacter* spp. nevyvolává onemocnění a jedinou možností, jak odhalit jeho přítomnost je provést testování (Wassenaar 2011; Kameník et al. 2014). *Campylobacter jejuni* se hojně množí v trávicím traktu a napadá také kuřecí játra. Ta byla v minulosti zdrojem několika ohnisek nákazy z nedostatečně tepelně upravené paštiky. Významný výskyt kampylobakterií byl zaznamenán v souvislosti s letním grilováním (Demnerová 2016).

*Campylobacter* spp. je mezofilní, nicméně velmi citlivý na teplotu a již při mírném zahřátí dochází k usmrcení většiny buněk. V domácnostech proto pravděpodobně častěji dochází k nákaze, kvůli křížové kontaminaci než nedostatečnou tepelnou úpravou (Wassenaar 2011). Jako zdroj onemocnění kampylobakterií byl identifikován listový salát kontaminovaný syrovým kuřecím masem. Došlo ke křížové kontaminaci krájením masa a následně salátu na stejné krájecí desce (McCabe-Sellers & Beattie 2004).

### 7.1.2 Kampylobakteriíza

*Campylobacter jejuni* a *Campylobacter coli* jsou významnými lidskými patogeny, přičemž druh *C. jejuni* způsobuje až 90 % a druhý z nich odpovídá za 5–10 % enterických infekcí vyvolaných bakteriemi daného rodu. Onemocnění způsobuje průjmy s křečemi do břicha provázené zvýšenou teplotou a bolestmi hlavy. Infekční dávka  $10^2$  až  $10^3$  stačí na vyvolání akutního průjmového onemocnění (Miliotis & Bier 2003; Demnerová 2016). Také v experimentálních studiích bylo zjištěno, že již výskyt  $5-8 \times 10^2$  KTJ v těle člověka vedl k propuknutí nemoci. Příznaky obvykle trvají 3 až 5 dní. Průběh nemoci je velmi podobný s onemocněními způsobenými dalšími enterickými patogeny rodů *Salmonella* a *Shigella*. Inkubační doba je od 1 do 11 dnů, ale obvykle trvá 2–5 dní. Dle statistik z USA a EU dochází ke smrti v méně než 1 % případů (Tham & Danielsson-Tham 2013).

Patogenní druhy *Campylobacter* spp. vyvolávají i další onemocnění člověka včetně pankreatitidy, meningitidy a bakteriémie, která může končit až sepsí. Dále může způsobit potrat (Miliotis & Bier 2003). Navíc mohou postinfekční komplikace vyvolat Guillain-Barrého syndrom (GBS). Jedná se o neurologické onemocnění periferních nervů, které se v typických případech projevuje obrnou svalů dvou a více končetin různého stupně a rozsahu. Syndrom je spojován s předchozí infekcí *C. jejuni* asi ve 2/3 případů. Avšak k postinfekčním komplikacím dochází přibližně u 0,1 % případů. Navíc na rozvoji GBS záleží na specifických vlastnostech konkrétního patogenu a na imunitním stavu nemocného (Bednařík 2001).

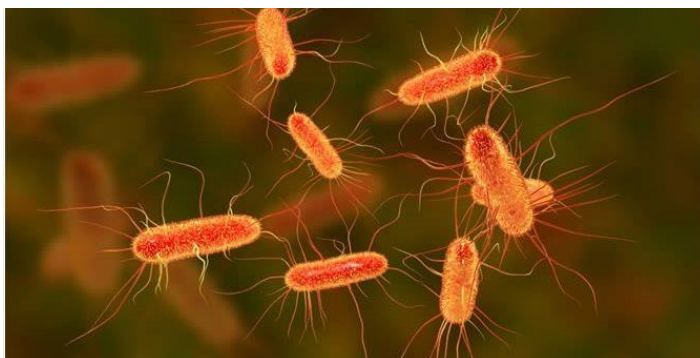
## 7.2 Rod *Escherichia*

Rod *Escherichia* patří do třídy Gammaproteobacteria, řádu Enterobacterales a čeledi Enterobacteriaceae. Nejznámějším a nejlépe prozkoumaným druhem je *Escherichia coli*, u kterého byl popsán mechanismus konjugace buněk a výměny genetického materiálu. V laboratořích slouží jako modelový organismus, také díky nízkým nárokům na kultivaci (Šilhánková 2002).

Rod *Escherichia* je gramnegativní, kataláza-pozitivní, oxidáza-negativní bakterie. Vytváří krátké nesporelující tyčinky. Bakterie má na povrchu buňky fimbrie a peritrichální bičíky, které slouží k pohybu (viz obr. 4). Při stresových podmínkách tvoří kapsule (s antigeny

K a M). *E. coli* patří mezi hlavní fakultativní anaeroby tlustého střeva. Podílí se na složení střevní mikroflóry, kde napomáhá s trávicími procesy a zajišťuje produkci některých vitaminů (Miliotis & Bier 2003). *E. coli* sdílí mnoho znaků a genů s rodem *Shigella*. Na rozdíl od *Shigella* spp. fermentuje laktózu a vykazuje vyšší aktivitu. Avšak u méně pohyblivých, biologicky neaktivních kmenů escherichií může dělat problém tyto dva rody od sebe odlišit.

*E. coli* je typicky mezofilní bakterie rostoucí v rozmezí od 7–10 °C do 50 °C s teplotním optimem 37 °C. Ačkoli byly pozorovány kmeny *E. coli* rostoucí při 4 °C. Bakterie je citlivá na vyšší teploty a při 60 °C dochází ke snížení četnosti živých mikroorganismů o jeden řád do 6 sekund, naopak dokáže přežít i delší dobu při chladírenských či mrazírenských teplotách. K růstu požaduje vodní aktivitu minimálně 0,95. Dokáže růst při pH do 4,4 za jinak optimálních podmínek, nicméně ideální hodnoty se blíží k neutrálnímu pH (Adams & Moss 2008). *E. coli* dokáže přijímat plasmidy a tím získat nové vlastnosti. Byla zjištěna získaná schopnost produkce sulfanu (jedovatého plynu vznikajícího při rozkladu organického materiálu) nebo dovednost produkovat ureázu (enzym štěpící močovinu na amoniak a oxid uhličitý). Oba metabolity jsou nebezpečné pro člověka (Schindler 2014).



Obrázek č. 2: *E. coli* O157-H7

Zdroj: <http://www.embj.org/embj/escherichia-coli-o157-h7-investigation-in-children-with-diarrhea-an-iraqi-cross-sectional-study/>

### 7.2.1 Výskyt

*Escherichia coli* se běžně vyskytuje ve střevech člověka a teplokrevných živočichů. Do prostředí se šíří výkaly. V důsledku toho její přítomnost signalizuje, že pravděpodobně došlo ke znečištění fekáliemi. Pokud dojde ke kontaktu hnojené půdy se surovinou, zvyšuje se riziko přenosu *E. coli*. Pokud je *E. coli* přítomna v potravíně nebo vodě, dá se předpokládat výskyt rodů *Salmonella* nebo *Shigella* (Šilhánková 2002).

Hlavní rezervoár *E. coli* představuje skot, který je původcem infekce ve většině zoonóz u lidí, čemuž zřejmě přispívá i fakt, že u skotu je choroba asymptomatická. Výjimečně mohou sérotypy O157, O26, O5, a O113 způsobit průjemy u telat. Přenos nemoci ze skotu na člověka probíhá konzumací tepelně neupraveného nebo nedostatečně upraveného hovězího masa, syrového nebo špatně pasterizovaného mléka, zeleninou kontaminovanou výkaly nebo přímým kontaktem se zvířetem (Elmonir et al. 2021).

### 7.2.2 Onemocnění vyvolaná patogenními kmeny *Escherichia coli*

*Escherichia coli* je jedním z nejvšestrannějších bakterií a většina jejích kmenů běžně obývá střevní mikroflóru lidí i zvířat. Jak už bylo zmíněno výše, *Escherichia coli* se využívá jako indikátor fekálního znečištění, avšak v současnosti je uznávána jako samostatný patogen. Některé kmeny způsobují infekce zažívacího traktu nebo močového ústrojí (Goering 2016; Maddox 2020). Patogenní kmeny *E. coli* se dělí do pěti skupin podle principů virulence: enterotoxická *E. coli* (ETEC), enteropatogenní *E. coli* (EPEC), enteroinvazivní *E. coli* (EIEC), enteroadherentní *E. coli* (EAEC), enterohemoragická *E. coli* (EHEC) (Schindler 2014). Infekční dávka pro zdravého člověka se pohybuje okolo  $10^7$  buněk. Výrazně nižší dávka vyvolá nemoc u dětí a nemocných (Maddox 2020).

V případě zánětu močových cest je nejčastěji na vině právě přítomnost EPEC (Šilhánková 2002). Nemoc se projevuje vodnatými průjmy doprovázené horečkou a zvracením. V některých případech může vyústit v chronickou enteritidu. Ohniska EPEC běžně vznikají v mateřských školách, ačkoli u dospělých je infekce také poměrně častá.

EPEC vyvolává infekční průjem bez horečky, který bývá doprovázený křečemi a často se objevuje u cestovatelů v tropech. Podobný průběh bývá u cholery. Podobnost je především ve velké infekční dávce, kolonizaci tenkého střeva a produkcí toxinů. EIEC způsobuje onemocnění podobné shigelóze. Vyznačuje se akutním vodnatým průjmem s křečemi do břicha a horečkou. Následně se může infekce dostat do tlustého střeva a způsobovat krvavé průjmy se slizovitou konzistencí. Infekce EIEC se šíří kontaminovanou vodou a potravinami nebo z člověka na člověka. EHEC poškozuje střevní stěny v gastrointestinálním traktu člověka a zapříčiňuje silný krvavý průjem. Vzácně může vést k závažnému onemocnění hemolyticko-uremickému syndromu (HUS), který ve Spojených státech představuje hlavní příčinu akutního selhání ledvin u dětí (Miliotis & Bier 2003). *E. coli* O157: H7 produkující shiga-toxin je nejčastějším patogenním kmenem ETEC. Dle WHO zemřelo v roce 2005 1,8 milionů lidí infikovaných patogeny pocházejících z potravin. Navíc je každým rokem infikováno 2,8 milionů lidí právě *E. coli* O157: H7 (Rani et al. 2021).

EAEC vyvolává chorobu doprovázenou akutními, trvalými až krvavými průjmy především u dětí. Ohniska nákazy vznikají v komunitách a často se objevují v nemocničních zařízeních. Navíc EAEC doprovází průjmová onemocnění u HIV pozitivních (Miliotis & Bier 2003).

### 7.3 Rod *Salmonella*

Rod *Salmonella* spadá do třídy Gammaproteobacteria, řádu Enterobacterales a čeledi Enterobacteriaceae. Dle taxonomických studií má rod *Salmonella* čtyři druhy a až 2000 sérotypů. Všechny druhy jsou patogenní (Macela 2006). *Salmonella enterica* je označení jednoho druhu, z kterého byl určen poddruh *Salmonella enterica*, subspecies *enterica*, ta dále zahrnuje několik poddruhů. Praktický význam mají poddruhy Typhi, Paratyphi A, Paratyphi B, Enteritidis, Typhimurium. Názvy se často zkracují např. na *Salmonella* Typhimurium nebo *Salmonella* Enteritidis (Kameník et al. 2014). *S. Enteritidis* způsobuje alimentární onemocnění. Zbývající sérovary způsobující tyfus a paratyfus se přenáší převážně z člověka na člověka nebo ze zvířete na člověka (Schindler 2014).



Rod *Salmonella* tvoří gramnegativní fakultativně anaerobní nesporeující pohyblivé tyčinky s bičíkem (viz obr. 5). Bakterie je mezofilní, tedy optimální teplota k růstu je 37 °C, ale dokáže se množit i v rozmezí 5–47 °C. *Salmonella* spp. zkvašuje glukózu, ale ne sacharózu nebo laktózu. Volné bakterie využívají citrát jako zdroj uhlíku (Šilhánková 2002). Některé střevní bakterie tolerují salinitu až do koncentrace 0,5 M NaCl, avšak přidání aminokyseliny prolinu dovoluje bakteriím rodu *Salmonella* růst v prostředí s vyšší salinitou až do hodnot 1,0 M NaCl. U *Salmonella* Typhimurium byly izolovány geny kontrolující toleranci k obsahu soli. Tento izolovaný gen byl zodpovědný za nadměrnou produkci prolinu (Klaban 2018).



Obrázek č. 3: *Salmonella* Typhimurium

Zdroj: <http://www.tranadiscovery.com/2017/03/13/the-war-against-superbugs-starts-in-north-carolina-2/>

### 7.3.1 Výskyt

*Salmonella* spp. má více hostitelů. Nachází se ve výkalech, odkud se šíří do životního prostředí, vody, půdy, a následně do potravin (Macela 2006). *Salmonella* Enteritidis se často vyskytuje v trusu ptáků, především u kachen a holubů. Do lidského organismu se dostává primárně potravinami (Šilhánková 2002).

V poslední době se salmonely hojně vyskytují v obdělávané půdě, kam se dostanou při závlahách kontaminovanou vodou, odkud se dále šíří na plodiny. V posledních letech je spojováno onemocnění salmonelózou s kontaminací zeleniny. Salátová zelenina a také rajčata jsou více citlivá na napadení salmonelou než jiné druhy rostlin, jako například řepa obecná, která obsahuje antibakteriální látky. *Salmonella* spp. byla objevena ve vzorcích ledového salátu a jahodách (Demnerová 2016; Karmakar et al. 2020).

Výrobky s vysokým obsahem tuku a nízkou aktivitou vody byly dříve považovány za bezpečné z hlediska napadení patogenními bakteriemi. Rod *Salmonella* se množí především v potravinách živočišného původu, avšak vyšší výskyt byl prokázán také u tučných výrobků jako např. čokoláda, arašídové nebo sezamové máslo. Tyto výrobky mají deklarovanou trvanlivost až dva roky a doporučují se skladovat v suchu, temnu a při pokojové teplotě, která je pro mikroorganismy příznivá. Základem výroby je pražení a mletí primárních surovin (kakaových bobů, arašídů či sezamových semen), ve kterých byly patogenní mikroorganismy identifikovány a pravděpodobně byly schopny přežít zpracování. *Salmonella enterica* byla



stanovena jako jeden z hlavních patogenů vyskytujícím se v tučných potravinách, ve kterých je schopna začít metabolizovat tuk namísto cukru (Olaimat et al. 2020).

Další potraviny náchylné na výskyt *Salmonella* spp. jsou: maso mleté, zmrazené i sušené, solené masné výrobky s vysokou i nízkou aktivitou vody, pasterované masné výrobky, sterilované konzervy, zmražená, vařená a sušená drůbež, mléko, kondenzované a sušené mléko, zmrzlina, sýry, vejce, vaječný obsah, ryby a jiní živočichové, uzené ryby, měkkýši, zelenina čerstvá a sušená, ořechy – zvláště kokosové moučky, mouky a suché mixy, těsto, těstoviny, cukrářské výrobky, koření, majonéza, sušené polévky, saláty, žabí stehýnka (Matyáš 1993).

### 7.3.2 Salmonelóza

*Salmonella* Enteritidis vyvolává salmonelózu, která způsobuje zánět tenkého střeva neboli enteritidu. Salmonelóza se typicky projevuje vodnatými průjmy, nevolností až zvracením, bolestí břicha a horečkou. Inkubační dobou se pohybuje od 6 hodin do 3 dnů v závislosti infekční dávce. Nemoc obvykle odezní do 7 dní v závislosti na dávce a imunitním stavu jedince. Ve stolici infikovaných osob je obvykle na začátku velké množství salmonel.

U dětí, starších osob a osob se sníženou imunitou vzniká riziko vzniku systémového onemocnění. Infekce vyvolaná *Salmonella* spp. byla identifikována jako spouštěcí mechanismus onemocnění, jako je reaktivní artritida nebo Reiterův syndrom (Macela 2006; Kameník et al. 2014).

## 7.4 Rod *Yersinia*

Rod *Yersinia* se řadí do třídy Gammaproteobacteria, řádu Enterobacterales a čeledi Enterobacteriaceae. *Yersinia* spp. je gramnegativní fakultativně anaerobní tyčinka (viz obr. 7), která je citlivá na nízké hodnoty pH a vysoké teploty, načež k usmrcení buněk dochází snadno pasterizací (Maddox 2020). Bakterie je negativní na oxidázu, nesporulující a fermentuje laktózu. *Yersinia enterocolitica* je příbuzná asi z 50 % *Y. pseudotuberculosis*, která se shoduje až v 90 % genů s *Y. pestis* (Miliotis & Bier 2003). Nevytváří spory ani neprodukuje toxiny. Požaduje vodní aktivitu minimálně 0,95 s maximální koncentrací 5 % NaCl. Vyskytuje se po celém světě a má dobrou konkurenceschopnost vůči jiným bakteriím (Bari & Ukuku 2015).

*Y. enterocolitica* je psychrotrofní mikroorganismus se schopností růstu i pod 4 °C, což je pro enteropatogeny nezvyklé. Optimální podmínky růstu se pohybují kolem 28–30 °C. Přitom zdvojnásobí počet buněk za přibližně 34 minut. Pro srovnání zdvojnásobení počtu při teplotě 1 °C potřebuje až 40 hodin. *Y. enterocolitica* odolává zmrazování a dokáže přežít i opakované zmrazování a rozmrazování. Naopak vyšší teploty ji dovedou spolehlivě zahubit. Náchylné potraviny na výskyt *Y. enterocolitica* jsou uvařené pokrmy skladované při pokojových, ale i chladírenských teplotách, pravděpodobně díky zvýšené dostupnosti živin a absenci dalších psychrofilních bakterií, které byly odstraněny v důsledku vaření. U uvařeného vepřového nebo hovězího masa se při 25 °C může počet bakterií zvýšit více než milionkrát. Při 7 °C lze dosáhnout stejného nárůstu do 10 dnů. U syrového masa je tempo růst pomalejší (Miliotis & Bier 2003). Při laboratorním zkoumání přežila *Y. enterocolitica* 64 týdnů ve vodě s teplotou 4 °C. V případě snížení pH pod hodnotu růstu lépe přežívá při nižších teplotách. Snadno se inaktivuje teplem. Při 60 °C klesne počet o 90 % za 30 sekund, při 65 °C

za 2 sekundy. Pro inaktivaci *Yersinia* spp. je ošetření pasterací dostatečné. *Yersinia* spp. je citlivá na sušení. V 5–7% solném roztoku zastavuje růst (Bari & Ukuku 2015).



Obrázek č. 4: *Yersinia enterocolitica*

Zdroj: <https://healthjade.net/yersinia-enterocolitica-infection/>

#### 7.4.1 Výskyt

*Yersinia enterocolitica* se běžně vyskytuje u zvířat, především hospodářských a domácích mazlíčků. Byla potvrzena nákaza od domácích psů. Hlavním rezervoárem bývá gastrointestinální trakt zvířat, především prasat. Epidemie tohoto onemocnění byly způsobeny kontaminovaným mlékem a dalšími potravinami, jako jsou drůbeží maso a měkkýši (Goering 2016; Maddox 2020).

Bakterie se vyskytuje ve střevním traktu savců a ptáků a v potravinách hrozí přítomnost především v živočišných produktech. Obzvláště vysoké nebezpečí hrozí u vepřového masa a výrobků z něj, nicméně přítomnost byla potvrzena v ústřicích, rybím masu a syrovém mléce. Ke kontaminaci dochází nedostatečnou hygienou pracovníků v potravinářském průmyslu, včetně nevhodného skladování. *Yersinia* spp. může vyskytovat i ve vzduchu, vodě nebo půdě (Bari & Ukuku 2015).

Studie provedená na Novém Zélandu se zabývala výskytem yersinií u člověka, kde za posledních 5 až 8 let proběhl významný nárůst případů yersiniózy. Z kontrolní studie provedené v letech 1995–1996 byly identifikovány rizikové faktory zahrnující konzumaci vepřových produktů a souvislost s domácí porážkou prasat. Dalšími zdroji klasifikovali kontakt se zvířetem či neupravenou splaškovou vodou. Jelikož *Yersinia* spp. aktivně roste při chladírenských teplotách, které se běžně používají k minimalizaci množení bakterií, nejpravděpodobnější přenos je z potravin (Rivas et al. 2021). Dokáže růst ve vakuově baleném masu, vařených vejcích a rybách, pasterizovaném mléce, či mořských plodech, ale také v chlazené zelenině či tofu. Nebezpečná je také pro transfúzní stanice, zejména pro schopnost růstu při 4 °C a produkce endotoxinu v krevních produktech bez změny na vzhledu. U mnoha druhů domácích a hospodářských zvířat byl prokázán výskyt patogenních druhů yersinií částečně bez projevu symptomů (Miliotis & Bier 2003).

Ohnisko *Yersinia pseudotuberculosis* zahrnovalo 47 případů ve Finsku, kde byl odhalen jako původce nákazy ledový salát. Salát byl pěstován na čtyřech farmách ve Finsku a byl kontaminován výkaly divokých jelenů (McCabe-Sellers & Beattie 2004).

#### 7.4.2 Yersinióza

Nejznámějším zástupcem rodu *Yersinia* je původce moru *Yersinia pestis*, ačkoli pro potravinářství má významnou roli také patogenní druh *Yersinia enterocolitica*. Spolu s *Yersinia pseudotuberculosis* vyvolává onemocnění yersinióza, kterým ročně v České republice onemocní okolo 500 osob. Onemocnění je spojováno s konzumací vepřového masa, zvláště pak zabíjačkových pokrmů (Kameník et al. 2014). Yersinióza se projevuje průjmem, horečkou a bolestmi břicha. Bakterie ohrožuje primárně děti v chladnějších oblastech světa. Onemocnění není obvykle smrtelné. Infekční dávka tvoří minimálně 10 milionů KTJ/g potravy (Maddox 2020).

Patogenní druhy *Y. enterocolitica*, *Y. pseudotuberculosis* vyvolávající yersiniózu, zbývající druh *Y. pestis* je původcem moru. Yersinióza se projevuje bolestí břicha, především v pravém dolním břišním kvadrantu, což může vést k záměně se zánětem apendixu. To může být zjištěno až při zbytečném operačním zákroku. Dále se může projevit zvracením, průjmem, horečkou a polyartritidou (Miliotis & Bier 2003; Lukáš & Hoch 2018).

Přenos je možný z potravin, vody a vzácně z člověka na člověka. Inkubační doba se pohybuje od 1 do 11 dnů. Nemoc obvykle do týdne samovolně vymizí, avšak u jedinců s oslabenou funkcí imunitního systému může enterokolitika přetrvávat i několik měsíců. Yersinióza častěji postihuje rizikové skupiny obyvatel (Bari & Ukuku 2015).

Výskyt yersiniózy v zemích Evropské unie v roce 2018 dosahoval 1,6 případů na 100 000 obyvatel. Nejvyšší zastoupení bylo ve Finsku s mírou 9,6 případů na 100 000 obyvatel, Česká republika byla na druhém místě s 5,9 případů na 100 000 obyvatel. Dánsko a Litva dosáhly stejné hodnoty 4,9 na 100 000 obyvatel. Ve Spojených státech amerických byla míra onemocnění za rok 2019 1,4 na 100 000 obyvatel. Vyšší výskyt yersiniózy bylo pozorováno na Novém Zélandu. Je ale nezbytné při porovnávání výskytu postupovat opatrně, jelikož frekvence testování se mohou v jednotlivých zemích lišit. Diagnostické laboratoře na Novém Zélandu zavedly v roce 2015 na kultuře nezávislé diagnostické testování (CIDT) ze vzorků stolice. První vzorek pozitivní na přítomnost yersinií byl diagnostikován v červnu 2017. Zvýšení výskytu hlášených případů yersiniózy od roku 2010 do roku 2017 tedy není v důsledku zavedení testování CIDT (Rivas et al. 2021).

#### 7.5 Rod *Listeria*

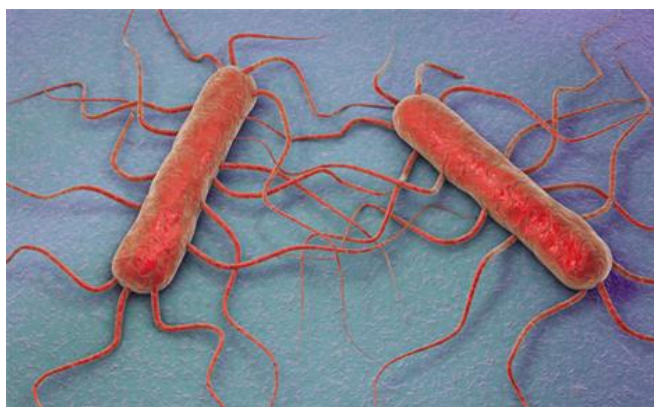
Bakterie se řadí třídy Bacilli, řádu Bacillales a čeledi Listeriaceae zahrnuje 10 druhů, například *L. monocytogenes*, *L. fleischmannii*, *L. grayi*, *L. innocua*, *L. ivanovii*. Významným druhem způsobujícím závažné onemocnění přenášené potravinami je *Listeria monocytogenes* (Rai & Bai 2014).

*Listeria* spp. je grampozitivní mezofilní fakultativní anaerob, který tvoří pravidelné nesporulující tyčinky, 0,4–0,7 µm silné a 0,5–2,0 µm dlouhé a uspořádané do krátkých řetízků. Výjimečně má tvar koků. Pohybují se pomocí peritrichálních bičků (viz obr. 11), které vytváří pouze při teplotách 20–25 °C. Charakterizuje se jako fakultativní intracelulární patogen, tedy

se dokáže rozmnožovat jak vně, tak i uvnitř buňky. Na pevných půdách roste v rozmezí 25–37 °C. Některé *Listeria* spp. kultivované na krevních agarrech tvoří hemolyzin, který způsobuje rozpad červených krvinek. Nehemolytické listerie jsou avirulentní, avšak hemolyzin není jedinou podmínkou k vyvolání onemocnění (Greenwood et al. 1999; Macela 2006; Demnerová et al. 2008).

Buňky *Listerie* spp. jsou schopny růstu v širokém rozmezí pH, teplot, vodní aktivity a koncentrace soli, nicméně pasterací dochází poměrně snadno k usmrcení. Ideální teploty k růstu se pohybují od 30 do 37 °C, avšak buňky jsou schopny růstu od 0 °C do 45 °C. Tolerují rozsah pH pro růst mezi 4 až 9,6. Navíc dovedou přežít v podmínkách pod pH 4. Ideální hodnota vodní aktivity je 0,97, ale bylo hlášeno přežití při vodní aktivitě již od 0,81 (Liu 2018).

*Listeria* spp. vylučuje beta hemolysin, který poškozují červené krvinky, je oxidáza negativní a kataláza pozitivní. *L. monocytogenes* zahrnuje 13 sérotypů způsobující onemocnění, nicméně v 90 % lidských izolátů patří ke třem sérotypům: 1/2a, 1/2b nebo 4b. V 33–50 % případů v Evropě a Severní Americe byl přítomen sérotyp 4b (Rai & Bai 2014).



Obrázek č. 5: *Listeria monocytogenes*

Zdroj: <https://www.bezpecnostpotravin.cz/efsa-aktualni-informace-k-nakazam-bakterii-listeria-monocytogenes.aspx>

### 7.5.1 Výskyt

*Listeria* spp. je v prostředí velmi rozšířena. Vyskytuje se v půdě, vodě, ve výkalech i na rostlinách, dokonce lze listerie pozorovat i u zdravých jedinců. Z potravin se nejčastěji přenáší nedostatečně opracovaným masem, nepasterizovaným mlékem, sýry a ohřívánými pokrmy (Šilhánková 2002; Demnerová et al. 2008). *L. monocytogenes* roste i při teplotě 4 °C, tedy může růst také v chladničkách. Není náročná a dobře snáší nízké teploty i vyšší míru soli. Je také velmi odolná a tvoří biofilmy. Vyskytuje se především v mlékárnách (Demnerová 2016). Listeriózou se lze nakazit z široké škály potravin, od již zmiňovaných mléčných výrobků a masa, po rostlinné produkty. Byla hlášena ohniska listeriózy, jejichž zdrojem byly klíčky fazolek mungo nebo meloun (Dong et al. 2021).

Listerie způsobují onemocnění u přežvýkavců s neurologickými příznaky nebo jsou příčinou potratů, ojediněle způsobují mastitidy. Bakterie bývá výjimečně izolovaná z výkalů prasat a drůbeže, u kterých onemocnění nevyvolává. Nejrizikovější potraviny jsou měkké zrající sýry jako například Romadur, tvarůžky a sýry typu Camembert, jelikož se v nich dokáže

dobře pomnožovat. Obecně jsou nebezpečné potraviny určené k přímé spotřebě, které se skladují v chladírenských teplotách, což umožňuje nárůst *L. monocytogenes* do infekční dávky. Na potraviny určené k přímé spotřebě byl stanoven limit 100 KTJ/g. Musí ale splňovat další faktory omezující růst listerií jako snížení hodnoty pH pod 4,4 a vodní aktivita menší než 0,92. V opačném případě se na potraviny před opuštěním závodu vztahuje přísnější limit nepřítomnosti listerií ve vzorku (Kameník et al. 2014).

Za rok 2010 listeriózou onemocnělo na celém světě 23 150 osob, z toho zemřelo 5 463 nemocných. Přibližně 20,7 % onemocnění se vztahovalo k prenatálnímu období. Ve Spojených státech amerických je ročně hlášeno 0,24 laboratorně potvrzených případů listeriózy na 100 000 obyvatel. Spojené státy americké přijaly zákon o „nulové toleranci“ pro *L. monocytogenes* v potravinách určených k přímé spotřebě. Zatímco Evropa stanovila limit 100 KTJ/g v potravinách určených k přímé spotřebě, které nepodporují růst *L. monocytogenes*. Potraviny k přímé spotřebě určené pro kojence a léčebné účely mají limit 0 KTJ/25 g potravin (Liu 2018).

Ve Spojených státech mezi lety 1989 a 1993 klesl počet případů z 7,9 na milion obyvatel na 4,2 případů na milion obyvatel. Počet případů nadále klesal do roku 2011. Na rozdíl od Evropy, která od roku 2000 zaznamenává nárůst listeriózy především u lidí starších 65 let. V roce 2014 byl výskyt listeriózy v Evropské unii 2 194 případů s celkovou mírou 0,6 na 100 000 obyvatel, přičemž 44 % případů listeriózy se vyskytlo v Německu a Francii (Liu 2018).

## 7.5.2 Listerióza

*L. monocytogenes* infikuje své hostitele alimentární cestou a z tenkého střeva je schopna putovat do krve, kde překonává hematoencefalitickou bariéru a dostává se až do mozku. Mimoto překonává také placentární bariéru. Způsobuje akutní nebo chronický zánět mozkových blan, může způsobit septikemii, gastroenteritidy a také zapříčinit potrat. Úmrtnost se pohybuje kolem 20 % (Macela 2006). U zdravých jedinců se obvykle neprojevují příznaky, nicméně se mohou objevit trávicí potíže. *L. monocytogenes* představuje riziko především pro jedince se sníženou imunitou, novorozence, starší populaci a těhotné ženy. Na začátku těhotenství je *L. monocytogenes* původcem potratů, v pozdějším stádiu gravidity dochází k poškození plodu nebo encefalitidě či pneumonii po narození. U lidí s oslabenou imunitou nebo u seniorů může infekce vyústit v zánět mozkových blan. Infekční dávka pro zdravého člověka se pohybuje kolem  $10^8$  buněk. Pro oslabené jedince je dávka pouze  $10^2$ – $10^3$  buněk. Pro léčbu se nasazují antibiotika penicilinové řady. *Listeria* spp. jsou přirozeně rezistentní vůči cefalosporinům (Demnerová et al. 2008). V porovnání s dalšími bakteriemi způsobující alimentární onemocnění má *L. monocytogenes* vyšší úmrtnost (Šilhánková 2002).

## 8 Monitoring výskytu nemocí

Výskyt nemocí přenášených potravinami se v různých zemích střední Evropy liší, ačkoli počet případů zůstává ve stejné zemi podobný. Tato skutečnost má několik důvodů. Každá země má: a) rozdílná pravidla a postupy o hlášení infekcí; b) různé hodnocení nemocí (například zda je určité gastrointestinální onemocnění přenášené potravinami); c) jinak účinný systém hlášení infekcí (dle názorů odborníků není hlášeno 4–10 % nemocí z potravin). Navíc v zemi s funkčním systémem veřejného zdraví může být podíl registrovaných nemocí výrazně vyšší (Miliotis & Bier 2003).

### 8.1 Evropský úřad pro bezpečnost potravin

Evropský úřad pro bezpečnost potravin (EFSA – European Food Safety Authority) se sídlem v italské Parmě byl založen jako nezávislá evropská vědecká organizace v roce 2002 a je financován Evropskou unií. Úřad kontroluje bezpečnost potravin v celém potravinářském průmyslu pod heslem „Z farmy na vidličku“ (From farm to fork), což zahrnuje distribuci, dopravu, prodej a spotřebu potravin. EFSA dále dbá na zdraví a dobré životní podmínky zvířat a monitoruje biologická rizika, pesticidy a geneticky modifikované organismy (Bari & Ukuku 2015). EFSA shromažďuje vědecké poznatky ohledně bezpečnosti potravin a vydává upozornění o možném nebezpečí plynoucím z potravinového řetězce. Vědecké poznatky slouží autorům evropských zákonů a strategií k ochraně zdraví spotřebitele. EFSA podporuje důvěryhodnost systému Evropské unie v otázce zdravotní nezávadnosti potravin (Evropská unie 2020).

### 8.2 Evropské středisko pro prevenci a kontrolu nemocí

Evropské středisko pro prevenci a kontrolu nemocí (ECDC) je organizace Evropské unie se sídlem ve Stockholmu založená v roce 2005. ECDC identifikuje, eviduje a informuje o aktuálním výskytu infekčních onemocnění a snaží se zabránit dalšímu šíření. Spolupracuje s členskými státy a pomáhá rozvíjet systémy včasného varování a dozoru nad chorobami. ECDC shromažďuje informace ohledně zdravotního stavu občanů EU a vydává svá stanoviska podložená vědeckými poznatky ohledně rizik, která představují infekční choroby (Bari & Ukuku 2015).

### 8.3 Informační systém infekční nemoci ISIN

V České republice slouží od roku 2018 informační systém infekční nemoci ISIN, který slouží k hlášení a evidenci výskytu infekčních nemocí. Systém nahradil program EpiDat, který fungoval do konce roku 2017. Systém ISIN funguje jako webová aplikace a slouží jako základ pro kontrolu šíření infekčních nemocí a k vyhodnocení epidemiologické situace. Současně sdílí získané informace s Evropskou unií a WHO. Na vývoji systému spolupracuje Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR spolu se Státním zdravotním ústavem, Ministerstvem zdravotnictví a hygienickou službou. Systém se řídí závaznými předpisy, zejména:

- 1) Zákon č. 258/2000 Sb., o ochraně veřejného zdraví, ve znění pozdějších předpisů,

2) Vyhláška č. 473/2008 Sb., o systému epidemiologické bdělosti pro vybrané infekce ve znění pozdějších předpisů (Vyhláška č. 275/2010 Sb. a Vyhláška č. 233/2011 Sb.),

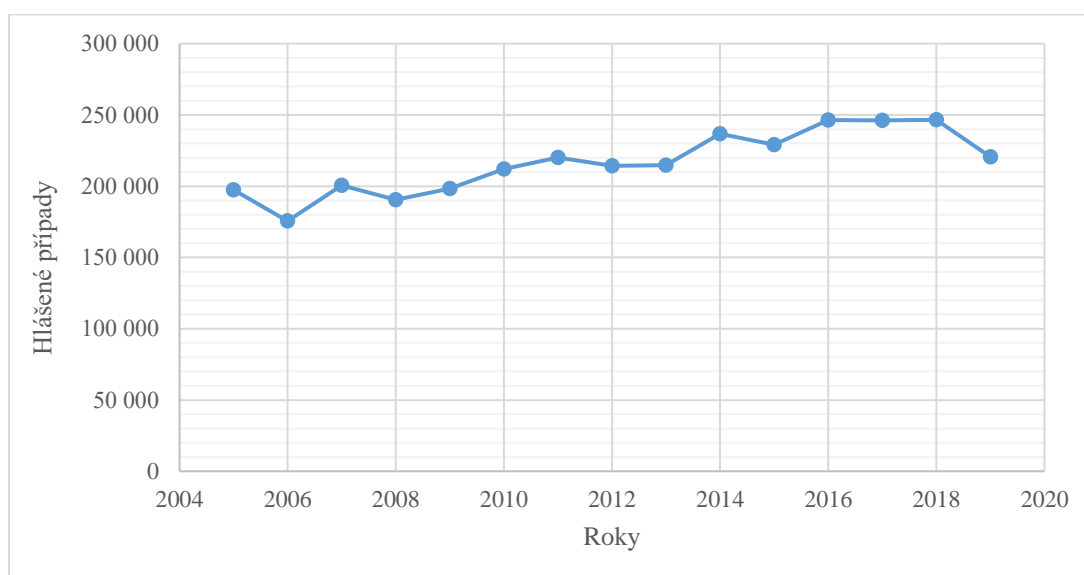
3) Vyhláška č. 306/2012 Sb., o podmínkách předcházení vzniku a šíření infekčních onemocnění a o hygienických požadavcích na provoz zdravotnických zařízení a ústavů sociální péče a dalšími předpisy ustanovenými Evropskou unií a Světovou zdravotnickou organizací (Státní zdravotní ústav 2019).

## 9 Výskyt nemocí v Evropě

V rámci kontroly zdravotní nezávadnosti potravin vydává EFSA každoročně zprávu o výskytu zoonóz na území Evropské unie. Zoonózy jsou definované jako infekční nemoci vyvolané mikroorganismy a šířené mezi zvířaty a lidmi, které se nejčastěji přenášejí kontaminovanými potravinami (EFSA & ECDC 2019). První report byl vydán v roce 2005. Pět nejčastějších zoonóz souvisí s patogenními bakteriemi, které se nejčastěji přenášejí potravinami. Jedná se o kampylobakteriózu, salmonelózu, infekce vyvolané STEC, yersiniózu a listeriózu. Jejich výskyt od roku 2005 do roku 2019 je detailněji popsán dále.

### 9.1 Kampylobakterióza

Graf č. 2: Výskyt kampylobakteriózy v zemích Evropské unie mezi lety 2005–2019



Zdroj: upraveno dle ECDC & EFSA (2006–2021)

Graf č. 2 udává vývoj hlášených případů kampylobakteriózy v Evropské unii mezi lety 2005 až 2019. Kampylobakterióza je od roku 2005 nejčastěji hlášenou zoonózou a počet hlášených případů vykazuje rostoucí trend. Nejméně hlášených případů za období bylo v roce 2006 s počtem 175 561 a nejvyšší v roce 2018 s počtem 246 571. Jedná se o nárůst o 40 %. Celkový počet hlášených případů za rok 2005 činil 197 363. Od roku 2008 do roku 2011 se počet případů zvýšil o 15 %. Mezi lety 2016 a 2018 se počet hlášených případů stabilizoval, přesto bylo v roce 2018 evidováno zatím nejvíce případů od roku 2005. V roce 2019 tvořila kampylobakterióza 50 % všech hlášených případů zoonóz (ECDC & EFSA 2006–2021).



Tabulka č. 4: Hlášené počty hospitalizací a úmrtí při nákaze kamylobakterií

Kamylobakterií	2015	2016	2017	2018	2019
Počet nemocí	229 213	246 307	246 158	246 571	220 682
Počet hospitalizací	19 302	19 265	20 810	20 948	20 432
% hospitalizací	8,42	7,82	8,45	8,50	9,26
Počet úmrtí	59	62	45	60	47
% úmrtí	0,03	0,03	0,02	0,02	0,02

Zdroj: upraveno dle ECDC & EFSA (2016–2021)

Za posledních pět let nebyly zaznamenány výrazné výkyvy v počtu hlášených úmrtí a hospitalizací. Podíl hospitalizovaných se pohyboval okolo 8,5 % a úmrtnost byla 0,02 % viz tabulka č. 4 (ECDC & EFSA 2016–2021)

Rod *Campylobacter* ve většině případů nezpůsobuje závažné onemocnění, což potvrzuje nízký počet hospitalizací, který v roce 2019 dosáhl počtu 20 432 (9,26 %) a 47 (0,02 %) případů úmrtí na kamylobakterií. To bylo podobné průměrnému procentu smrtelných následků pozorovaným mezi lety 2014 až 2019 (ECDC & EFSA 2021)

Incidence kamylobakterií se v roce 2019 v jednotlivých státech silně lišila od 0,1 do 302,7 na 100 000 obyvatel. Nejvyšší počet případů byl evidován u věkové skupiny 25–44 let. Výskyt kamylobakterií vykazoval značnou sezónost, kdy nejvyšší počet hlášení byl v letních měsících. U většiny nálezů bylo identifikováno drůbeží maso jako zdroj infekce.

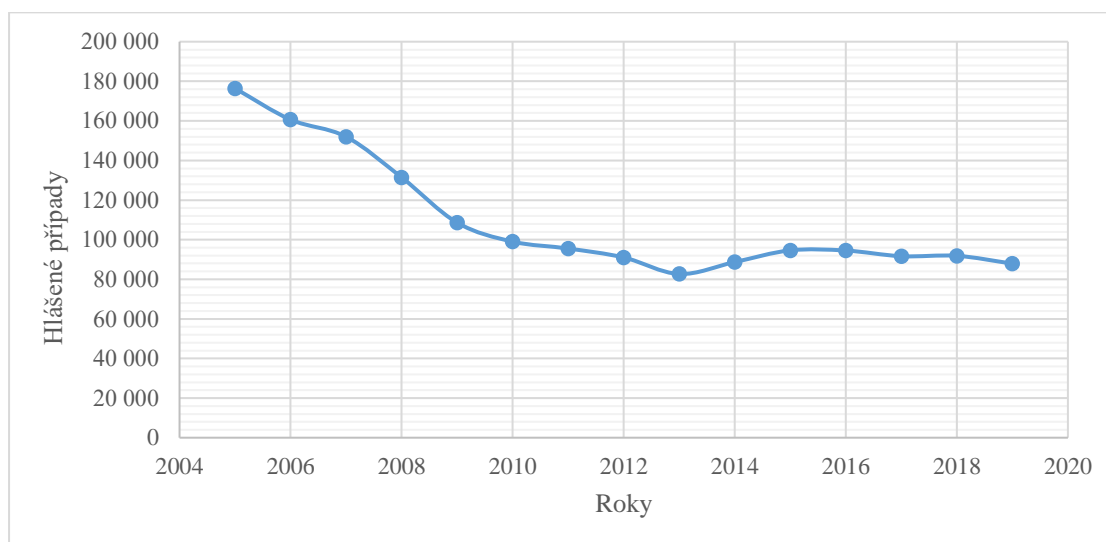
Stejně jako v dřívějších letech byl nejčastěji detekován *Campylobacter jejuni* (83,1 % případů) a *Campylobacter coli* (10,8 % případů). Údaje za rok 2018 o specifikaci druhu vyvolávající kamylobakterií poskytlo 24 členských států pro 55,2 % hlášených případů kamylobakterií (ECDC & EFSA 2021)

Většina případů (94,4 %) se známým původem infekce byla vznikla na území Evropské unie. *Campylobacter* spp. byl v roce 2019 třetím nejčastějším původcem ohnisek pocházející z potravin. Bylo evidováno 319 ohnisek. Nejčastějšími zdroji velkých ohnisek v souvislosti s potravinami bylo maso brojlerů a mléko, stejně jako v předchozích letech.

*Campylobacter* spp. byl detekován v mase ve 23 % odebraných vzorků, v mléce ve 2 % a u vzorků ovoce, zeleniny a džusů 0,2 %. *Campylobacter* spp. byl izolován ze všech kategorií čerstvého masa, přičemž nejvyšší procento jednotek vzorkování pozitivních na *Campylobacter* spp. bylo hlášeno z čerstvého masa od krůt a brojlerů ve 33 % odebraných vzorků. Ze 3 346 vzorků kůže na krku z chlazených jatečně upravených těl brojlerů bylo 1 365 (41 %) pozitivních na *Campylobacter* spp. a u 506 (15 %) vzorků překročilo limit 1 000 KTJ/g (ECDC & EFSA 2021).

## 9.2 Salmonelóza

Graf č. 3: Výskyt salmonelózy v zemích Evropské unie mezi lety 2005–2019



Zdroj: upraveno dle ECDC & EFSA (2006–2021)

Graf č. 3 udává vývoj hlášených případů salmonelózy v Evropské unii mezi lety 2005 až 2019. Již od roku 2005 zůstává počet hlášených případů salmonelózy v Evropské unii na druhém místě za kampilobakteriózou viz graf č. 7. V roce 2005 dosahoval výskyt salmonelóz počtu 176 365 hlášených případů, což byl nejvyšší výsledek za dané období. Mezi lety 2005 až 2010 byl zaznamenán klesající trend a v dalších letech se výskyt stabilizoval. V roce 2013 byl zaznamenán nejnižší počet případů salmonelózy 82 694 za období 2005–2019. Bylo hospitalizováno 7 841 (9,48 %) a hlášeno 59 (0,07 %) případů úmrtí. V roce 2019 bylo hlášeno 87 923 případů salmonelózy z toho bylo hlášeno 16 628 (18,9 %) hospitalizovaných pacientů. Na salmonelózu zemřelo v roce 2019 140 lidí (0,16 %) (ECDC & EFSA 2006–2021).

Jedním ze způsobů snížení výskytu chorob představuje snížení počtu zoonotických mikroorganismů u živých zvířat. V roce 2019 splnilo 18 členských států své cíle ohledně snížení výskytu salmonel u drůbeže, zatímco 8 států nesplnilo ani jeden. Nicméně výsledky testování na výskyt salmonel u drůbeže se značně rozcházejí u testů provedených provozovateli podniků s výsledky provedenými vnitrostátními kontrolními orgány, u kterých jsou výsledky častěji pozitivní (ECDC & EFSA 2021).

Tabulka č. 5: Hlášené počty hospitalizací a úmrtí při nákaze salmonelózou

Salmonelóza	2015	2016	2017	2018	2019
Počet nemocí	94 625	94 530	91 662	91 857	87 923
Počet hospitalizací	12 353	12 182	16 796	16 556	16 628
% hospitalizací	13,05	12,89	18,32	18,02	18,91
Počet úmrtí	126	128	156	119	140
% úmrtí	0,13	0,14	0,17	0,13	0,16

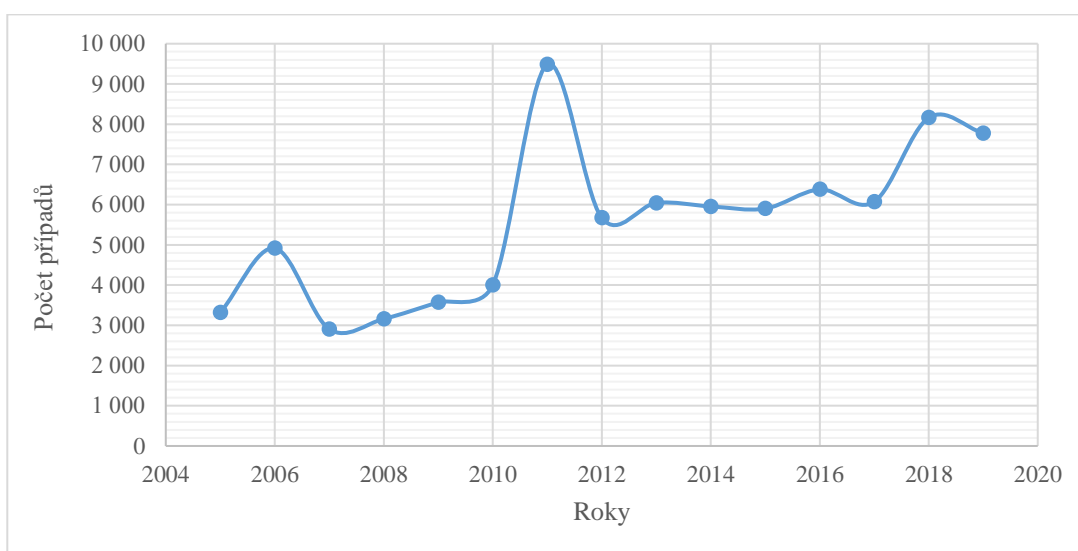
Zdroj: upraveno dle ECDC & EFSA (2016–2021)

Za posledních pět let nebyl zaznamenán výrazný nárůst úmrtí a hospitalizovaných případů. Podíl hospitalizovaných se pohyboval okolo 16,24 % a úmrtnost byla 0,15 % viz tabulka č. 5. U nálezů salmonelózou byl hlášený vyšší podíl hospitalizací a úmrtí oproti nálezům kampilobakterií (ECDC & EFSA 2016–2021).

Ve všech členských státech byl pozorován sezónní vrchol během pozdního léta. Nejčastějšími sérovary jsou *S. Enteritidis* a *S. Typhimurium* stejně jako v předchozích letech. V potravinách byla nejčastěji detekována u masa a masných výrobků, především u drůbežího, a to ve všech úrovních produkce. Salmonela byla přítomna u 3–7 % vzorků koření a bylin. Nejběžnějším zdrojem salmonelózy byla vejce a pekařské výrobky (ECDC & EFSA 2006). Salmonela způsobila během roku 2019 17,9 % všech ohnisek přenášených potravinami. Převážná většina (72,4 %) ohnisek salmonelózy způsobených potravinami byla způsobena *S. Enteritidis*. Salmonela byla identifikována v čerstvém krutím masu u 5,4 % testovaných vzorků, následovaná čerstvým kuřecím, vepřovým a hovězím masem. Byla jen zřídka detekována u konzumních vajec (0,03 %). Přesto zůstává nejčastějším zdrojem ohnisek salmonely vejce a vaječné výrobky (ECDC & EFSA 2021).

### 9.3 Infekce vyvolané STEC

Graf č. 4: Výskyt hlášených případů infekce STEC v zemích EU v letech 2005–2019



Zdroj: upraveno dle ECDC & EFSA (2006–2021)

Graf č. 4 udává vývoj hlášených případů nemoci vyvolané Shiga toxin-produkující *E. coli* (STEC). Údaje popisují vývoj nákazy v Evropské unii mezi lety 2005 až 2019. V roce 2005 bylo hlášeno 3314 případů onemocnění STEC. V roce 2006 se počet zvýšil o 48 % s počtem 4916 oproti předchozímu roku. V roce 2007 došlo opět k poklesu a v letech 2007–2010 měl výskyt mírně stoupající charakter (ECDC & EFSA 2016–2021).

V roce 2011 bylo evidováno 9485 případů (1,9 na 100 000) s nárůstem o 159,4 % oproti minulému roku. Šlo především o rozsáhlá ohniska STEC O104:H4 v Německu. V souvislosti s nákazou STEC byl zaznamenán vysoký počet případů hemolyticko-uremického syndromu (HUS), který vzniká jako postinfekční onemocnění. Z 222 případů v roce 2010 stoupl počet na 1 006 v roce 2011. V roce 2012 se počet případů opět snížil, nicméně se již nevrátil na počty

před rokem 2011. Důvodem mohlo být vyšší povědomí o infekci a zvýšený počet laboratoří testujících i pro jiné sérotypy než O157. Od roku 2012 do roku 2017 zůstaly počty stabilní. Výraznější nárůst nastal opět v roce 2018 (ECDC & EFSA 2015–2019).

Tabulka č. 6: Hlášené počty hospitalizací a úmrtí při nákaze STEC

Infekce STEC	2011	2015	2016	2017	2018	2019
Počet nemocí	9 485	5 901	6 378	6 073	8 161	7 775
Počet hospitalizací	721	853	940	933	1 151	1 100
% hospitalizací	7,60	14,46	14,74	15,36	14,10	14,15
Počet úmrtí	56	8	10	20	11	10
% úmrtí	0,59	0,14	0,16	0,33	0,13	0,13

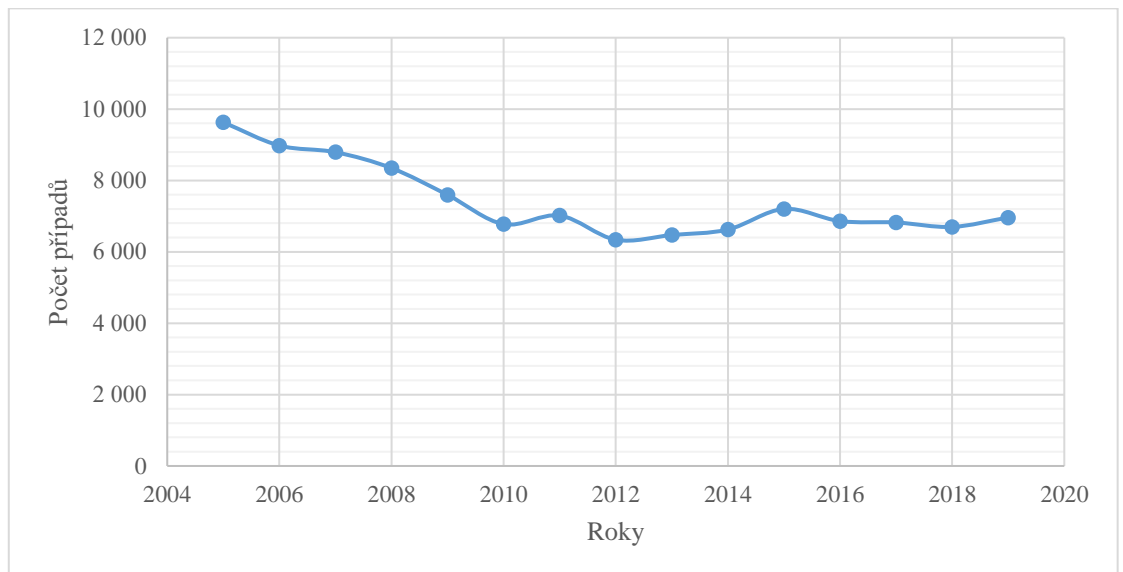
Zdroj: upraveno dle ECDC & EFSA (2016–2021)

Za posledních pět let nebyl zaznamenán výrazný nárůst úmrtí a hospitalizovaných případů. Podíl hospitalizovaných se pohyboval okolo 14,67 % a úmrtnost byla 0,19 % viz tabulka č. 6. Rok 2011, který byl ve výskytu nákazy odlišný vykazoval nižší podíl hlášených hospitalizací s počtem 721 (7,6 %), zato o něco vyšším počtem 56 (0,59 %) hlášených úmrtí a významně se odlišoval od průměru posledních let (ECDC & EFSA 2016–2021).

V roce 2019 byla třetí nejčastěji hlášenou zoonózou u lidí infekce STEC bylo hlášeno 7 775 potvrzených případů u 27 zemí EU viz graf č. 7. Míra oznámení byla 2,2 případů na 100 000 obyvatel. Na následky infekce zemřelo 10 lidí (0,13 %). Nejvyšší míry oznámení byla v Irsku, na Maltě, v Dánsku a ve Švédsku. U čtyř hlavních ohnisek roku 2019 bylo identifikováno hovězí maso, mléko a kohoutková voda jako hlavní zdroje infekce STEC. Z 20 395 vzorků testovaných na STEC bylo pozitivních 2,8 %, ve srovnání s 2,4 % v roce 2018. Od roku 2013 dle nařízení EU je povinné testovat naklíčená semena na přítomnost STEC. Z 331 testovaných vzorků nebyl žádný pozitivní (ECDC & EFSA 2021).

## 9.4 Yersinióza

Graf č. 5: Výskyt hlášených případů yersiniózy v zemích EU v letech 2005–2019



Zdroj: upraveno dle ECDC & EFSA (2006–2021)

Graf č. 5 udává vývoj hlášených případů yersiniózy v Evropské unii mezi lety 2005 až 2019. Nejvyšší výskyt onemocnění yersiniózou byl v roce 2005 s celkovým počtem 9 630. V letech 2005–2010 byl u potvrzených případů yersiniózy pozorován klesající trend. Pozitivní nálezy *Yersinia* spp. byly hlášeny hlavně u vepřového masa a výrobků z něj (ECDC & EFSA 2015). V roce 2019 bylo hlášeno 6 961 případů, z toho 648 hospitalizací a 2 úmrtí (0,03 %). V roce 2019 byla yersinióza čtvrtou nejčastěji hlášenou zoonózou u lidí s počtem 6961 případů nákazy. Trend případů lidské yersiniózy zůstává stabilní od roku 2010 (ECDC & EFSA 2006–2021).

V roce 2005 byl u nakažených nejčastěji izolován *Y. enterocolitica* sérovar O:3. Na *Y. enterocolitica* bylo nejvíce pozitivních vzorků vepřového masa (až 17 %). Několik států hlásilo výskyt *Y. pseudotuberculosis*. Kmeny *Y. enterocolitica*, včetně lidských patogenních kmenů, byly nalezeny u prasat, skotu, ovcí a koz. Nejvyšší prevalence byla hlášena u skotu (12 %) a prasat (3 %) (ECDC & EFSA 2006).

V roce 2019 bylo 149 případů yersiniózy v 15 ohniscích spojené s potravinami. Tři významná ohniska byla v Dánsku a Švédsku. Zdrojem nákazy byly zeleninové džusy. Ve Finsku bylo zdrojem ohniska jídlo podávané formou bufetu. V letech 2010–2019 byly dvě nejčastěji uváděné potravinové kategorie způsobující závažné ohniska yersiniózy přenášené potravinami vepřové maso a zeleninové džusy. U testovaných 907 vzorků potravin určených k přímé spotřebě bylo 76 (8,4 %) pozitivních na *Y. enterocolitica*. 75 pozitivních vzorků bylo maso a masné výrobky a jeden u hotového jídla (ECDC & EFSA 2021).

Tabulka č. 7: Hlášené počty hospitalizací a úmrtí při nákaze yersiniózou

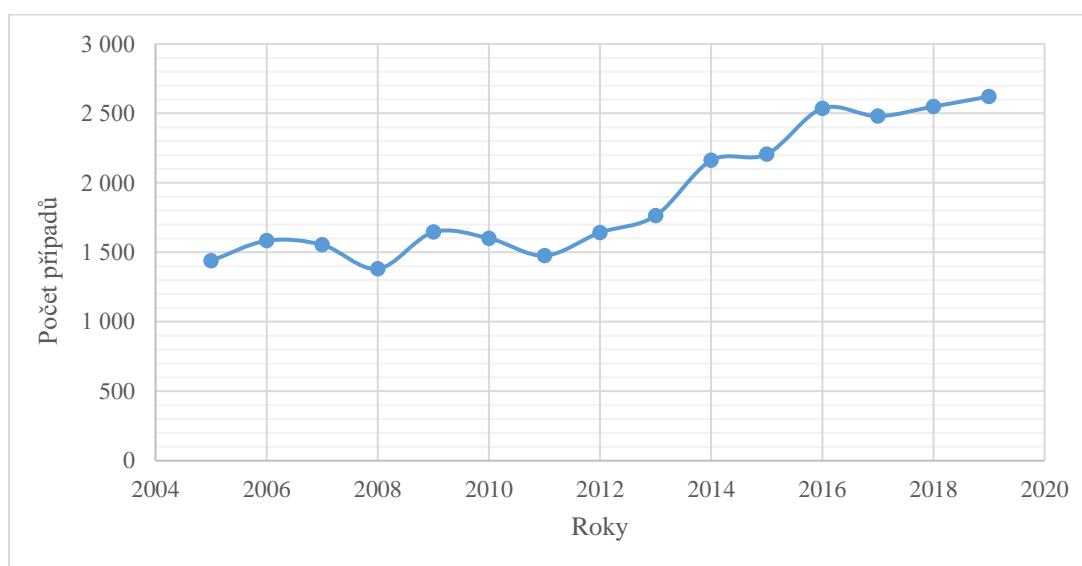
Yersinióza	2015	2016	2017	2018	2019
Počet nemocí	7 202	6 861	6 823	6 699	6 961
Počet hospitalizací	530	521	616	519	648
% hospitalizací	7,36	7,59	9,03	7,75	9,31
Počet úmrtí	0	5	3	3	2
% úmrtí	0,00	0,07	0,04	0,04	0,03

Zdroj: upraveno dle ECDC & EFSA (2016–2021)

U Yersinióz byl hlášený velmi malý výskyt smrtelných případů s průměrným podílem 0,04 %. Hlášeno bylo 8,21 % hospitalizací. Za posledních pět let nebyla zaznamenána výrazná změna v počtu hlášených úmrtí a hospitalizovaných případů viz tabulka č.7 (ECDC & EFSA 2016–2021).

## 9.5 Listeriόza

Graf č. 6: Výskyt hlášených případů listeriόzy v zemích EU v letech 2005–2019



Zdroj: upraveno dle ECDC & EFSA (2006–2021)

Graf č. 6 udává vývoj hlášených případů listeriόzy v Evropské unii mezi lety 2005 až 2019. Za období 2005 až 2019 se počty případů neustále zvyšovaly. Nejnižší výskyt byl evidován v roce 2005 v 1 439 případech. Nejvyšší výskyt byl v roce 2019 s počtem 2621. Infekce listeriόzou byla nejčastěji hlášena ve věkové skupině nad 64 let, zejména ve věkové skupině nad 84 let (ECDC & EFSA 2006–2021).

V roce 2005 obsahovalo jen velmi málo potravin určených k přímé spotřebě bakterie *L. monocytogenes* v množství přesahující stanovený limit. Vzorky, které limit překročily byly nejčastěji nalezeny v produktech rybolovu (ECDC & EFSA 2006). Tento trend byl pozorován i v roce 2019, kdy *L. monocytogenes* zřídka překročila limit bezpečnosti potravin EU testovaný v potravinách připravených k přímé konzumaci. Ve všech kategoriích potravin, na které se

vztahuje nařízení (ES) č. 2073/2005, zůstala úroveň neuspokojivých výsledků v maloobchodě nízká (0,0 % u tvrdých sýrů až 2,1 % u výrobků masného původu, kvašené klobásy). Nejvyšší úroveň kontaminace byla, stejně jako v předchozích letech, zjištěna u ryb, kde bylo 5,8 % pozitivních vzorků (ECDC & EFSA 2021). Pro porovnání byla v roce 2013 nejvyšší úroveň nedodržování předpisů u produktů rybolovu (především uzené ryby). Následovaly měkké a poloměkké sýry, masné výrobky určené k přímé spotřebě a tvrdé sýry (ECDC & EFSA 2015).

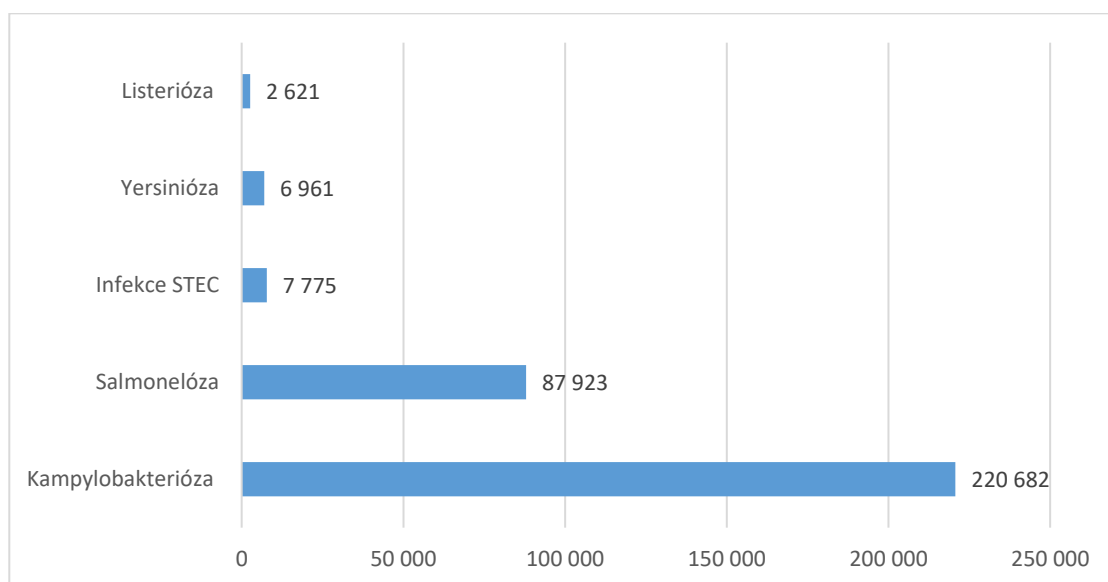
Tabulka č. 8: Hlášené počty hospitalizací a úmrtí při nákaze listeriózou

Listerióza	2015	2016	2017	2018	2019
Počet nemocí	2 206	2 536	2 480	2 549	2 621
Počet hospitalizací	964	962	988	1 049	1 234
% hospitalizací	43,70	37,93	39,84	41,15	47,08
Počet úmrtí	270	247	225	229	300
% úmrtí	12,24	9,74	9,07	8,98	11,45

Zdroj: upraveno dle EFSA & ECDC 2015–2019

U listeriózy byl nejvyšší podíl hlášených hospitalizací a úmrtí oproti ostatním nemocím a je jednou z nejzávažnějších chorob přenášených potravinami pod dohledem EU. Za posledních 5 let bylo průměrně hospitalizováno 41,94 % a úmrtnost dosáhla 10,3 %. Nebyl zaznamenán výrazný výkyv v počtu úmrtí a hospitalizovaných případů viz tabulka č. 8 (ECDC & EFSA 2016–2021).

Graf č. 7: Nejčastěji hlášené zoonózy v zemích Evropské unie za rok 2019



Zdroj: upraveno dle EFSA & ECDC 2021

## 10 Bezpečnost potravin

Bezpečnost potravin je základním principem evropské potravinové politiky, který zaručuje ochranu zdraví spotřebitelů. Bezpečnost potravin zahrnuje hodnocení mikrobiálních rizik. Má za cíl zabránit infekcím přenášených potravinami, intoxikacím. V rámci ochrany potravin jsou zkoumány trendy spojené s balením potravin pro zvýšení bezpečnosti výrobků a hodnotí se případná rizika. Navíc jsou používány prediktivní modely pro mikrobiologii potravin. V rámci ochrany spotřebitele probíhá kontrola k prevenci potravinových podvodů. K zajištění kontroly a nezávadnosti slouží potravinové zákony, předpisy a nařízení (Ministerstvo zemědělství 2001; Rai & Bai 2018).

### 10.1 Legislativa

Vstupem do Evropské unie se Česká republika zavázala zajišťovat vysokou bezpečnost a kvalitu potravin. V rámci mikrobiologické bezpečnosti bylo vytvořeno Nařízení komise (ES) č. 2073/2005: o mikrobiologických kritériích pro potraviny, které by byly akceptovatelné pro všechny členské státy EU (Evropský parlament a Rada (ES) 2005). Cílem tohoto nařízení bylo snížit množství určitých mikroorganismů a zavést pravidla, která musí výrobci potravin dodržovat (Blažková et al. 2010). Nařízení zahrnuje mikroorganismy, u kterých je pravděpodobný a častý výskyt v potravinách, a které představují riziko pro lidské zdraví. Dle Nařízení (ES) č. 2073/2005 nesmějí potraviny obsahovat dané mikroorganismy, jejich toxiny a metabolity v množství, které by mohlo ohrozit člověka. Hlavní odpovědnost za plnění nařízení leží na provozovatelích potravinářských zařízení (Demnerová 2012).

Kritéria bezpečnosti se stanovují limity na *L. monocytogenes* pro potraviny určené k přímé spotřebě. U potravin je stanovena nepřítomnost *Salmonella* spp. ve 25 g po dobu údržnosti (stanové limity jsou pro širokou škálu potravin od masa, mléčných výrobků, vajec, ovoce a zeleniny, mořských plodů a kojeneckou výživu). Přísnější jsou kritéria pro mleté a strojně oddělené maso (SOM), kde je požadována nepřítomnost v 10 g. Dále se kontrolují stafylokokové enterotoxiny v sýrech, sušeném mléce a syrovátce, u kterých je požadována nepřítomnost v 25 g. Pro *E. coli* je stanoven limit na mořské živočichy a na *Cronobacter* spp. pro kojeneckou výživu s limitem nepřítomnosti v 10 g. U čerstvého drůbežního masa je dále specifikován limit na nepřítomnost ve 25 g pro konkrétní druhy *Salmonella* Typhimurium a *Salmonella* Enteritidis. U klíčků je limit na výskyt Shiga toxin produkující *E. coli* (STEC) O157, O26, O111, O103, O145 a O104:H4.

Dále jsou stanovena kritéria hygieny výrobního procesu u masa a výrobků z něj, kde se sledují počty kolonií aerobních mikroorganismů, Enterobacteriaceae a rodu *Salmonella*. U mletého a strojně odděleného masa se dále stanovuje přítomnost *E. coli* s limitem 50 KTJ/g. U jatečně upravených těl brojlerů je limit na *Campylobacter* spp. 1000 KTJ/g.

U mléka a mléčných výrobků jsou stanoveny limity na Enterobacteriaceae, *E. coli*, koaguláza pozitivní stafylokoky, limit pro *Bacillus cereus* je u sušené kojenecké výživy. U vaječných produktů se stanovuje limit na Enterobacteriaceae. Při odebrání 5 vzorků je limit 10 KTJ.



U produktů rybolovu se stanovuje limit na *E. coli* a koaguláza pozitivní stafylokoky. Kritéria se vztahují na konec výrobního procesu. V případě nevyhovujících výsledků je nutné zlepšení hygieny výroby.

Pro *E. coli* je stanoven limit pro předkrájené ovoce a zeleninu a nepasterizované ovocné a zeleninové šťávy určené k přímé spotřebě. Při odběru 5 vzorků je limit 100 KTJ/g na jeden vzorek. Kritérium se vztahuje na výrobní proces. V případě nevyhovujících výsledků je potřeba zlepšit hygienu výroby a dbát na výběr surovin (Evropský parlament a Rada (ES) 2005).

## 10.2 Systém HACCP

HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Points systém) je preventivní systém, díky kterému lze vyrábět potraviny s vysokou bezpečností, a zároveň snížit závislost odběru a testování hotových produktů. Systém identifikuje nebezpečí, zamezuje kontaminaci, a navíc umožňuje efektivní vládní dohled díky vedení záznamů (Miliotis & Bier 2003). Kromě toho jsou zásady systému HACCP celosvětově standardizovány a lze je aplikovat pro veškerou výrobu a distribuci poživatin, v maloobchodě i stravovacích zařízeních v přípravě pokrmů (Bari & Ukuku 2015).

Systém HACCP slouží k prevenci vstupu patogenů do potravinového řetězce. V případě kontaminace pomáhá zpětně určit příčinu, místo vstupu a následně tuto chybu eliminovat. Systém se skládá ze tří hlavních složek: analýzy rizik, stanovení kontrolních bodů (CCP) a jejich monitorování. Analýza rizik spočívá v identifikaci všech nebezpečí, která mohou v procesu vzniknout, počínaje surovinami, přes všechny fáze zpracování, včetně distribuce a pravděpodobného použití produktu. U kritických kontrolních bodů (CCP) jsou identifikovány ve výrobě a stanoveny jejich limity, které musí být dodrženy. Pokud dojde k překročení limitů, hrozí, že konečný produkt bude nepřijatelný. Monitorování kritických kontrolních bodů spočívá v navržení systému pro evidenci kritických kontrolních bodů, aby bylo možné ověřit jejich funkčnost (Maddox 2020).

## 10.3 Preventivní opatření

Syrové maso, drůbež, vejce, zelenina a koření jsou rizikové potraviny, ve kterých je častý výskyt saprofytických někdy i patogenních mikroorganismů. Ze zdravotního hlediska a dle doporučení WHO jsou bezpečnější výrobky, u kterých bylo využito z některých způsobů konzervace.

Pro zamezení nárůstu mikrobů v potravinách je nezbytné dodržet správné podmínky skladování. Potraviny s pH vyšším než 5,2 a vodní aktivitou nad 0,95 musí být uchovávány při teplotě do 5 °C. Do 10 °C lze uchovávat potraviny s pH 5,0–5,2 a vodní aktivitou 0,91–0,95. U nižších hodnot pH a vodní aktivity není skladování nutné. Pasterované masné výrobky a mléko je nutné udržovat v chladu. K zabránění vyklíčení spor *Clostridium botulinum*, které přežívají pasteraci, se využívá snížení pH, vodní aktivity nebo uchování při chladírenských teplotách. Sušené výrobky je potřeba chránit před zvlhnutím, aby se zabránilo infekci.

Během přípravy potravin k vaření je nutné především zabránit křížové kontaminaci potravin podávaných v syrovém stavu s potravinami určenými k tepelné úpravě, jako je syrové maso, které je významným zdrojem kontaminace.

Při vaření by mělo být dosaženo minimálně 66 °C po dobu 10 minut. Splněním těchto podmínek u potravin s vodní aktivitou nad 0,93 by měly být zlikvidovány nesporeotvorné patogeny a vegetativní formy sporeotvorných mikroorganismů. Spory a termostabilní toxiny se vaření za daných podmínek přežívají. Pokud pokrm není zkonsumován okamžitě po uvaření, je nutné zabránit sekundární kontaminaci. Uvařené potraviny není vhodné nechávat při teplotách 10–60 °C déle než 4 hodiny od konzumace. Mohlo by dojít k vyklíčení spor a pomnožení vegetativních forem. Uvařené potraviny je možné bezpečně skladovat do 4 °C nebo udržovat při teplotě nad 60 °C. V případě uložení jídla do chladničky nutné neukládat příliš objemné množství horkého jídla ve vrstvách na sebe. V chladícím zařízení je nutné zajistit dostatečnou cirkulaci vzduchu.

Při ohřívání již jedno uvařené jídlo skladovaného v chladu by mělo být dosaženo minimálně 70 °C ve všech částech potraviny. Tato teplota neničí termostabilní toxiny ani spory (Matyáš 1993).

WHO vydala v roce 2006 plakát „Pět klíčů k bezpečnějšímu stravování“, kde doporučuje si před a během přípravy často umývat ruce. Povrchy a zařízení, které přijdou do styku s potravinou před použitím umýt a dezinfikovat, aby se zabránilo křížové kontaminaci. S tím souvisí opatření oddělit syrové maso drůbež a mořské plody od ostatních potravin a vyhradit zvláštní nože a krájecí prkénka pro použití těchto potravin. Následně uchovávat oddělení syrové a zpracované potraviny. Je také důležité zabránit styku potravin s hmyzem, hlodavci a jinými škůdci, které by mohly být nositeli patogenních mikroorganismů. Nerozmrazovat pokrmy při pokojové teplotě, ale pozvolna v chladničce. Volit spíše zpracované potraviny, jako například syrové mléko. Zvlášť důkladně omývat ovoce a zeleninu při konzumaci v syrovém stavu a nekonsumovat potraviny po uplynutí doby jejich trvanlivosti a data použitelnosti (WHO 2006).

## 11 Závěr

- Na prvním místě v počtu nakažených zůstává kamylobakteri0za, která se nejčastěji přenáší drůbežím masem. Listeri0za má z infekčních nemocí nejvyšší úmrtnost.
- V rozmezí teplot 10–50 °C se většina významných patogenních bakterií nejrychleji množí, a je proto žádoucí nevystavovat rizikové potraviny uvedeným teplotám. Potraviny s hodnotou pH vyšší než 5 a vodní aktivitou nad 0,95 představují nejvhodnější podmínky pro růst bakterií a je nutné tyto potraviny skladovat při teplotách do 5 °C.
- Jsou zkoumány nové způsoby eliminace patogenů, jako je použití ozonu, bakteriofágů,  $\gamma$ -záření, ale i využití přírodních antibakteriálních látek, které by oproti tradičním metodám (sušení, tepelné zpracování) mohly být využívány u čerstvých potravin. Motivací k využití bakteriofágu je obava ze zvyšující se rezistence patogenů na antibiotika. Zároveň rezidua u některých chemických konzervačních látek mohou ohrožovat lidské zdraví. Navíc roste zájem spotřebitelů o čerstvé potraviny s minimálním zpracováním.
- Konečný spotřebitel představuje důležitý článek v šíření nemocí a může z velké části ovlivnit, zda dojde ke kontaminaci, či nedojde. Předpokladem je správné zacházení s potravinami během skladování a přípravy pokrmů, kdy je nezbytné používat odlišná náčiní na manipulaci se syrovým masem, které se bude tepelně opracovávat a potravinami konzumovanými v syrovém stavu.
- V potravinářském průmyslu se k eliminaci vstupu patogenů do potraviny používá mezinárodně uznávaný systém HACCP, díky kterému lze lépe dohledat kritická místa pro vstup patogenů, a ty následně eliminovat.

## 12 Literatura

- Adams MR, Moss MO. 2008. Food microbiology. Royal Society of Chemistry, Cambridge.
- Ali AA, Altemimi AB, Alhelfi N, Ibrahim SA. 2020. Application of Biosensors for Detection of Pathogenic Food Bacteria: A Review. *Biosensors* **10**:1-22 DOI: 10.3390/bios10060058.
- Ambrožová H. 2011. Akutní infekce trávicího traktu. *Interní medicína pro praxi* **13**:288-291.
- Aslam R, Alam MS, Saeed PA. 2020. Sanitization Potential of Ozone and Its Role in Postharvest Quality Management of Fruits and Vegetables. *Food Engineering Reviews* **12**:48-67.
- Babička L. 2012. Přidatné látky v potravinách. Potravinářská komora České republiky, Česká technologická platforma pro potraviny, Praha.
- Bari L, Ukuku DO. 2015. Foodborne Pathogens and Food Safety. CRC Press, Boca Raton.
- Bednařík J. 2001. Zánětlivé polyneuropatie. *Neurologie pro praxi* **2**:115-121.
- Blažková M, Fukal L, Rauch P. 2010. Nebezpečný patogen *Enterobacter sakazakii* a jeho detekce. *Chemické listy* **104**:113-118.
- Demnerová K. 2012. Mikrobiologická bezpečnost potravin: Současné strategie pro efektivní kontrolu. *Chemické listy* **106**:920-925.
- Demnerová K. 2016. Laboratoř mikrobiologického zkoumání potravin. Vysoká škola chemicko-technologická, Praha.
- Demnerová K, Karpíšková R, Pazlarová J. 2008. Mikrobiologická bezpečnost potravin: *Listeria monocytogenes* a *Enterobacter sakazakii*. *Výživa a potraviny* **63**:9-11.
- Dong A, Malo A, Leong M, Ho VTT, Turner MS. 2021. Control of *Listeria monocytogenes* on ready-to-eat ham and fresh cut iceberg lettuce using a nisin containing *Lactococcus lactis* fermentate. *Food Control* **119**:1-8.
- ECDC, EFSA. 2006. The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents, Antimicrobial Resistance and Foodborne Outbreaks in the European Union in 2005, *The EFSA Journal* **94**:3-288.
- ECDC, EFSA. 2007. The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents, Antimicrobial Resistance and Foodborne Outbreaks in the European Union in 2006, *The EFSA Journal* **130**:3-352.
- ECDC, EFSA. 2009. Trends and Sources of Zoonoses and Zoonotic Agents in the European Union in 2007. *EFSA Journal* (e223). DOI: 10.2805/20556.
- ECDC, EFSA. 2010. Trends and Sources of Zoonoses and Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in the European Union in 2008. *EFSA Journal* (e1496). DOI: 10.2903/j.efsa.2009.1366.
- ECDC, EFSA. 2011. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2009. *EFSA Journal* (e2090). DOI: 10.2903/j.efsa.2011.2090.

- ECDC, EFSA. 2012. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2010. EFSA Journal (e2597). DOI: 10.2903/j.efsa.2012.2597.
- ECDC, EFSA. 2013. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2011. EFSA Journal (e3129). DOI: 10.2903/j.efsa.2013.3129.
- ECDC, EFSA. 2014. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2012. EFSA Journal (e3547). DOI: 10.2903/j.efsa.2014.3547.
- ECDC, EFSA. 2015. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2013. EFSA Journal (e3991). DOI: 10.2903/j.efsa.2015.3991.
- ECDC, EFSA. 2015. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2014. EFSA Journal (e4329). DOI: 10.2903/j.efsa.2015.4329.
- ECDC, EFSA. 2016. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2015. EFSA Journal (e4634). DOI: 10.2903/j.efsa.2016.4634.
- ECDC, EFSA. 2017. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2016. EFSA Journal (e5077). DOI: 10.2903/j.efsa.2017.5077.
- ECDC, EFSA. 2018. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017. EFSA Journal (e5500). DOI: 10.2903/j.efsa.2018.5500.
- ECDC, EFSA. 2019. The European Union One Health 2018 Zoonoses Report. EFSA Journal (e05926) DOI: 10.2903/j.efsa.2019.5926.
- ECDC, EFSA. 2021. The European Union One Health 2019 Zoonoses Report. EFSA Journal (e06406) DOI: 10.2903/j.efsa.2021.6406.
- Elmonir W, Shalaan S, Tahoun A, Mahmoud SF, Remela EMA, Eissa R, El-Sharkawy H, Shukry M, Zahran RN. 2021. Prevalence, antimicrobial resistance, and genotyping of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in foods of cattle origin, diarrheic cattle, and diarrheic humans in Egypt. Gut Pathogens **13**:1-11 DOI: 10.1186/s13099-021-00402-y.
- Evropský parlament a Rada (ES). 2005. Nařízení Komise (ES) č. 2073/2005 ze dne 15. listopadu 2005 o mikrobiologických kritériích pro potraviny. Lucemburk. 32005R2073.
- Evropská unie. 2020. Evropský úřad pro bezpečnost potravin (EFSA). Evropská unie, Brusel. Available from [https://europa.eu/european-union/about-eu/agencies/efsa\\_cs](https://europa.eu/european-union/about-eu/agencies/efsa_cs) (accessed March 06, 2021).
- Greenwood D, Slack RCB, Peutherer JF. 1999. Lékařská mikrobiologie: přehled infekčních onemocnění: patogeneze, imunita, laboratorní diagnostika a epidemiologie. Grada, Praha.

- Indiarto R. 2020. Ozonation Technique Effect on Horticultural Products Quality: A Review. *International Journal of Emerging Trends in Engineering Research* **8**:3631-3638.
- Kadlec P, Melzoch K, Voldřich M. 2012. *Procesy a zařízení potravinářských a biotechnologických výrob: technologie potravin*. Key Publishing, Ostrava.
- Kameník J, Bořilová G, Hulánková R, Juránková J, Lorencová A, Neumayerová H, Steinhauser L, Steinhauserová I, Steinhauserová P, Svobodová I, Vašíčková P. 2014. *Maso jako potravina: produkce, složení a vlastnosti masa*. Veterinární a farmaceutická univerzita, Brno.
- Kaprálek F. 1999. *Základy bakteriologie*. Karolinum, Praha.
- Karmakar K, Krishna S, Majumdar S, Nath U, Nataraj KN, Prakash NB, Chakravorty D. 2020. Co-cultivation of *Beta vulgaris* limits the pre-harvest colonization of foodborne pathogen (*Salmonella* spp.) on tomato. *International Journal of Food Microbiology* **332**:1-11.
- Klaban V. 2001. *Svět mikrobů: ilustrovaný lexikon mikrobiologie životního prostředí*. Gaudeamus, Hradec Králové.
- Klaban V. 2018. *Obecná a environmentální mikrobiologie*. Gaudeamus, Hradec Králové.
- Kontominas MG, Badeka AV, Kosma IS, Nathanailides CI. 2021. Innovative Seafood Preservation Technologies: Recent Developments. *Animals* **11**:1-40 DOI: 10.3390/ani11010092.
- Krejsek J. 2019. *Bakterie mléčného kvašení, probiotika a fermentované mléčné výrobky*. Potravinářská komora České republiky, Česká technologická platforma pro potraviny, Praha.
- Liu D. 2018. *Handbook of Foodborne Diseases*. CRC Press, Boca Raton.
- Lukáš K, Hoch J. 2018. *Nemoci střev*. Grada, Praha.
- Macela A. 2006. *Infekční choroby a intracelulární parazitismus bakterií*. Grada, Praha.
- Maddox IS. 2020. *Practical Sanitation in the Food Industry*. CRC Press, London.
- Mardu F, Negash H, Legese H, Berhe B, Tesfay K, Haileslasie H, Tesfanchal B, Gebremichail G, Belay G, Gebremedhin H. 2020. Assessment of knowledge, practice, and status of food handlers toward Salmonella, Shigella, and intestinal parasites: A cross-sectional study in Tigray prison centers, Ethiopia. *PLOS ONE* **15**:1-13.
- Matyáš Z. 1993. *Analýza nebezpečí a kritické kontrolní ochranné body HACCP*. Centrum hygieny potravinových řetězců, Brno.
- McCabe-Sellers BJ, Beattie SE. 2004. Food safety: Emerging trends in foodborne illness surveillance and prevention. *Journal of the American Dietetic Association* **104**:1708-1717.
- Miliotis MDM, Bier JWB. 2003. *International Handbook of Foodborne Pathogens*. CRC Press, Boca Raton.

- Ministerstvo zemědělství. 2001. Bezpečnost potravin. Ministerstvo zemědělství, Praha. Available from <http://eagri.cz/public/web/mze/potravin/bezpecnost-potravin/> (accessed May 3, 2021).
- Nevárez-Moorillón GV, Prado-Barragán A, Martínez-Hernández JL, Aguilar CN. 2020. Food Microbiology and Biotechnology: Safe and Sustainable Food Production. Apple Academic Press, Burlington.
- Olaimat AN, Osaili TM, Al-Holy MA, Al-Nabulsi AA, Obaid RS, Alaboudi AR, Ayyash M, Holley R. 2020. Microbial safety of oily, low water activity food products: A review. *Food Microbiology* **92**:1-7.
- Pandiselvam R, Subhashini S, Banuu Priya EP, Kothakota A, Ramesh SV, Shahir S. 2019. Ozone based food preservation: a promising green technology for enhanced food safety. **41**:17-34.
- Plocková M, Horáčková Š. 2015. Využití bakteriofágů k eliminaci *Listeria monocytogenes* z povrchu měkkých sekundárně zrajících sýrů. *Mlékařské listy* **151**:9-11.
- Rai VR, Bai JA. 2014. *Microbial Food Safety and Preservation Techniques*. CRC Press, Boca Raton.
- Rai VR, Bai JA. 2018. *Food Safety and Protection*. CRC Press, Boca Raton.
- Rivas L, Strydom H, Paine S, Wang J, Wright J. 2021. Yersiniosis in New Zealand. *Pathogens* **10** (2):1-28 DOI: 10.3390/pathogens10020191.
- Ríos-Castillo AG, Ripolles-Avila C, Rodríguez-Jerez JJ. 2021. Evaluation of bacterial population using multiple sampling methods and the identification of bacteria detected on supermarket food contact surfaces. *Food Control* **119**:1-8.
- Rodrick GE. 2003. *Food safety handbook*. Wiley-Interscience, Hoboken, N.J.
- Shahin K, Bouzari M, Wang R, Yazdi M. 2019. Prevalence and molecular characterization of multidrug-resistant *Shigella* species of food origins and their inactivation by specific lytic bacteriophages. *International Journal of Food Microbiology* **305**:1-10.
- Shahin K et al. 2021. Effective control of *Shigella* contamination in different foods using a novel six-phage cocktail. *LWT* **144**:1-9.
- Schindler J. 2014. *Mikrobiologie: pro studenty zdravotnických oborů*. Grada, Praha.
- Sojková T. 2017. *Mikrobiální kontaminace medu [MSc. Thesis]*. Mendelova univerzita, Brno.
- Státní zdravotní ústav. 2019. *Infekce v ČR – ISIN (dříve EPIDAT)*. Státní zdravotní ústav, Praha. Available from <http://www.szu.cz> (accessed March 12, 2021).
- Šilhánková L. 2002. *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*. Academia, Praha.
- Tham W, Danielsson-Tham ML. 2013. *Food Associated Pathogens*. CRC Press, Boca Raton.
- Tylšová P, Bubeníková J, Bursová Š. 2016. *Mikrobiologie potravin rostlinného původu. Ústav hygieny a technologie mléka*, Brno.

- Ústav zemědělské ekonomiky a informací. 2008. Salmonely v zelenině je velmi obtížné se zbavit. Česká zemědělská univerzita, Praha. Available from <http://www.agris.cz/> (accessed April 26, 2021).
- Varzakas T, Tzia C. 2015. Handbook of Food Processing: Food Preservation. CRC Press, Boca Raton.
- Vujčić I, Mašić S. 2021. Preservation of hemp flour using high-energy ionizing radiation: The effect of gamma radiation on aflatoxin inactivation, microbiological properties, and nutritional values. Journal of Food Processing and Preservation (e15314) DOI: 10.1111/jfpp.15314
- Wassenaar TM. 2011. Following an imaginary *Campylobacter* population from farm to fork and beyond: a bacterial perspective. Letters in Applied Microbiology **53**:253-263.
- WHO. 2006. Five keys to safer food manual. WHO, France. Available at <https://www.who.int/> (accessed April 30, 2021).
- WHO. 2017. Prioritization of pathogens to guide discovery, research and development of new antibiotics for drug resistant bacterial infections, including tuberculosis. World Health organization, Geneva. Available from <https://www.who.int/> (accessed February 11, 2021).