

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2020

Petra Syrová

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Původce salmonelózy v Pardubickém kraji

Bakalářská práce

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2019/2020

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Petra Syrová**
Osobní číslo: **C17353**
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Hodnocení a analýza potravin**
Téma práce: **Původce salmonelózy v Pardubickém kraji**
Zadávací katedra: **Katedra analytické chemie**

Zásady pro vypracování

1. Seznamte se s literárními prameny v dané oblasti a vypracujte rešerši na zadané téma. V úvodu práce se věnujte základním informacím o bakteriích rodu *Salmonella*.
2. Popište patogenní potenciál salmonel, zaměřte se také na onemocnění způsobovaná těmito bakteriemi.
3. Z dostupných dat (odborné publikace, zprávy dozorových orgánů, databáze nemocnic) získejte informace o původcích salmonelózy zejména v Pardubickém kraji. Získaná data vhodným způsobem interpretujte.
4. Bakalářskou práci zpracujte v souladu se Směrnicí č. 9/2012 Univerzity Pardubice a dále ve znění Dodatku č. 1 ke Směrnicí č. 9/2012 „Pravidla pro zveřejňování závěrečných prací a jejich základní jednotnou formální úpravu“.

Rozsah pracovní zprávy:
Rozsah grafických prací:
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucího práce.

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. David Šilha, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Konzultant bakalářské práce: **MVDr. Petra Morávková**
NPK a.s, Litomyšlská nemocnice

Datum zadání bakalářské práce: **5. února 2020**
Termín odevzdání bakalářské práce: **4. července 2020**



prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

L.S.



prof. Ing. Karel Ventura, CSc.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 20. února 2020

PROHLÁŠENÍ AUTORA

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 10. 7. 2020

Petra Syrová

PODĚKOVÁNÍ

Na tomto místě bych chtěla poděkovat vedoucímu práce panu Ing. Davidu Šilhovi, Ph.D. za jeho cenné rady a připomínky. Dále bych ráda poděkovala paní MVDr. Petře Morávkové za odborné a velmi užitečné konzultace, které mi byly nápomocny v průběhu zpracování bakalářské práce.

ANOTACE

Bakalářská práce s názvem Původce salmonelózy v Pardubickém kraji se zabývá obecnou charakteristikou bakterií rodu *Salmonella*, onemocněním, která způsobují a jejich laboratorní diagnostikou. Popisuje laboratorní postup průkazu původců salmonelových onemocnění ve výtěrech z rekta na Oddělení infekční diagnostiky Litomyšlské nemocnice v letech 2016–2019. Nálezy jednotlivých původců salmonelózy jsou za dané období následně zhodnoceny v závislosti na pohlaví a věku pacientů a také v závislosti na sezónnosti výskytu.

KLÍČOVÁ SLOVA

Salmonella, salmonelóza, kultivace, laboratorní diagnostika, výskyt salmonel

TITLE

Causative agent of salmonellosis in the Pardubice Region

ANNOTATION

The bachelor's thesis Causative agent of salmonellosis in the Pardubice region focuses on the general characteristics of the pathogens from genus *Salmonella*, their laboratory diagnosis and the diseases caused by those pathogens. The thesis contains detailed laboratory procedure for the detection of salmonella pathogens in rectal swabs collected in years 2016–2019 by the Department of Infectious Diagnostics in the Litomyšl Hospital. Identified pathogens are evaluated based on gender, age, as well as seasonal occurrences.

KEYWORDS

Salmonella, salmonellosis, cultivation, laboratory diagnostics, occurrence of salmonella

OBSAH

Úvod.....	12
1 Cíl práce	13
2 Teoretická část	14
2.1 Bakterie rodu <i>Salmonella</i>	14
2.1.1 Taxonomická klasifikace	14
2.1.2 Klinický obraz infekcí způsobených bakteriemi <i>Salmonella</i> spp.	15
2.2 Diagnostika salmonel.....	16
2.2.1 Přímá diagnostika salmonel	17
2.3 Salmonelóza	24
2.3.1 Onemocnění lidí	24
2.3.2 Onemocnění zvířat.....	26
2.3.3 Výskyt salmonel v rostlinných produktech.....	28
2.4 Konvenční způsob průkazu salmonel v potravinách	28
2.4.1 MacConkey agar.....	29
2.4.2 Xylóza lysin deoxycholátový agar (XLD agar)	30
2.4.3 Rappaport-Vassiliadis sója médium (RVS médium).....	31
2.4.4 Triple Sugar Iron (TSI).....	32
2.4.5 Morfologie charakteristických kolonií	32
2.5 Laboratorní průkaz salmonel v klinickém materiálu	32
2.6 Faktory přispívající šíření salmonel.....	33
2.7 Eliminace salmonel v potravinách.....	33
2.8 Eliminace salmonel v chovech	34
2.8.1 Budovy chovů	35
2.8.2 Krmivo pro dobytek.....	35
2.8.3 Stelivo v chovech	36
2.8.4 Hubení škůdců v chovech	36

3	Experimentální část.....	37
3.1	Zpracování výtěrů z rekta	37
3.1.1	Materiál a metodika	37
3.1.2	Kultivační média	38
3.1.3	Specifická antiséra.....	38
3.1.4	Metodika analýzy vzorků.....	38
3.2	Vyhodnocení dat o původci salmonelózy v Pardubickém kraji	39
4	Vyhodnocení výsledků.....	40
4.1	Původce salmonelózy v Pardubickém kraji	40
4.2	Původce salmonelózy v rámci celé České republiky (srovnání).....	44
5	Závěr	46
6	Použitá literatura.....	47

SEZNAM OBRÁZKŮ, TABULEK A GRAFŮ

Obrázek 1: Schematicky znázorněné taxonomické rozdělení bakterií rodu <i>Salmonella</i>	15
Obrázek 2: Nárůst salmonel na XLD a MacConkey (MC) agaru.	18
Obrázek 3: Ukázkové antibiogramy se sestavou antibiotik vhodných pro <i>Salmonella</i> Enteritidis.	19
Obrázek 4: Souprava ENTERO-Rapid 24.	20
Tabulka 1: Seznam sérovarů salmonel a jejich antigenního vzorce (schéma Kauffmann-White)	22
Tabulka 2: Složení a množství jednotlivých látek v MacConkey agaru.....	30
Tabulka 3: Složení a množství jednotlivých látek v XDL agaru.....	31
Graf 1: Procentuelní zastoupení onemocnění salmonelózou v závislosti na pohlaví.	40
Graf 2: Procentuální zastoupení sérotypů <i>Salmonella</i> spp. ve sledovaném období 2016–2019.....	41
Graf 3: Početní zastoupení sérotypů salmonel ve vzorcích výtěrů z rekta zachycených na Oddělení infekční diagnostiky Litomyšlské nemocnice ve sledovaném období 2016–2019	41
Graf 4: Průměrné procentuální zastoupení méně častých sérotypů v letech 2016–2019.	42
Graf 5: Výskyt salmonel v závislosti na ročním období v letech 2016–2019.....	43
Graf 6: Procentuální rozdělení počtu infikovaných osob podle věkových skupin v letech 2016–2019.	43
Graf 7: Počet osob infikovaných salmonelovou infekcí v České republice v letech 2016–2019.....	44
Graf 8: Početní zastoupení nejčastějších sérotypů v České republice v letech 2017–2018.	45
Graf 9: Početní zastoupení méně častých sérotypů v České republice v letech 2017–2018.	45

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

BGA	Agar s brilantovou zelení (z <i>angl.</i> Brilliant green agar)
CDC	Centrum pro kontrolu a prevenci nemocí (z <i>angl.</i> Centers for Disease Control and Prevention)
CT	Výpočetní tomografie (z <i>angl.</i> Computed tomography)
IDG	Oddělení infekční diagnostiky
IND test	Indol test
LDC	Lysin dekarboxylázový agar (z <i>angl.</i> Lysine decarboxylase)
LIN	Litomyšlská nemocnice
MKTTn	Mueller-Kauffman tetraionát novobicinové médium
NPK	Nemocnice Pardubického kraje
NRL	Národní referenční laboratoř
OFT	Oxidačně fermentační test
OXI test	Oxidázový test
PCR	Polymerázová řetězová reakce (z <i>angl.</i> Polymerase chain reaction)
PPV	Pufrovaná peptonová voda
RVS	Rappaport-Vassiliadis sója médium
TSI	Test pro průkaz tvorby sulfanu a zkvašování sacharidů (z <i>angl.</i> Triple sugar iron)
VPT	Voges-Proskauerův test
WHO	Světová zdravotnická organizace (z <i>angl.</i> World Health Organization)
WKL	Kauffmann-Whiteho schéma (z <i>angl.</i> White-Kaufmann-Le Minor)
XLD	Xylóza lysin deoxycholátový agar (z <i>angl.</i> Xylose lysine deoxycholate)

ÚVOD

Bakterie rodu *Salmonella* jsou v České republice jedním z nejčastějších bakteriálních původců onemocnění s alimentární cestou přenosu.

Předkládaná práce se zabývá rozdělením bakterií rodu *Salmonella* z pohledu taxonomie, popisem klinického obrazu onemocnění, které vyvolávají a jejich laboratorní diagnostikou. Dále se práce zabývá výskytem bakterií rodu *Salmonella* v různých prostředích a faktory přispívající k jejich šíření. Ke konci teoretické části popisuje možnosti zamezení pomnožení a šíření salmonel v prostředí, stejně jako jejich eliminací v chovech.

Experimentální část práce je věnována laboratorní diagnostice salmonelových infekcí na jednom z pracovišť Nemocnice Pardubického kraje, a.s. – na Oddělení infekční diagnostiky Litomyšlské nemocnice a analýze jednotlivých původců tohoto onemocnění zachycených na tomto oddělení v období od 1. 1. 2016 do 31. 12. 2019.

1 CÍL PRÁCE

Cílem práce je:

- obecná charakteristika bakterií rodu *Salmonella*, popis klinického obrazu onemocnění, které vyvolávají a jeho laboratorní diagnostika,
- popis zoonotického aspektu onemocnění včetně možnosti šíření *Salmonella* spp. v prostředí, potravinách a v chovech zvířat,
- popis průkazu bakterií rodu *Salmonella* na Oddělení infekční diagnostiky Litomyšlské nemocnice,
- prevalence jednotlivých sérotypů detekovaných na tomto oddělení v závislosti na pohlaví a věku pacientů a sezonním výskytu salmonelóz zde diagnostikovaných,
- porovnání získaných výsledků s celorepublikovými statistikami.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Bakterie rodu *Salmonella*

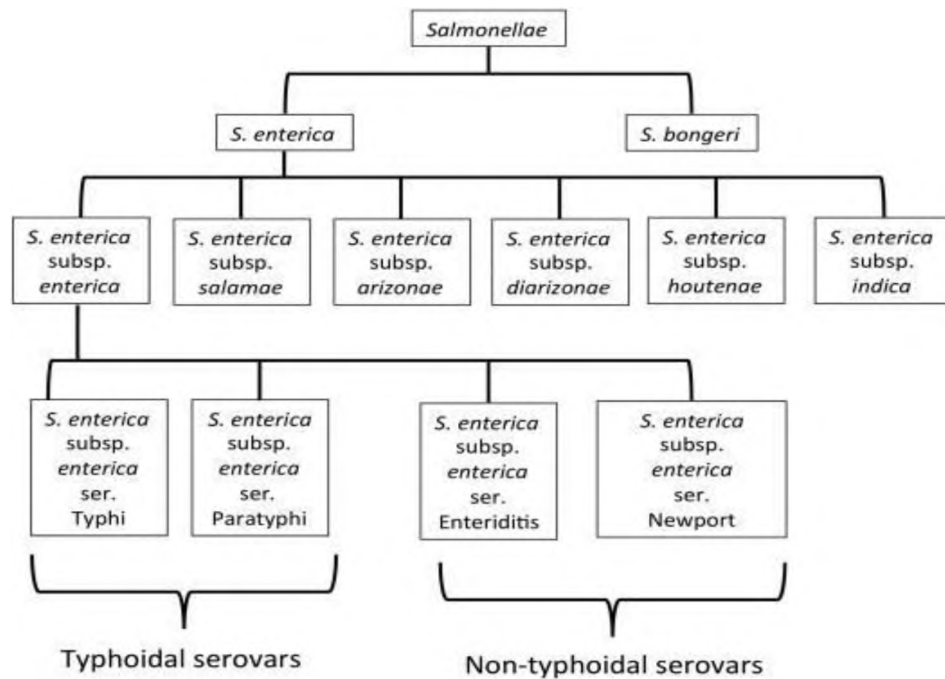
Bakterie rodu *Salmonella* byly izolovány nejen z trávicího traktu člověka, ale také z trávicího traktu mnoha druhů zvířat. Zhruba 99 % kmenů těchto bakterií způsobujících vážné infekce u lidí nebo jiných savců, patří do druhu *Salmonella enterica* (Kurtz a kol., 2017). Jsou hlavní příčinou nemocí přenášených potravinami a ke vzniku daného onemocnění dochází obvykle přímým kontaktem s infikovanými zvířaty či požitím kontaminované potravy. Salmonely se mohou vyskytovat v široké škále potravin, např. ve vejcích, nedostatečně tepelně opracovaném mase, mražených výrobcích obsahujících nepasterizovaná vejce nebo v nepasterizovaném mléce (Špačková, 2018; Ghodduzi a kol., 2019).

Minimální teplota pro růst salmonel je 5 °C, maximální je 47 °C a optimální teplota je okolo 37 °C. V ideálním případě je generační doba přibližně 20 minut. Exponenciálně tak počet mikroorganismů roste, až dosáhne hodnot schopných vyvolat onemocnění (Jágrová, 2016).

2.1.1 Taxonomická klasifikace

Bakterie rodu *Salmonella* jsou fakultativně anaerobní Gram-negativní tyčinkovité bakterie, které jsou obvykle 2–5 mikrometrů dlouhé a 0,5–1,5 mikrometrů široké. Jedná se o bakterie, které jsou pohyblivé pomocí peritrichózních bičíků. Řadíme je do čeledi *Enterobacteriaceae*, která je charakterizovaná jejich schopností metabolizovat citrát jako jediný zdroj uhlíku, lysin jako zdroj dusíku a podle schopnosti produkovat sirovodík (Dekker a Karen, 2015). V současnosti zahrnuje rod *Salmonella* dva druhy *S. enterica* a *S. bongori* (Adinno a Hanning, 2015). Druh *Salmonella enterica* je rozdělen do šesti poddruhů zahrnující okolo 2500 sérotypů (Kurtz a kol., 2017).

Rod se dále dělí na sérotypy podle přítomnosti specifických povrchových O antigenů (O-Ag), které jsou přítomny v lipopolysacharidu a H antigenu (H-Ag), obvykle hlavního proteinu bičíkového komplexu, flagellinu (Bell a kol., 2016).



Obrázek 1: Schematicky znázorněné taxonomické rozdělení bakterií rodu *Salmonella* (Dekker a Karen, 2015).

Na Obrázku 1 je zobrazeno klasifikační schéma, ve kterém je rod *Salmonella* rozdělen na dva základní druhy, kterými jsou *S. enterica* a *S. bongori*. Dále je ze schématu patrné, že druh *S. enterica* je dále klasifikován do šesti poddruhů. Pro *S. enterica* subsp. *enterica* jsou uvedeny nejběžnější typhoidní a netyphoidní sérovary.

2.1.2 Klinický obraz infekcí způsobených bakteriemi *Salmonella* spp.

Infekce způsobené bakteriemi rodu *Salmonella* mohou vyvolat širokou škálu projevů. Převážně se jedná o projevy gastrointestinální (Meyyur Aravamudan a kol., 2017). Klinický průběh může být mírný, ale i život ohrožující. Závažnost se liší podle infekční dávky, cesty infekce, virulence daného kmene a také odolnosti postiženého jedince. V ojedinělých případech může dojít i k sepsi, neboli rozšíření mikroba po celém organismu (Tatarová a Jedličková, 2018).

Asymptomatický průběh onemocnění se často vyskytuje u zdravých osob, které byly nakaženy nízkou infekční dávkou. Salmonely jsou vylučovány stolicí a eventuálně dochází i k tvorbě protilátek (Havlík, 2002). Tento stav může mít vážné dopady na veřejné zdraví, jelikož nakažený jedinec může salmonelovou infekci roznášet bez příznaků i několik let (Senthilkumar a kol., 2014).

Gastroenteritická forma je nejčastějším projevem netyfoidních salmonelových infekcí a pro salmonelózu je nejtypičtější. První příznaky se obvykle začínají projevovat po 12–48 hodinách od požití kontaminované potravy. Mezi nejčastější příznaky patří křečovitě bolesti břicha následované průjmem, horečkou, nauzeou a někdy i zvracením (Bush a Vazquez-Pertejo, 2020). Kůže bývá studená a pokrytá lepkavým potem. Celkový stav pacienta může připomínat cholera. Silné bolesti v pravém spodním hypogastru mohou připomínat akutní apendicitidu, prasklý žaludeční vřed nebo zánět žlučového měchýře (Dubanský a Drábek, 2008).

Bakteriémie je u pacientů s gastroenteritidou neobvyklá, ale může se vyskytnout u oslabených jedinců, jako jsou kojenci a starší lidé (Bush a Vazquez-Pertejo, 2020). Mezi klinické projevy této formy infekce patří horečky 38–40 °C, třesavka, zimnice, slabost, bolesti hlavy a vyčerpanost. Nedochozí však k poruše celkového stavu, hypotenzi ani projevům orgánového poškození. U jinak zdravých osob tyto příznaky zpravidla odezní během 1–3 dnů (Beneš, 2009; Dubanský a Drábek, 2008).

Extraintestinální ložisko je příčinou bakteriálního rozsevu při septikémii. Tento druh infekce je ovlivněn množstvím infekční dávky, virulencí kmene a imunitní odpovědí hostitele (Baran a kol., 2016). Salmonely kolující v krvi se nejčastěji usadí v místě preexistujícího trombu, hematomu nebo jiné cévní léze. Bakterie jsou roznášeny krví do různých orgánů, kde vyvolávají hnisavá ložiska (Julák, 2010). Extraintestinální infekce se vyskytují nejčastěji u oslabených jedinců, jako jsou staří lidé, onkologičtí pacienti a lidé po transplantacích (Souček, 2011).

Velmi vzácně (cca ve 4 %) může docházet k trvalému bacilonosičství, ale povětšinou přetrvává vylučování patogenů stolicí několik týdnů až měsíců a pak spontánně ustane. Hlavní nebezpečí spojené s bacilonosičstvím spočívá v tom, že nemusí být vždy prokázáno a nosiči se mohou stát zdrojem nákazy. Dochází k němu po břišním tyfu a paratyfu B. Tato postižení jsou pak evidována a kontrolována hygienickými stanicemi (Havlík, 2002; Staňková a kol., 2008). Při kontrole se každý měsíc provádí průkaz ze stolice a ze vzorků žluči alespoň dvakrát za rok (Lobovská, 2001).

2.2 Diagnostika salmonel

Nejčastějším úkolem mikrobiologické laboratoře bývá prokázat ve vyšetřovaném materiálu původce infekce. Diagnostické metody musí být rychlé, přesné, jednoduché a dostupné (Vila a kol., 2017). Přesná a rychlá diagnostika mikroorganismů způsobujících

infekce je důležitá k tomu, aby se zabránilo zbytečnému užívání antibiotik a také k tomu, aby byla pacientovi podána vhodná terapie. Původce infekce lze diagnostikovat přímo, nebo nepřímo (Boyles a Wasserman, 2015).

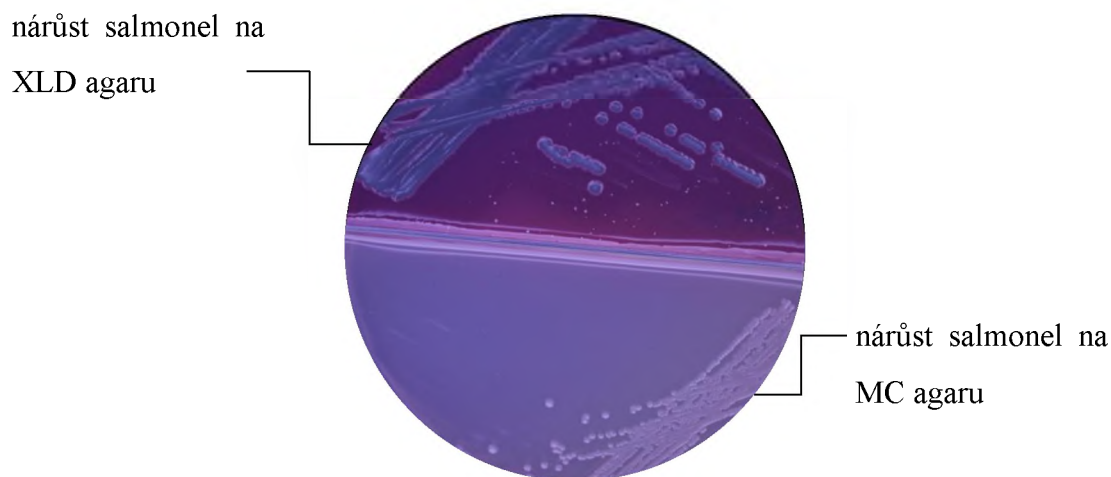
Přímá diagnostika spočívá v nálezů mikroba nebo jeho složek ve vyšetřovaném materiálu. Mikroba lze prokázat pomocí mikroskopu, izolace na kultivačních půdách nebo pomocí přítomnosti charakteristických mikrobiálních součástí, mezi které patří detekce specifického genu, detekce antigenu a detekce typických chemických složek (Votava a kol. 2010; Vila a kol., 2017).

Nepřímou diagnostikou se rozumí průkaz infekčního původce podle nálezů stop, které zanechal v organismu (Votava a kol. 2014). Testy mohou být použity k detekci imunitní odpovědi hostitele na specifický mikroorganismus, který je obtížné detekovat jinými metodami. V případě, že se jedná o pacienty s poruchou imunity nebo osoby, jejich specifická imunitní odpověď má atypický průběh, nelze se na metody nepřímé diagnostiky příliš spoléhat (Ralston a kol., 2018).

2.2.1 Přímá diagnostika salmonel

2.2.1.1 Kultivace

Kultivace a izolace mikroorganismů jsou nezbytné pro studium fyziologických a metabolických charakteristik jednotlivých mikrobiálních kmenů (Jung a kol., 2014). Základem kultivačních technik je práce s čistými kulturami. Kolonie nám dovolují prokázat vlastnosti mikrobů, které by bylo při zkoumání jediné buňky velmi obtížné zjistit. Na umělých půdách můžeme kultivovat většinu bakterií i hub (Beneš, 2009). Protože různé mikroorganismy prosperují v různých prostředích, je každé kultivační médium navrženo tak, aby splňovalo podmínky nezbytné pro růst daného mikroorganismu. Mezi rozdílné požadavky na růst mohou patřit, např. živiny, pH, osmotické podmínky a teplota (Jung a kol., 2014; Basu a kol., 2015).



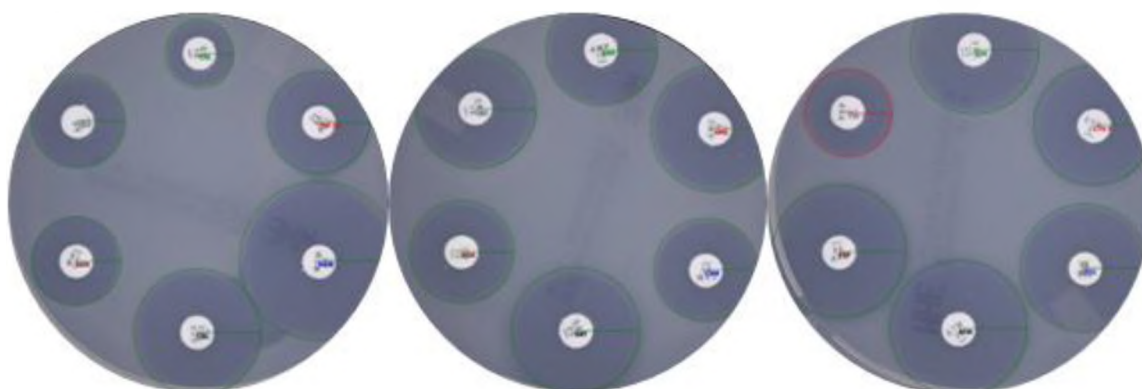
Obrázek 2: Nárůst salmonel na XLD a MacConkey (MC) agaru (foto: Ing. Vobejdová, Litomyšlská nemocnice).

Výběr média je klíčový pro daný druh bakterií. Z tohoto důvodu byla vytvořena různá selektivní media, která odlišují jednu skupinu mikroorganismů od druhé. Příkladem může být McConkey agar. V horní části Obrázku 2 je možné vidět kultivaci salmonel na XLD agaru, spodní část obrázku zobrazuje kultivaci na MacConkey agaru.

Kultivace může být často doplněna či nahrazena různými diagnostickými metodami. Nenahraditelná je ale v případech, kdy potřebujeme znát citlivost na antibiotika. V bakteriologii se pro stanovení antibiogramu běžně využívá vyšetření diskovou difúzní metodou, které se provádí na pevném médiu (Beneš, 2009). Jedná se o test citlivosti na antibiotika, díky kterému je vyhodnocena koncentrace, při které bakteriální kmen přestane růst (Gefen a kol., 2017).

Inokulum se při tomto testování rozetře po celém povrchu Petriho misky s kultivačním médiem. Následně se na povrch umístí filtrační papírové disky napuštěné antibakteriální látkou ve stanoveném množství (Christenson a kol., 2018). Po 18 hodinách kultivace se okolo testovacích disků vytvoří kruhovitá inhibiční zóna. Inhibiční zóna je způsobena vlivem antibakteriální látky, která zamezila růst testované bakteriální kultury. Velikost kruhové zóny je měřena v milimetrech jako její průměr (Průša, 2012).

K výběru vhodného antibiotika obvykle postačí kvalitativní vyšetření citlivosti. U závažnějších infekcí nemusí být tato informace dostatečná a je nutné znát kvantitativní citlivost. Jedná se o hodnotu minimální inhibiční koncentrace (MIC), což je nejnižší koncentrace antimikrobiální látky, která bude inhibovat viditelný růst mikroorganismů (Beneš, 2009; Lin a kol., 2014).



Obrázek 3: Ukázkové antibiogramy se sestavou antibiotik vhodných pro *Salmonella* Enteritidis (foto: Ing. Vobejdová, Litomyšlská nemocnice).

Na Obrázku 3 jsou znázorněny antibiogramy *Salmonella* Enteritidis vytvořené diskovou difúzní metodou. V okolí disků s antibiotiky je možné vidět inhibiční zóny, jejichž změřením se určuje senzitivita či rezistence bakteriálního kmene vůči různým testovaným antibiotikům. Pokud je inhibiční zóna označena červeným kruhem, znamená to, že je bakteriální kmen vůči danému antibiotiku rezistentní a tudíž nemůže být použito pro léčbu vyvolaného onemocnění.

Citlivost k antimikrobiálním látkám je hodnocena dle pravidel EUCAST jako C,I a R, a to jako C – citlivá , I – citlivá se zvýšenou expozicí (dříve intermediární) a R – rezistentní (Urbášková, 2019).

2.2.1.2 Biochemická charakterizace bakterií rodu *Salmonella*

Salmonely jsou kataláza-pozitivní a oxidáza-negativní. Fermentují glukózu, mannitol a sorbitol za vzniku kyseliny a plynu. Bakterie rodu *Salmonella* jsou schopny fermentovat sacharózu, ale pouze zřídka adonitol a netvoří indol. Obvykle je pozorována produkce sulfanu na TSI agaru a mohou využívat také citrát jako jediný zdroj uhlíku (Percival, 2014). Velké množství sulfanu mohou produkovat anaerobní redukcí thiosíranu. Sulfan lze detekovat reakcí se solemi železa obsaženými v médiu za tvorby černé sraženiny (Qinyuan, 2016).

Na základě biochemických vlastností bakterií byla sestavena řada multitestů, které jsou na trhu dostupné. Jednotlivé testy se nazývají podle skupin bakterií, které jsou pomocí nich určeny. Například ENTEROtest, Staphytest, *Enterococcus* test od firmy Erba Lachema a Api test od firmy BioMerieux (Votava, 2010). Souprava ENTEROtest je určena

k identifikaci bakterií z čeledi *Enterobacteriaceae*. Jednotlivé soupravy obsahují určité množství testovacích jamek, ve kterých je možné provést dané biochemické reakce. Většinou se jedná o soupravy umožňující provést 16 nebo 24 biochemických testů (www.erbalachema.com_a).

V případě ENTEROtestu se izolace kultur provede dohodnutou bakteriologickou technikou na půdách, které jsou vhodné pro enterobakterie. Příprava inokula probíhá tak, že se z čisté 24 h kultury připraví ve fyziologickém roztoku buněčná suspenze, která se následně důkladně homogenizuje. Suspenze musí být připravena takovým způsobem, aby její zákal odpovídal prvnímu stupni McFarlandovy zákalové stupnice (www.erbalachema.com_b). Do každé jamky je nainokulováno 0,1 ml kmene suspendovaného ve fyziologickém roztoku a destička se následně nechá kultivovat přes noc při teplotě 37 °C. Po inokulaci se k testům na sirovodík, indol, ornitin a ureázu přidávají 2 kapky parafinového oleje, aby byly zajištěny anaerobní podmínky (Šišková a kol., 2015).

Po inkubaci se některé jamky zakapou danými činidly, destička se nechá 30 minut inkubovat a následně se sleduje vývoj barevných reakcí. Výsledky testů se zaznamenají do formuláře pro záznam výsledků. Identifikace se provede pomocí identifikační tabulky. Při identifikaci se kultura posuzuje celkově podle původu izolátu, charakteru kolonií, pigmentace či mikroskopie (www.erbalachema.cz_b). Identifikaci je možné doplnit o různé testy ve formě detekčních proužků a detekčních disků, jako jsou např. OFT, OXI test, VPT a IND test (www.ridacom.cz).



Obrázek 4: Souprava ENTERO-Rapid 24 (www.erbalachema.com_c).

Na Obrázku 4 je možné vidět soupravu ENTERO-Rapid 24, která obsahuje 10 mikrotitračních destiček se sušidlem, návod k použití s diferenciační tabulkou, 40 formulářů pro záznam výsledků, barevnou škálu pro soupravu ENTERO-Rapid 24, 10 polyesterových sáčků pro inkubaci, skladovací sáček sloužící k uložení nespotřebované destičky a víčko.

2.2.1.3 Aglutinace se specifickými antiséry

Tradiční kultivace a standardní laboratorní postupy využívané k identifikaci *Salmonella* spp. mohou být častokrát časově náročné. Z tohoto důvodu byla vyvinuta řada sérologických metod, které jsou využívány po celém světě díky své spolehlivosti, přesnosti, jednoduchému provedení a finanční nenáročnosti. Jedním z příkladů sérologických reakcí je právě aglutinační test (Yang a kol., 2019). V suspenzi jsou obsaženy antigeny (např. bakteriální buňky). Fixní množství částicových antigenů přítomných ve vzorcích se přidá do řady zkumavek. Jednotlivé částicové antigeny jsou zesíťeny specifickými protilátkami za vzniku velkých shluků (Erkmen a Bozoglu, 2016).

Typickou aglutinační reakcí při identifikaci salmonel je Widalova reakce. Widal test vyvinul George Ferdinand Widal v roce 1896 a jedná se o nejrozšířenější diagnostický test na tyfus v rozvojových zemích. Test se používá jako pomůcka při diagnostice tyfové horečky (Tankeshwar, 2015a; Agarwal a kol., 2018). Tento test je založen na stanovení somatických (O) a bičíkových (H) aglutininů v séru (Sánchez-Miguel a kol., 2018). Pacienti infikovaní sérotypem *S. enterica* Typhi a *S. enterica* Paratyphi produkují sérové protilátky O a H antigenů těchto patogenů (Tankeshwar, 2015a).

Principem je, že suspenze obsahující antigen se aglutinuje. Pokud je v séru pacientů přítomna homologní protilátka, bude s příslušným antigenem reagovat v činidle, za vzniku viditelného shluku na testovací kartě a ve zkumavce. V testu jsou použity antigeny „H“ a „O“ *Salmonella* Typhi a „H“ antigen *Salmonella* Paratyphi. Paratyphoidní „O“ antigen se nepoužívá, protože reaguje s typhoidním „O“ antigenem (Aryal, 2018a). Protilátková odpověď může být tlumena například po antimikrobiální léčbě, což obvykle vede k negativním výsledkům (Agarwal a kol., 2018).

Somatické antigeny (O) jsou sérologicky významnou částí molekul lipopolysacharidů a jsou ukotvené v bakteriální membráně (Chlebicz, 2015). Somatické O antigeny jsou jedním z nejdůležitějších povrchových antigenů používaných pro klasifikaci salmonel (Fontana a kol., 2014).

Bičkové antigeny (H) jsou štíhlé vláknité struktury, které jsou součástí bičků a jejich proteinový profil se liší (Ibrahim, 2018). Jedná se o termolabilní proteiny, které ve srovnání s O antigeny vykazují vyšší schopnost vyvolat imunitní odpověď (Chlebicz, 2015).

Antigen Vi je kapsulární polysacharid na povrchu bakterií. Bývá využíván při vývoji vakcín proti tyfu a je charakteristicky produkován sérovarem *Salmonella* Typhi (Hu, 2017).

2.2.1.4 Sérotypizace dle Kauffmann-Whiteho (WKL) schématu

Sérotypizace salmonel podle Kauffmann-Whiteho schéma byla vyvinuta již v roce 1926. Spravuje ho spolupracující středisko WHO pro referenční výzkum a výzkum salmonel, Institut Pasteur v Paříži (Ibrahim, 2018). Sérotypizace dle WKL byla naposledy revidována v lednu 2007 a od té doby byla dokončena (Gossner a kol., 2016).

Tabulka 1: Seznam sérovarů salmonel a jejich antigenního vzorce (schéma Kauffmann-White) (www.brainkart.com).

Sérotyp	O antigeny (a Vi)	H antigeny	
		Fáze 1	Fáze 2
<i>Salmonella</i> Paratyphi A	1, 2, 12	a	-
<i>Salmonella</i> Paratyphi B	1, 4, 5, 12	b	1, 2
<i>Salmonella</i> Typhimurium	1, 4, 5, 12	l	1, 2
<i>Salmonella</i> Stanley	4, 5, 12	d	1, 2
<i>Salmonella</i> Paratyphi C	6, 7 (Vi)	c	1, 5
<i>Salmonella</i> Choleraesuis	6, 7	c	1, 5
<i>Salmonella</i> Muenchen	6, 8, 20	e, h	1, 2
<i>Salmonella</i> Typhi	9, 12 (Vi)	d	-
<i>Salmonella</i> Enteritidis	4, 9, 12	g, m	-
<i>Salmonella</i> Gallinarum	1, 9, 12	-	-
<i>Salmonella</i> Pullorum	1, 9, 12	-	-
<i>Salmonella</i> Anatum	3, 10	e, h	1, 6

Od první izolace *Salmonella* spp. v roce 1881 (onemocnění břišním tyfem) bylo zdokumentováno více než 2500 různých typů salmonel. Na základě jejich rozdílů v somatických (O) a bičkových (H) antigenech bakterií *Salmonella* jsou podle schématu Kauffmann-White klasifikovány do jednotlivých sérotypů (Tang a kol., 2014) (Tabulka 1). Sérotypy patřící do *S. enterica* subsp. *enterica* jsou obvykle označeny názvem souvisejícím s geografickým místem, kde byly poprvé izolovány. Antigenní vzorce sérotypů *Salmonella*

jsou k dispozici ve schématu Kauffmann-White na stránkách Institutu Pasteur (Issenhuth-Jeanjean a kol., 2014).

2.2.1.5 Ostatní metody přímé diagnostiky

MALDI-TOF MS

V lékařské mikrobiologii mohou být využívány i metody chemické kvalitativní analýzy. Převratnou metodou v mikrobiologické diagnostice bylo zavedení hmotnostní spektrometrie, která postupně nahrazuje tradiční metody identifikace. Jedná se o analytickou techniku, při které se částice ionizují na nabitě molekuly a měří se poměr jejich hmotnosti k náboji. K tomu se využívá průletový analyzátor MALDI-TOF MS (Singhal a kol., 2015; Li a kol., 2019). Principem vyšetřovací metody MALDI-TOF MS je ionizace mikrobiální suspenze laserovým paprskem, kdy dochází k uvolnění bílkovinných molekul, které se pohybují v elektrickém poli v hlubokém vakuu. Délka dráhy letu je úměrná velikosti molekul. Počítač, který vyhodnocuje dráhy jednotlivých molekul, vytvoří tzv. spektrum, které přístroj porovnává s knihovnou (databází) spekter (Wieser, 2012).

PCR

Ke kontaminaci potravin může dojít v kterémkoliv bodě jejich výroby i zpracování. Bakterie se v nich často vyskytují v nízkých hladinách. Z tohoto důvodu je velmi žádoucí rychlá a citlivá metoda detekce salmonel. Jednou z nejvyužívanějších metod pro detekci je polymerázová řetězová reakce (Law a kol., 2015). PCR si získala svou oblibu při kvantifikaci genů díky svému velkému a dynamickému rozsahu a ohromné citlivosti. Tato technika může exponenciálně amplifikovat DNA a z dané deoxyribonukleové kyseliny se následně vytváří až několik milionů kopií. Celý cyklus PCR se obvykle skládá ze tří různých kroků, kterými jsou denaturace, dosednutí primeru a elongace (Ahrberg a kol., 2016). Při denaturaci je reakční směs zahřátá na více než 90 °C, díky čemuž dojde k přerušení vodíkových vazeb DNA a k uvolnění dvoušrobovice. Následně je reakční směs ochlazená na 45–65 °C, což umožňuje nasedání primeru na specifická místa DNA. Při elongaci se reakční směs zahřeje na 72 °C, aby se dosáhlo optimální teploty pro enzymatickou aktivitu DNA polymerázy. Polymeráza se naváže na hybridní komplex primer-templát a tím dojde k sestavení nového komplementárního vlákna (Jalali a kol., 2017).

2.3 Salmonelóza

Infekce způsobené bakterií rodu *Salmonella* představují hlavní zdravotní hrozbu jak v rozvojových, tak i v průmyslově vyspělých zemích (Kehl a kol., 2020). V roce 2008 se v EU vyskytovalo zhruba 131 468 případů, u kterých byla prokázána salmonelová infekce. V roce 2013 klesl výskyt salmonelové infekce na 82 694 případů (Swart a kol., 2016). Onemocnění salmonelózou mělo i v České republice od roku 1951 mírně stoupající charakter, který trval až do poloviny 80. let. Poté však došlo k prudkému vzestupu zachycených případů salmonelózy. Vzestup byl pozorován nejen v České republice, ale i v mnoha dalších zemích světa. K tomu pravděpodobně přispěl výskyt nových fagotypů *Salmonella* Enteritidis ve velkochovech drůbeže. V České republice se nemocnost salmonelózou začala postupně snižovat s přijetím komplexních veterinárních opatření k tlumení salmonelóz v chovech drůbeže. V letech 2008–2017 se nemocnost začala pohybovat kolem 105 případů na sto tisíc obyvatel za rok (www.khsstc.cz).

2.3.1 Onemocnění lidí

Vyšší nemocnost či epidemie salmonelóz vznikají víceméně nahodile. Ke vzniku dochází především při porušení správné hygienické praxe během přípravy stravy a její distribuce. V České republice dochází nejčastěji k onemocnění salmonelózou při veřejném stravování (ve veřejných, školních či závodních jídelnách a na táborech), ale také při rodinných oslavách, kde se jako zdroj infekce uplatňují především cukrářské a lahůdkářské výrobky, domácí pokrmy připravované z vajec, méně pak ryby a drůbež (Špačková, 2018).

U většiny infikovaných jsou příznaky mírné a zlepšují se během několika dnů, a to bez jakékoli speciální léčby. Někdy však mohou být příznaky závažnější (Knott, 2019). Salmonelóza se v závažnějších případech obvykle projevuje jako akutní gastroenteritida nebo enterokolitida, má inkubační dobu 12 hodin až 5 dnů, nejčastěji však 24–48 hodin. Charakteristické jsou průjmy, ale bez přítomnosti krve. Někdy se objevuje i zvracení a téměř vždy je přítomna horečka. Infekční dávka je uváděna v rozmezí 10^5 – 10^8 bakterií. Jsou však popisovány případy vyvolané dávkami mnohem nižšími, zvláště u dětí, starších osob a pacientů s oslabenou imunitou. V ojedinělých případech může dojít k rozsevu bakterií do krve a lymfatického systému. Infekce může začít také jako akutní enterokolitida s enterickou horečkou se septikémií a fokální infekcí (www.svsr.cz_a). Stejně tak může salmonelóza velmi ojediněle způsobit i reaktivní artritidu, která se projevuje bolestmi kloubů a může trvat týdny až měsíce (Loria, 2018).

2.3.1.1 Projevy salmonelózy

U salmonelové infekce sledujeme dva průběhy onemocnění, v závislosti na tom, zda je infikující kmen tyfoidním nebo netyfoidním sérovarem (Dekker a Karen, 2015).

Tyfové salmonely se nejčastěji vyskytují v nedostatečně ekonomicky rozvinutých zemích, a to z důvodu špatných hygienických návyků (Zha, 2019). Tyfová salmonelóza se může projevit jako gastroenteritida, septikémie či enterická horečka. Inkubační doba bývá většinou v době do jednoho týdne. Avšak Erkmen a Bozoglu (2016) uvádějí, že inkubační doba může být dokonce 30 dní až dva měsíce. Enterické horečky jsou způsobeny specifickými patogeny *S. enterica* Typhi a *S. enterica* Paratyphi (Adinno a Hanning, 2015). Dle Humphries a Linscott (2015) se jedná převážně o *Salmonella* Paratyphi A, *Salmonella* Paratyphi C a tartrát-negativní varianty *Salmonella* Paratyphi B. Horečka trvá povětšinou déle než dva dny. Způsobem přenosu může být styk se stolicí či močí nemocného, dále pak vodou, potravinami, apod. Závažnost infekce se liší podle imunitní odolnosti každého jedince a imunitního systému, jakož i virulence izolátu *Salmonella* (Adinno a Hanning, 2015).

Non-tyfoidní salmonelóza (NTS) se šíří fekálně orální cestou jako enterické horečky, ale počtem celosvětově odhadovaných případů výrazně nad enterickými horečkami dominují. Na rozdíl od *Salmonella* Typhi a *Salmonella* Paratyphi nejsou non-tyfoidní salmonely omezeny na člověka (Adinno a Hanning, 2015). Přenos z člověka na člověka je zaznamenáván při špatných hygienických návycích, např. ve zdravotnických zařízeních a ve školách. Nejvyšší výskyt infekcí přichází především v létě a na podzim (Schrafen, 2014). Obvykle se u pacienta vyskytují symptomy, jako je průjem spojený s horečkou a křečemi břicha. U bezpříznakových pacientů trvá tato infekce většinou 4–7 dnů (Dekker a Karen, 2015). Onemocnění je způsobeno převážně sérotypy *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Newport* a *S. Heidelberg*. Salmonela může také vyvolat chronické stavy, včetně aseptické reaktivní artritidy a Reiterova syndromu (Adinno a Hanning, 2015)

2.3.1.2 Terapie onemocnění

O tom, zda a jakou léčbu bude pacient vyžadovat, rozhoduje řada faktorů, mezi které patří především závažnost onemocnění a zdravotní stav nakaženého (Buttaccio, 2019). Jedinci, kteří vyhledají lékaře, jsou nejprve dotazováni na potravu, kterou konzumovali v posledních dvou dnech (Nimmertondlová, 2013). Při salmonelóze se

nedoporučuje antibiotická terapie, ta sice může zkrátit dobu trvání klinických příznaků, avšak může prodloužit dobu vylučování salmonel stolicí a také zvýšit rezistenci bakterií k antibiotikům. Antibiotika se většinou podávají jen v případě mimostřevních komplikací (www.svscr.cz_a; Zollner-Schwetz a Krause, 2015).

Hlavní komplikací průjmu je dehydratace, která může vést v některých případech až k metabolickému rozvratu nebo dokonce k selhání ledvin. K tomu jsou náchylní zejména senioři a kojenci (Táborská, 2013). Z tohoto důvodu klade léčba gastroenteritické formy důraz na dostatečný přísun vody, případně iontových nápojů, které jsou významným zdrojem vápníku a draslíku. Následně je po určitou dobu potřeba dodržovat dietní režim, který se skládá pouze z lehkých a nemastných potravin, mezi které patří dietní suchary či bílé pečivo z předchozího dne (Beneš, 2009; Harding, 2016). Dále je žádoucí, aby byly po určitou dobu z jídelníčku vyřazeny i mléčné výrobky a vejce (Svačina, 2008).

Po dobu trvání průjmu se podávají léky přispívající k jeho potlačení, jako je Endiaron či živočišné uhlí. Jedná se o látky, které vychytávají nadměrnou tekutinu v trávicím systému, což způsobí zahuštění stolice (Havlík, 2002). Medikamentózní léčba dále spočívá v podávání léků proti zánětu, zvracení a v podávání probiotik (Nimmertondlová, 2013).

2.3.2 Onemocnění zvířat

Salmonella spp. může postihnout kromě člověka i celou řadu domácích a divokých zvířat, u kterých je převládajícím rezervoárem opět střevní trakt. K onemocnění savců dochází po požití kontaminované potravy či vody. Průběh salmonelové infekce u zvířat závisí, stejně jako u lidí, na schopnosti bakterií přežít náročné podmínky žaludečního prostředí před vstupem do střevního epitelu a následně kolonizovat lymfatické uzliny a vnitřní orgány (Demirbilek, 2017; Wiedemann, 2015).

Nakažená zvířata jsou často bez zjevných známek nemoci. Z tohoto důvodu obvykle dochází ke kontaminaci potravin, ať už přímým kontaktem s infikovaným zvířetem nebo fekálním znečištěným prostředím (Demirbilek, 2017).

2.3.2.1 Onemocnění drůbeže

U drůbeže se mohou vyskytovat převážně tři různá onemocnění způsobena bakteriemi rodu *Salmonella*. Patogen *S. Pullorum* způsobuje u kuřat onemocnění plic. Tyfus drůbeže je způsoben patogenem *S. Gallinarum* a ve třetím případě se jedná o paratyfus, který může být způsoben hned několika sérotypy, mezi které patří převážně *S.*

Typhimurium a *S. Enteritidis* (Demirbilek, 2017). *S. Pullorum* a *S. Gallinarum* způsobují onemocnění u drůbeže, ale jen zřídka způsobují onemocnění u lidí. Tyto sérotypy salmonel jsou nemotilní a specifické pro svého hostitele. Ptáci infikovaní většinou sérotypů salmonel nevykazují klinické příznaky choroby, což ztěžuje diagnostiku daného onemocnění na farmách (Adinno a Hanning, 2015).

Úmrtnost způsobená salmonelovou infekcí se vyskytuje především u mladých kuřat a krůt. Salmonely se mohou šířit do mnoha tkání, např. vaječnicků, sleziny, jater, žloutkového vaku, srdce, krve a ledvin. Postižení ptáci jsou apatičtí, slabí a je možné u nich pozorovat bělavý průjem (Ježková, 2017).

2.3.2.2 Onemocnění prasat

Prasata jsou značným zdrojem lidské nontyfoidní salmonelózy, a proto je jejich izolace z vepřového masa a vepřových produktů velmi častá. Prevalence salmonel ve vzorcích odebraných z prostředí chovu prasat se pohybuje v rozmezí 3–33 %. Salmonely vyskytující se v chovech prasat mohou být rozděleny do dvou skupin. První skupina způsobuje vznik systémového onemocnění ve formě septikémie, které způsobuje vysokou úmrtnost u mladých prasat a je zapříčiněno patogenem *S. Choleraesuis* (Adinno a Hanning, 2015). Nemocná zvířata mají vysokou horečku a odmítají přijímat potravu. Končetiny, uši, ocas a rypák mohou být nafialovělé, kůže bývá narudlá. Infekce často postihuje mozek, játra i plíce (Ježková, 2017). Druhá skupina způsobuje enteritidu. Na té se podílí všechny ostatními sérotypy, které mají širší rozsah hostitelů (Adinno a Hanning, 2015).

2.3.2.3 Onemocnění ryb

Ryby nejsou známy jako hostitelé salmonel, nemají vlastní sérotypy žijící uvnitř jejich tělesných orgánů nebo jejich svalovině. Avšak přirozené prostředí ryb je extrémně náchylné ke znečištění způsobeného domácími, průmyslovými a zemědělskými faktory. Z toho vyplývá, že jsou ryby ohroženy všemi riziky pro životní prostředí. Další častou příčinou toho, že se patogen odpovědný za salmonelové infekce dostane do obchodního řetězce ryb, je nevhodná manipulace a hygiena během celého průběhu zpracování (Raufu a kol., 2014; Fernandes a kol., 2018).

Mezi méně obvyklé způsoby kontaminace produktů akvakultury je použití drůbežního steliva jako hnojiva v blízkosti kultivačních nádrží, jakož i chov společný s jinými druhy zvířat, např. skotu a prasat. To přispívá ke zvýšení mikrobiální populace

v rybích nádržích a kontaminanty se následně dostávají žábami do krevního oběhu ryb (Fernandes a kol., 2018).

2.3.3 Výskyt salmonel v rostlinných produktech

Hlavní zdroj salmonelózy byl tradičně připisován živočišnému původu, včetně masa, vajec a dalších drůbežích produktů. V posledních letech vzrostl počet případů kontaminace potravin způsobených netradičními zdroji patogenu, jako je domácí, nebo dovážené ovoce, zelenina, koření a ořechy (Liu a kol., 2018).

Ke kontaminaci rostlinných produktů může docházet hned na několika úrovních. Nejčastěji bývají kontaminována samotná semena rostlin, voda použitá na zavlažování, ale i použité hnojivo pocházející z trusu nakažených zvířat (Myšková a Karpíšková, 2013). V neposlední řadě pak ke kontaminaci dochází při nedodržení hygienických zásad během sklizně a posklizňových úprav rostlinných produktů (www.agris.cz).

2.4 Konvenční způsob průkazu salmonel v potravinách

Veškerá analýza začíná přípravou vzorku, která hraje nedílnou součást celého procesu a ovlivňuje následné analytické výsledky (Leung a Misa, 2013). Je důležité, aby odebraná část konkrétního produktu byla reprezentativní. Potraviny, které mají být vyšetřeny za účelem zjištění přítomnosti salmonel, jsou odebírány podle statistického plánu odběru vzorků určeného výhradně pro použití při podezření na přítomnost tohoto patogenu (Mondello a kol, 2012).

Jedním z rutinních úkolů, který je společný mnoha mikrobiologickým laboratořím, je příprava kultivačního média. Podle pokynů výrobce se demineralizovaná voda smíchá s daným množstvím navážky. Směs se zahřeje v horké vodě a míchá se do úplného rozpuštění prášku. Následně je směs potřeba sterilizovat v autoklávu, poté se přelije do Petriho misek a nechá se ztuhnout při pokojové teplotě (Iqbal, 2019).

Plotnová metoda pro průkaz bakterií rodu *Salmonella* zahrnuje čtyři po sobě jdoucí kroky. Nejprve se provede obohacení vzorku v pufrované peptonové vodě (PPV), což je neselektivní tekutá půda upravená tak, aby podporovala růst salmonel a tím zvýšila selektivitu a citlivost. PPV je inokulována při okolní teplotě a po té probíhá inkubace při teplotě 34–38 °C po dobu 18 h (ČSN EN ISO 6579-1; Lee a kol, 2015). Dále se kultura přeočkuje do dvou tekutých selektivních půd, kterými jsou RVS médium a MKTTn médium (Lee a kol, 2015). U RVS média probíhá inkubace aerobně při 42 °C po dobu

jednoho dne, v případě MKTTn média se inkubace provádí při 37 °C po stejnou dobu. Pokud je z epidemiologického hlediska potřeba stanovit i *Salmonella* Typhi a *Salmonella* Paratyphi A, je nutné použít i kultivační médium s cysteinem a seleničitanem sodným (Baudišová, 2017).

Třetím krokem při průkazu bakterií rodu *Salmonella* je vyočkování. Provádí se jednoduchým, nebo křížovým roztěrem na dvě tuhé selektivní půdy, kterými jsou XLD agar a jakákoli jiná selektivní půda dle výběru laboratoře (např. BGA agar, Rambach agar nebo Wilson-Blairův agar). Naočkované misky se následně inkubují aerobně při 37 °C po dobu 24–48 hodin a poté se provede předběžné stanovení totožnosti na základě charakteristického vzhledu kolonií (Baudišová, 2017; Zadernowska, 2012).

Pro konfirmaci se vybere z každé plotny nejméně jedna kolonie, která je považována za typickou. Pokud je první kolonie negativní, vyberou se další čtyři kolonie, které se naočkují na povrch předem vysušeného neselektivního agarového média a inokulované misky se nechají inkubovat při teplotě 34–37 °C po dobu 24 h. Předpokládané kolonie salmonel jsou subkultivovány a jejich totožnost je potvrzena pomocí vhodných biochemických a sérologických testů, jako je Enterotest a aglutinace aglutinačními séry (ČSN EN ISO 6579-1; Burdychová, 2007).

Pro potvrzení *Salmonella* spp. se provedou testy alespoň na TSI agaru a LDC agaru. V obou případech probíhá inkubace při 37 °C po dobu 24 h. V případě LDC agaru nám žlutá barva značí negativní reakci, pokud je pozorovatelná fialová barva a zákal, reakce je pozitivní (ČSN EN ISO 6579-1). Po ukončení inkubace lze v případě salmonel na TSI agaru pozorovat žluté zbarvení sloupce, šikmá plocha zůstane červená. Průkaz tvorby sirovodíku se projeví zčernáním kolem vpichu (ČSN EN ISO 6579-1; Abrar a kol., 2020).

2.4.1 MacConkey agar

MacConkey agar byl prvním pevným diferenciativním médiem, které bylo vytvořeno a vyvinuto Alfredem Theodorem ve 20. století. Jedná se o selektivní médium využívané k izolaci a diferenciaci nestabilních Gram-negativních tyčinek, a to zejména z čeledi *Enterobacteriaceae* a rodu *Pseudomonas* (Aryal, 2018b).

Tabulka 2: Složení a množství jednotlivých látek v MacConkey agaru (Aryal, 2018b).

Složení	Množství
Pepton	17 gm
Proteasový pepton	3 gm
Žlučové soli	1,5 gm
Chlorid sodný	5 gm
Neutrální červeň	0,03 gm
Krystalová violet	0,001 g
Agar	13,5 gm
Destilovaná voda	přidat pro výrobu 1 litru

Médium poskytuje základní živiny, aminokyseliny, vitamíny a dusíkaté látky, které jsou potřebné pro růst mikroorganismů. Krystalová violet společně se žlučovými solemi inhibuje růst Gram-pozitivních organismů a náročných Gram-negativních bakterií, jako jsou *Neisseria* a *Pasteurella* (Tankeshwar, 2013b; Harvey, 2007). Neutrální červeň se využívá jako indikátor pH, který je při hodnotě pH vyšší než 6,8 bezbarvý a při nižších hodnotách zčervená. Chlorid sodný udržuje v médiu osmotickou rovnováhu (Aryal, 2018b).

2.4.2 Xylóza lysin dexycholátový agar (XLD agar)

Xylóza lysin dexycholátový agar je selektivní půda, která byla původně vytvořena pro identifikaci a izolaci pouze *Shigella* spp. ze vzorků stolice. Nyní se využívá také pro identifikaci *Salmonella* spp. z klinických vzorků potravin. Médium je formulováno tak, aby pomohlo zlepšit růst náročnějších patogenů, a je doporučováno pro testování potravin, vody a mléčných výrobků (Aryal, 2018c).

Tabulka 3: Složení a množství jednotlivých látek v XDL agaru (Aryal, 2018c).

Složení	Množství
Laktóza	7,5 gm
Sacharóza	7,5 gm
Thiosíran sodný	6,8 gm
L-lysin	5,0 gm
Chlorid sodný	5,0 gm
Xylóza	3,75 gm
Výtažek z kvasnic	3,0 gm
Deoxycholát sodný	2,5 gm
Citronan amonný železitý	0,8 g
Fenolová červeň	0,08 g
Agar	15,0 g

Médium vychází z použití selektivní inhibiční složky deoxycholátu sodného a tří indikátorových systémů, mezi které se řadí xylóza, laktóza a sacharóza v kombinaci s fenolovou červeň, lysin hydrochloridu opět s fenolovou červeň a thiosíran sodný s železem. Pomocí inhibiční složky je růst mnoha nežádoucích organismů potlačen, zatímco hledané bakterie rostou na agaru díky tvorbě sirovodíku z thiosíranu ve formě specifických černých kolonií (Corry a kol., 2003). Indikátor fenolová červeň se po fermentaci cukrem mění z červeného zbarvení na žlutou barvu, tím se odlišují fermentory laktózy od bezlaktózových fermentorů (Rijal, 2015).

2.4.3 Rappaport-Vassiliadis sója médium (RVS médium)

RVS médium je obohacující bujón, který se využívá k selektivní izolaci salmonel. Je založeno na schopnosti *Salmonella* spp. množit se při relativně vysokých osmotických tlacích, nízkých hodnotách pH a vysoké teplotě se skromnými nutričními požadavky (Corry a kol., 2003).

Médium se skládá z tryptonu, chloridu sodného, fosforečnanu draselného, chloridu hořečnatého, malachitové zeleně, oxalátu, agaru a destilované či neionizované vody (Corry a kol., 2003). Chlorid hořečnatý zvyšuje osmotický tlak v médiu a malachitová zeleň inhibuje doprovodnou mikroflóru. Chlorid sodný udržuje osmotickou rovnováhu. Fosforečnan draselný pufruje médium pro udržení konstantního pH (www.himedialabs.com).

2.4.4 Triple Sugar Iron (TSI)

Většina bakterií má schopnost fermentovat cukry. Na základě toho, jaké cukry fermentovat mohou a jaké naopak nemohou, můžeme jednotlivé bakterie identifikovat. K tomu se využívá mikrobiologický test TSI. Jedná se o speciální médium s několika cukry (laktózou, sacharózou a glukózou) a s železem (síran železnatý), které je zejména při identifikaci Gram-negativních bakterií velmi užitečné (Tankeshwar, 2013c; Mahon a kol., 2011). Síran železnatý obsažený v mediu se využívá jako indikátor tvorby H₂S (Aryal, 2019d). Místo síranu železnatého je možné využít i thiosíran sodný. Jako indikátor pH se používá fenolová červeň, která pod pH 6,8 mění barvu na žlutou (nenaočkované médium je červené). Pokud testované bakterie produkují plyn při kvašení cukrů, lze na agaru pozorovat případné trhliny či tvorbu bublin (Mahon a kol., 2011).

2.4.5 Morfologie charakteristických kolonií

Pokud jde o tvar uspořádání, vykazují bakterie velmi rozsáhlé rozmanitosti. Morfologie bakteriálních kolonií je silně závislá na druhu bakterie a může být popsána z hlediska jejich velikosti, barvy, tvaru, vzoru růstu a dalších specifických charakteristik (Zhou a Li, 2015; Badiyan, 2018).

V případě přítomnosti laktóza-negativních bakterií (salmonely) jsou kolonie na MacConkey agaru a XLD agaru průsvitné s černým středem. Citran železitoamonný se sirovodíkem redukuje na sulfid železnatý, který ve středu kolonií vytváří černý precipitát. Pokud dochází ke zkvašování xylózy, glukózy a laktózy, fenolová červeň obsažená v XLD mediu změni barvu na žlutou (Burdychová, 2007; Michaels, 2017). Na Rambach agarovém chromogenním mediu obsahujícím deoxychlát sodný, propylenglykol a chromogenní směs mají sérovary *Salmonella* Enteritidis a *Salmonella* Typhimurium růžové kolonie (Zadernowska, 2012).

2.5 Laboratorní průkaz salmonel v klinickém materiálu

Sérotypy salmonel se kromě potravin prokazují také v klinickém materiálu a to nejčastěji kultivací stolice a moči. Základním vyšetřením v diagnostice střevních infekcí je opět kultivace, která probíhá na tekutých nebo pevných půdách, případně v hemokultuře (Polanecký a Göpfertová, 2015).

Vyšetření výtěrů z rekta se provádějí především při podezřelé epidemiologické anamnéze, závažného klinického průběhu nebo u pacientů v pokročilém věku, kde je

zvýšené riziko šíření nákazy. Výtěr se provádí z konečnicku pomocí tampónu navlhčeného transportním médiem nebo navlhčeným deoxycholat-citrátovým agarem na špejli. Každý biologický materiál je potřeba dodávat do laboratoře v chladu (cca 2–8 °C) a v co nejkratším čase. Někdy je možné skladovat vzorky po delší dobu při teplotě -20 °C. V laboratoři se vzorek očkuje zejména na vybrané pevné půdy. Identifikace mikroba trvá obvykle 2–3 dny. K závěrečnému dourčení kmene se využívají sérologická vyšetření, jako je především Widalova reakce a zpětná aglutinace (Rozsypal a kol., 2013; Lukáš a Hoch, 2018).

2.6 Faktory přispívající šíření salmonel

V životním prostředí se vyskytují různé zdroje bakterií rodu *Salmonella*, do kterých patří zejména hospodářská a volně žijící zvířata a drůbež (Kovačić a kol., 2017). Mezi další významné faktory, přispívající ke kontaminaci potravin a šíření salmonel, patří znečištěné vody, které mohou přenášet patogeny ke kořenům rostlin nebo mohou způsobovat salmonelovou infekci např. u ryb. Znečištění vody a ohniska netypických sérotypů se vyskytují pouze zřídka, přestože jsou často přítomny v povrchových vodách (Kisluk a Yaron, 2012; Kovačić a kol., 2017). Salmonely jsou všudypřítomné a ve vodě mohou přežít i několik měsíců. Mezi možné kontaminované druhy vod patří například odpadní a zemědělské vody, dešťové odtoky, ale také vody pitné. Často dochází ke kontaminaci vod v soukromých studnách, které jsou využívány k případnému zalévání. To může mít za následek výše zmíněný přenos patogenů do kořenů rostlin a následně i plodů (www.merieuxnutrisciences.com).

Vliv na rozvoj salmonelózy mohou mít i změny klimatu, u kterých bylo zjištěno, že mikroorganismy, jako jsou salmonely, se šíří rychleji při vyšších teplotách okolního vzduchu. Dalšími zkoumanými vlivy klimatu, které by mohly mít souvislost se šířením salmonel, byly především srážky a vlhkost, zde ale žádná souvislost nakonec prokázána nebyla (Welch a kol., 2019).

2.7 Eliminace salmonel v potravinách

Za účelem minimalizace kontaminace potravin bakteriemi *Salmonella* spp. se v současné době využívá přístup „z farmy na vidličku“, ve kterém jsou v každém bodě výrobního řetězce prováděna speciální opatření, která mají zamezit dalšímu možnému šíření salmonel v potravinách (Callegari a kol., 2015).

Aby se dosáhlo prodloužení skladovatelnosti potravin a inhibice růstu potravinářských patogenů, jako je *Salmonella* spp., byly vyvinuty četné způsoby konzervace potravin. Tato intervenční ošetření mohou být kategorizována buď jako termická, nebo netermická. Mezi termické úpravy spadá např. grilování či ohřívání pomocí vody (páry). Potraviny lze také ohřívát pomocí tepelného záření (infračerveného nebo mikrovlnného). Mezi netermické konzervační metody patří různá chemická, fyzikální či biologická ošetření (Jarvis a kol., 2016).

Salmonely běžně nepřežívají sterilační ani pasterační teploty. Teplota kolem 60 °C by salmonely v potravinách měla zničit. Je ale nutné sledovat teplotu uprostřed potraviny, protože zde je teplota zpravidla mnohem nižší než teplota povrchová či teplota v okolním prostředí. Je důležité dávat pozor, aby nedošlo k přenosu nákazy na již tepelně zpracované potraviny, ať již rukama nebo kuchyňským nádobím (www.svs-cr.cz_a). Z toho to důvodu by měla být pracovní plocha, na které jsou ostatní suroviny připravovány, oddělena od plochy, na které bylo připravováno syrové maso. Dále je vhodné použít pro porcování masa a možných infikovaných pokrmů jiné nože a prkénka, než využíváme k zpracování jiných surovin (Jádrová, 2016).

2.8 Eliminace salmonel v chovech

Pro zamezení přenosu salmonel na čisté potraviny, je důležité dodržovat veterinární opatření v chovech jatečných zvířat, ale také je třeba dodržovat i technologické postupy a hygienické zásady při výrobě potravin. Salmonely u drůbeže nevyvolávají žádné klinické příznaky, což značně ztěžuje možnost případný výskyt v chovech odhalit (Duben, 2008). Provozní bezpečnost zahrnuje mnoho řízení a rutinních postupů, které jsou určeny k prevenci před zavlečením infekčních chorob. Opatření jsou uzpůsobena tak, aby přesně vyhovovala zařízením a provozům podniku každého výrobce (Trampel a kol., 2014). Nejběžnější příklady opatření vedoucích k bezpečnosti potravin zahrnují hygienu, postupy biologické bezpečnosti, dohled nad krmivy, likvidaci odpadu a jatečně upravených těl, čištění, dezinfekční programy, zásahy do potravin, diagnostiku a také očkování (Zamora-Sanabria a Alvarado, 2016). Mimo výše zmíněné příklady musí dbát chovatelé i na správné řízení chodu zařízení a lidí a musí zabránit zamoření budov hlodavci a volně žijícími ptáky. V neposlední řadě se provádí i kontrola prachu (Jones, 2011).

Proškolené osoby pravidelně odebírají dané množství trusu drůbeže k bakteriologickému vyšetření (Šatrán a Duben, 2018). Za pozitivní hejno se považuje

takové, u kterého byla zjištěna *Salmonella* Enteritidis nebo *Salmonella* Typhimurium v jednom, nebo více vzorcích daného hejna (www.svscr.cz_b). V případě, že je v prostředí prokázán výskyt salmonel, probíhá šetření, zda se nákaza vyskytuje i v orgánech drůbeže. Pakliže je nákaza nalezena, provádí se striktní opatření, které může vést nejen k zákazu uvádění vajec na trh, ale i k utracení drůbeže (Duben, 2008).

2.8.1 Budovy chovů

Samotné budovy by měly být konstruovány z trvanlivého materiálu (betonu, nikoli z hlíny), který je možné účinně dezinfikovat. Prostory je potřeba udržovat tak, aby bylo zabráněno přístupu volně žijícího ptactva a hlodavců. Návštěvníci farmy by měli být omezeni na jednotlivce navštěvující farmu za účelem základního obchodu (Trampel a kol., 2014).

Klíčovou roli při eliminaci salmonel v budovách hraje především čištění a dezinfekce. Z tohoto důvodu musí být v každé budově zavedeno zařízení sloužící k dezinfekci rukou a místo, kde je zaměstnancům umožněno se při vstupu a odchodu převléknout. Každý chovatel by měl mít vyhrazené oblečení, které slouží pouze pro pohyb v dané budově. Všechny okolní prostory (sklady, toalety, apod.) musí být udržované stejně jako prostory určené výhradně k chovu zvířat (www.svscr.cz_c; Gosling, 2018).

2.8.2 Krmivo pro dobytek

Krmiva jsou pro hospodářská zvířata rozšířeným zdrojem salmonel. Bakterie mohou být zavedeny do krmiva jinými kontaminovanými krmivy, zpracováním, přepravou, skladováním či distribucí (Zamora-Sanabria a Alvarado, 2016). Při každé manipulaci s krmivem dochází ke zvýšené pravděpodobnosti, že by mohlo dojít ke kontaminaci a není neobvyklé, že se s některými složkami může manipulovat i 10krát, než se krmivo dostane k uživateli (Jones, 2011). Kromě toho může přispět ke kontaminaci krmiv i několik dalších faktorů, mezi které patří např. prach, přítomnost škůdců a špatné hygienické podmínky (Pellegrini a kol., 2015).

Krmivo by mělo být přepravováno ve vozidlech, která jsou určena pouze k tomuto účelu a nejsou na ně nakládána žádná jiná krmiva ani přísady. Na farmě je třeba skladovat krmivo v uzavřených zásobnících, vacích a násypkách. Prostory ke skladování je nutné udržovat čisté a bez škůdců. V případě, že dojde k rozsypaní krmiva, nesmí být znovu používáno pro další hejno a nesmí být ani dále skladováno (www.svscr.cz_c).

2.8.3 Stelivo v chovech

Z důvodu zvyšujících se nákladů na materiály podestýlek a nutnosti snižovat dopad na životní prostředí, je i v moderních systémech běžné opakované použití steliva. Pro snížení mikrobiální zátěže, která většinou pochází z exkrementů zvířat, je potřeba před opětovným použitím provést správné ošetření (Muniz, 2014). Podestýlky je možné ošetřovat různými antibakteriálními produkty či určitými dezinfekčními činidly. Pokud mají být během následujících dvou dnů prováděny odběry vzorků k testování na výskyt salmonel, je potřeba, aby na podestýlku ani na další povrchy nebyly aplikovány žádné antibakteriální látky. Stelivo uskladněné pod střechou nebo širým nebem musí být vždy uloženo tak, aby bylo chráněno před hlodavci, ptáky a jinými škůdci (www.svscr.cz_c).

2.8.4 Hubení škůdců v chovech

Důležité je v neposlední řadě také to, aby nedocházelo k nežádoucímu přemnožení hlodavců ve vnitřních prostorech. K tomu je potřeba zajistit, aby veškeré budovy byly zabezpečeny proti vniknutí hlodavců, hmyzu, volně žijícího ptactva či škodné. Z okolí jsou zvířata zaplašována likvidací vegetace, stromů, úklidem rozsypaného krmiva a všeobecnou čistotou (www.svscr.cz_c). Mezi způsoby ochrany proti hmyzu bylo dříve zahrnováno ozáření, které mimo likvidaci hmyzu také zpomalovalo růst plísní. Toto opatření se ale z důvodu škodlivých vlivů záření a vysokým nákladům na kontrolu tohoto druhu dnes již nevyužívá (Dand, 2011).

Součástí procesu vedoucího k eliminaci hlodavců je v první řadě zablokování všech možných vstupů do chovatelských budov a vstupů do skladů s krmivem pro zvířata. Toho je možné docílit uzavřením všech otvorů okolo elektrických, vodních a plynových potrubí, instalací dveří s kovovými zárubněmi, umístěním ochranných mřížek na okna, větrání a jiné budovy a také vybudováním bariér v kanalizačních systémech. Mimo zmíněná opatření se v dnešní době využívají převážně i opatření chemická, jejichž nevýhodou může být častá toxicita (Jankovic a kol., 2019).

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Průkaz původců alimentárních onemocnění je běžně zaměřen na sledování přítomnosti bakterií rodu *Salmonella* a *Campylobacter*. V některých případech se na základě požadavků ordinujícího lékaře provádí u dětí do tří let věku také průkaz na přítomnost enteropatogenních séroskupin *Escherichia coli*. Dlouhodobě byla salmonelóza v České republice nejčastěji hlášeným původcem alimentárních onemocnění. Od roku 2007 se počet infikovaných osob salmonelovou infekcí začal snižovat a nyní se v počtu výskytu řadí až na druhé místo po kampylobakterióze (Polák a kol., 2014).

Tuto práci jsem zaměřila pouze na průkaz bakterií rodu *Salmonella*. Přesto, že se počet infikovaných osob bakteriemi rodu *Salmonella* snižuje, je v České republice v posledních letech zaznamenávána 5x vyšší hlášená nemocnost salmonelózou, než je hlášená nemocnost na toto onemocnění v EU (EFSA a ECDC, 2017). V rámci experimentální práce jsem měla možnost nahlédnout do reálného laboratorního provozu a vyzkoušela jsem si metodiku zpracování rektálních výtěrů a zpětnou aglutinaci, která se provádí na mikroskopickém podložním sklíčku. Vlastní praktická náplň bakalářské práce zahrnuje především zpracování dat o původcích salmonelózy, kteří byli zachyceni na Oddělení infekční diagnostiky, Litomyšlské nemocnice za období od 1. 1. 2016 do 31. 12. 2019. Jednalo se o vzorky pacientů z různých oddělení Litomyšlské nemocnice a Svitavské nemocnice a o vzorky pacientů praktických lékařů ve spádové oblasti obou nemocnic.

3.1 Zpracování výtěrů z rektů

3.1.1 Materiál a metodika

- inkubátor INP 200-800 , Memmert GmbH, SRN
- MALDI Biotyper Microflex LT, Bruker Daltonics Inc., USA – analyzátor pro identifikaci mikroorganismů
- BACMED, Aspiag s.r.o., ČR – analyzátor pro automatické odečítání antibiogramů
- chladnička VESTFROST – skladování reagensů a kultivačních medií
- buničina
- ochranné rukavice
- ústenka
- štítky s evidenčními čísly a čárovými kódy

- kontejner na kontaminovaný odpad
- přípravek k dezinfekci a dekontaminaci
- kalibrovaná inokulační klička 1 µl

3.1.2 Kultivační média

Tekuté pomnožovací půdy

- SEL – Selenitový bŕjón, Labmediaservis s.r.o., ČR

Pevná kultivační média

- MC – MacConkey agar, Labmediaservis s.r.o., ČR
- XLD – Xylóza lysin deoxycholátový agar, Labmediaservis s.r.o., ČR

3.1.3 Specifická antiséra

Polyvalentní séra:

- Mixture OMA (SA group A,B,D,E,L) (3 ml)
- Mixture OMB-S.SALMO AGGL.O.MEL OMB/3ML

Monovalentní séra

- Antisérum *Salmonella* MONOVALENT O:9
- Antisérum *Salmonella* MONOVALENT H:g,m
- Antisérum *Salmonella* MONOVALENT O:4,5
- Antisérum *Salmonella* MONOVALENT H:i
- Antisérum *Salmonella* MONOVALENT O:1,2
- Antisérum *Salmonella* MONOVALENT O:6,7,8
- Antisérum *Salmonella* MONOVALENT H:r
- Antisérum *Salmonella* MONOVALENT H:1,5

Veškerá séra použitá na tomto oddělení jsou vyráběna společností Bio-RAD s.r.o (Francie).

3.1.4 Metodika analýzy vzorků

Veškeré vzorky byly zpracovány v souladu se standardním operačním postupem SOPM–LIN–006–IDG – Kultivační vyšetření rekta následujícím způsobem:

Nejprve byl rektální výtěr naočkován na pevné kultivační médium MC a XLD agar a následně byl použitý odběrový tampón zalomen do tekutého selenovitého pomnožovacího bujónu. Kultivace na pevných médiích probíhala v běžné atmosféře při teplotě 35–37 °C po dobu 18–24 hodin. Inkubace tekuté půdy probíhala za stejných podmínek a poté byla provedena inokulace na selektivně diagnostické půdy MC a XLD. Následná inkubace proběhla opět při teplotě 35–37 °C po dobu 18–24 hodin.

Ke confirmaci byl proveden výběr kolonií na základě typického růstu vyskytujícího se na použitých kultivačních médiích. Suspektně pozitivní kolonie byly confirmovány (dourčeny) pomocí analyzátoru MALDI-TOF MS. Poté byla provedena sérotypizace pomocí specifických antisér, nejprve polyvalentním antiserem Mixture OMA a Mixture OMB, následně jednotlivými monovalentními O a H antiséry.

3.2 Vyhodnocení dat o původci salmonelózy v Pardubickém kraji

Veškeré výsledky testů jsou zaznamenávány do laboratorního informačního systému (LIS), což je software, díky kterému dochází ke komplexnímu zpracování dat od příjmu požadavků na vyšetření až po zpracování vzorků ve všech fázích laboratorní práce. Dále pak slouží pro kontrolu a vydání výsledků žadateli a také vyúčtování provedených výkonů (Khajouei a kol., 2015).

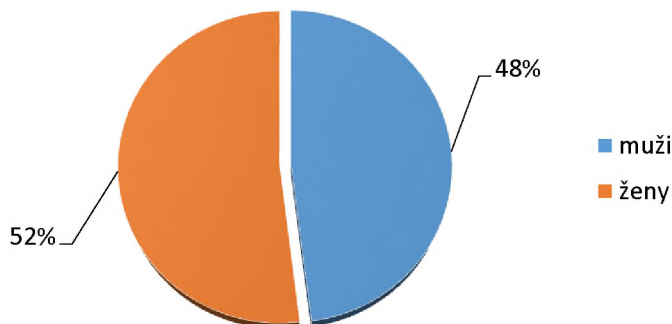
Z LIS Oddělení infekční diagnostiky Litomyšlské nemocnice mi byly poskytnuty výsledky vyšetření za roky 2016–2019, které zahrnovaly vzorky pacientů z různých oddělení Litomyšlské nemocnice a Svitavské nemocnice a vzorky pacientů od praktických lékařů ve spádové oblasti obou nemocnic. Poskytnuté výsledky jsem následně graficky zpracovala a vyhodnotila z toho závěry výskytu salmonel ve sledované oblasti.

4 VYHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ

4.1 Původce salmonelózy v Pardubickém kraji

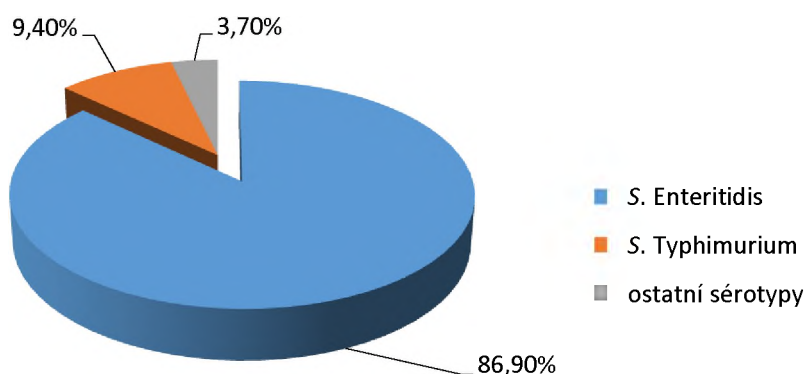
Během mých návštěv laboratoře jsem měla možnost si vyzkoušet výše uvedený postup zpracování rektálních výtěrů a díky tomu jsem pak lépe dokázala pracovat se získanými daty. Zpracovaná data byla získána z laboratorního informačního systému Oddělení infekční diagnostiky Litomyšlské nemocnice za období 1. 1. 2016–31. 12. 2019.

V tomto období bylo na Oddělení infekční diagnostiky Litomyšlské nemocnice vyšetřeno 76 106 výtěrů z rekta, z čehož bylo následně prokázáno 640 (0,8 %) pozitivních výsledků od pacientů infikovaných bakterií rodu *Salmonella*. V tomto celkovém počtu se vykytovalo 335 (52 %) prokázaných infekcí u žen a 305 (48 %) prokázaných infekcí u mužů (Graf 1).



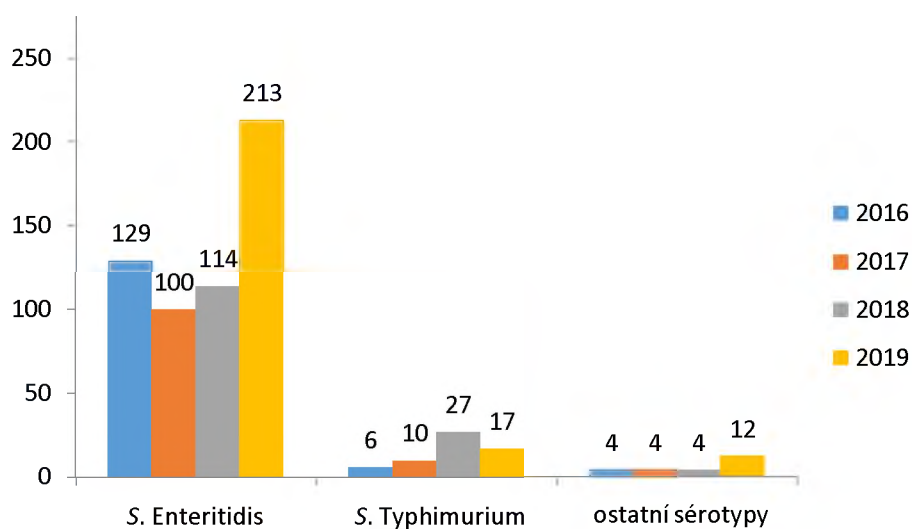
Graf 1: Procentuelní zastoupení onemocnění salmonelózou v závislosti na pohlaví.

Nejčastějším kmenem způsobujícím salmonelové infekce u lidí je sérotyp *Salmonella* Enteritidis a v České republice je zodpovědný přibližně za 90 % případů onemocnění lidí (Karpíšková a kol., 2011). Tato skutečnost se potvrdila i v mikrobiologické laboratoři Litomyšlské nemocnice, kde se mezi pozitivními vzorky nejčastěji vyskytoval právě sérotyp *Salmonella* Enteritidis. Jeho zastoupení činilo 86,9 % z celkového počtu všech prokázaných salmonel (Graf 2).



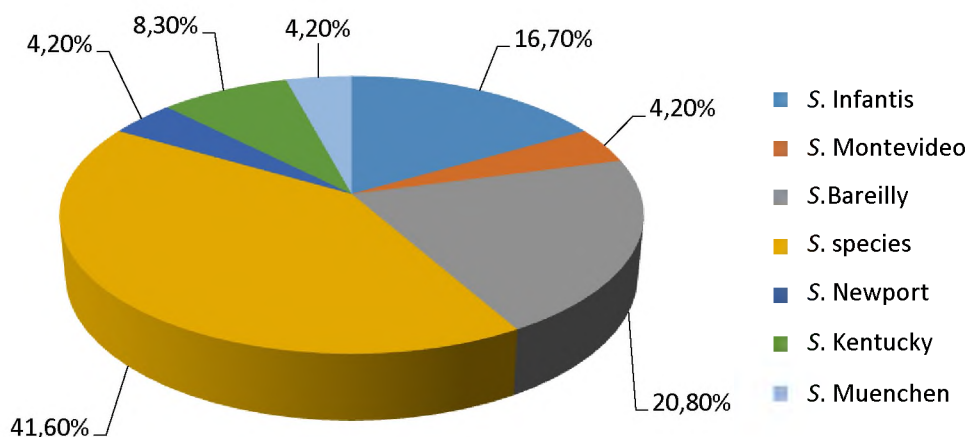
Graf 2: Procentuální zastoupení sérotypů *Salmonella* spp. ve sledovaném období 2016–2019.

Nejvyšší počet sérotypu *S. Enteritidis* byl diagnostikován v roce 2019, kdy bylo v Litomyšlské nemocnici prokázáno 213 vzorků pozitivních na tento sérotyp. Druhým nejčastějším sérotypem byl prokázán *S. Typhimurium*, který měl nejvyšší výskyt ve vyšetřených vzorcích v roce 2018. V tomto roce se vyskytoval u 27 pacientů z celkových 145 osob infikovaných salmonelózou (18,6 %). Dalšími méně častými sérotypy zachycenými v této laboratoři byly *S. Infantis*, *S. Montevideo*, *S. Bareilly*, *S. Newport*, *S. Kentucky*, *S. Muenchen* a *Salmonella* species. Tyto zástupci se objevovali pouze ojedinelé a dohromady zahrnovali pouze 3,7 % z celkového zastoupení (Graf 3).



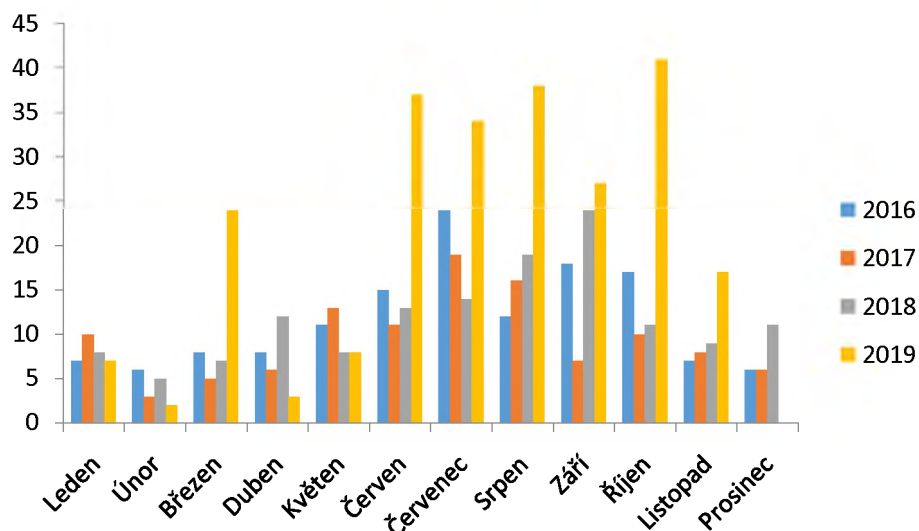
Graf 3: Početní zastoupení sérotypů salmonel ve vzorcích výtěrů z rektu zachycených na Oddělení infekční diagnostiky Litomyšlské nemocnice ve sledovaném období 2016–2019

Výskyt dalších sérotypů není již ve sledovaném období tak početný. Např. sérotypy *S. Bareilly* a *S. Kentucky* byly diagnostikovány pouze v roce 2019, *S. Newport* v roce 2017 a *S. Montevideo* v roce 2016. Izoláty označené jako *Salmonella* species byly odeslány na dourčení do NRL pro salmonely Státního zdravotního ústavu v Praze (Graf 4).



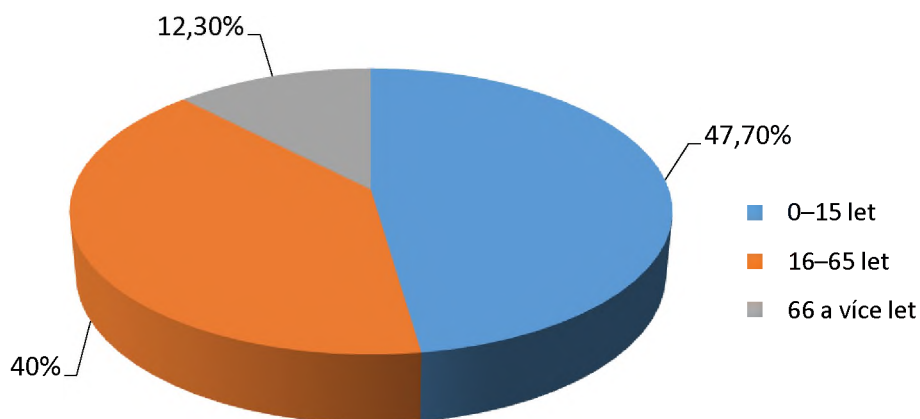
Graf 4: Průměrné procentuální zastoupení méně častých sérotypů v letech 2016–2019.

Riziko alimentárních onemocnění se významně zvyšuje při vysokých teplotách okolního vzduchu (Kunstová, 2017). Proto je důležitým pohledem také sezónnost výskytu salmonel. Nejvyšší počet vyskytujících se salmonelových infekcí bývá pravidelně zaznamenáván především v letních a podzimních měsících, naopak nejnižší výskyt salmonelóz bývá v měsících zimních. Tento trend byl potvrzen i na Oddělení infekční diagnostiky Litomyšlské nemocnice. Z výsledků je také patrné, že v roce 2019 byl celkový počet osob se salmonelózou jednoznačně nejvyšší. V tomto roce se v měsíci březen prokázalo 24 infikovaných osob, což bylo vyšší nebo se rovnalo hodnotám prokázaným spíše v letních měsících v letech 2016–2018 (Graf 5).



Graf 5: Výskyt salmonel v závislosti na ročním období v letech 2016–2019.

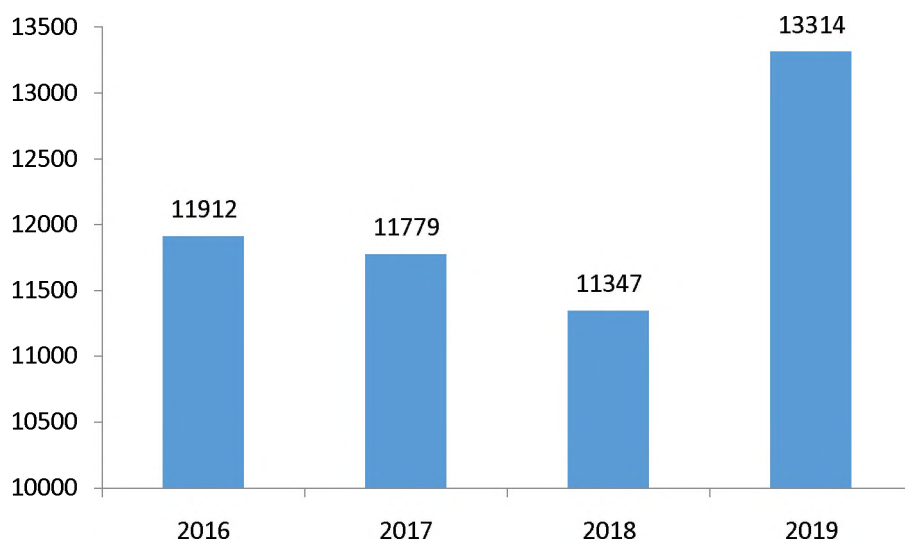
Ze získaných dat bylo vypracováno procentuální rozdělení salmonelóz podle věkových skupin. Mezi nejvíce ohroženou skupinu patřili v letech 2016–2019 děti ve věku 0–15 let. Pouze o 7,7 % méně se salmonelové infekce prokázaly u pacientů ve věku 16–65 let. Nejméně osob infikovaných bakterií rodu *Salmonella* se vyskytovalo u pacientů ve věku 66 a více let (Graf 6).



Graf 6: Procentuální rozdělení počtu infikovaných osob podle věkových skupin v letech 2016–2019.

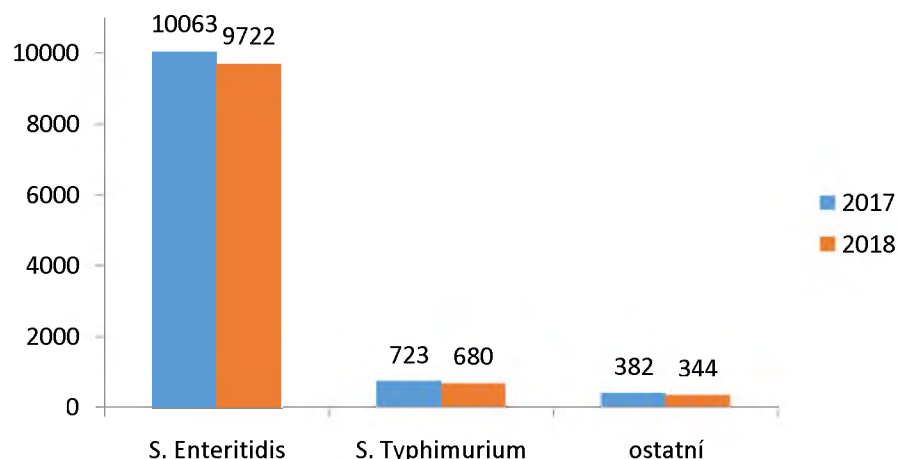
4.2 Původce salmonelózy v rámci celé České republiky (srovnání)

Z analýzy dat Informačního systému pro infekční nemoci Státního zdravotního ústavu vyplývá, že se trend výskytu salmonelové infekce v České republice měnil do roku 2017 pouze mírně (Špačková a Gašpárek, 2018). Změna přišla v roce 2019, kdy bylo zachyceno nejvyšší množství salmonelových infekcí za celé sledované období a prokázáno 13 314 pozitivních vzorků (Graf 7). Stejně tak tomu bylo i při vyhodnocení dat získaných ze vzorků pacientů z různých oddělení NPK Litomyšlské a Svitavské nemocnice a ze vzorků pacientů praktických lékařů ve spádové oblasti obou nemocnic, kde bylo v roce 2019 prokázáno 242 infikovaných osob, což bylo nejvíce za celé sledované období.



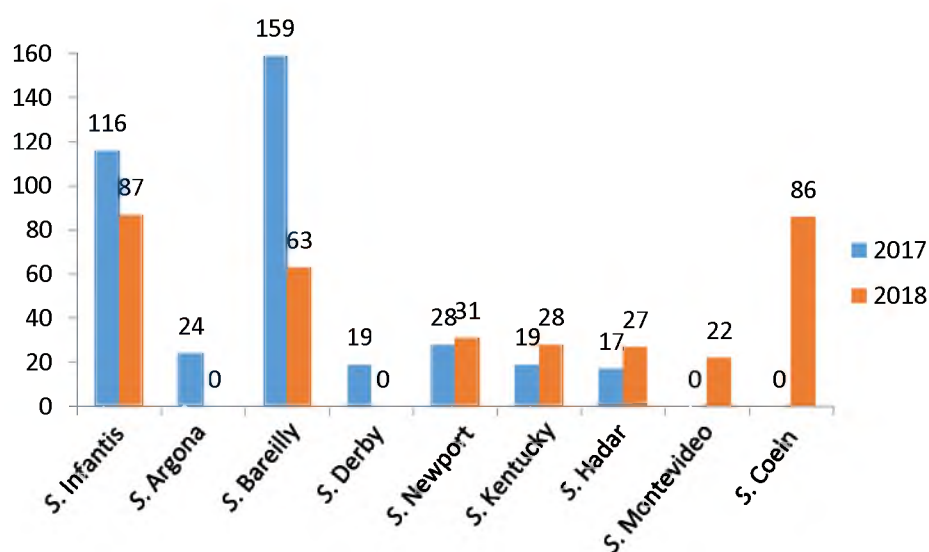
Graf 7: Počet osob infikovaných salmonelovou infekcí v České republice v letech 2016–2019 (www.szú.cz).

V České republice platí již spoustu let vysoká kultivační průkaznost salmonelóz a vysoký záchyt *Salmonella* Enteritidis (Dědičová a kol., 2007). Porovnána byla data, ve kterých jsou zahrnuty informace o nejvíce se vyskytujících zástupcích bakterií rodu *Salmonella* způsobujících salmonelové infekce u lidí v České republice v letech 2017–2018. Výsledky získané na Oddělení infekční diagnostiky Litomyšlské nemocnice jsou ve shodě s celorepublikovými daty a i zde byl prokázán jako nejčastější sérotyp *Salmonella* Enteritidis (90,3 %). Stejně tak se výsledky shodovaly i u druhého nejčastějšího zástupce, kterým byl opět patogen *Salmonella* Typhimurium (6,4 %) (Graf 8).



Graf 8: Početní zastoupení nejčastějších sérotypů v České republice v letech 2017–2018 (Daniel, 2019).

Výsledky šetření týkající se méně častých sérotypů prokázaných v České republice, se v porovnání z výše získanými daty mírně liší. V České republice se v roce 2017–2018 mezi méně běžnými zástupci vyskytovaly např. sérotypy *S. Agona*, *S. Derby*, *S. Hadar* a *S. Coeln*. Žádný z těchto sérotypů nebyl prokázán ve vzorcích pacientů z různých oddělení Litomyšlské nemocnice a Svitavské nemocnice ani ve vzorcích pacientů praktických lékařů ve spádové oblasti obou nemocnic (Graf 9). Od roku 2016 byl v některých státech Evropské Unie hlášen výskyt zcela nového sérotypu *Salmonella* Vari v souvislosti s konzumací sezamu (Špačková a Daniel, 2016). Tento sérotyp ale nebyl ve sledované lokalitě v daném období prokázán.



Graf 9: Početní zastoupení méně častých sérotypů v České republice v letech 2017–2018 (Daniel, 2019).

5 ZÁVĚR

Na Oddělení infekční diagnostiky Litomyšlské nemocnice je každoročně zpracováno průměrně patnáct tisíc rektálních výtěrů s cílem identifikovat akutní onemocnění gastrointestinálního traktu. Jako dominující zástupce bakterií rodu *Salmonella* je v České republice označován sérotyp *S. Enteritidis*. Vysoké zastoupení zmíněného sérotypu bylo prokázáno i ve sledované lokalitě, kde se vyskytoval v 86,9 % ze všech identifikovaných zástupců.

Nejčastěji ohroženými skupinami jsou celorepublikově uváděny malé děti a senioři. Pomocí dat získaných z laboratorního informačního systému Litomyšlské nemocnice bylo zjištěno, že bakterie rodu *Salmonella* byly nejčastěji prokázány u dětí ve věku 0–15 let.

Nejvyšší počet salmonelových infekcí bývá pravidelně zaznamenáván především v letních a podzimních měsících, naopak nejnižší výskyt bývá v měsících zimních. Tento trend byl potvrzen i v rámci sledovaného regionu.

Salmonelóza nepatří mezi onemocnění, jehož výskyt by se měnil v závislosti na pohlaví, i když ve vzorcích stanovených na litomyšlském pracovišti mělo mírnou převahu onemocnění vyvolané u žen (52 %), oproti mužům (48 %).

V roce 2019 byla v České republice hlášena větší diverzita v detekovaných sérotypech než v předchozích letech sledovaného období. V letech 2016–2018 bylo v České republice prokázáno průměrně 11 679 nakažených za rok, v roce 2019 tento počet stoupl až na 13 314 pozitivních vzorků. Obdobný trend byl také potvrzen ve sledované lokalitě, kde se v letech 2016–2018 vyskytovalo průměrně 133 infikovaných osob ročně. V roce 2019 vystoupal počet osob, u kterých byla prokázána salmonelová infekce, až na číslo 242. Zároveň se v tomto roce, jako jediném z celého sledovaného období, vyskytovaly ve spádových oblastech Litomyšlské a Svitavské nemocnice vzácně detekované sérotypy *S. Kentucky* a *S. Muenchen*.

6 POUŽITÁ LITERATURA

ABRAR, A., T. BEYENE a W. FURGASA. Isolation, Identification and Antimicrobial Resistance Profiles of *Salmonella* from Dairy Farms in Adama and Modjo Towns, Central Ethiopia. *European Journal of Medical and Health Sciences*. 2020, **2**(1), 1-11.

AGARWAL, R. K., B. CHATTERJEE a G. MITTAL. Modified Widal test using 2-mercaptoethanol for detecting anti-salmonella IgM in febrile patients. *Indian Journal of Microbiology Research*. 2018, **5**(3), 355-357.

AHRBERG, Ch. D., A. MANZ a B. G. CHUNG. Polymerase chain reaction in microfluidic devices. *Lab on a Chip*. 2016, **16**(20), 3866-3884.

ANDINO, A. a I. HANNING. Salmonella enterica: Survival, Colonization, and Virulence Differences among Serovars. *The Scientific World Journal*. 2015, **2015**, 1-16.

ARYAL, S. MacConkey Agar- Composition, Principle, Uses, Preparation and Colony Morphology. *Microbiology Info.com* [online]. 2018b [cit. 2020-04-15]. Dostupné z: <https://microbiologvinfo.com/macconkey-agar-composition-principle-uses-preparation-and-colony-morphology/>

ARYAL, S. Triple Sugar Iron (TSI) Agar. *Online Microbiology Notes* [online]. 2019d [cit. 2020-04-16]. Dostupné z: <https://microbenotes.com/triple-sugar-iron-tsi-agar/>

ARYAL, S. Widal Test- Introduction, Principle, Procedure, Interpretation and Limitation. *Microbiology Info.com* [online]. 2018a [cit. 2020-04-16]. Dostupné z: <https://microbiologvinfo.com/widal-test-introduction-principle-procedure-interpretation-and-limitation/>

ARYAL, S. Xylose Lysine Deoxycholate (XLD) Agar- Principle, Uses, Composition, Preparation and Colony Characteristics. *Microbiology Info.com* [online]. 2018c [cit. 2020-04-15]. Dostupné z: <https://microbiologvinfo.com/xylose-lysine-deoxycholate-xld-agar-principle-uses-composition-preparation-and-colony-characteristics/>

BADIEYAN, S., A. DILMAGHANI-MARAND, M. J. HAJIPOUR, A. AMERI, M. R. RAZZAGHI, H. RAFII-TABAR, M. MAHMOUDI a P. SASANPOUR. Detection and Discrimination of Bacterial Colonies with Mueller Matrix Imaging. *Scientific Reports*. 2018, **8**(1), Article ID: 10815.

- BARAN, I., N. AKSU a A. AKSOY. Breast abscess due to *Salmonella* Typhimurium in a patient with rheumatoid arthritis: a case report. *BMC Infectious Diseases*. 2016, **16**(1), Article ID: 348.
- BASU, S., Ch. BOSE, N. OJHA, N. DAS, J. DAS, M. PAL a S. KHURANA. Evolution of bacterial and fungal growth media. *Bioinformation*. 2015, **11**(4), 182-184.
- BELL, R. L., K. G. JARVIS, A. R. OTTESEN, M. A. MCFARLAND a E. W. BROWN. Recent and emerging innovations in *Salmonella* detection: a food and environmental perspective. *Microbial Biotechnology*. 2016, **9**(3), 279-292.
- BENEŠ, J. *Infekční lékařství*. Praha5: Galén, 2009. ISBN 978-80-7262-644-1.
- BOYLES, T. H. a S. WASSERMAN. Diagnosis of bacterial infection. *South African Medical Journal*. 2015, **105**(5), Article ID: 419.
- BURDYCHOVÁ, R. *Mikrobiologická analýza potravin*. Brno, 2007. ISBN 978-80-7375-116-4.
- BUSH, L. M. a M. T. VAZQUEZ-PERTEJO. Nontyphoidal *Salmonella* Infection. *MSD Manual* [online]. Kenilworth, 2020 [cit. 2020-06-02]. Dostupné z: <https://www.msmanuals.com/professional/infectious-diseases/gram-negative-bacilli/nontyphoidal-salmonella-infections#>
- BUTTACCIO, J. L. How *Salmonella* Is Treated. *Verywellhealth* [online]. 2019 [cit. 2020-06-11]. Dostupné z: <https://www.verywellhealth.com/salmonella-treatment-4164292>
- CALLEGARI, M. A., D. B. DALTO a C. A. da SILVA. A Review of Prevention and Control Methods of *Salmonella* species in Swine Production and the Role of Dietary Non-Nutritional Additives. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*. 2015, **10**(12), 803-829.
- CORRY, E.L., G.D.W. CURTIS a R. M. BAIRD. Xylose lysine deoxycholate (XLD) agar. *Handbook of Culture Media for Food Microbiology*. 2003, **2003**, 632-634.
- ČSN EN ISO 6579-1. *Mikrobiologie potravinového řetězce - Horizontální metoda průkazu, stanovení počtu a sérotypizace bakterií rodu Salmonella - Část 1: Průkaz bakterií rodu Salmonella*. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2017.

DAND, R. Quality assessment of cocoa beans for international trade. In: *The International Cocoa Trade*. Philadelphia, 2011. ISBN 978-0-85709-125-3

DANIEL, Ondřej. Přehled nejčastějších sérotypů salmonel hlášených v ČR v letech 2017 a 2018 a doporučení pro laboratoře. *SZÚ* [online]. Praha: NRL pro salmonely CEM – SZÚ, 2019 [cit. 2020-06-22]. Dostupné z: http://www.szu.cz/uploads/documents/CeM/NRLs/salmonely/publikace/Prehled_neicastejsich_serotypu_salmonel_hlasenykh_v_CR_v letech 2017 a 2018 a doporučení pro laboratoře.pdf

DĚDIČOVÁ, D., H. PIHÁVKOVÁ a J. MAŠKOVÁ. Salmonely identifikované v NRL pro salmonely v letech 2005 až 2006. *Centrum epidemiologie a mikrobiologie*. 2007, **16**(10-11), 490-493.

DEKKER, J. P. a K. M. FRANK. *Salmonella, Shigella, and Yersinia. Clinics in Laboratory Medicine*. 2015, **35**(2), 225-246.

DEMIRBILEK, S. K. Salmonellosis in Animals. In: *Salmonella - A Re-emerging Pathogen*. InTech, 2018. ISBN 978-1-78923-444-2.

DUBANSKÝ, V. a J. DRÁBEK. Klinické příznaky a neobvyklé průběhy salmonelových infekcí u lidí – review. Brno, 2008, **58**, 404-412.

DUBEN, J. Ne salmonelám! *Státní veterinární správa* [online]. 2008 [cit. 2020-04-15]. Dostupné z: https://www.svs-cr.cz/ne_salmonelam-2/

EFSA a ECDC. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2016. *EFSA Journal*. 2017, **15**(12), 5077.

ERKMEN, O. a T. F. BOZOĞLU. *Food microbiology: principles into practice*. Chichester: Wiley, 2016. ISBN 978-111-9237-761

FERNANDES, D. V. G. S., V. S. CASTRO, A. da CUNHA NETO a E. E. de S. FIGUEIREDO. *Salmonella* spp. in the fish production chain: a review. *Ciência Rural*. 2018, **48**(8), Article ID: e20180141.

FONTANA, C., A. WEINTRAUB a G. WIDMALM. Structural Elucidation of the O-Antigen Polysaccharide from *Escherichia coli* O181. *ChemistryOpen*. 2015, **4**(1), 47-55.

GEFEN, O., B. CHEKOL, J. STRAHILEVITZ a N. Q. BALABAN. TDtest: easy detection of bacterial tolerance and persistence in clinical isolates by a modified disk-diffusion assay. *Scientific Reports*. 2017, **7**(1), Article ID: 41284.

GHODDUSI, A., B. NAYERI FASAEI, T. ZAHRAEI SALEHI a H. AKBAREIN. Prevalence and characterization of multidrug resistance and variant *Salmonella* genomic island 1 in *Salmonella* isolates from cattle, poultry and humans in Iran. *Zoonoses and Public Health*. 2019, **66**(6), 587-596.

GOSLING, RJ. A review of cleaning and disinfection studies in farming environments. *Livestock*. 2018, **23**(5), 232-237.

GOSSNER, C. M., S. LE HELLO, B. DE JONG, P. ROLFHAMRE, D. FAENSEN, F.-Xa. WEILL aj. GIESECKE. Around the World in 1,475 *Salmonella* Geo-serotypes. *Emerging Infectious Diseases*. 2016, **22**(7), 1298-1302.

HARDING, M. Food Poisoning. *Patient* [online]. 2016 [cit. 2020-06-11]. Dostupné z: <https://patient.info/digestive-health/diarrhoea/food-poisoning>

HARVEY, R. *A. Microbiology*. Lippincott Williams & Wilkins, 2007. ISBN 9780781782159.

HU, X., Z. CHEN, K. XIONG, J. WANG, X. RAO a Y. CONG. Vi capsular polysaccharide: Synthesis, virulence, and application. *Critical Reviews in Microbiology*. 2017, **43**(4), 440-452.

HUMPHRIES, R. M. a A. J. LINSOTT. *Clinical Microbiology Reviews*. 2015, **28**(1), 3-31.

CHLEBICZ, A. Campylobacteriosis, salmonellosis, yersiniosis, and listeriosis as zoonotic foodborne diseases: a review. *International journal of enviromental research and public health*. 2015, **15**(5), 863.

CHRISTENSON, J. C., E. K. KORGENSKI a R. F. RELICH. Laboratory Diagnosis of Infection Due to Bacteria, Fungi, Parasites, and Rickettsiae. In: *Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases*. Elsevier, 2018. ISBN 978-0-323-40181-4.

IBRAHIM, G. M. a P. M. MORIN. *Salmonella* Serotyping Using Whole Genome Sequencing. *Frontiers in Microbiology*. 2018, **9**, 2993.

- IQBAL, A. The Preparation of Culture Media and Biochemical analysis. *ResearchGate* [online]. 2019 [cit. 2020-06-15]. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/335822528_The_Preparation_of_Culture_Media_and_Biochemical_analysis
- ISSENHUTH-JEANJEAN, S., P. ROGGENTIN, M. MIKOLEIT, M. GUIBOURDENCHE, E. DE PINNA, S. NAIR, P. I. FIELDS a F.-X. WEILL. Supplement 2008–2010 (no. 48) to the White–Kauffmann–Le Minor scheme. *Research in Microbiology*. 2014, **165**(7), 526-530.
- JÁGROVÁ, Z. Salmonelóza a možnosti její prevence. *Hygienická stanice hlavního města Prahy* [online]. 2016 [cit. 2020-04-15]. Dostupné z: http://www.hygpraha.cz/dokumenty/salmoneloza-a-moznosti-její-prevence--2665_2665_449_1.html
- JALALI, M., J. ZABOROWSKA. The Polymerase Chain Reaction. *Basic Science Methods for Clinical Researchers*. 2017, **2017**, 1-18.
- JANKOVIC, L., V. DRASKOVIC, S. PINTARIC, M. MIRILOVIC, S. DJURIC, N. TAJDIC a R. TEODOROVIC. Rodent pest control. *Veterinarski glasnik*. 2019, **73**(2), 85-99.
- JARVIS, N. A., C. A. O'BRYAN, T. M. DAWOUD, S. H. PARK, Y. M. KWON, P. G. CRANDALL a S. C. RICKE. An overview of *Salmonella* thermal destruction during food processing and preparation. *Food Control*. 2016, **68**, 280-290.
- JEŽKOVÁ, T. Salmonelóza. *Zverolekarka.com* [online]. 2017 [cit. 2020-04-16]. Dostupné z: <https://zverolekarka.com/salmoneloza/>
- JONES, F.T. A review of practical *Salmonella* control measures in animal feed. *Journal of Applied Poultry Research*. 2011, **20**(1), 102-113.
- JULÁK, J. *Lékařská mikrobiologie pro zubní lékařství*. Praha: Karolinum, 2010. ISBN 978-80-246-1792-3.
- JUNG, D., E.-Y. SEO, S. S. EPSTEIN, et al. Application of a new cultivation technology, I-tip, for studying microbial diversity in freshwater sponges of Lake Baikal, Russia. *FEMS Microbiology Ecology*. 2014, **90**(2), 417-423.

- KARPÍŠKOVÁ, R., P. POSPÍŠILOVÁ a I. KOLÁČKOVÁ. A comparison of *Salmonella* occurrence in pork meat and meat products. *Maso International*. 2011, **1**, 3-6.
- KEHL, A., J. NOSTER, M. HENSEL a M. SWANENBURG. Eat in or Take out? Metabolism of Intracellular *Salmonella enterica*. *Trends in Microbiology*. 2020, **36**(3), 498-515.
- KHAJOUEI, R., S. SAGHAEIANNEJAD, M. JAHANBAKHSH a M. MIRMOHAMMADI. Assessment of the Performance of the Laboratory Information System (LIS) Based on the Standards of the American National Standards Institute (ANSI). *Journal of Health and Biomedical Informatics*. 2015, **2**(1), 8-16.
- KISLUK, G. a S. YARON. Presence and Persistence of *Salmonella enterica* Serotype Typhimurium in the Phyllosphere and Rhizosphere of Spray-Irrigated Parsley. *Applied and Environmental Microbiology*. 2012, **78**(11), 4030-4036.
- KNOTT, L. *Salmonella. Patient* [online]. Wales, 2019 [cit. 2020-06-11]. Dostupné z: <https://patient.info/digestive-health/diarrhoea/salmonella>
- KOVAČIĆ, A., Ž. HULJEV a E. SUŠIĆ. Ground water as the source of an outbreak of *Salmonella* Enteritidis. *Journal of Epidemiology and Global Health*. 2017, **7**(3), 181-184.
- KUNSTOVÁ, H. Konzumace vajec z hlediska rizika vzniku alimentárních onemocnění. *Hygienická stanice hlavního města Prahy* [online]. 2017 [cit. 2020-07-02]. Dostupné z: http://hygpraha.cz/dokumenty/konzumace-vajec-z-hlediska-rizika-vzniku-alimentarnich-onemocneni-3206_3206_161_1.html
- KURTZ, J. R., J. A. GOGGINS aj. B. MCLACHLAN. *Salmonella* infection: Interplay between the bacteria and host immune system. *Immunology Letters*. 2017, **190**, 42-50.
- LAW, J. W.-F., N.-S. AB MUTALIB, K.-G. CHAN a L.-H. LEE. Rapid methods for the detection of foodborne bacterial pathogens: principles, applications, advantages and limitations. *Frontiers in Microbiology*. 2015, **5**, 770.
- LEE, K.-M., M. RUNYON, T. J. HERRMAN, R. PHILLIPS a J. HSIEH. Review of *Salmonella* detection and identification methods: Aspects of rapid emergency response and food safety. *Food Control*. 2015, **47**, 264-276.

- LEUNG, S. a A. MISA. Sample Preparation Selection. *Food Quality & Safety* [online]. Wiley, 2013 [cit. 2020-06-15]. Dostupné z: <https://www.foodqualityandsafety.com/article/sample-preparation-selection/>
- LI, Q., X. CHEN, Y. JIANG a Ch. JIANG. Cultural, Physiological, and Biochemical Identification of Actinobacteria. In: *Actinobacteria - Basics and Biotechnological Applications*. InTech, 2016, ISBN 978-953-51-2248-7.
- LI, Y., M. SHAN, Z. ZHU, et al. Application of MALDI-TOF MS to rapid identification of anaerobic bacteria. *BMC Infectious Diseases*. 2019, **19**(1), Article ID: 941.
- LIN, M.-F., Y.-Y. LIN a Ch.-Y. LAN. Minimal Inhibitory Concentration (MIC) Assay for *Acinetobacter baumannii*. *BIO-PROTOCOL*. 2014, **4**(23), Article ID: e1308.
- LITZMAN, J. *Základy vyšetření v klinické imunologii*. Brno, 2007. ISBN 978-80-210-4227-8.
- LIU, H., Ch. A. WHITEHOUSE a B. LI. Presence and Persistence of *Salmonella* in Water: The Impact on Microbial Quality of Water and Food Safety. *Frontiers in Public Health*. 2018, **6**, 159.
- LORIA, K. More than 206 million eggs have been recalled because of a *Salmonella* outbreak — here's what the illness is and how to avoid it. *Business insider* [online]. 2018 [cit. 2020-06-11]. Dostupné z: <https://www.businessinsider.com/salmonella-2018-how-people-get-food-poisoning-2018-4>
- LUKÁŠ, K. a J. HOCH. *Nemoci střev*. Praha: Grada Publishing, 2018. ISBN 978-80-271-0363-9.
- MAHON, C. R., D. C. LEHMAN a G. MANUSELIS. Triple Sugar Iron. In: *Textbook of Diagnostic Microbiology*. W.B. Saunders Company, 2011. ISBN 978-1-4160-6165-6.
- MEYYUR ARAVAMUDAN, V., P. KEE FONG, P. SINGH, J. SZE CHIN, Y. S. SAM a P. A. TAMBYAH. Extraintestinal Salmonellosis in the Immunocompromised: An Unusual Case of Pyomyositis. *Case Reports in Medicine*. 2017, **2017**, 1-5.
- MICHAELS, J. Characteristics of *Salmonella* Bacteria. *Sciencing* [online]. 2017 [cit. 2020-06-13]. Dostupné z: <https://sciencing.com/characteristics-salmonella-bacteria-5527822.html>

- MONDELLO, L., P. DUGO a R. COSTA. Advances in Sample Preparation for Food Analysis. *LCGC*. 2012, **2012**, 8–14.
- MUNIZ, E., D. MESA a R. SOUZA. Presence of *Salmonella* spp. in reused broiler litter. *SciELO Colombia*. 2014, **27**(1), 12-27.
- MYŠKOVÁ, P. a R. KARPÍŠKOVÁ. Salmonela v produktech rostlinného původu – nové nebezpečí? *Informační centrum bezpečnosti potravin* [online]. Brno, 2013 [cit. 2020-04-15]. Dostupné z: <https://www.bezpecnostpotravin.cz/salmonela-v-produktech-rostlinneho-puvodu-nove-nebezpeci.aspx>
- NIMMERTONDLOVÁ, Z. Salmonelóza: příčiny, příznaky, diagnostika a léčba. *Medlicker* [online]. 2013 [cit. 2020-04-15]. Dostupné z: <https://cs.medlicker.com/183-salmoneloz-a-priciny-priznaky-diagnostika-a-lecba>
- PELLEGRINI, D. da C. P., D. S. PAIM, G. J. M. M. de LIMA, C. PISSETTI, J. D. KICH a M. R. de I. CARDOSO. Distribution of *Salmonella* clonal groups in four Brazilian feed mills. *Food Control*. 2015, **47**, 672-678.
- PERCIVAL, S. L. a D. W. WILLIAMS. *Salmonella. Microbiology of Waterborne Diseases*. Elsevier, 2014, **2014**, 209-222.
- POLÁK, P., J. JURÁNKOVÁ a P. HUSA. Kamylobakteriόza. *Klinická mikrobiologie a infekční lékařství*. 2014, **20**(2), 50-54.
- POLANECKÝ, V. a D. GÖPFERTO VÁ. Manuál praktické epidemiologie - díl 1. *Institut postgraduálního vzdělávání ve zdravotnictví* [online]. Praha, 2015 [cit. 2020-06-30]. Dostupné z: <https://www.ipvz.cz/seznam-souboru/2360-manual-prakticke-epidemiologie-dil-1.pdf>
- PRŮŠA, R. *Průvodce laboratorními nálezy*. Praha: Raabe, 2012. ISBN 978-80-87553-68-8.
- RALSTON, S. H. *Davidson's Principles and Practice of medicine*. Elsevier, 2018. ISBN 978-0-7020-7027-3.
- RAUFU, I. A., F.A. LAWAN, H. S. BELLO, A. S. MUSA, J. A. AMEH a A. G. AMBALI. Occurrence and antimicrobial susceptibility profiles of *Salmonella* serovars from fish in Maiduguri, sub-Saharan, Nigeria. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*. 2014, **40**(1), 59-63.

RIJAL, N. Xylose lysine deoxycholate (XLD) agar: Composition Preparation, Results and Uses. *Microbe Online* [online]. 2015 [cit. 2020-04-16]. Dostupné z: <https://microbeonline.com/xylose-lysine-deoxycholate-xld-agar-composition-preparation-results-uses/>

ROZSYPAL, H., M. HOLUB a M. KOSÁKOVÁ. *Infekční nemoci ve standardní a intenzivní péči*. Praha: Karolinum, 2013. ISBN 978-802-4621-975.

SÁNCHEZ-MIGUEL, C., J. CRILLY, J. GRANT a J. F. MEE. Sensitivity, specificity and predictive probability values of serum agglutination test titres for the diagnosis of *Salmonella* Dublin culture-positive bovine abortion and stillbirth. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2018, **65**(3), 676-686.

SENTHILKUMAR, B., D. SENBAGAM a M. RAJASEKARAPANDIAN. An epidemiological surveillance of asymptomatic typhoid carriers associated in respect to socioeconomic status in India. *Journal of Public Health*. 2014, **22**(3), 297-301.

SINGHAL, N., M. KUMAR, P. K. KANAUIA a J. S. VIRDI. MALDI-TOF mass spectrometry: an emerging technology for microbial identification and diagnosis. *Frontiers in Microbiology*. 2015, **6**, 791.

SOUČEK, M. *Vnitřní lékařství 2. díl*. Brno: Grada, 2011. ISBN 978-80-210-5418-9.

STAŇKOVÁ, M., V. MAREŠOVÁ a J. VANIŠTA. Bacilonosičství. *Medicabaze.cz* [online]. Praha, 2008 [cit. 2020-04-15]. Dostupné z: http://www.medicabaze.cz/index.php?&sec=term_detail&termId=1537&tname=Bacilonosi%C4%8Dstv%C3%AD

SVAČINA, Š. *Klinická dietologie*. Praha: Grada, 2008. ISBN 978-802-4722-566.

SWART, A. N., E. G. EVERS, R. L. L. SIMONS a M. SWANENBURG. Modeling of *Salmonella* Contamination in the Pig Slaughterhouse. *Risk Analysis*. 2016, **36**(3), 498-515.

ŠATRÁN, P. a J. DUBEN. *Nákazy zvířat přenosné na člověka a bezpečnost potravin*. Praha, 2018. ISBN 978-80-7434-466-4.

ŠIŠKOVÁ, P., L. ČERNOHORSKÁ, M. MAHELOVÁ, K. TURKOVÁ a V. WOZNICOVÁ. Phenotypes of *Escherichia coli* isolated from urine: Differences between extended-spectrum β -lactamase producers and sensitive strains. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*. 2015, **48**(3), 329-334.

ŠPAČKOVÁ, M. a M. GAŠPÁREK. Výskyt nejběžnějších infekčních onemocnění přenášených potravinami a vodou v České republice (2007-2017). *Státní zdravotní ústav* [online]. 2018 [cit. 2020-07-03]. Dostupné z: [Alimentarni_infekce_v_CR_2007_2017.pdf](#)

ŠPAČKOVÁ, M. a O. DANIEL. Krátká zpráva o výskytu zcela nového sérotypu *Salmonella* Vari v souvislosti s konzumací sezamu v některých státech Evropské Unie. *Státní zdravotní ústav* [online]. 2016 [cit. 2020-07-03]. Dostupné z: <http://www.szu.cz/tema/prevence/kratka-zprava-o-vyskytu-zcela-noveho-serotypu-salmonella?highlightWords=Salmonella>

ŠPAČKOVÁ, M. Stručný komentář k výskytu onemocnění salmonelami a kampylobaktery v ČR. *szu.cz* [online]. 2018 [cit. 2020-04-15]. Dostupné z: <http://szu.cz/tema/prevence/strucny-komentar-k-vyskytu-onemocneni-salmonelami-a>

TÁBORSKÁ, J. Virové gastroenteritidy, léčba. *Interní medicína pro praxi*. 2013, **15**(1), 11-14.

TANG, L., W.-Q. LIU, X. FANG, et al. CTAG-Containing Cleavage Site Profiling to Delineate *Salmonella* into Natural Clusters. *PLoS ONE*. 2014, **9**(8), Article ID: e103388.

TANKESHWAR, A. MacConkey Agar (MAC): Composition, preparation, uses and colony characteristics. *Microbe Online* [online]. 2013b [cit. 2020-04-15]. Dostupné z: <https://microbeonline.com/macconkey-agar-mac-composition-preparation-uses-and-colony-characteristics/>

TANKESHWAR, A. Triple Sugar Iron Agar (TSI): Principle, Procedure and Interpretation. *Microbe Online* [online]. 2013c [cit. 2020-04-16]. Dostupné z: <https://microbeonline.com/triple-sugar-iron-agar-tsi-principle-procedure-and-interpretation/>

TANKESHWAR, A. Widal test: Principle, Procedure, Results, Interpretation, Significance and Limitation. *Microbe Online* [online]. 2015a [cit. 2020-04-16]. Dostupné z: <https://microbeonline.com/widal-test-principle-procedure-results/>

TATAROVÁ, A. a K. JEDLIČKOVÁ. Salmonelózy. *Krajská hygienická stanice* [online]. Praha, 2018 [cit. 2020-05-31]. Dostupné z: http://www.khsstc.cz/dokumenty/salmonelozy-5251_5251_143_1.html

- TRAMPEL, D. W., T. G. HOLDER a Richard K. GAST. Integrated farm management to prevent *Salmonella* Enteritidis contamination of eggs. *Journal of Applied Poultry Research*. 2014, **23**(2), 353-365.
- URBÁŠKOVÁ, P. Nové definice C, I a R při testování citlivosti na antibiotika. *Státní zdravotní ústav* [online]. 2019 [cit. 2020-05-17]. Dostupné z: <http://www.szu.cz/nove-definice-c-i-a-r>
- VILA, J., M. D. GÓMEZ, M. SALAVERT a J. BOSCH. Methods of rapid diagnosis in clinical microbiology: Clinical needs. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica (English ed.)*. 2017, **35**(1), 41-46.
- VOTAVA, M. *Klinická mikrobiologie*. Brno, 2014. ISBN 978-80-210-7503-0.
- VOTAVA, M. *Lékařská mikrobiologie vyšetřovací metody*. Brno, 2010. ISBN 978-80-86850-04-8.
- WELCH, K., A. SHIPP-HILTS, M. EIDSON, S. SAHA a S. ZANSKY. *Salmonella* and the changing environment. *Journal of Water and Health*. 2019, **17**(2), 179-195.
- WIEDEMANN, A., I. VIRLOGEUX-PAYANT, A.-M. CHAUSSÃ, A. SCHIKORA a P. VELGE. Interactions of *Salmonella* with animals and plants. *Frontiers in Microbiology*. 2015, **5**, 791.
- WIESER, A. MALDI-TOF MS in microbiological diagnostics—identification of microorganisms and beyond (mini review). *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2012, **93**(3), 965-974.
- YANG, B., Q. NIU, Y. YANG, et al. Self-made *Salmonella* Pullorum agglutination antigen development and its potential practical application. *Poultry Science*. 2019, **98**(12), 6326-6332.
- ZADERNOWSKA, A. Detection of *Salmonella* spp. Presence in Food. In: *Salmonella-A Dangerous Foodborne Pathogen*. InTech, 2012. ISBN: 978-953-307-782-6.
- ZAMORA-SANABRIA, R. a A. M. ALVARADO. Preharvest *Salmonella* Risk Contamination and the Control Strategies. In: *Current Topics in Salmonella and Salmonellosis*. InTech, 2017. ISBN: 978-953-51-4883-8.

ZHA, L., S. GARRETT a J. SUN. *Salmonella* Infection in Chronic Inflammation and Gastrointestinal Cancer. *Diseases*. 2019, 7(1), 28.

ZHOU, X. a Y. LI. Techniques for Oral Microbiology. In: *Atlas of Oral Microbiology*. Elsevier, 2015. ISBN: 978-0-12-802234-4

ZOLLNER-SCHWETZ, I. a R. KRAUSE. Therapy of acute gastroenteritis: role of antibiotics. *Clinical Microbiology and Infection*. 2015, 21(8), 744-749.

www.agris.cz. Salmonely v zelenině je velmi obtížné se zbavit [online]. 2008 [cit. 2020-04-15]. Dostupné z: <http://www.agris.cz/clanek/157148>

www.brainkart.cz. Epidemiology - *Salmonella* [online]. [cit. 2020-04-16]. Dostupné z: https://www.brainkart.com/article/Epidemiology---Salmonella_18133/

www.erbalachema.com_a. Pracovní návody – Mikrobiologie [online]. Brno [cit. 2020-05-30]. Dostupné z: https://www.erbalachema.com/attachments/ENTEROtest16_CZ.pdf

www.erbalachema.com_c. MIKROLATEST® and SENSILATEST [online]. Brno, 2015 [cit. 2020-07-01]. Dostupné z: <https://www.erbalachema.com/en/products-and-solutions/microbiology/mikrolatest-and-sensilatest/>

www.erbalachema.cz_b. ENTERO-Rapid 24. [online] Brno [cit. 2020-06-18]. Dostupné z: https://www.erbalachema.com/attachments/ENTERO-Rapid%2024_CZ.pdf

www.himedialabs.cz. Rappaport Vassiliadis Medium [online]. 2019 [cit. 2020-04-16]. Dostupné z: <http://www.himedialabs.com/TD/M1137I.pdf>

www.khsstc.cz. Vývoj výskytu onemocnění salmonelami a kampylobaktery [online]. 2018 [cit. 2020-05-23]. Dostupné z: http://www.khsstc.cz/dokumenty/vyvoj-vyskytu-onemocneni-salmonelami-a-kampylobaktery-5117_5117_161_1.html

www.merieuxnutrisciences.com. Salmonella can contaminate water and foods in contact with water [online]. 2018 [cit. 2020-06-14]. Dostupné z: <https://www.merieuxnutrisciences.com/corporate/en/news/salmonella-can-contaminate-water-and-foods-contact-water>

www.ridacom.cz. ENTERO test 24 N - non-reagent kit for definitive identification of strains of family Enterobacteriaceae [online]. [cit. 2020-05-30]. Dostupné z: <https://ridacom.com/en/products/view/6049>

www.svscr.cz_a. Národní program tlumení salmonel v chovech nosnic pro konzumní vejce [online]. 2020 [cit. 2020-04-16]. Dostupné z: https://www.svscr.cz/wpcontent/files/zvirata/NP_2017_tlumeni_salmonel_v_chovech_nosnic_pro_konzumni_vejce.pdf

www.svscr.cz_b. Salmonelóza [online]. [cit. 2020-04-16]. Dostupné z: <https://www.svscr.cz/zivocisne-produkty/onemocneni-z-potravin/salmoneloza/>

www.svscr.cz_c. Pokyny společenství pro dobrou hygienickou praxi v chovu kuřat a hejnech nosnic [online]. [cit. 2020-04-16]. Dostupné z: https://www.svscr.cz/wp-content/files/pohoda-zvirat/Pokyny_pro_spravnou_hygienickou_praxi_v_chovech_kurat_a_nosnic.pdf

www.svujihlava.cz. Druhá identifikace mikroorganismů hmotnostní spektrometrií MALDI-TOF [online]. [cit. 2020-06-18]. Dostupné z: <https://www.svujihlava.cz/229-maldi-tof.html>

www.szu.cz. *Výskyt vybraných infekcí v České republice hlášených v letech 2009-2018* [online]. Praha, 2019 [cit. 2020-06-22]. Dostupné z: <http://www.szu.cz/publikace/data/2018/vyskyt-vybranych-infekci-v-ceske-republice-hlasenych-v>