

Charakteristika *Listeria monocytogenes* a její výskyt v potravinách

Červinková Pavla DiS.

Bakalářská práce
2011

 Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav biochemie a analýzy potravin
akademický rok: 2010/2011

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Pavla ČERVINKOVÁ, DiS.**
Osobní číslo: **T08890**
Studijní program: **B 2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie a řízení v gastronomii**

Téma práce: **Charakteristika *Listeria monocytogenes* a její výskyt v potravinách.**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

- 1. Charakterizovat rod *Listeria* z taxonomického hlediska.**
- 2. Popsat onemocnění způsobené bakterií *Listeria monocytogenes*.**
- 3. Popsat výskyt listerií v potravinách z hlediska druhového zastoupení a rizikových potravin.**
- 4. Charakterizovat metody pro diagnostiku *Listeria monocytogenes* v potravinách.**

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

[1]Blažková M. a kol.(2005): *Listeria monocytogenes* – nebezpečný patogen a jeho detekce v potravinách, *Chemické Listy* 99, 467–473

[2]Bednář, M. *Lékařská mikrobiologie, bakteriologie, virologie, parazitologie*, 1st ed.; Nakladatelství Marvil: Praha 2, 1996.

[3]Žižka, B. *Mikrobiologie I, učebnice pro střední průmyslové školy potravinářské*, 1st ed.; Praha, 1992.

[5]Görner F., Valík L': *Aplikovaná mikrobiológia požívatín*, Malé Centrum Bratislava

Vedoucí bakalářské práce:

MVDr. Ivan Holko, Ph.D.

Ústav technologie a mikrobiologie potravin

Datum zadání bakalářské práce:

25. února 2011

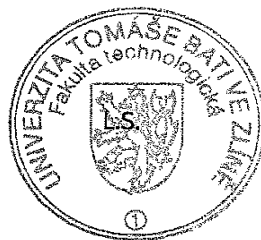
Termín odevzdání bakalářské práce:

30. května 2011

Ve Zlíně dne 23. března 2011



doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.
děkan



doc. Ing. Miroslav Fišera, CSc.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno:

Obor:

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně

.....

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) *Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.*

(3) *Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.*

²¹ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) *Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacího zařízení (školní dílo).*

³¹ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) *Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.*

(2) *Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.*

(3) *Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělků jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlídí k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.*

ABSTRAKT

Tématem bakalářské práce je charakteristika bakterie *Listeria monocytogenes* a její význam v potravinářství.

První část pojednává o bacterii samotné a nemoci, kterou tato bakterie způsobuje. Dále jsou popsány metody průkazu *Listeria monocytogenes* a její výskyt v potravinách.

Práce také diskutuje kontrolu mikrobiologických požadavků na potraviny a výsledky zjištěné při analýzách Státní zemědělské a potravinářské inspekce ČR v roce 2006. Závěrem je uveden přehled příslušné legislativy a statistiky výskytu kontaminací a onemocnění způsobených bakterií *L. monocytogenes* v České republice.

Klíčová slova: *Listeria*, metody, potraviny, výskyt

ABSTRACT

The bachelor thesis is aimed at *Listeria monocytogenes* bacterium characteristics and its occurrence in food. First of all the bacterium itself was specified as well diseases caused by this bacterium. Then the methods of its determination and its occurrence are described. After that the control of microbiological requirements is presented and the results based on the State Agriculture and Food Inspection Authority of the Czech Republic analysis are given. Finally there is the description of the legislation applied and diseases caused by the above mentioned bacterium in the Czech Republic.

Klíčová slova: *Listeria*, methods, food, occurrence

Ráda bych tímto poděkovala MVDr. Ivanu Holkovi, Ph.D. za odborné vedení při zpracování této bakalářské práce, za rady a připomínky. Dále bych poděkovala i mojí rodině za morální podporu ve studiu.

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské/diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD	9
1 TEORETICKÁ ČÁST	10
1 CHARAKTERISTIKA <i>LISTERIA MONOCYTOGENES</i>	11
2 LISTERIÓZA	13
2.1 PATOGENITA.....	15
2.2 PATOGENEZE A IMUNITA.....	16
2.3 ONEMOCNĚNÍ A EPIDEMIOLOGIE	17
3 METODY PRŮKAZU <i>LISTERIA MONOCYTOGENES</i>	18
3.1 KULTIVACE	18
3.2 METODA PRŮKAZU <i>LISTERIA MONOCYTOGENES</i>	18
3.2.1 Podstata zkoušky	18
3.3 CHROMOGENNÍ MÉDIA.....	19
3.3.1 Rapid L´mono test (Sanofi Pasteur)	19
3.3.2 ALOA a COMPASS L. mono Agar (Merck).....	19
3.3.3 ALOA (živná půda pro selektivní izolaci <i>Listeria monocytogenes</i>)	20
3.4 RYCHLÉ TESTY	21
3.4.1 Imunochromatografická detekce Listerií.....	21
3.4.2 Singlepath L´mono (Merck).....	22
3.5 HORIZONTÁLNÍ METODA PRŮKAZU A STANOVENÍ POČTU <i>L. MONOCYTOGENES</i>	23
3.5.1 Metoda průkazu.....	23
3.5.2 Metoda stanovení počtu	23
3.6 MOLEKULÁRNÍ METODY	24
3.6.1 PCR - polymerázová řetězová reakce	24
4 VÝSKYT <i>LISTERIA MONOCYTOGENES</i> V POTRAVINÁCH	27
4.1 VÝSKYT <i>L. MONOCYTOGENES</i> V MLÉKÁRENSKÉ PRVOVÝROBĚ.....	27
4.2 VÝSKYT <i>L. MONOCYTOGENES</i> V MLÉKÁRENSKÉM PRŮMYSLU	27
4.3 VÝSKYT LISTERIÍ V POTRAVINÁCH A CESTY ALIMENTÁRNÍCH INFEKČÍ.....	27
4.4 VÝSLEDKY LABORATORNÍCH ANALÝZ.....	30
5 LEGISLATIVNÍ RÁMEC A MONITORING LISTERIÍ V ČR	33
5.1 VÝSKYT <i>L. MONOCYTOGENES</i> V POTRAVINÁCH V TRŽNÍ SÍTI ČR	34
5.2 LISTERIÓZA V ČESKÉ REPUBLICCE	35
ZÁVĚR	37
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	38
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	41
SEZNAM OBRÁZKŮ	42
SEZNAM TABULEK	43

ÚVOD

Listeria monocytogenes je patogenním mikroorganismem vyskytujícím se v potravinách. Nejčastější kontaminací jsou masné a mléčné výrobky. Onemocnění, které způsobuje, jsou tzv. listeriózy. Jsou to velmi závažná onemocnění a postihují různé skupiny populace: staré lidi, děti a těhotné ženy.

Listeria monocytogenes je jako původce alimentárních onemocnění známá teprve od roku 1980. Odhaduje se, že je příčinou přibližně 0,5-1% všech hromadných alimentárních onemocnění. Mezi těmito nemocemi má však zcela nesporné prvenství v procentu mortality, které dosahuje až 33% z celkového počtu onemocnění.[1]

Alimentární listerióze podlehne více pacientů než salmonelóze. Zájem o listerie a zejména o jejich rychlou detekci v posledních letech velmi vzrostl. Příčinou jsou epidemie, které se objevují od osmdesátých let stále častěji. [2]

I. TEORETICKÁ ČÁST

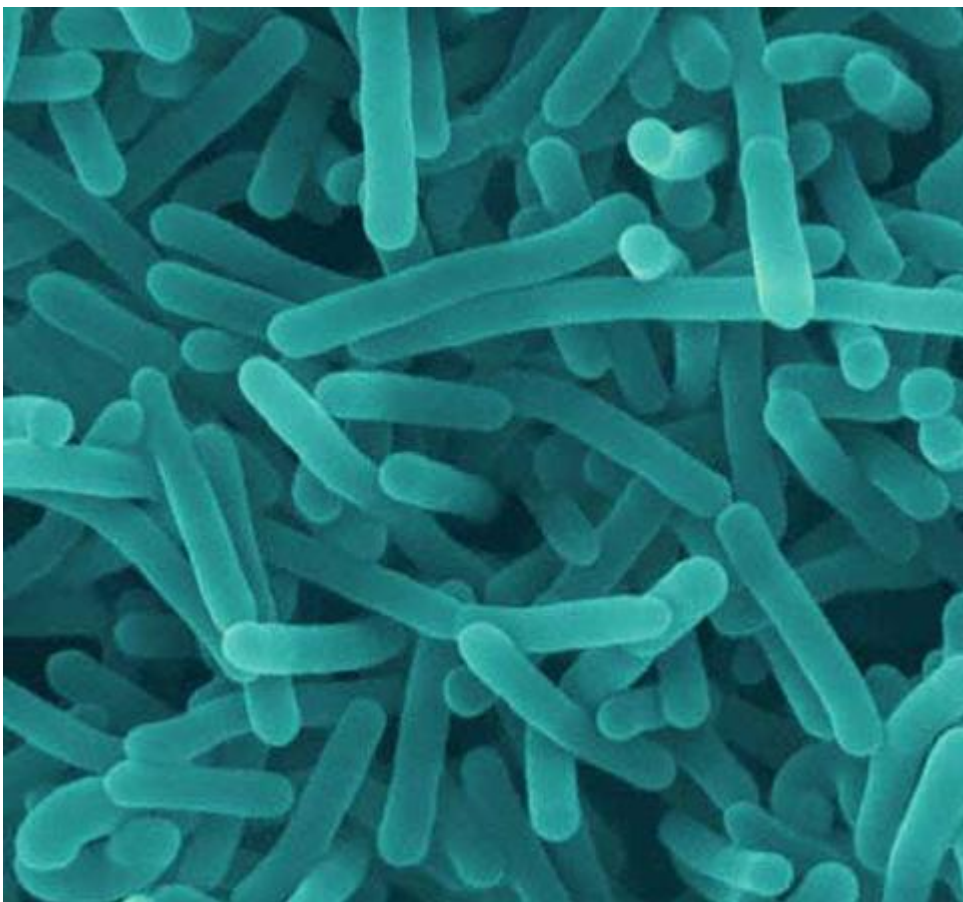
1 CHARAKTERISTIKA *LISTERIA MONOCYTOGENES*

Rod *Listeria* zahrnuje v současné době 6 různých druhů – *L. monocytogenes*, *L. ivanovii*, *L. innocua*, *L. welshimeri*, *L. seeligeri*, *L. grayi*. *Listeria monocytogenes* je podmíněným patogenem lidí a zvířat, *L. ivanovii* vyvolává onemocnění u ovcí a skotu a jen výjimečně u lidí. Ostatní druhy jsou považovány za nepatogenní.

Listerie jsou grampozitivní bakterie, které jsou úzce příbuzné s rody *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterococcus*, *Streptococcus* a *Staphylococcus*. Buňky mají tvar krátkých až kokoidních tyčinek o velikosti 0,4 – 1,5 μm . Listerie nejsou acidorezistentní a nevytvářejí pouzdra ani spory. Jsou aerobní nebo fakultativně anaerobní [3].

Bakterie rodu *Listeria* produkují enzym katalasu, netvoří oxidasu ani ureasu, hydrolyzují eskulin a hippurát sodný, ale močovinu, kasein či želatinu nehydrolyzují.

Obr. 1 Bakterie *Listeria monocytogenes* [12]



Listerie jsou aktivně sacharolytické mikroorganismy a pro jejich růst je esenciální D-glukosa. Na základě schopnosti fermentovat různé sacharidy (D-xyloza, L-rhamnosa, α -methyl-D-mannosid a D-mannitol, D-arabitol, methyl-D-glukosid, ribosa, glukosa-1-fosfát, D-tagatosa) jsou rozlišovány jednotlivé druhy listerií. Další významnou vlastností některých listerií, jež přispívá k potvrzení druhu, je jejich hemolytická aktivita. *L. monocytogenes* tvoří, podobně jako *L. seeligeri*, diskrétní zónu hemolýzy. Výraznou zónu tvoří pouze *L. ivanovii*, zbylé druhy listerií hemolytickou aktivitu nemají. Kultivačně nejsou listerie náročné a jsou značně rezistentní ke změnám vnějšího prostředí. Rostou dobře na běžných kultivačních půdách (živný agar, krevní agar) a v širokém teplotním rozmezí (1 až 45°C). Optimální teplota růstu se pohybuje okolo 37°C. Teplota velmi ovlivňuje patogenní vlastnosti bakterie. Většina kmenů se pomnožuje v rozmezí pH 5,6 – 9,6, přičemž optimální pH pro růst je 7,0 až 7,5. Listerie se dobře množí i při vysokých koncentracích solí (10% NaCl), jsou schopné přežít i v 25% NaCl, 20 dní v suchém prostředí a v 6 dní v destilované vodě [3].

Buněčná stěna a cytoplazmatická membrána *Listeria monocytogenes* obsahují, kromě různých látek lipidového charakteru, řadu proteinů, které ji umožňují proniknout do buněk hostitelského organismu, přežít v nich a dále se šířit. Takové proteiny, které jsou na přežití a rozšiřování bakterie v hostitelském organismu nepostradatelné, označujeme jako virulentní [3].

2 LISTERIÓZA

Listerióza je infekční onemocnění zvířat a lidí, které může probíhat pod rozmanitým klinickým obrazem. Její historie začíná v roce 1926, kdy v Cambridge Murray, Webb a Swann podrobně popsali vyvolavatele epizootie u králíků a morčat v pokusných stájích. Septické onemocnění těchto zvířat bylo pravidelně provázáno výraznou monocytózou v periferní krvi, proto nazvali izolovanou grampozitivní tyčinku *Bacterium monocytogenes*. O rok později Pirie izoloval analogického mikroba z letálního onemocnění písečných krys v jižní Africe, kterého na počest lorda Listeria nazval *Listerella hepatolytica*. V roce 1940 bylo zjištěno, že oba kmeny bakterií jsou identické a bylo dohodnuto používat pro tento nový druh dodnes platný název *Listeria monocytogenes*.

Již na začátku tohoto století byla popsána lidská onemocnění, jejichž klinická symptomatologie nebo patologicko-anatomické projevy odpovídající obrazu listeriové infekce. První bakteriologicky ověřené lidské infekce vyvolané druhem *Listeria monocytogenes* popsal až v roce 1929 Nyfeldt u pacientů s angínou, uzlinovým syndromem a výraznou mononukleózou, u kterých izoloval listerie z krve (hemokultury). U pacientů s meningeálními příčinami byl mikrob přítomen i v likvoru. U nás poprvé popsali podobná onemocnění Málek a Šonková v roce 1944.

Nejtěžší forma listeriového onemocnění novorozenců byla v Americe popsána ve třicátých letech tohoto století. V Evropě došlo k hromadnému výskytu adnatních listerióz a sporadickému výskytu jiných klinických forem onemocnění dospělých osob až v padesátých letech, prakticky současně v Německu (1951) a v Československu (1953). V té době byla v kraji Praha adnatní listerióza příčinou úmrtí u 2,8 % živě narozených dětí. Od této doby mnozí zprávy o výskytu často fatálních listeriových infekcí u lidí i zvířat nejen v Evropě a severní Americe, ale prakticky v celém světě.

Listerióza byla dlouho považována za antropozoonózu. Tento názor byl podložen širokým okruhem zvířecích hostitelů *Listeria monocytogenes* v přírodě a popisy profesionálních infekcí u veterinářů a ošetřovatelů zvířat.

V současné době je prokázáno, že *Listeria monocytogenes* i jiné druhy listerií jsou ubikviterní. Jsou rozšířené nejen u zvířat, ale i ve volné přírodě, na rostlinách nebo v produktech, které jsou z nich vyráběny (siláž). Listerie jako podmíněně patogenní mikrobi mohou a také přechodně osidlují sliznice svých hostitelů (lidí i zvířat), především v zaživacím trak-

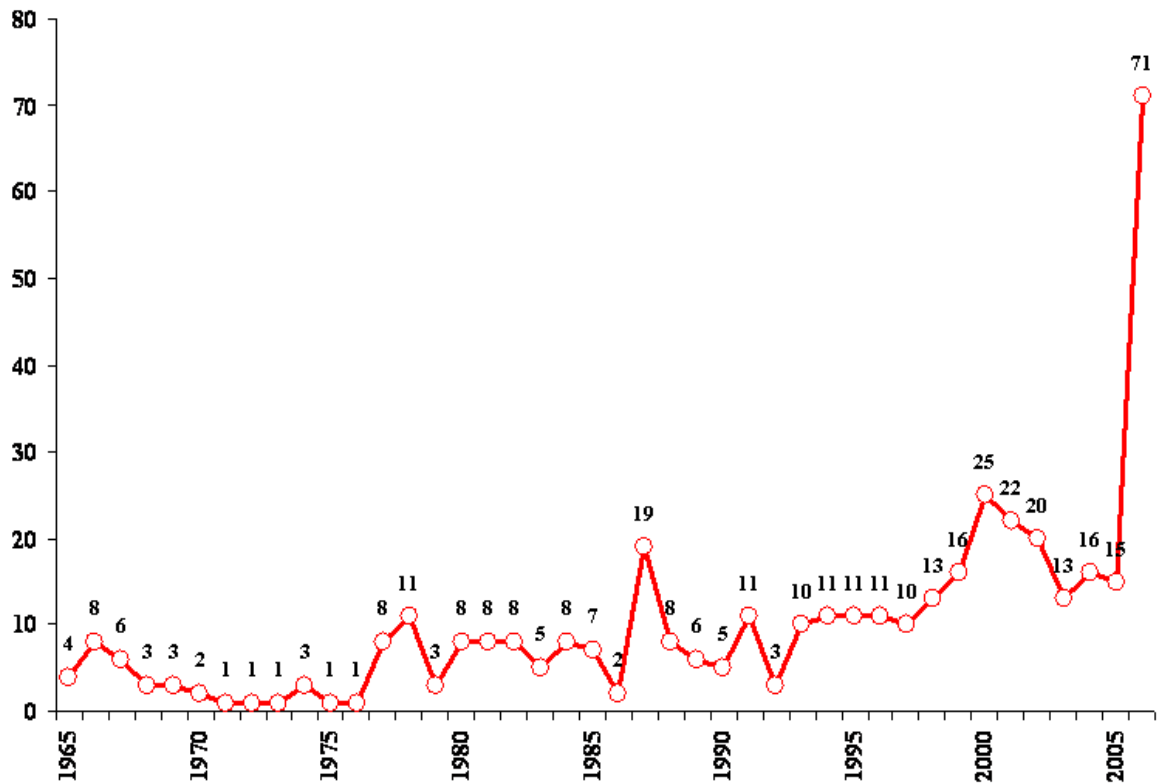
tu. Ten je i hlavní branou vstupu infekce u dospělých osob. Podle zjištění pracovní skupiny Světové zdravotnické organizace kontaminují listerie řadu potravin. U epidemického výskytu listeriózy v posledním desetiletí byly potraviny, kontaminované druhem *Listeria monocytogenes*, prokázány jako zdroj infekce [2].

Všechny druhy listerií, včetně *L. monocytogenes*, jsou v přírodě hojně rozšířeny. Mohou se vyskytovat ve vodě, v půdě, na rostlinách, ale také ve střevním traktu volně žijících zvířat. V souvislosti s používáním nekvalitních krmiv, obsahujících velké množství listerií, lze pozorovat výskyt *L. monocytogenes* i u hospodářských zvířat. Onemocnění bývají zpravidla bezpříznaková, a tedy neléčená. To v konečném důsledku může vést až ke kontaminaci masa při porážce zvířete. Primárně kontaminované může být rovněž mléko a syrová zelenina (hnojená fekáliemi infikovaných zvířat). Potravinářské suroviny obsahující listerie mohou mít za následek znečištění prostředí potravinářských závodů v průběhu zpracovatelského procesu, což může způsobit sekundární kontaminaci potravin.

Hlavním způsobem přenosu na člověka je konzumace kontaminovaných potravin. Mezi potraviny s nejvyšším rizikem patří maso a tepelně neopracované masné výrobky, syrové mléko a mléčné výrobky (měkké a plísňové sýry), zelenina. K další kontaminaci a pomnožení listerií může dojít v průběhu přípravy pokrmů a uchovávání hotových jídel při pokojové teplotě. Velmi nebezpečná je neonatální infekce, kde je zdrojem nákazy mateřský organismus (listerie pronikají placentou a infikují plodovou vodu). V nemocnicích hrozí nozokomiální infekce. Při hospitalizaci nemocných pacientů je třeba dbát na protiepidemická opatření. Je zaznamenáno několik případů profesionálního onemocnění u veterinářů, ošetřovatelů a řezníků, kteří byli v přímém styku s nakaženými zvířaty [2].

Listerie jsou přirozenou součástí půdy a vyskytující se běžně kolem nás. Zdravý jedinec s těmito bakteriemi v běžném prostředí nemá žádné problémy a nepředstavuje pro něj žádné zdravotní riziko. Oslabený jedinec si s touto bakterií moc neporadí a onemocní.

Listerióza, ČR, 1965-2006, počet hlášených onemocnění
předběžná data



Obr. 2. Přehled listeriózy od roku 1965-2006 [18]

2.1 Patogenita

Povrchové struktury listerií jsou bohaté na volné i vázané lipidy. Peptidoglykan obsahuje rezidua glukosaminu s volnými skupinami aminokyselin, který zvyšuje rezistenci stěny listerií nad účinek lysozymu a tím i jejich přežití v makrofágu. Součástí plasmatické membrány je MPA (monocytosis producing agent), které pod vlivem endogenního faktoru zvyšuje počet makrofágů v dřeni, krvi a slezině, ale imunitní odpověď neovlivňuje. Vodný extrakt teplem usmrcených bakterií má imunopresivní účinek. Biologické účinky faktoru, přítomného ve stěně listerií jsou obdobné účinkům lipopolysacharidů gramnegativních mikrobů. Je cytopatogenní pro lidské embryonální fibroblasty a kuřecí embrya, má imunomodulační účinky.

Virulence listerií je vázána na produkci hemolyzinů. Pouze hemolytické kmeny *L. monocytogenes* a *L. ivanovii* jsou schopny vyvolat onemocnění. Listeriolysin O je příbuzný strepto-

lysinu O. Je termolabilní, aktivuje se redukujícími činidly. Je leukocidní. U fagocytovaných listerií se uvolňuje železo z feritinu a tím urychluje množení bakterií v buňce. Sfingomyelináza C *L.ivanovii*, která je používána v identifikačních testech, nemá žádnou biologickou aktivitu v experimentu na zvířeti. Kromě hemolyzinů produkují listerie i lipázu. *L. monocytogenes* pak i faktor poškozující krevní destičky [2].

2.2 Patogeneze a imunita

Vlastní rozvoj klinicky manifestního onemocnění probíhá ve dvou na sebe navazujících fázích. V první dochází k průniku listerií do buněk hostitele, kde se množí, v druhé, po předchozí bakteriemii jsou postiženy cílové orgány, především centrální nervový systém a placenta.

L. monocytogenes a *L. ivanovii* je fakultativní nitrobuněčný parazit. Nejčastější branou vstupu je sliznice zažívacího traktu, ale i spojivka, respirační nebo urogenitální trakt. U profesionálních onemocnění veterináře, řezníků apod. pak porušená kůže.

V zažívacím traktu pronikají listerie endocytózou do epiteliálních buněk tenkého střeva nebo jsou absorbovány M buňkami v Peyerských plátech. Jsou rychle fagocytovány makrofágy. Další rozvoj infekce je určen schopností listerií množit se v makrofágu. Listeriolysin O způsobí disrupci fagolyzozómu, uvolněné bakterie se množí v cytoplazmě a šíří se z buňky na buňku. Z počátku je infekt kontrolován rezidentními makrofágy a monocyty, které pronikají k ložisku z krve. Listeriový MPA nepřímo zvyšuje tvorbu nových monocytů v dřeni a jejich příliv do ložiska. Imunita je zprostředkovaná především T buňkami, které aktivují makrofágy. Pokud poměr monocyt/parazit zůstane příznivý do doby nástupu buněčné imunity, infekční ložisko se ohraničí. V opačném případě se infikované buňky rozpadají, listerie pronikají do subepiteliálních tkání a do krevního řečiště a infekce se generalizuje. Souběžně s rozvojem pozdní přecitlivělosti se tvoří v postižených orgánech specifické granulomy (listeriony), makroskopicky viditelné jako drobné bělavé uzlíky.

Není-li množství infikujících zárodků velké, rozvíjí se onemocnění jen u osob se sníženou rezistencí (např. nádorové onemocnění) nebo s fyziologickou zátěží (těhotenství). U vrozené listeriózy, která tvoří zvláštní klinickou jednotku, je zdrojem infekce plodu subklinické onemocnění těhotné ženy. Listerie pronikají placentou a infikují plodovou vodu. Po její deglutici nebo eventuálně aspiraci dojde ke generalizovanému onemocnění plodu. U ne-

mocných léčených imunosupresivy a kortikoidy (transplantace, nádorové onemocnění) stoupá počet onemocnění z endogenních zdrojů (přítomnost listerií v zažívacím traktu) [2].

2.3 Onemocnění a epidemiologie

Lidská onemocnění s výjimkou listeriózy v těhotenství nemají typické klinické projevy. Vysokou smrtlost mívají generalizované formy listeriózy-meningoencephalitis, septikémie a infekce novorozenců. Méně časté formy – keratokonjunktivitid, endophthalmitis, lymphadenitis, endometritis apod. – mají při včasné léčbě dobrou prognózu. Lokalizované infekce (absces, panaritium) nebo i kožní listerióza se mohou vyhojit i spontánně. Spontánní vyhojení bývá pravidlem i subklinické infekce ženy po porodu infikovaného plodu.

V přírodě jsou velmi rozšířeny všechny druhy listerií včetně *L. monocytogenes*. Listeriové infekce byly prokázány u savců, ptáků i plazů. Některá zvířata jsou k infekci vnímavější (koza, ovce, hovězí dobytek) než ostatní druhy. U přežvýkavců je listerióza známá jako nemoc ze siláže. Počet zvířecích listeriových exkretorů i množství vylučovaných bakterií je v přímé souvislosti s výskytem listerií v krmivech. V potravinovém řetězci tak dochází ke kontaminaci potravin již v průběhu primární produkce. Fekální vylučování je příčinou sekundárního znečištění zeleniny, mléka a mléčných výrobků, ve kterých jsou listerie při správně prováděné pasterizaci ničeny. Přenos infekce potravinami může být pozitivně ovlivněn postupy, používanými při výrobě nebo uchovávání potravin (tolerance listerií k vysokému obsahu soli, nízké tenzi kyslíku, zvýšenému množství oxidu uhličitého, růst i při 4°C).

U perinatálních infekcí je zdrojem infekce mateřský organismus. Kontakt ošetřujícího personálu s infikovanými orgány nebo tekutinami (plodová voda, krev, očišťky aj.) může způsobit přechodné nosičství v oblasti tonsil nebo střevního traktu, případně vést dokonce ke klinicky manifestnímu onemocnění. U hospitalizovaných pacientů je proto nutné dbát na všechna protiepidemická opatření, aby bylo zabráněno vzniku nozokomiální nákazy.

Profesionální onemocnění, která vznikají po přímém kontaktu s infikovaným zvířetem, jeho exkrety nebo po inhalaci prachu ze zamořených stájí, nejsou příliš častá. V současné době jsou experimentálně prověřovány možnosti aktivní imunizace domácích zvířat v chovech [2].

3 METODY PRŮKAZU *LISTERIA MONOCYTOGENES*

3.1 Kultivace

Kultivační náročnost listerií není velká. Rostou dobře na běžných kultivačních půdách (živný agar, krevní agar) v neobyčejně širokém teplotním rozmezí (4 až 39°C). Kultury vyrůstající v suboptimálních teplotách rostou pomaleji, úměrně s prodlužováním generační doby mikroba. Listerie jsou značně rezistentní ke změnám zevního prostředí, dobře se pomnožují i při vysokých koncentracích soli (10% NaCl). Tato nenáročnost a rezistentní umožňuje listeriím dlouhodobé přežití i mimo hostitelský organismus.

L. monocytogenes, *L. ivanovii* a *L. seeligeri* produkují do prostředí solubilní hemolýziny. Jejich přítomnost je jedním z rozlišovacích znaků listerií. Kolonie *L. ivanovii* na krevním agaru jsou nápadně širokou zónou beta hemolýzy, pro kterou mohou být zaměněny s koloniemi beta hemolytických streptokoků. Na periferii je beta hemolýza ohraničena zónou neúplné hemolýzy, podmíněné produkcí sfingomyelinázy C [2].

3.2 Metoda průkazu *Listeria monocytogenes*

3.2.1 Podstata zkoušky

Průkaz bakterií rodu *Listeria* vyžaduje čtyři po sobě následující kroky:

- 1) Primární pomnožení v polovičním bujonu podle Frasera. Inkubuje se při 30 °C 24 hodin [4]. Toto primární pomnožení částečně inhibuje růst doprovodné mikroflóry a současně umožňuje resuscitaci poškozených buněk listerií [6].
- 2) Sekundární pomnožení v bujonu podle Frasera. Inkubuje se při 37 °C 48 hodin.
- 3) Naočkování na pevné půdy a zjišťování přítomnosti suspektních kolonií. Každá z kultury se naočkuje na dvě tuhé selektivní půdy, a to na agar ALOA (podle Ottavianiho a Agostiho) a na volitelný agar (např. Rapid L. mono agar). Následuje inkubace tuhých půd při 37 °C 24 hodin, a je-li třeba ještě dalších 24 hodin [4].
- 4) Potvrzení: subkultivace charakteristických kolonií na neselektivním agarovém médiu a potvrzení identity vhodnými morfologickými, fyziologickými a biochemickými testy [6].

Za *L. monocytogenes* jsou považovány bakterie, které vytvářejí na tuhých selektivních půdách charakteristické kolonie a vykazují typické morfologické, biochemické a fyziologické vlastnosti. Průkazem *L. monocytogenes* je určení přítomnosti nebo nepřítomnosti tohoto mikroorganismu v konkrétní hmotnosti (objemu) výrobku.

Bakterie rodu *Listeria* mohou být v potravinách přítomny v nízkých počtech a jsou provázeny přídatnou mikroflórou, proto se provádí selektivní pomnožení. Subletálně poškozené buňky umožní zachytit tekutá selektivní půda pro primární pomnožení [4].

3.3 Chromogenní média

3.3.1 Rapid L' mono test (Sanofi Pasteur)

Princip detekce na médiu Rapid L' mono je založený na specifickém průkazu aktivity enzymu fosfolipasy projevující se modrým zbarvením kolonií a na schopnosti využívat xylosu, což se pozná tak, že se okolo bakteriálních kolonií vytvoří patrná žlutá zóna. Složení selektivního média inhibuje růst většiny interferující mikroflóry (G+, G- bakterie, kvasinky i plísně) *L. monocytogenes* vykazuje fosfolipasovou aktivitu a není schopna využívat xylosu, její kolonie mají čistě modrou barvu bez doprovodné "halo" zóny. Díky fosfolipasové aktivitě a schopnosti využívat xylosu tvoří buňky *L. ivanovii* modrozelené kolonie se žlutou "halo" zónou. Kolonie jiných druhů rodu *Listeria* mají barvu bílou [1].

3.3.2 ALOA a COMPASS L. mono Agar (Merck)

ALOA a COMPASS L. mono Agar jsou diagnostická chromogenní média pro izolaci *Listeria spp.* a identifikaci *Listeria monocytogenes*. Jsou založeny na průkazu β -glukosidasy, obsažené v buňkách všech druhů rodu *Listeria* a způsobují modré až modrozelené zbarvení kolonií. *Listeria monocytogenes* a *Listeria ivanovii* navíc tvoří působením fosfolipasy C specifické pro fosfatidylinositol kolem kolonií žlutou "halo" zónu. Součástí obou agarů je inhibiční systém, který znemožňuje v prvních 24 hodinách inkubace růst jiných bakterií (např. *Bacillus*) a specificky i *L. ivanovii*. Po 24 h kultivaci při 37 °C jsou typické kolonie určeny jako *Listeria monocytogenes*. Při jejich absenci kultivace při 37 °C pokračuje dalších 12-24 h, kdy tvoří typické kolonie také *L. ivanovii*. Při objevení těchto kolonií je pro rozlišení obou druhů nutno použít L. Mono Disk Test. V něm se *L. ivanovii*, na rozdíl od *L. monocytogenes*, projeví žlutým zbarvením [1].



Obr. 3. COMPASS® Listeria Agar [23]

3.3.3 ALOA (živná půda pro selektivní izolaci *Listeria monocytogenes*)

Živná půda ALOA je určena pro izolaci *L. monocytogenes* v potravinách. Umožňuje také izolaci a odečítání *L. monocytogenes* a *L. spp* v potravinách a všech dalších typech vzorků. Na této půdě se tvoří listerie pravidelné kulaté kolonie, modré až modrozelené (detekce beta-glukosidázy díky specifickému chromogennímu substrátu). Kolonie *Listeria monocytogenes* jsou obklopeny opaktní kruhovou zónou, která umožňuje jejich snadné odlišení od ostatních druhů listerií. Kruhová zóna vzniká aktivitou fosfolipázy podílející se na infekčním procesu této bakterie. Selektivity je dosaženo kombinovaným účinkem chloridu lithného, antibiotik a antifungicidních látek [15].

U přerostlých misek je možné zjednodušit odečítání porovnáním opaktního vzhledu agaru ve středu misky a na okraji nebo porovnáním s nenačkovanou miskou ALOA. Přítomnost kolonií *L. monocytogenes*, i početných, se projevuje intenzivní opacitou na agaru, což umožňuje jednoduché odlišení misek bez *L. monocytogenes*. V případě pochyb opakujte izolaci na dalším agaru ALOA [15].

Po 24 hodinách inkubace se u některých kmenů *L. ivanovii* může objevit velmi úzká a nevýrazná haloa zóna. Po 48 hodinách inkubace může *L. ivanovii* vypadat stejně jako *Listeria monocytogenes*. V obou případech je možné tyto dva druhy rozlišit provedením konfirmačních testů. Misky s půdou ALOA mohou být po inkubaci umístěny do chladicí skříně. Kruhová zóna ani barva kolonií se při nízkých teplotách dále nevyvíjí [15].

3.4 Rychlé testy

3.4.1 Imunochromatografická detekce *Listerií*

Imunochromatografické testy se staly fenoménem poslední doby pro detekci rozličných analytů i když pro detekci bakterií je vývoj těchto metod stále ještě v počátcích. Tyto metody jsou velmi rychlé, jednoduché a nenáročné na přístrojové vybavení, což umožňuje jejich realizaci v provozních podmínkách. Nevyžadují téměř žádné pracovní zkušenosti.

Imunochromatografický test se skládá z nitrocelulóзовé membrány, na které je imobilizován jeden z imunoreaktantů (protilátka) a vytváří tak testovací zónu. Podobně jako u většiny imunoanalýz pro detekci bakterií je využíván přímý nekompetitivní formát. Test se skládá ze tří různých podložek: 1) podložka, na kterou je aplikován vzorek, 2) podložka s konjugátem barevné částice s navázaným imunoreaktantem a 3) absorpční podložka, která napomáhá vzlínání vzorku. Všechny součásti testu jsou uzavřeny do plastového pouzdra. Hodnocení je prováděno vizuálně pomocí barevných částic navázaných na jeden z imunoreaktantů, nejčastěji se používá zlato a uhlík.

Testovaný vzorek je nanesen na počátek membrány a začíná postupovat testem. Nejprve se dostává do kontaktu s barevným konjugátem s navázanou protilátkou, rozpustí jej a společně s ním vzlíná membránou. Pokud je ve vzorku přítomen antigen, specificky interaguje s těmito protilátkami a vytváří se imunokomplex, který migruje porézní vrstvou nitrocelulóзовé membrány. Pomocí kapilárních sil vzlíná až k testovací zóně. Zde interaguje se specifickými protilátkami imobilizovanými na membráně, což se projeví vznikem barevné linky v testovací oblasti. Na membráně je také přítomna tzv. kontrolní zóna, která slouží ke kontrole funkčnosti testu. Je na ní imobilizována protilátka připravená proti imunoreaktantu konjugovaném k barevné částici. Přebytek konjugátu vzlíná až k této zóně a váže se na ni. Vytvořená linka potvrdí správné provedení testu.

Na trh již bylo uvedeno několik imunochromatografických metod k detekci rodu *Listerie*: *Listeria Rapid Test*, *Singlepath Listeria* (Merck) [7].

3.4.2 Singlepath L' mono (Merck)

Singlepath L' mono je imunochromatografický rychlý test, založený na protilátkách, značených zlatem. Testovací kazeta má kruhový otvor pro vzorek a oválné okno pro test (T) a kontrolu (C).

- Vzorek je nanesen kruhovým otvorem na chromatografický papír.
- Vzorek je absorbován papírovou vycpávkou do reakční zóny, ve které je v koloidním stavu zlatem značené protilátky, specifické proti antigenu *Listeria monocytogenes*.
- Každý antigen *Listeria monocytogenes* vytváří se zlatem značenou protilátkou komplex a migruje portem tak dlouho, dokud se neseťká s vazebnou zónou v testovacím poli (T).
- Vazebná testovací zóna (T) obsahuje další protilátku proti *Listerii monocytogenes*, která imobilizuje přítomný komplex. V důsledku značení zlatem dojde k tvorbě červené čáry.
- Zbytek vzorku pokračuje v migraci ke druhé vazebné zóně s kontrolní (C) zónou a zde vytváří druhou červenou čáru (pozitivní kontrola). Bez ohledu na přítomnost *Listerie monocytogenes* se tato čára v kontrolní zóně (C) vytváří vždy a ukazuje korektní funkci testu.

1) Konfirmační test

za použití selektivních agarů na listerie (např. Chromoplate Listeria, Chromocult Listeria apod.) může být na přítomnost *Listeria spp.* nebo *Listeria monocytogenes* vyšetřeno široké spektrum potravin. Singlepath L' mono může být použit pro konformaci suspektních kolonií *Listeria monocytogenes* na těchto agarech.

2) Interpretace výsledků

Test je považován za správně pracující, pokud se během 30 minut objeví v kontrolní zóně (C) jasně červeně zbarvený proužek. Vzorek je vyhodnocen jako pozitivní, objeví-li se do 30 minut jak v testovací zóně (T), tak i kontrolní zóně (C) jasně červené proužky. Vzorek je vyhodnocen jako negativní, neobjeví-li se do 30 minut v testovací zóně (T) žádný proužek a v kontrolní zóně (C) se objeví jasně červený proužek [8].

3.5 Horizontální metoda průkazu a stanovení počtu *L. monocytogenes*

3.5.1 Metoda průkazu

Při zkoušení provedeném podle ISO 11290 jsou to mikroorganismy, které vytvářejí na tuhých selektivních půdách typické kolonie a které vykazují popsané morfologické, fyziologické a biochemické vlastnosti. Průkaz *L. monocytogenes* vyžaduje čtyři po sobě následující stupně:

- primární pomnožení v tekuté selektivní půdě se sníženou koncentrací inhibičních složek

Zkušební vzorek se inokuluje do tekuté selektivní půdy pro primární pomnožení, která obsahuje jeden objemový díl roztoku chloridu lithného a polovinu dílů akriřavinu a roztoku kyseliny nalidixové (tzv. poloviční bujón podle Fräsera). Tato půda se používá rovněž jako ředící roztok zkušební vzorku. Takto inokulovaný zkušební vzorek se inokuluje při 30 °C po dobu 24 hodin.

- sekundární pomnožení v tekuté selektivní půdě s plnou koncentrací inhibičních složek

Takto získanou kulturou se inokuluje tekutá selektivní půda pro sekundární pomnožení (bujon podle Fräsera). Takto inokulovaný bujón podle Fräsera se inkubuje při 35 °C nebo 37 °C po dobu 48 hodin.

- vyočkování a identifikace

Takto získané kultury se vyočkují vždy na dvě tuhé selektivní půdy agar Oxford a agar PALCAM. Následuje inkubace při 30 °C, 35 °C nebo při 37 °C a po 24 resp. po 48 hodinách se zjišťuje přítomnost charakteristických kolonií, které mohou být podle svých znaků považovány za suspektní jako *L. monocytogenes*. Kolonie takto získané se subkultivují a potvrzují pomocí vhodných morfologických, fyziologických a biochemických testů [13].

3.5.2 Metoda stanovení počtu

Při zkoušení provedeném podle ISO 11290 jsou to mikroorganismy, které vytvářejí na tuhých selektivních půdách typické kolonie a které vykazují popsané morfologické, fyziolo-

gické a biochemické vlastnosti. Stanovení počtu *L. monocytogenes* vyžaduje šest po sobě následujících stupňů:

- Příprava výchozí suspenze v jednom ze dvou specifikovaných ředících roztoků zvolených podle potřeby.
- Resuscitace při 20 °C po dobu 1 hodiny.
- Inokulace určeného objemu výchozí suspenze na povrch určené tuhé selektivní půdy, a to paralelně na půdu ve dvou v Petriho miskách. Stejně se postupuje při očkování desetinásobných ředění výchozí suspenze.
- Inkubace naočkovaných ploten při 35 °C nebo 37 °C a jejich posuzování po 24 a 48 hodinách.
- Konfirmace kolonií, které mohou být podle svých znaků považovány za suspektní jako *L. monocytogenes*.
- Z počtu potvrzených kolonií se výpočtem stanoví počet *Listeria monocytogenes* v mililitru nebo gramu vzorku [14].

3.6 Molekulární metody

3.6.1 PCR - polymerázová řetězová reakce

Je metoda rychlého a snadného zmnožení úseku DNA založena na principu replikace nukleových kyselin. Úseky DNA, které se mají namnožit (amplifikovat) musí být ohraničeny na začátku a na konci tzv. primery (krátkými oligonukleotidy DNA). PCR slouží k vytvoření až mnoha milionů exaktních kopií vzorového fragmentu DNA o maximální délce 10 tisíc nukleotidů, což umožňuje provést analýzu DNA i z velmi malého vzorku. K syntéze nového vlákna DNA se používá nejčastěji termostabilní DNA polymeráza bakterie *Thermus aquaticus*, odtud označení Taq polymeráza. PCR probíhá v zařízení zvaném termocykler, které je zkonstruováno tak, aby dokázalo během několika sekund zvýšit nebo snížit teplotu o několik desítek stupňů Celsia.

Výsledkem PCR je obrovské množství kopií původní sekvence DNA. Metoda je tak citlivá, že dokáže odhalit i jedinou molekulu DNA ve vzorku [9].

Základním principem PCR je opakovaná řízená denaturace dvouřetězcové DNA a následná renaturace osamocených řetězců se specifickými oligonukleotidy, které jsou v reakční směsi v nadbytku. Tyto oligonukleotidy slouží následně jako primery pro syntézu nového řetězce DNA. Amplifikace DNA probíhá v opakovacích cyklech, které mají tři kroky [10]:

- Denaturace

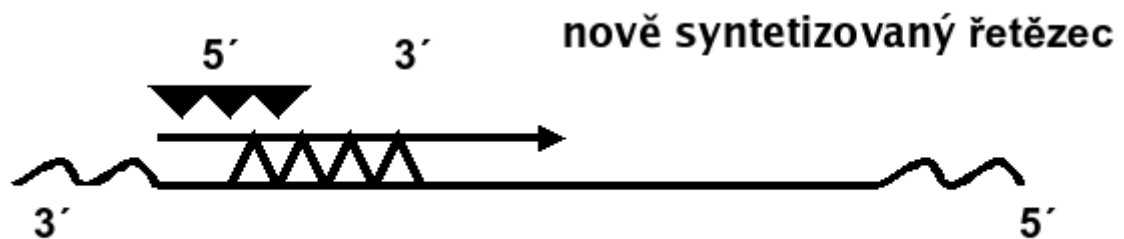
DNA se po dobu 20-30 sekund zahřívá na teplotu 94-98 °C. Při této teplotě dochází k rozrušení vodíkových můstků v molekule DNA a k rozvolnění dvoušroubovice. Vzniká tak jednovláknová DNA, na kterou mohou v dalším kroku nasednout primery.

- Nasednutí primerů

Teplota se sníží na 50-65 °C, což umožňuje nasednutí primerů na specifická místa DNA. Na dvouvláknové úseky DNA-primer se váže DNA polymeráza.

- Syntéza DNA

Teplota použitá v této fázi závisí na použité DNA polymeráze. Nejběžnější Taq polymeráza má optimum aktivity na 75-80 °C. V tomto kroku dochází k samotné syntéze DNA. Ve směru od 5' konce k 3' konci přirůstá vlákno DNA komplementární k původní molekule DNA [9].



Obr. 4. Syntéza řetězce DNA začíná na volném 3'-OH konci primeru. Nově syntetizované vlákno se tvoří podle matrice na základě komplementarity bází [11].

Polymerázová řetězová reakce, jako jedna z moderních metod tvoří regulární součást diagnostiky nejen listerií, ale i dalších potravinových patogenů. Specifita amplifikovaného úseku DNA determinuje diagnostikovaný druh bakterie a díky jedinečnosti genetického kódování je tato metoda jedna z nejvíce specifických vůbec. Právě specifita je velkou výhodou i v případě průkazu *Listeria monocytogenes*, kde je právě druhová typizace časově

nejnáročnější etapou průkazu. V případě použití PCR je výsledek stanoven do maximálně 24 hodin. Validací a navržením optimálních a standardních metodik PCR diagnostiky potravinových patogenů včetně *L. monocytogenes* se zabýval Projekt 6. Rámcového programu EU s názvem Food PCR [25]. Je však i mnoho dalších studií a literárních údajů o využití PCR metody v diagnostice *Listeria monocytogenes*. Například v práci Holka a kol. (2002) byla metoda PCR využita k odlišení kmenů *Listeria monocytogenes* sérotypu 4ab bez hemolýzy na krevním agaru od nepatogenní *Listeria innocua* [34]. V jiné práci autorů Karpíšková a kol. (2000) byla PCR v kombinaci s chromogenním médiem využita k rychlé confirmaci výskytu *Listeria monocytogenes* v potravinách [35]. V práci Borucki a kol. (2003) byla navržena PCR pro sérotypizaci kmenů *L. monocytogenes* [36].

4 VÝSKYT *LISTERIA MONOCYTOGENES* V POTRAVINÁCH

4.1 Výskyt *L. monocytogenes* v mlékárenské prvovýrobě

V prvovýrobě mohou dojnice vylučovat listerie mlékem v průběhu velmi dlouhé doby, aniž by se u nich objevily příznaky listeriózy [26]. Základním zdrojem infekce přežvýkavců listeriem je zkažená siláž [27]. K infekci může dojít i přes vodu nebo krmivo kontaminované listeriem, také při nedostatečném odklizení výkalů dojnic nebo prostřednictvím ptáků a hmyzu [28].

Na farmách se listerie mohou dostat do zásobních tanků na syrové mléko jako kontaminace z dojícího zařízení fekáliemi při nedodržení hygieny, nebo také prostřednictvím mléka kontaminovaného buď samotnými listeriem nebo mastitidním mlékem [29]. Při případné kontaminaci syrového mléka v zásobních tancích bývá koncentrace listerií relativně nízká, a to méně než $1,0 \cdot 10^{-1}$ KTJ.ml⁻¹ [30].

4.2 Výskyt *L. monocytogenes* v mlékárenském průmyslu

Riziko výskytu *L. monocytogenes* je spojeno především s čerstvými a měkkými sekundárně zrajícími sýry. Důležitý je rozdíl v přežívání a růstu *L. monocytogenes* uvnitř a na povrchu sýra. Inhibice *L. monocytogenes* je ovlivněna nejen hodnotou pH sýra, ale i obsahem L (+) laktátu [31].

Pasterační proces účinně inhibuje listerie případně obsažené v syrovém mléce [32]. Přítomnost listerií ve finálních mlékárenských výrobcích je tedy způsobena sekundární kontaminací výrobků listeriem pocházejícími z vnějšího prostředí [30]. To platí i pro sýry vyrobené z pasterovaného nebo mikrofiltrovaného mléka [33]. Podle současných poznatků se však riziko výskytu *L. monocytogenes* v sýrech vyrobeného ze syrového, pasterovaného a mikrofiltrovaného mléka neliší [31].

4.3 Výskyt listerií v potravinách a cesty alimentárních infekcí.

Výskyt listerií je spojován s kontaminovaným masem z jatek, kontaminací na bourárnách, zráním soleného masa v nečistých nádobách, kontaminovaným mlékem, sekundární kontaminací při manipulaci s hotovými výrobky v expedici, při balení, přepravě, na prodejnách apod. Možná je i kontaminace hlodavci. Jde o infekci alimentárního původu, k níž dochází

nejčastěji po konzumaci silně kontaminovaných potravin. K překonání střevní bariéry a proniknutí listerií do organismu je potřebná koncentrace těchto bakterií vyšší než 10 milionů na gram potraviny. K infekci může dojít i přestupem přes kůži, např. u veterinářů, při kontaktu s infikovanými porodními cestami, dále u řezníků a uzenářů při kontaktu s kontaminovanou surovinou. U lidí má onemocnění různé formy. Ne všechny skupiny populace jsou však stejně citlivé. Postižení bývají především lidé s poškozeným imunitním systémem vlivem drog a alkoholu, vlivem jiného onemocnění, dále těhotné ženy, novorozenci a starší lidé. Protože vstupní bránu infekce představuje zpravidla zažívací trakt, objevují se počáteční příznaky jako žaludeční a střevní potíže s následným rozšířením bakterií do těla. Vše pak začíná obvykle teplotou a pocitem slabosti. Symptomy u jednotlivých predisponovaných skupin jsou variabilní. Kromě zánětu mozku a mozkových blan se objevuje syndrom podobný chřipce a infekční mononukleóze a způsobuje i potraty. Úspěšně je možné onemocnění léčit jedině antibiotiky [5].

Zdroje kontaminace surovin (potravin):

- znečištěné vstupní suroviny, např. obsahem střev jatečných zvířat
- suroviny nebo potraviny znečištěné hospodářskými nebo volně žijícími zvířaty, např. trusem ptáků, hlodavců a hmyzem
- zelenina a některé druhy ovoce znečištěné např. půdou
- nedodržování zásad osobní hygieny a správné výrobní a hygienické praxe
- nemocná i zdravá zvířata a lidé-bacilonosiči

K potravinám, které by mohly být při nevhodném zacházení zdrojem rizika, patří: syrové maso, syrové nebo nedostatečně tepelně ošetřené mléko, tepelně neopracované masné výrobky určené k přímé spotřebě, mléčné výrobky z pasterovaného mléka, mléčné výrobky z nepasterovaného mléka, výrobky studené kuchyně, ryby a výrobky z nich, mrazírenské výrobky, čerstvá neomytá nebo špatně omytá zelenina, zpracovaná zelenina, cukrářské výrobky s vaječnou náplní.

Listeria monocytogenes se nachází v půdě a ve vodě. Zelenina se může kontaminovat z půdy nebo z hnojiva použitého k hnojení půdy. Zvířata mohou být nositeli bakterie, aniž by jevíly známky nemoci a mohou kontaminovat potraviny živočišného původu jako je maso a mléčné výrobky. Bakterie byla zjištěna v nejrůznějších syrových potravinách, jako jsou

různé druhy nevařeného masa a zeleniny, ale také ve vyrobené potravině, u níž došlo ke kontaminaci až po její výrobě. Například některé druhy sýrů a krájené výrobky z vařeného masa u pultu s lahůdkami. Tuto bakterii může obsahovat nepasterizované (syrové) mléko nebo potraviny vyrobené z nepasterizovaného mléka.

Ohrožené osoby mohou nakažení listerií zabránit tím, že se vyhnou některým vysoce rizikovým potravinám a tím, že budou s potravinami správně zacházet.

Listerie zabíjí pasterizace, a způsoby tepelného zpracování, které se používají k přípravě hotových masných výrobků. Není-li však dodržována správná výrobní praxe, může ke kontaminaci dojít i po zpracování [16].

Listeriózou se nakazí tím, že se sní potrava kontaminovaná listerií. Děti se mohou s listeriózou narodit, jestliže jejich matky konzumují během těhotenství kontaminované potraviny. I když zdravé osoby mohou kontaminované potraviny konzumovat, aniž by onemocněly, u osob se zvýšeným rizikem nákazy je pravděpodobné, že listeriózu dostanou po požití potraviny obsahující jen malý počet bakterií. Ohrožené osoby mohou nákaze listerií zabránit tím, že se vyhnou určitým vysoce rizikovým potravinám a tím, že budou s potravinou správně zacházet [16].

Osoba s listeriózou má obvykle horečku, bolest ve svalech, a někdy příznaky onemocnění zažívacího traktu jako žaludeční nevolnost, zvracení nebo průjem. Jestliže se nákaza rozšíří natolik, že zasáhne nervový systém, mohou se objevit příznaky jako bolest hlavy, ztuhlý krk, zmatenost, ztráta rovnováhy nebo náhlé nepravidelné pohyby končetin. Nakažené těhotné ženy mohou mít pocit pouze mírného onemocnění, podobného chřipce. Ale nákaza během těhotenství může vést k předčasnému porodu, nákaze novorozence, nebo dokonce k porodu mrtvého dítěte.

Všeobecná doporučení:

- syrovou potravinu živočišného původu jako hovězí, vepřové nebo drůbeží maso důkladně uvařte
- syrovou zeleninu před tím, než ji sníte, důkladně omyjte
- neuvažené maso dávejte odděleně od zeleniny, uvařených potravin a zakoupených hotových potravin

- vyhněte se konzumaci syrového (nepasterizovaného) mléka nebo potravin ze syrového (nepasterizovaného) mléka
- po manipulaci s neuvaženými potravinami si umyjte ruce, omyjte nože a prkénko
- vyhněte se sýrům typu camembert, sýrům s plísní uvnitř hmoty a sýrům mexického typu (není třeba se vyhýbat tvrdým sýrům, taveným sýrům, krémovým sýrům, sýru cottage, nebo jogurtu)
- zbylé potraviny nebo hotové potraviny jako hot dog, dřív než je sníte, převařte tak, až z nich stoupá horká pára
- i když je riziko listeriózy spojené s potravinami zakoupenými u pultů s lahůdkami poměrně nízké, těhotné ženy a osoby se sníženou imunitou se mohou případně těmto potravinám vyhnout nebo hotové masné výrobky před jídlem důkladně prohřát [16].

4.4 Výsledky laboratorních analýz

V roce 2003 bylo odebráno celkem 3210 vzorků pro laboratorní rozbory. Kontrolou na místě i v laboratořích bylo zjištěno celkem 933 nevyhovujících vzorků potravin (z toho na místě 249 a v laboratořích 684). Nejvíce nevyhovujících vzorků bylo detekováno v rámci komodity cukrářské výrobky (počet 362), studená kuchyně (187), čerstvá zelenina (74), čerstvé ovoce (73) a maso - masné výrobky (68) [24].

Mikrobiologické analýzy potravin v laboratoři byly prováděny podle v ČR platných norem a metodických doporučení. Z celkem 3210 vzorků potravin odebraných na mikrobiologická vyšetření do laboratoří bylo v roce 2003 zjištěno 684 (21,3%) nevyhovujících vzorků. Z toho 96 (3,0%) vzorků bylo zdravotně závadných, ostatních 588 vzorků nevyhovělo požadavkům stanoveným pro tolerované hodnoty mikroorganismů v potravinách.

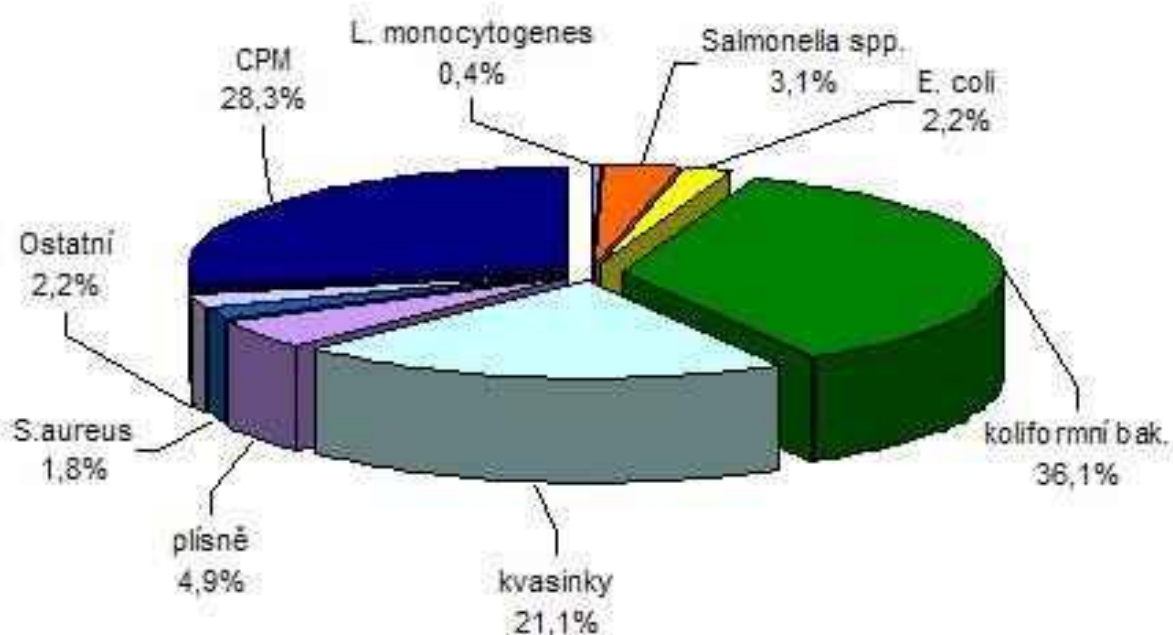
V průběhu roku byly detekovány nejvyšší počty nevyhovujících vzorků v letních měsících (červen až září). Nejčastější příčinou porušení mikrobiologických požadavků byly nálezy koliformních bakterií, aerobních mezofilních mikroorganismů (CPM - celkový počet mikroorganismů) a kvasinek.

Kromě běžně prováděných kontrol byla součástí zjišťování úrovně mikrobiologické čistoty potravin tzv. plánovaná mikrobiologická kontrola (monitoring). Monitoring, který proběhl

v roce 2003, byl sestaven zejména na základě výsledků mimořádných kontrolních akcí z minulých let a dále v návaznosti na pokračující trend v rámci koncepce SZPI, kterým je sledování patogenních původců alimentárních infekcí (konkrétně mikroorganismů *Salmonella spp.* a *Listeria monocytogenes*). Do monitoringu bylo zařazeno i sledování výskytu patogenní bakterie rodu *Campylobacter* a bakteriálních toxinů.

V rámci plánované mikrobiologické kontroly bylo odebráno a v mikrobiologických laboratořích SZPI analyzováno 550 vzorků. Z tohoto počtu bylo 111 (20,2 %) vzorků vyhodnoceno jako nevyhovující požadavkům stanoveným pro tolerované hodnoty mikroorganismů v potravinách a u 19 (3,5 %) vzorků bylo zjištěno překročení nejvyšších mezních hodnot, tzn. 19 vzorků bylo hodnoceno jako zdravotně závadné [24].

Obr. 5. Druhovému zastoupení mikroorganismů v nevyhovujících vzorcích potravin (laboratorní rozbor) [24].



Tab. 1. Výsledky kontroly mikrobiologických požadavků v potravinách. Počty nevyhovujících vzorků podle komodit [24].

Komodita	Celkem odebraných vzorků pro kontrolu v laboratořích	Počet nevyhovujících vzorků		Počet zdravotně závadných vzorků z laboratorních rozborů
		Na místě	V laboratoři	
mléčné výrobky	102	47	16	6
drůbež, vejce	21	4	7	2
maso, masné výrobky	79	28	40	7
ryby a vodní živočichové	13	0	1	0
mlýnské a obilné výrobky	48	0	5	0
pekařské výrobky	126	8	10	3
čokoláda a cukrovinky	20	2	0	0
cukrářské výrobky	1048	1	362	54
těstoviny	44	0	7	0
studená kuchyně	804	2	187	13
luštěniny, olej, semena	50	2	6	1
ovoce	287	73	0	0
zelenina	236	74	0	0
houby	68	2	16	6
suché skořápkové plody	39	6	4	0
nealkoholické nápoje	36	0	15	4
ostatní	189	0	8	0
celkem	3210	249	684	96

5 LEGISLATIVNÍ RÁMEC A MONITORING LISTERIÍ V ČR

Státní dozor nad dodržováním povinností stanovených zákonem o potravinách vykonávají orgány ochrany veřejného zdraví, orgány veterinární správy, Státní zemědělská a potravinářská inspekce a Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský.

Ministerstvo zemědělství a Ministerstvo zdravotnictví v rozsahu své působnosti řídí a kontrolují výkon státní správy a monitorování výskytu toxikologicky významných látek v potravinách a surovinách, vykonávané orgány státního dozoru [17].

V rámci kontroly nad bezpečností uváděných potravin do oběhu, při výrobě, zpracování a skladování se zabývá Státní zemědělská a potravinářská inspekce, Krajská veterinární správa a Krajská hygienická stanice.

Dle vymezených kompetencí provádí tyto dozorové orgány kontroly u výrobců a v maloobchodních sítích. Odebírají vzorky do laboratoří pro kontrolu jakosti a zdravotní nezávadnosti na stanovení mikrobiologických kritérií, zejména *L. monocytogenes*. Mikrobiologická kritéria pro *L. monocytogenes* v potravinách jsou stanovena v Nařízení Komise (ES) č. 2073/2005 o mikrobiologických kritériích pro potraviny.

Tab. 2. Kritéria bezpečnosti potravin [19]

Kategorie potravin	Limity		Fáze, na niž se kritérium vztahuje
	m	M	
Potraviny určené k přímé spotřebě pro kojence a potraviny určené k přímé spotřebě pro zvláštní léčebné účely	Nepřítomnost ve 25g		Produkty uvedené na trh během doby údržnosti
Potraviny určené k přímé spotřebě, které podporují růst <i>L. monocytogenes</i> , jiné než pro kojence a pro zvláštní léčebné účely	100 KTJ/g		Produkty uvedené na trh během doby údržnosti
	Nepřítomnost ve 25g		Před tím, než potravina opustí bezprostřední kontrolu provozovatele potravinářského podniku, který ji vyrobil
Potraviny určené k přímé spotřebě, které nepodporují růst <i>L. monocytogenes</i> , jiné než pro kojence a pro zvláštní léčebné účely	100 KTJ/g		Produkty uvedené na trh během doby údržnosti

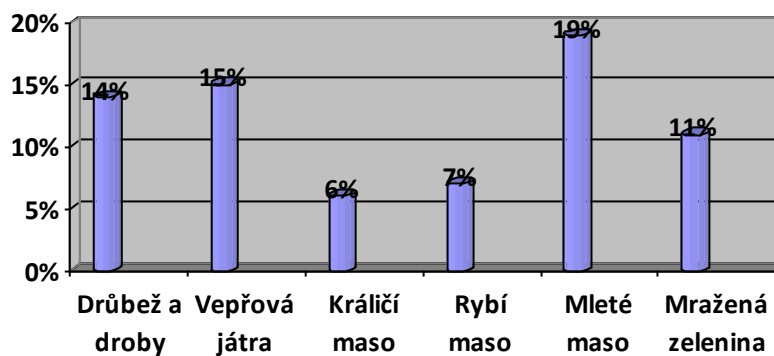
V Nařízení Komise (ES) č. 2073/2005 o mikrobiologických kritériích pro potraviny v příloze 1, kapitoly 1 jsou uvedeny limity pro jednotlivé bakterie.

5.1 Výskyt *L. monocytogenes* v potravinách v tržní síti ČR

V rámci monitoringu Ministerstva zdravotnictví bylo v letech 2004-2009 vyšetřeno 3045 vzorků potravin.

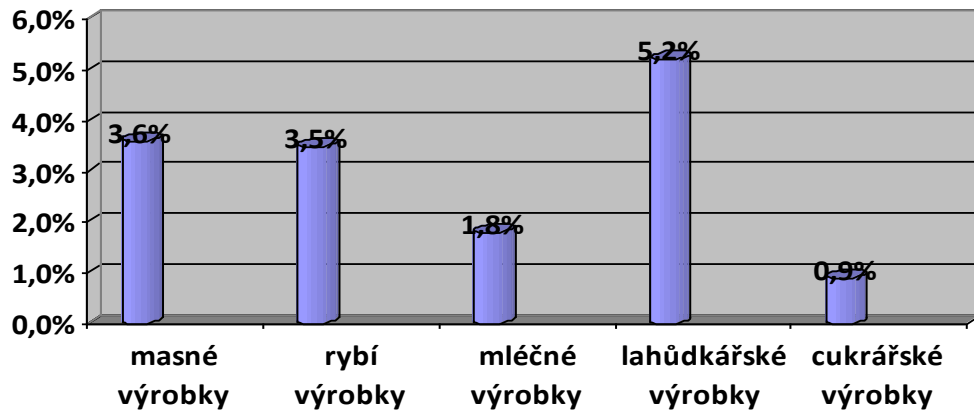
- Potraviny určené k dalšímu zpracování – různé druhy masa (612), mražená zelenina (228)

Potraviny určené k dalšímu zpracování



- Potraviny k přímé spotřebě – masné výrobky (1248), rybí výrobky (144), mléčné výrobky (609), lahůdkářské výrobky (96) [20].

Potraviny k přímé spotřebě



5.2 Listerióza v České republice

Nebývalý výskyt listeriózy v České republice a množství nakažených rozpoutalo vlnu rozruchu. Ministerstvo zdravotnictví okamžitě vyhlásilo akci s cílem najít další kontaminované potraviny. Akce odhalila výskyt listerie především v hermelínových a lahůdkových salátech, v sýrech Baladur, tvarůžkách a dokonce i v sekané. V ČR se po mnoho let stabilně vyskytovalo do 20 případů listeriózy ročně, ovšem v roce 2006 tento počet náhle vzrostl na 78 včetně 14 smrtelných případů z řad seniorů a novorozeneckých dětí. Vysoký výskyt listeriózy v ČR pokračoval i v roce 2007, kdy bylo hlášeno celkem 54 případů a 8 úmrtí. Přibližně třetina všech pacientů udávala konzumaci měkkého zrajícího sýru od stejného výrobce a všechny případy úmrtí způsobil sérotyp 1/2a [21].

Například od června 2008 do března 2009 byl v Jihočeském kraji zaznamenán neobvyklý výskyt listeriových onemocnění. Od 36. KT 2008 do konce roku byly do systému EPIDAT hlášeny 4 případy onemocnění listeriózou. Od začátku roku 2009 do března 2009 bylo pak hlášeno 5 případů onemocnění. Ve všech 9 případech listeriových infekcí, zaznamenaných od června 2008 do března 2009 se jednalo o onemocnění pacientů se základní diagnostikou (onkologickou, neurologickou). V osmi případech z devíti bylo onemocnění způsobeno *Listeria monocytogenes* sérotypu 1/2a pulsotypu 733 a 735.

Na základě šetření a vyplněních dotazníku epidemiologického šetření byly, jako možná vehikula, vytipované tyto potraviny [37]:

- dušená šunka, šunkový salám
- paštiky, Lovecký salám, salám Vysočina
- sýry
- párky
- sušená smetana do kávy

Tab. 3 Onemocnění pacientů v Jihočeském kraji v období 2008 - 2009 [37]

Pacient	Serotyp	Datum odběru	bydliště	EPI DA	DG	Pravděpodobné vehikulum
Žena 1954	½a 733	23.6.2008	Č. Budějovice	36	neoplasma Plicní forma	Šunka, sýry
Muž 1944	½a 733	28.9.2008	Č. Budějovice		novotvar jater	Šunka, sýry
Muž 1945	½a 733	18.12.2008	Č. Budějovice	53	ulcerosní colitis	Krájené paštiky, salám Vysočina
Žena 1942	½a 735	30.12.2008	Č. Budějovice	53	ca mammae	Šunka, sýry
Žena 1960	½a 733	15.1.2009	Ledenice	4	Rizikové těhotenství	Šunka, sýry, ryby, pomazánky
Žena 1948	½a 735	16.1.2009	Č. Krumlov	4	RS mozkomíšní	Sýry, lovecký salám
Žena 1941	½a 735	23.1.2009	Strakonice	7	Nezhoubný novotvar mozku	Paštika, šunka
Žena 1926	½a 733	1.2.2009	Suchdol n. Lužnicí	9	myelodysplasie	Párky, sušené mléko
Muž 1961	½a 748	13.2.2009	Trhové Sviny	9	polyarthritis s postižením plic	sýry

ZÁVĚR

Bakterie rodu *Listeria* žije všude kolem a zdravým lidem obvykle neublíží. Problémy mohou způsobit imunitně oslabeným jedincům. Listerie je poměrně odolná, rozmnožovat se přestává při teplotě pod 2 °C nebo nad 45 °C. Jediný způsob likvidace listerie v potravinách je pasterizace a tepelná úprava až k bodu varu (podobně jako u salmonelózy). [21]

Zájem o listeriózu probouzí nejen ojedinělá onemocnění těhotných a novorozenců s poměrně vysokou úmrtností, ale v poslední době také epidemický výskyt této nákazy a nové poznatky o jejím rozšíření. V ČR je dlouhodobě evidována nízká nemocnost listeriózou u lidí, a to v hodnotách mezi 1–2 onemocněními na 1 milion obyvatel (tj. 0,1 – 0,2 na 100 000 obyvatel). V roce 2006 se nemocnost postupně zvyšovala a v posledním čtvrtletí bylo hlášeno 48 onemocnění. Celkem bylo v roce 2006 zjištěno 80 onemocnění (5x více než v roce 2005) a 7 dalších v lednu 2007.

Všechna onemocnění byla laboratorně potvrzena. V Královéhradeckém kraji byly zaznamenány v roce 2007 (leden – únor) celkem 3 případy této nákazy. Distribuce nemocných podle věku dokumentuje 3 hlavní rizikové skupiny: novorozence, těhotné ženy a osoby vyššího věku s oslabenou imunitou, většinou s velmi závažným základním onemocněním.

Lze konstatovat, že na vysokém výskytu listerióz v ČR v roce 2006 se podílela jednak epidemie po konzumaci kontaminovaného zrajícího sýru dostupného v distribuční síti, jednak nahromadění sporadických případů listeriózy u vysoce rizikových pacientů se sníženou imunitou spojenou s chemoterapií nádorových onemocnění, z nichž někteří mohli onemocnět i po nízkých infekčních dávkách z jiných rizikových skupin potravin [22].

Přítomnost listerií ještě neznamená vždy bezprostřední akutní nebezpečí. Listerie není možno z okolí člověka odstranit. Lze redukovat jejich výskyt v potravinách a snažit se je eliminovat. Je zřejmé, že nákaza z potravin je nejvýznamnější. Riziko listeriózy je zvládnutelné, ale často nezvládané. Proto je velmi důležité učit se žít v prostředí s mikroby s klidem v duši, s důvěrou ve veterinární kontrolu i zodpovědnost výrobců a se střízlivou opatrností k vlastnímu zdraví [22].

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] BLAŽKOVÁ M., KARAMONOVÁ L., FUKAL L., RAUCH P. *Listeria monocytogenes* – nebezpečný patogen a jeho detekce v potravinách *Chemické listy* 99, 2005, 467-473 s
- [2] BEDNÁŘ, M. *Lékařská mikrobiologie, bakteriologie, virologie, parazitologie*, 1. vydání, Nakladatelství Marvil, Praha, 1996.
- [3] ŽIŽKA, B. *Mikrobiologie I, učebnice pro střední průmyslové školy potravinářské*, 1. vydání, Praha, 1992.
- [4] BURDYCHOVÁ, R. *Mikrobiologická analýza potravin*, 1. vydání.; Mendelova zemědělská a lesnická univerzita: Brno, 2007.
- [5] ŠATRÁN, P. *Nákazy zvířat přenosné na člověka a bezpečnost potravin*, 1. vydání, Ústav zemědělských a potravinářských informací: Praha, 2006.
- [6] JIČÍNSKÁ, E. *Metody detekce patogenních mikroorganismů v potravinách*, 1. vydání, Ústav zemědělských a potravinářských informací: Praha, 1996.
- [7] *Sborník ze semináře Mikrobiologie potravin*; Vysoká škola chemicko-technologická: Praha, 2008
- [8] Odborné propagační materiály firmy Merck
- [9]http://cs.wikipedia.org/wiki/Polymer%C3%A1zov%C3%A1_%C5%99et%C4%9Bzov%C3%A1_reakce. (staženo dne 5.2.2011)
- [10]http://www.wikiskripta.eu/index.php/Polymer%C3%A1zov%C3%A1_%C5%99et%C4%9Bzov%C3%A1_reakce. (staženo dne 5.2.2011)
- [11]<http://farmakogenomika.cz/index.php?kapitola=9&podkapm=92>(staženo dne 5.2.2011)
- [12]<http://www.listeriablog.com/uploads/image/Listeria-monocytogenes%282%29.jpg>
(staženo 13.2.2011)
- [13] ČSN EN ISO 11290-1: *Mikrobiologie potravin a krmiv - Horizontální metoda průkazu a stanovení počtu Listeria monocytogenes - Část 1: Metoda průkazu*. ČNI, Praha 1999

- [14] ČSN EN ISO 11290-2: *Mikrobiologie potravin a krmiv - Horizontální metoda průkazu a stanovení počtu Listeria monocytogenes - Část 2: Metoda stanovení počtu.* ČNI, Praha 1999
- [15] Metodiky laboratorních analýz - interní materiály Státního veterinárního ústavu Olomouc
- [16] <http://www.szpi.gov.cz/docDetail.aspx?docid=1000134&docType=ART&nid=11325> (staženo 20.2.2011)
- [17] KOMÁR, A. *Technologie, zbožiznalství a hygiena potravin I. část Potravinářská legislativa a systém jakosti*, 1. vydání, Univerzita obrany: Brno, 2007.
- [18] <http://www.khsusti.cz/php/kousky/aktual/listerioza.htm> (staženo 25.2.2011)
- [19] Nařízení Komise (ES) č. 2073/2005 ze dne 15. listopadu 2005 o mikrobiologických kritériích pro potraviny
- [20] <http://www.mzcr.cz> (staženo dne 20.3.2011)
- [21] JILLICH D., MACHALA L. Listerióza, *Medicína pro praxi* (5) 9, 2008, 299 – 300 s.
- [22] <http://www.khskk.cz/khsdata/epi/clanky/listerioza.pdf> (staženo 20.3.2011)
- [23] http://www.solabia.fr/solabia/produitsDiagnostic.nsf/SW_PROD/CEE12575967E7F4CC125748E002C686F?opendocument&LG=EN& (staženo dne 21.3.2011)
- [24] <http://www.szpi.gov.cz/docDetail.aspx?prn=1&baf=0&nid=11386&doctype=ART&docid=1003444&chnum=2&inqResults=11357> (staženo dne 20.2.2011)
- [25] MALORNY B., TASSIOS P.T., RADSTROM P., COOK N., WAGNER M., HOORFAR J.: Standardization of diagnostic PCR for the detection of fooborne pathogens, *Appl. Environ Microbiol* 83 (1), 2003, 39-48 s.
- [26] LOW J. C., DONACHIE W. A review of *Listeria monocytogenes* and listeriosis. *Vet. J.* 153, 1997, 9-29 s
- [27] VÁZQUEZ-BOLAND J. A., KUHN M., BERCHE P., CHAKRABORTY T., DOMÍNGUEZ-BERNAL G., GOEBEL W., GONZÁLEZ-ZORN B., WEHLAND J., KREFT J. *Listeria* pathogenesis and molecular virulence determinants. *Clin. Microbiol. Rev.* 14, 2001, 584-640 s.

- [28] COOPER J., WALKER R. D.: Listeriosis, *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Prac.* 14, 1998, 113-125 s.
- [29] WINTER P., SCHILCHER F., BAGO Z., SCHODER D., EGERBACGER M., BAUMGARTNER W., AND WAGNER W. Clinical and histopathological aspects of naturally occurring mastitis caused by *Listeria monocytogenes* in cattle and ewes. *J. Vet. Med.* 51, 2004, 176-179 s.
- [30] KOZAK J., BALMER T., BYRNE R., FISHER K. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in foods: incidence in dairy products, *Food Control* 7, 1996, 215-221 s.
- [31] MILLET L., SABUSSEA M., DIDIENNEA R., TESSIERB L., MOTNTELA M. C. Control of *Listeria monocytogenes* in raw-milk cheeses, *Int. J. Food Microbiol.* 108, 2006, 105-114 s.
- [32] VALDRAMIDIS V. P., GEERAERD A. H., GAZE J. E., KONDOYAN A., BOYD A. R., SHAW H. L., VAN IMPE J. F. Quantitative description of *Listeria monocytogenes* inactivation kinetics with temperature and water activity as the influencing factors; model prediction and methodological validation on dynamic data, *J. Food Eng.* 76, 2006, 79-88 s.
- [33] RUDOLF M., SCHERER S. High incidence of *Listeria monocytogenes* in European red smear cheese, *Int. J. Food Microbiol.* 63, 2001, 91-98 s.
- [34] HOLKO I., URBANOVA J., KANTIKOVA M., PASTOROVA K., KMET V. PCR detection of *Listeria monocytogenes* in milk and dairy products and differentiation of suspect isolates, *Acta Veterinaria Brno* 71, 2002, 125-131 s.
- [35] KARPISKOVA K., PEJCHALOVA M., MOKROSOVA J., VYTRASOVA J., SMUHAROVA P., RUPRICH J.: Application of a chromogenic medium and the PCR method for the rapid confirmation of *L. monocytogenes* in foodstuffs. *J. Microbiol. Methods* 41, 2000, 267-271 s.
- [36] BORUCKI M. K.: *L. monocytogenes* serotype identification by PCR. *J. Clin. Microbiol.* 41, 2003, 5537-5540 s.
- [37] LUŇÁČKOVÁ J.: *Neobvyklý výskyt listeriózy v Jihočeském kraji*, 24. Pečenkovy epidemiologické dny 2010, Č. Budějovice (2010)

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

NaCl	Chlorid sodný
NaNO ₂	Dusitan sodný
G+ bakterie	Grampozitivní bakterie
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
PCR	Polymerázová řetězová reakce
SZPI	Státní potravinářská a zemědělská inspekce

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1. Bakterie *Listeria monocytogenes* [12]

Obr. 2. Přehled listeriózy od roku 1965-2006 [18]

Obr. 3. COMPASS® Listeria Agar [23]

Obr. 4. Syntéza řetězce DNA začíná na volném 3'-OH konci primeru. Nově syntetizované vlákno se tvoří podle matrice na základě komplementarity bází. [11]

Obr. 5. Druhovému zastoupení mikroorganismů v nevyhovujících vzorcích potravin (laboratorní rozbor). [24]

SEZNAM TABULEK

Tab. 1. Výsledky kontroly mikrobiologických požadavků v potravinách. Počty nevyhovujících vzorků podle komodit. [24]

Tab. 2. Kritéria bezpečnosti potravin [19]

Tab. 3 Onemocnění pacientů v Jihočeském kraji v období 2008 - 2009 [37]