

**SLOVENSKÁ POĽNOHOSPODÁRSKA UNIVERZITA**  
**V NITRE**  
**FAKULTA BIOTECHNOLÓGIE A POTRAVINÁRSTVA**  
2119237

**VYUŽITIE METÓDY TECRA<sup>®</sup> UNIQUE<sup>™</sup> NA**  
**DIAGNOSTIKU SALMONEL V MÄSE A V MÄSOVÝCH**  
**VÝROBKÁCH**

**2011**

**Bc. Kristína Kovárová**

**SLOVENSKÁ POĽNOHOSPODÁRSKA UNIVERZITA**  
**V NITRE**  
**FAKULTA BIOTECHNOLÓGIE A POTRAVINÁRSTVA**

**VYUŽITIE METÓDY TECRA<sup>®</sup> UNIQUE<sup>™</sup> NA DIAGNOSTIKU**  
**SALMONEL V MÄSE A V MÄSOVÝCH VÝROBKOCH**  
**Diplomová práca**

Študijný program:	Technológia potravín
Študijný odbor:	4170800 Spracovanie poľnohospodárskych produktov
Školiace pracovisko:	Katedra hygieny a bezpečnosti potravín
Školiteľ:	MVDr. Ľubomír Lopašovský, PhD.

**Nitra 2011**

**Bc. Kristína Kovárová**

## Čestné vyhlásenie

Podpísaná Kristína Kovárová vyhlasujem, že som diplomovú prácu na tému „Využitie metódy TECRA<sup>®</sup> UNIQUE<sup>™</sup> na diagnostiku salmonel v mäse a v mäsových výrobkoch“ vypracovala samostatne s použitím uvedenej literatúry.

Som si vedomá zákonných dôsledkov v prípade, ak hore uvedené údaje nie sú pravdivé.

V Nitre 4. 4. 2011

.....

## **Pod'akovanie**

Týmto by som chcela poďakovať vedúcemu práce MVDr. Ľubomírovi Lopašovskému, PhD. za pomoc a odborné rady, usmernenie a podnetné pripomienky, ktoré mi poskytoval pri vypracovaní tejto práce.

Zároveň ďakujem mojej rodine, ktorá ma v mojom štúdiu podporovala a povzbudzovala.

## Abstrakt

Salmonelóza je jedným z najčastejšie sa vyskytujúcich alimentárnych ochorení u ľudí. Rýchla detekcia salmonel umožňuje predchádzať vzniku ochorení z potravín. Počas rokov 2008 a 2009 bola na prítomnosť *Salmonella* sp. vyšetrovaná široká škála mäsa a mäsových výrobkov, pomocou metódy TECRA<sup>®</sup> UNIQUE<sup>™</sup> (rýchla imunologická metóda). Táto metóda je rýchlou a spoľahlivou metódou na detekciu *Salmonella* sp. v potravinách. Zo sto testovaných vzoriek (n = 100) boli tri vyhodnotené ako pozitívne. *Salmonella* sp. bola detegovaná v bravčovej svalovine, tepelne neošetrenom mletom mäse a v domácej klobáse. Žiadna z tepelne opracovaných vzoriek nebola vyhodnotená ako pozitívna.

**Kľúčové slová:** *Salmonella*, salmonelóza, TECRA UNIQUE, alimentárne ochorenia, detekcia baktérií.

## Abstract

Salmonellosis is one of the most frequently reported food-borne illnesses in humans. Rapid detection of *Salmonella* can help prevent food-borne diseases. A wide range of meat and meat products have been examined for the presence of *Salmonella* sp. by means TECRA<sup>®</sup> UNIQUE<sup>™</sup> test (rapid immunoassay) during years 2008 and 2009. This *Salmonella* test is a method for fast and reliable detection of *Salmonella* sp. in food. Three of hundred tested samples (n = 100) were evaluated as positive. *Salmonella* sp. was detected in fresh pork muscle, heat untreated minced meat and homemade sausage. None of heat treated tested products have been evaluated as positive.

**Keywords:** *Salmonella*, salmonellosis, TECRA UNIQUE, foodborne disease, detection of bacteria.

# Obsah

<b>Obsah</b> .....	<b>6</b>
<b>Zoznam ilustrácií</b> .....	<b>8</b>
<b>Zoznam tabuliek</b> .....	<b>9</b>
<b>Zoznam skratiek a značiek</b> .....	<b>10</b>
<b>Úvod</b> .....	<b>11</b>
<b>1 Súčasný stav riešenej problematiky doma a v zahraničí</b> .....	<b>12</b>
1.1 Charakteristika rodu <i>Salmonella</i> sp. ....	12
1.1.1 Taxonómia a nomenklatúra rodu <i>Salmonella</i> .....	13
1.1.2 Antigénna štruktúra .....	14
1.1.3 Prostredie pre rast a rozmnožovanie salmonel .....	14
1.2 Primárne antropogénne salmonely .....	16
1.3 Primárne zoopatogénne salmonely .....	17
1.4 Salmonely v potravinách .....	18
1.5 Interakcia salmonel s hositeľským organizmom .....	20
1.6 Znižovanie počtu salmonel v prvovýrobe .....	23
1.7 Epidemiologická situácia v SR .....	24
1.7.1 Trend výskytu salmonelóz za ostatných 10 rokov .....	24
1.7.2 Proporcia etiologického agens .....	25
1.7.3 Vekovošpecifická chorobnosť .....	26
1.7.4 Sezonalita salmonelóz .....	26
1.7.5 Výskyt salmonelóz podľa okresov za rok 2009 a 2010 .....	27
1.8 Detekcia <i>Salmonella</i> sp. v potravinách .....	29
1.8.1 Klasické kultivačné metódy .....	29
1.8.2 Alternatívne metódy .....	30
1.8.2.1 Metóda PCR .....	30
1.8.2.2 Imunologické metódy, ELISA .....	31
<b>2 Cieľ práce</b> .....	<b>32</b>
<b>3 Metodika práce a metódy skúmania</b> .....	<b>33</b>

3.1 TECRA® UNIQUE™ <i>Salmonella</i> test .....	33
3.1.1 Materiál potrebný na vykonanie testu .....	34
3.1.2 Pomnožovanie vzorky .....	35
3.1.3 Vykonanie testu .....	37
3.1.4 Likvidácia odpadu .....	39
<b>4 Výsledky a diskusia .....</b>	<b>40</b>
<b>Záver .....</b>	<b>51</b>
<b>Zoznam použitej literatúry .....</b>	<b>52</b>

## Zoznam ilustrácií

Obr. 1 Trend výskytu salmonelóz za 10 rokov (URL 3) .....	25
Obr. 2 Proporcia etiologického agens za rok 2010 (URL 3) .....	25
Obr. 3 Vekovošpecifická chorobnosť za rok 2010 (URL 3) .....	26
Obr. 4 Sezonalita za rok 2010 (URL 3) .....	27
Obr. 5 Výskyt salmonelóz podľa okresov za rok 2009 (URL 3) .....	28
Obr. 6 Výskyt salmonelóz podľa okresov za rok 2010 (URL 3) .....	28
Obr. 7 TECRA <sup>®</sup> UNIQUE <sup>™</sup> <i>Salmonella</i> test (výrobca) .....	35



## **Zoznam tabuliek**

Tab. 1 Pomnožovanie vzoriek (výrobca) .....	36
Tab. 2 Inkubačné podmienky testu (výrobca) .....	38
Tab. 3 Mikrobiologické vyšetrenie mäsa a mäsových výrobkov .....	43
Tab. 4 Kritériá bezpečnosti potravín (ES č. 1441/2007) .....	49

## Zoznam skratiek a značiek

<b>AOAC</b>	(Association of Analytical Communitie) – Asociácia oficiálnych analytických chemikov
<b>DNA</b>	kyselina deoxyribonukleová
<b>ELISA</b>	(Enzyme – linked immunosorbent assay) – enzýmová imunoadsorbentová analýza
<b>FAO</b>	(Food and Agriculture Organization) – Organizácia OSN pre výživu a poľnohospodárstvo
<b>HACCP</b>	(Hazard Analysis and Critical Control Points) – analýza nebezpečenstiev a kontrola kritických bodov
<b>JM</b>	jatočné mäso
<b>KTJ</b>	(= CFU) – kolónia tvoriaca jednotku
<b>MMV</b>	mäkký mäsový výrobok
<b>MPPV</b>	modifikovaná pufrovaná peptónová voda
<b>PCR</b>	(Polymerase Chain Reaction) – polymerázová reťazová reakcia
<b>PMV</b>	pečený mäsový výrobok
<b>TOSM</b>	tepelne opracované solené mäso
<b>TOŠ</b>	tepelne opracované šunky
<b>TTOMV</b>	trvanlivý tepelne opracovaný mäsový výrobok
<b>TTNMV</b>	trvanlivý tepelne neopracovaný mäsový výrobok
<b>USDA-FSIS</b>	(The Food Safety and Inspection Service) – Služba potravinovej bezpečnosti a inšpekcie (USA)
<b>VM</b>	výrobné mäso
<b>VMV</b>	varený mäsový výrobok
<b>WHO</b>	(World Health Organization) – Svetová zdravotnícka organizácia
<b>ZES</b>	Zollinger– Ellisonov syndróm

## Úvod

Baktérie rodu *Salmonella* sp. sú pôvodcami alimentárneho ochorenia salmonelózy, ktoré vzniká najčastejšie po konzumácii kontaminovaných potravín. Najrizikovejšími potravinami, ktoré svojím zložením umožňujú rozmnožovanie salmonel, sú surové a tepelne nedostatočne opracované mäsa, bravčové, hovädzie alebo hydinové, ale aj suroviny a produkty živočíšneho pôvodu ako vajcia, zmrzlina, mlieko a majonézy. Najmä surové živočíšne produkty sú primárnym zdrojom infekcií, preto sú zavedené programy na monitorovanie salmonel na bitúnkoch a v chovoch. Salmonely sú tiež prenášané kontaminovanou vodou a infikovanými živočíchmi.

Aj keď výskyt salmonel v SR za posledných desať rokov má klesajúcu tendenciu, v EÚ salmonely spôsobujú viac ako 35 % zo všetkých alimentárnych ochorení, pričom klesá výskyt sérotypu *S. Enteritidis* a zvyšuje sa výskyt sérotypu *S. Typhimurium*.

Dôležité je nielen vykonávať kontrolu a dodržiavať hygienické požiadavky počas celého výrobného procesu, skladovania, manipulovania s potravinami a ich umiestňovania na trh, ale rovnako dôležité je sledovať kvalitu vstupných surovín, ktorá začína už u prvovýrobcu (zdravý chov, technológia chovu, hygiena chovu). Uplatňovanie všetkých zásad, požiadaviek a hygieny pri zabíjaní hospodárskych zvierat na bitúnkoch, vedie k získaniu mikrobiologicky kvalitnej suroviny.

Z tohto dôvodu sa uplatňujú v kontrole technologického procesu a finálnej potraviny rýchle metódy, ktoré vyžadujú kratší čas získavania výsledkov, nenáročnosť na laboratórne vybavenie a vykonanie testov, pri analytických parametroch porovnateľných so štandardnými kultivačnými metódami. Takou metódou je aj TECRA<sup>®</sup> UNIQUE<sup>™</sup> *Salmonella* test, ktorá umožňuje získať výsledky do 22 hodín v porovnaní s horizontálnou metódou STN ISO 6579:2004, ktorá vyžaduje na získanie výsledkov 5 – 7 dní. Keďže TECRA<sup>®</sup> UNIQUE<sup>™</sup> *Salmonella* test je screeningová imunologická metóda je potrebné výsledky potvrdiť štandardnou kultivačnou metódou.

# 1 Súčasný stav riešenej problematiky doma a v zahraničí

## 1.1 Charakteristika rodu *Salmonella*

*Salmonella* sp. sú tyčinkovité (1 x 2 µm) baktérie zaradené do čeľade *Enterobacteriaceae*, zväčša pohyblivé, nesporulujúce, schopné fermentovať glukózu, schopné intracelulárneho prežívania (Mastroeni et al. 2001; Dworkin a Falklow, 2006; Bhunia, 2008). Pohybujú sa pomocou peritrichálnych bičkov. Výnimkou sú *Salmonella enterica* sérotyp Gallinarum a *Salmonella enterica* sérotyp Pullorum. Tie sú aj napriek tomu, že majú v genóme prítomné gény pre syntézu bičkov nepohyblivé (Uzzau et al., 2000). Salmonely sú chemoorganotrofné baktérie. Metabolizmus majú ako respiračného, tak fermentatívneho typu. Fermentujú D – glukózu za produkcie kyselín a plynu. Neskvasujú laktózu a sacharózu. Ako zdroj uhlíka využívajú zväčša citrát. Salmonely sú oxidáza pozitívne a reduktáza negatívne, produkujú sírovodík, redukujú nitrát, ale nehydrolyzujú močovinu (Bergey a Holt, 1994 ; Popoff a Le Minor, 2001).

*Salmonella* sp. primárne prežíva v tráviacom systéme živočíchov (ľudí, vtákov, divých zvierat, hmyzu a pod.) a mnoho ľudí je permanentným, často asymptomatickým, prenášačom (Tauxe, 1991). V tele teplokrvných živočíchov je zvyčajne detegovaná *S. enterica* subsp. *enterica*, kým všetky ostatné poddruhy *S. enterica* a *S. bongori* prežívajú v chladnokrvných živočíchoch a iba zriedka infikujú ľudí (Dworkin a Falklow, 2006). Rod *Salmonella* sp. zahŕňa viac ako 2600 rôznych sérotypov gramnegatívnych fakultatívne anaeróbných baktérií (Cary et al., 1999). Väčšina sérotypov rodu *Salmonella* sp. sú ubikvitárne a zapríčiňujú ochorenia u širokej škály hostiteľov (Janda a Abbott, 2006).

### 1.1.1 Taxonómia a nomenklatúra rodu *Salmonella*

Prvýkrát bola *Salmonella* sp. izolovaná v roku 1885 z ošipaných Danielom E. Salomonom a bola označená ako *Bacterium choleraesuis* (dnes známa ako *S. enterica* serovar Choleraesuis) (Bhunja, 2008). Nomenklatúra rodu *Salmonella* až dodnes prechádza ustavičnými zmenami a môže byť zmätočná (Dworkin a Falklow, 2006).

Molekulárno – biologickými metódami sa zistilo, že jednotlivé sérotypy medzi sebou dosahujú homológiu 16S rRNA a prevozných génov 96 – 98 % a sú si teda veľmi podobné. Nejedná sa ale o samostatné druhy, ako sa doteraz predpokladalo (Macela et al., 2006). Pre porovnanie genetická príbuznosť *Escherichia coli* a *Salmonella* sp. je okolo 60 – 70 % (URL 2).

Pôvodné názvoslovie však nebolo založené na príbuznosti DNA, ale názvy druhov vychádzali z klinických prejavov, napr. *Salmonella typhi*, *Salmonella choleraesuis*. Po objavení sérologických analýz boli salmonely v roku 1946 zaradené do Kauffmann – Whiteovej schémy, z čoho rezultovalo, že jednotlivé sérotypy boli považované za druhy. Neskôr boli názvy odvodzované od miesta, kde bol prvýkrát izolovaný kmeň novoobjaveného sérotypu, napr. *Salmonella london*, *Salmonella panama* (Todar, 2008). Kauffmann – Whiteová schéma rozdeľuje druhy salmonel na základe sérologického identifikačného somatického (O – antigén) a flagelárneho antigénu (H – antigén). Antigénne vyjadrenie sérovarov salmonel definuje Svetová zdravotnícka organizácia (WHO), konkrétne Referenčné výskumné centrum pre salmonely v Pasteurovom inštitúte v Paríži (WHO Collaborating Centre). Nové sérovary sú uvádzané vo výročných aktualizáciách Kaufmann – Whiteovej schémy (Brenner et al., 2000).

V roku 2005 Medzinárodná komisia pre systematiku prokaryotov publikovala stanovisko, v ktorom oficiálne uznáva dva rody *Salmonella bongori* a *Salmonella enterica*, pričom *Salmonella enterica* obsahuje šesť poddruhov: *enterica* (I), *salamae* (II), *arizonae* (IIIa), *diarizonae* (IIIb), *houtenae* (IV) a *indica* (VI) (Janda a Abbott, 2006). Sérotypy druhu *Salmonella enterica*, ako napr. Typhimurium, by mali byť uvádzané ako *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sérotyp Typhimurium. Z dôvodu stručnosti a jasnosti sa môže uviesť aj ako *Salmonella* sérotyp Typhimurium alebo *Salmonella* Typhimurium, pričom meno sérotypu sa uvádza s veľkým písmenom, avšak nie kurzívou (Dworkin a Falklow, 2006). Shelobolina et al. (2004) na základe analýzy

sekvencie 16S rDNA charakterizujú aj tretí druh *Salmonella subterranea*. Novopopísaný druh je na základe analýzy sekvencie 16S rDNA podobný so *S. bongori* na 96,4 % a s *Enterobacter cloacae* na 96,3 %.

### 1.1.2 Antigénna štruktúra

Jednotlivé sérotypy sú založené na rôznej štruktúre O antigénu (termostabilný, somatický), H antigénu (termolabilný, bičíkový) a Vi antigénu (kapsulárny) (**Dworkin a Falklow, 2006**). Bičíkový H antigén je proteínovej povahy a je termolabilný. Vyskytovať sa môže v dvoch fázach, vzájomne sa líšiacich primárnou bielkovinovou štruktúrou. Prvá fáza je špecifická pre rôzne sérotypy, druhá je nešpecifická a je spoločná pre mnohé sérotypy (**Matiasovicova et al., 2007**). Väčšina salmonel je schopná exprimovať dva sérologicky odlišné bičíkové antigény (bifázické) (**Burnens et al. 1996**). O – antigén salmonel je polysacharidovej povahy a je jedným z hlavných komponentov povrchu buniek. Jeho syntéza je kódovaná väčším počtom génov (**Lee et al., 1992**). Tretím antigénom, ktorý sa u tohto rodu baktérií rozlišuje, je kapsulárny Vi antigén. Tento antigén má polysacharidovú povahu a je zodpovedný za virulenciu. Vyskytuje sa však iba u *S. Typhi* a niekoľkých iných sérovarov, ako napríklad u *S. Dublin* a *S. Hirschfeldii* (**Hashimoto et al., 1993**).

### 1.1.3 Prostredie pre rast a rozmnožovanie salmonel

Salmonely dokážu rásť enormne rýchlo a prežívať aj v podmienkach, ktoré nie sú pre iné mikroorganizmy ani len hraničnými. Z tohto dôvodu sa dokážu množiť aj mimo hostiteľa, napríklad v potravinách. Najrýchlejšie rastú pri teplote 35 – 37 °C. Teploty dosahujúce záporných hodnôt ich ale neusmrcujú na rozdiel od teploty blížiacej sa k 70 °C (**Macela et al. 2006; El – Gazzar a Marth, 1992; Bhunia, 2008**). Celkovo dokážu vegetovať v širokej škále teplôt (8 – 45 °C). Taktiež sušenie či zmrazovanie potravín negarantuje, že sa v nich nebudú nachádzať živé salmonely. Napríklad 20 % buniek *Salmonella* sérotyp Typhimurium možno zotaviť po deväťmesačnom zmrazení pri teplote – 25 °C (**Janda a Abbott, 2006**). **Bóna (2000)** uvádza, že rozmnožovanie

salmonel prestáva pri teplote 4 °C, ale prežívajú aj v mrazených potravinách. **Cabadaj et al., (1995)** poukazuje na to, že v potravinárskom priemysle používané mraziarenské teploty nie sú schopné salmonely devitalizovať. Napr. *Salmonella* Typhimurium v zmrazenom kréme prežíva pri teplote – 23 °C šesť rokov a *Salmonella* Enteritidis až sedem rokov. Salmonely, aj keď patria medzi mezofilné patogény viazané predovšetkým na teplokrvné živočíchy, sú veľmi adaptabilné na podmienky vonkajšieho prostredia. Dlhodobo prežívajú v sušených potravinách a soľ, dusičnany, dusitany, ani kyselina askorbová v technologicky použiteľných koncentráciách nemajú na ich devitalizáciu žiadny vplyv (**Golian, 1998**). Patogén sa prostredníctvom výkalov živočíchov môže dostať aj do prostredia – vody, kde môže prežiť niekoľko týždňov, či pôdy, kde môže prežiť aj niekoľko rokov a môže takto tvoriť rezervoár infekcie (**Janda a Abbott, 2006**).

Pre rast salmonel je dôležitý i dostatok vody. Sušenie potravín len zastavuje ich rastovú aktivitu a umožňuje ich prežitie. Tak napr. salmonely v sušených výrobkoch môžu prežívať niekoľko týždňov, ale nerozmnožujú sa, kým sa nezvýši obsah vody v požívatine umožňujúci ich rozmnožovanie (**Bóna, 2000**). Laboratórnymi experimentmi americkí vedci testovali limity rastu *Salmonella* Typhimurium. Boli zistené minimálne hodnoty pH a vodnej aktivity, ktoré umožnili rast (pH 3,94,  $a_w$  0,942 pri teplote 25 – 35 °C). Pri teplotách nižších ako tento rozsah, minimálna hodnota pH a vodnej aktivity narastala so znižujúcou sa teplotou (**Koutsoumanis et al., 2004**). Bolo tiež zistené, že *Salmonella enterica* sérotyp Typhimurium dokáže získať väčšiu rezistenciu voči nízkemu pH a pravdepodobne aj voči iným negatívnym faktorom, ak je vystavená relatívne miernej kyslosti predtým, než sa podrobí koncentrovanejšiemu kyslému prostrediu. Rezistencia bola dokázaná napr. v jablkovom, pomarančovom i grapefruitovom džúse. Pasterizácia aplikovaná na tieto džúsy však zabezpečí termickú inaktiváciu baktérií bez ohľadu na zvýšenú rezistenciu voči kyselinám (**Mazzota, 2001**). **Cabadaj et al., (1995)** uvádzajú, že hodnoty pH 4,5 – 5,5 pôsobia na salmonely bakteriostaticky. Hodnoty pH 4 a nižšie sa považujú za baktericídne. Podľa **Bhunja (2008)** dokážu tieto baktérie rásť tiež pri pH 9,4.

Pri skúmaní rezistencie voči antibiotikám, u salmonel izolovaných z hydiny, hovädzieho dobytku a ošípaných, bola zaznamenaná rezistencia voči tetracyklínu, amplicínu, streptomycínu, sulfónamidom a enrofloxacínu. Vyššia rezistencia bola pozorovaná pri *Salmonella enterica* sérotyp Typhimurium. Predpokladá sa, že rovnakú mieru rezistencie prejavuje tento patogén aj u človeka (**European Commision, 2000**).

## 1.2 Primárne antropogénne salmonely

Pôvodcami salmonelóz bývajú netyfoidné salmonely, ktoré môžu spôsobovať gastroenteritídu, bakteriémiu alebo fokálnu infekciu (chronickú infekciu v oblasti mandlí). Viac ako 95 % infekcií netyfoidnými salmonelami pritom pochádza z potravín. Najčastejšie sa infekcia netyfoidnými salmonelami prejavuje ako gastroenteritída, prebiehajúca u väčšiny pacientov miene až asymptomaticky. Symptómy objavujúce sa po 24 – 78 hodinách po požití kontaminovanej vody alebo potravy sú horúčka, zvýšená teplota, hnačka a kŕče v oblasti brucha. Závažnosť ochorenia a doba, kým sa prejavia príznaky, závisia od infekčnej dávky. U menej ako 5 % jedincov môže byť hnačka komplikovaná bakteriémiou. Spravidla pritom ide o ľudí nad 50 rokov (**Darby a Sheorey, 2008**).

U ľudí a teplotokrvných živočíchov je zvyčajne izolovaná *Salmonella enterica* subsp. *enterica* (**Maza et al., 2004**). Niektoré sérotypy sú primárne patogénne pre človeka a môžu vyvolať ochorenie nazývané týfus a paratýfus. Súhrnne sa takéto salmonely označujú ako primárne antropopatógenne. Všetky patria do prvého druhu *S. enterica* a väčšinou všetky do poddruhu *S. enterica* ssp. *enterica*. Napríklad kmene sérotypu Typhi, Paratyphi A, Paratyphi B a Paratyphi C sú pôvodcami týfusu, resp. paratýfusu. Antigénna štruktúra *S. Typhi* je tvorená O antigénmi typu 9 a 12 a H antigénom typu d. Po penetrácii do črevnej sliznice začína inkubačná doba dlhá desať až štrnásť dní. Pri nej sa pôvodcovia rozmnožujú v mezenterických lymfatických uzlinách (**Baumler et al., 1998**). Týfus sa vyskytuje stále najviac v rozvojových krajinách Afriky, Južnej a Strednej Ameriky a v Indii (**Threlfall, 2002**). Tiež v rozvinutých krajinách spôsobujú baktérie rodu *Salmonella* veľké problémy. V EÚ sú salmonely zodpovedné za viac ako 35 % zo všetkých alimentárnych ochorení. V USA vyvolajú ročne až 1 300 000 ochorení, z ktorých je 556 smrteľných (**Nestle, 2003**). **Kingsley a Baumler, 2002** konštatujú, že v etiológii salmonelových ochorení u ľudí sa uplatňujú spravidla najmä *S. Enteritidis* a *S. Typhimurium*. Ostatné sérovary *S. enterica* subsp. *enterica*, sérovary ostatných poddruhov a druh *S. bongori* sa u ľudí vyskytujú iba veľmi vzácne. **Boyen et al. (2008)** uvádzajú, že v ostatnom období nastali rapídne zmeny v epidemiologickej situácii v rámci EÚ. Poukazujú na nárast netyfoidných infekcií u ľudí a konštatujú, že doposiaľ dominujúci sérovar *S. Enteritidis* (v 90 rokoch) je značne nahrádzaný sérovarom *S. Typhimurium*. Z ošípaných bývajú pritom izolované



rovnaké *S. Typhimurium* ako sa vyskytujú u ľudí, z čoho vyplýva pravdepodobnosť, že ošípané sú najvýznamnejším pôvodcom infekcií u ľudí. **Alcaine et al. (2007)** navyše upozorňujú, že sa sérovar *S. Typhimurium* stáva odolnejším voči väčšine antibiotík.

Počet úmrtí spojených s alimentárnymi infekciami je vysoký. Najviac sú postihované deti. Priemerný počet úmrtí ročne u detí do päť rokov sú 3 milióny (**Casburn – Jones a Farthing, 2004**). Podľa **URL 4 (2000)** takýto vysoký počet úmrtí je nerovnomerne rozdelený. Vo vyspelých krajinách je úmrtnosť detí do päť rokov v priemere 0 – 1 %, oproti rozvojovým krajinám s úmrtnosťou 15 – 20 % .

Salmonelózy sú u ľudí najčastejšie spôsobované konzumáciou potravín. *Salmonella* sp. pritom môže byť izolovaná takmer zo všetkých potravín – z mäsa (hydinového, bravčového, hovädzieho) a tiež zo surového mlieka a vajec, ktoré sú podľa **Janda a Abbott (2006)** hlavným zdrojom nákazy.

### 1.3 Primárne zoopatogénne salmonely

**Rhen (2007)** rozdeľuje sérovary Serovary *S. enterica* subsp. *enterica* podľa hostiteľskej špecificity na tri skupiny:

1. hostiteľsky špecifické sérovary, vždy asociované so systémovými ochoreniami jedincov, ako napr. *S. Typhi* u ľudí,
2. hostiteľsky obmedzené sérovary, spôsobujúce infekcie jedného hostiteľa, ale sú zároveň schopné infikovať aj iné druhy,
3. nešpecifické sérovary, schopné spôsobiť ochorenia u širokej škály hostiteľov nako napr. *S. Typhimurium* a *S. Enteritidis*.

Z domácich zvierat sú možnými nositeľmi salmonel králiky, vtáky, fretky, hlodavce, mačky, korytnačky, hady či akváriové rybičky. Ďalej bývajú salmonely prítomné aj v tráviacej sústave hmyzu (**Janda a Abbott, 2006; Bhunia, 2008**). Kým napríklad morčatá sú veľmi náchylné na infekciu a majú vysokú úmrtnosť, u mačiek a potkanov sa infekcia dlho navonok neprejavuje. Korytnačky a plazy sú veľmi často bezpríznakoví prenášači salmonel (**Janda a Abbott, 2006**). Hlavným zdrojom salmonelóz u ľudí je hydina, z dôvodu značnej intenzifikácii chovov (**Bhunias, 2008**). *Salmonella enterica* subsp. *enterica* osídľuje intestinálny systém teplokrvných

živočíchov, kým všetky ostatné poddruhy *S. enterica* a druh *S. bongori* sú komenzáli studenokrvných živočíchov a sú iba zriedkavým pôvodcom alimentárnych ochorení u ľudí (**Dworkin a Falklow, 2006**). Určité sérotypy *Salmonella enterica* sú obmedzené iba na jeden druh hostiteľa – Typhi, Paratyphi a, b, c, Sendai spôsobujú choroby u ľudí, Pullorum / Gallinarum u hydiny, Dublin u hovädzieho dobytku, Choleraesuis u ošípaných, Abortusovis u oviec a Abortusequi u koní. Dublin a Choleraesuis sa môžu prejavovať aj na zdraví ľudí, aj keď len ojedinele (**Cary et al., 1999**).

## 1.4 Salmonely v potravinách

Cesty vstupu salmonel do potravinového reťazca, platné pre všetky suroviny a potraviny živočíšneho pôvodu, sú nasledovné:

1. intravitálna infekcia jatočných a iných zvierat,
2. krížová kontaminácia surovín a potravín v priebehu spracovania,
3. sekundárna kontaminácia hotových výrobkov,
4. rozmnoženie salmonel v priebehu spracovania, manipulácie a uchovávanía potravín (**Golian, 1998**).

Nedávne štúdie zvierat po zabití potvrdzujú predpoklad, že surové živočíšne produkty sú primárnym zdrojom infekcií (**Janda a Abbott, 2006**). Pri nedodržiavaní technologických postupov a hygienických predpisov na bitúnkoch môžu byť ďalšie suroviny kontaminované salmonelami. Aj z tohto dôvodu boli zavedené programy na monitorovanie salmonel a špecifických protilátok na bitúnkoch a v chovoch (**Šišák et al., 2005**). **Tančinová et al. (2005)** uvádzajú, že prenos salmonel na človeka sa uskutočňuje prevažne potravinami (výnimočne kontaktom). Pri štúdiu uskutočnenej v štátoch EÚ bolo vyšetrených 297 vzoriek mletého mäsa (bravčového a hovädzieho), pričom *Salmonella* sp. bola detegovaná až v 47 vzorkách (15,8 %) (**Stock a Stolle, 2001**). Práve kontaminácia mletého mäsa salmonelami je považovaná za hlavný problém v hygiene potravín. **Golian (1998)** za rizikové považuje tiež výrobky z rybieho mäsa, ktoré pochádzajú z rýb ulovených v infikovaných vodách. Častou príčinou salmonelózy je podľa neho tiež sušené mlieko a opatrnosť odporúča venovať aj konzumácii vajec a výrobkov z nich, ako sú šaláty a majonézy.

Väčšina z hlásených mikrobiologických nedostatkov potravín bola zapríčinená baktériou *Salmonella* sp. Bol zaznamenaný výskyt najmä v mäse a to najmä v bravčovom mäse a v mäsových výrobkoch (klobásach, párkoch) (**Büchlerová a Jacková, 2008**).

**Buck et al. (2003)** tiež upozorňujú na stále sa zvyšujúci význam potravín rastlinného pôvodu, ako zdroja salmonelovej infekcie. **Brandl a Amundson (2008)** napríklad označujú hlávkový šalát (*Lactuca sativa*) ako častý zdroj infekcií druhmi *Salmonella enterica* či *Escherichia coli*. Zistili, že tieto patogénne baktérie dokážu prežívať na listoch pri optimálnom množstve vody, pričom ich väčšie zastúpenie detegovali najmä na mladších listoch. Dávajú to do súvisu s vyšším obsahom dusíka a uhlíka v nich, kde prítomná voda je vhodným rozpúšťadlom pre tieto látky. Zo správy **EFSA (2011)** vyplýva, že salmonely boli najčastejšie detegované v brojleroch, morkách a bravčovom mäse. Zriedka boli detegované v mliečnych produktoch, ovocí a zelenine. Boli ale zaznamenané vyššie úrovne kontaminácie v klíčkoch, korení a koreninách (bylinkách).

**WHO a FAO (2002)** poukazujú na to, že sa sérotyp *Salmonella* Enteritidis vyčlenil ako hlavný pôvodca salmonelových ochorení u ľudí a to najmä z dôvodu jeho schopnosti kolonizovať vaječné tkanivá a byť tak prítomný i vo vnútri nepoškodených vajec. Zo štatistických údajov vyplýva, že vajcia obsahujú až v troch percentách salmonely. Tieto sú kontaminované od nosníc. Salmonely môžu byť prítomné v celom vaječnom obsahu (v bielku aj v žĺtku). Nakoľko bielok obsahuje bakteriostatickú látku lyzozým, salmonely v ňom po niekoľkých dňoch hynú a ostávajú iba v žĺtku. Keby sa takýto žĺtok, alebo i celé vajce, použilo na prípravu pokrmu, a pritom by nebolo dostatočne tepelne upravené, mohli by konzumenti ochoriť na salmonelózu. Z dôvodu prevencie vydal hlavný hygienik SR zákaz používania nedostatočne tepelne ošetrených vajec na prípravu pokrmov v zariadeniach spoločného stravovania, v školskom stravovaní, v závodnom, ústavnom a nemocničnom stravovaní (**Bóna, 2000**). Agentúra **USDA – FSIS (1998)** vo svojej správe uvádza, že z priemernej ročnej produkcie v USA 46,8 miliónov vajec je až 2,3 milióna obsahujúcich *Salmonella* Enteritidis. Konzumácia týchto vajec rezultuje v priemere v 661 633 alimentárnych ochorení, pričom približne 94 % postihnutých sa vylieči bez návštevy lekára, 5 % navštívi všeobecného lekára, 0,5 % je hospitalizovaných a 0,05 % prípadov sa končí smrťou. Ako odpoveď na rady expertov členských krajín, **WHO, FAO (2002)** v tejto otázke zdôrazňujú tieto medzinárodné organizácie úlohu posudzovania rizík salmonel vo vajciach

a brojlerových kurčatách. Ako príklad efektívnych opatrení posudzovania rizík uvádzajú program testovania vajec. Posudzované boli dva protokoly. Prvý – testovanie raz na začiatku produkcie, druhý – testovanie trikrát, a to na začiatku produkcie, následne po štyroch mesiacoch a pred likvidáciou kŕdľa. Pri testovaní raz za rok počas štvorročného obdobia bolo zredukované riziko nakazenia ľudí z kontaminovaných škrupín o viac ako 70 %, pri testovaní trikrát za rok až o viac ako 90 %.

**Hui (2006)** uvádza, že v syroch sa *Salmonella* sp. veľmi nerozmnožuje, keďže je značne citlivá na vyššie teploty a slané prostredie. Napriek tomu je potrebná prevencia, najmä pasterizácia mlieka, a zachovanie správnej výrobnjej praxe.

## 1.5 Interakcia salmonel s hosťiteľským organizmom

Na základe adaptácie na určitú skupinu hosťiteľov možno sérotypy *Salmonella* sp. rozdeliť do 3 skupín:

1. Sérotypy, ktoré sa vyskytujú len u ľudí, napr. *Salmonella* sérotyp Paratyphi, *Salmonella* sérotyp Typhi. Väčšinou bývajú do hospodársky vyspelých štátov prinesené cestovným ruchom zo zámoria z krajín s nízkym hygienickým štandardom.
2. Sérotypy primárne sa vyskytujúce u zvierat. U ľudí dochádza k alimentárnej infekcii požitím kontaminovanej potraviny živočíšneho pôvodu. Najčastejší zástupcovia sú *Salmonella* sérotyp Typhimurium a *Salmonella* sérotyp Enteritidis.
3. Sérotypy, ktoré sú patogénne len pre určitý druh zvierat, no u ľudí nie sú schopné vyvolať ochorenie, napr. *Salmonella* sérotyp Pullorum u hydiny (**Rosický a Sixl, 1994**).

Prejavy ochorenia spôsobované hosťiteľsky nešpecifickými sérotypmi závisia od hosťiteľského organizmu. Infekcia sérotypmi *Salmonella* Enteritidis a *Salmonella* Typhimurium prebieha u hydiny bez klinických príznakov aj napriek tomu, že tieto účinne kolonizujú črevný systém, a dokonca sú schopné preniknúť do pečene a sleziny. Infekcia totožnými sérotypmi ale spôsobí u ľudí najčastejšie akútnu gastroenteritídu. Kmene hosťiteľsky nešpecifických sérotypov salmonel sa často prenášajú zo zvieracích hosťiteľov na človeka a sú preto označované ako zoonotická agens. K infikovaniu ľudí

dochádza najčastejšie infikovanými potravinami či vodou. K nákaze priamym kontaktom medzi ľuďmi dochádza iba vo výnimočných prípadoch. Nešpecifické kmene salmonel sa vyskytujú v odpadovej, riečnej či morskej vode. Takto kontaminovaná voda môže spôsobovať sekundárnu kontamináciu potravín, čo má často za následok, napr. ochorenie spôsobené požitím tepelne neopracovanej zeleniny (**Carattoli, 2003**).

Salmonela prechádza po požití gastrointestinálnym systémom, až k miestu svojho pôsobenia, ktorým je tenké črevo, presnejšie Peyerové plaky. Peyerovými plakmi rozumieme systém lymfatických uzlín v tenkom čreve (**Macela et al., 2006**). Po prejdení salmonel žalúdkom, dochádza k ich prichyteniu na bunky črevného epitelu. V tomto procese hrajú dôležitú úlohu fimbrie, ktoré uľahčujú prvotné pripojenie salmonel na konkrétnu hostiteľskú bunku alebo tkanivo. Epitelové bunky črevného systému však nemajú iba funkciu resorpcie živín, ale sú i významným iniciátorom vrodenej imunitnej odpovedi na infekcie patogénnymi mikroorganizmami, vrátane salmonel. Špecializované epitelové bunky môžu produkovať peptidy s antimikrobiálnym účinkom. Stretnutie salmonel a epitelovej bunky vedie tiež k uvoľneniu protizápalových cytokynínov, ktoré priťahujú bunky vrodeneho imunitného systému do miesta infekcie. Infiltrované bunky vrodeneho imunitného systému, najmä neutrofilné granulocyt a makrofágy tvoria prvú obrannú líniu. Neutrofilné granulocyt sú schopné pohltiť, nešpecificky zabiť patogénne baktérie a vyvolať škálu ďalších imunitných reakcií (**Berndt et al., 2007**).

**Carter a Collins (1974)** skúmali prežívanie salmonel v jednotlivých orgánoch pri experimentálnych infekciách myši. Zistili že kyslý stres v žalúdku neprežilo 99 % pôvodného inokula. Detergentný stres a konkurencia s ostatnou mikroflórou v tenkom čreve malo za následok, že 5 % baktérií z distálnej časti čreva prestúpilo cez stenu tenkého čreva do organizmu. V hrubom čreve majú baktérie optimálne podmienky a 80 % buniek prichádzajúcich zo žalúdka bolo po 6 – 10 hodinách vylúčených stolicou.

Salmonely ako črevné parazity musia v hostiteľovi zvädzať boj s pôvodným osídlením čreva, teda s hostiteľskou črevnou mikroflórou. Akým spôsobom dokáže patogén premôcť obranné správanie mikroflóry, zostáva zatiaľ neobjasnené, ale posledné štúdie ukazujú, že salmonely dokážu využiť vo svoj prospech zápal, ktorý v hostiteľskom organizme indukujú. Týmto zápalom dôjde k narušeniu vyváženosti pôvodného črevného osídlenia, čo otvára cestu patogénom a následne infekcii. Tento krok výrazne uľahčuje mikroflóra, ktorá je vopred narušená, napríklad antibiotikami. Štúdia bola urobená na myšiach, ale vzhľadom na to, že črevná mikroflóra myši

a človeka sa príliš nelíši, je pravdepodobné, že salmonely pôsobia na rovnakom princípe i v ľudskom organizme (Stecher et al., 2007). Prejavy salmonelózy tiež do veľkej miery závisia od sérotypu a hostiteľského organizmu (Cary et al., 1999). Schopnosť baktérií *Salmonella* sp. prenikať do hostiteľských buniek je podmienená prítomnosťou tzv. ostrovy patogenity SPI – 1. Práve v tomto ostrove patogenity sú lokalizované gény dôležité pre inváziu fagocytujúcich i nefagocytujúcich buniek (Boyen et al., 2006).

Salmonelové infekcie sa u človeka môžu prejavovať v troch formách. Prvým typom je salmonelóza v užšom slova zmysle, teda akútna gastroenteritída, prejavujúca sa predovšetkým hnačkami a zvracaním. Ďalším, menej obvyklým prejavom je septikémia, ktorá je častejšie spájaná so sérotypom Typhi. Tento sérotyp tiež spôsobuje horúčkovité tyfoidné infekcie. Pri týchto infekciách sa bunky salmonel dostávajú do makrofágov, kde sú schopné prežívať. Poslednou formou je bezpríznakové bacilonosičstvo alebo asymptomatická kolonizácia, kedy je pacient rezervoárom, ale bez viditeľných príznakov. Táto forma je tiež častá u sérotypu Typhi, kedy sa salmonely usadia v žlčníku a sú spoločne so žľouchou neustále vylučované z organizmu stolicou. Taký človek je potom zdrojom infekcie pre svoje okolie (Murray et al., 2005). Asymptomatická forma vzniká prevažne pri nízkej infekčnej dávke potravinou prijatých salmonel, keď pacient nevykazuje príznaky ochorenia, ale stolicou sa tieto patogénne mikroorganizmy vylučujú (Konečný, 1998). Forma gastroenterická je najčastejším a najtypickejším priebehom salmonelózy, keď sa salmonely dostanú do črevného systému, kde sa rýchlo usadia a rozmnožujú sa. Objavia sa bolesti brucha, časté hnačky, zvracanie a často aj vysoká horúčka (Konečný, 1998; Golian, 1998). Pôvodcom je sérotyp *Salmonella* Typhmuriu i ďalšie. Tieto ochorenia sú pomerne časté a zvyčajne sa vyskytujú v podobe explozívnych epidémií postihujúcich okruh stravníkov jedálne, kde prišlo k porušeniu technologického postupu pri príprave pokrmov (Bednář et al., 1996). Tyfoidná (*Salmonella* Typhi) a septická forma sa vyskytujú len zriedkavo. Sú však veľmi nebezpečné a mnohokrát končia smrťou (Konečný, 1998). Tvoria 2 – 5 % zo všetkých salmonelóz. Vyskytujú sa najmä u chorých so závažným základným ochorením, ako napr. diabetes mellitus, cirhóza pečene, reumatická horúčka a i. (Rosický et al., 1994).

Na vyvolanie príznakov salmonelóz je treba skonzumovať veľké množstvo salmonel – infekčná dávka je  $10^5$  až  $10^9$  baktérií. U novorodencov a malých detí, ako aj u starších ľudí, môže však ochorenie s typickými príznakmi vyvolať aj nižšia infekčná dávka, napr.  $10^3$  baktérií (Holečková, 2002). Podľa Rosického et al., (1994) je infekčná

dávka obvykle  $10^4 - 10^6$  virulentných buniek. Veľmi pritom záleží na zdravotnom stave konkrétnej osoby, pretože podľa nich na infekciu postačuje aj oveľa nižší počet buniek (dokonca už jedna bunka). **Hensel (2000)** uvádza, že iba pol promile pôvodného inokula preniká stenou tenkého čreva. Ostatok je ovplyvňovaný kyslým stresom v žalúdku, žlčovými kyselinami a antimikrobiálnymi látkami. Väčšina baktérií nakoniec odchádza z tenkého čreva peristaltickými pohybmi von z organizmu.

Agentúra **USDA – FSIS (1998)** považuje dvadsať percent populácie USA za viac ohrozených *Salmonella* Enteritidis (dojčatá, dôchodcovia, pacienti po transplantácii, tehotné ženy, chorí jedinci a. i. .), pretože môžu byť viac náchylní na infekciu a tá sa u nich môže oveľa výraznejšie prejavovať.

## 1.6 Znižovanie počtu salmonel v prvovýrobe

Viacparametrová regresná analýza 10.035 šarží brojlerov na 561 bitúnkoch v 26 členských štátoch Európskej únie a dvoch krajinách, ktoré nie sú členmi Európskej únie ukázala, že riziko kontaminácie tiel salmonelou sa zvyšuje s kapacitou zabíjania na bitútku a spracovaním tela neskôr počas dňa. Riziko kontaminácie tiel salmonelou sa výrazne líšilo medzi jednotlivými krajinami a medzi bitúnkami v rámci jednej krajiny, aj keď sa prihliadalo na ďalšie súvisiace faktory. Sérovary salmonely sa v jednotlivých členských štátoch líšili, mnohé z nich majú vlastnú špecifickú štruktúru rozdelenia a žiadny špecifický sérovar neprevažuje vo všetkých krajinách v prieskume. Medzi najčastejšie hlásené sérovary patrili *S. infantis*, *S. Enteritidis* a *S. Typhimurium*. Zdá sa, že mnohé z hlásených sérovarov neustále kontaminujú produkciu brojlerov (**EFSA, 2011**).

Identifikácia a odstraňovanie na salmonelu pozitívnych nosníc z chovov bolo efektívnym riešením pre eradikáciu *S. Gallinarum* a *S. Pullorum* v USA a vo Veľkej Británii (**Baumler et al., 2000**). **Guard a Petter (2001)** ale nepovažujú toto opatrenie pre *S. Enteritidis* za veľmi efektívne, nakoľko sa salmonely dokážu medzi vtákmi šíriť vertikálnym prenosom exkrementami. Navyše reintrodukcia tohto patogéna, do na salmonely negatívnych krdľov, je podľa neho i v dostatočne sanitovaných podmienkach neustále uskutočňovaná rôznymi škodcami (hlodavce, hmyz, divé vtáky), čo môže byť hlavným zdrojom kontaminácie vajec.

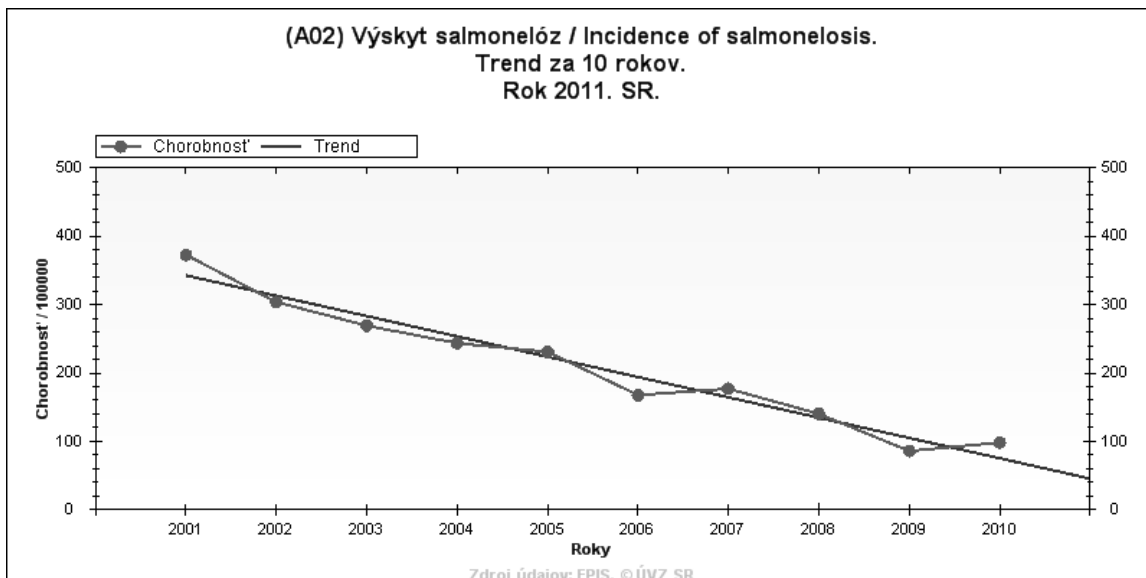
## 1.7 Epidemiologická situácia v SR

### 1.7.1 Trend výskytu salmonelóz za ostatných 10 rokov

Zo správy **EFSA (2010)** vyplýva, že salmonelózy sú druhou najčastejšie sa vyskytujúcou zoonózou v rámci EÚ, pričom trend výskytu vykazuje štatisticky významne klesajúce tendencie za sledované obdobie 5 rokov. Prípady výskytu sérotypu *S. Enteritidis* výrazne poklesli, naopak bol pozorovaný výskyt *S. Typhimurium*. **De Jong a Ekdahl (2006)** však upozorňujú na paradox, keď si obyvatelia Švédska priniesli najviac salmonelóz práve z európskych krajín, ktoré hlásia najmenej ochorení na salmonelózu – Bulharsko, Turecko, Malta. Najčastejšie detegovaným sérotypom pri tejto štúdii bol *S. Enteritidis*.

Tiež na území SR má výskyt salmonelóz od roku 2001 do roku 2010 výrazne klesajúcu tendenciu, čo môže súvisieť s dodržiavaním správnej výrobnéj a hygienickej praxe, so zavádzaním systému HACCP do výroby, novými technologickými postupmi pri výrobe potravín a novými systémami balenia potravín, ako aj školením pracovníkov a kontrolou finálnych výrobkov. Kým v roku 2001 bolo hlásených takmer 400 salmonelóz, v roku 2010 to bolo iba 100 salmonelóz. Aj napriek klesajúcej tendencii sa salmonelózy stále vyskytujú, pričom veľa ochorení sa vyskytuje v kolektívoch a domácnostiach. V domácnostiach môžu byť príčinou domáce majonézy, šaláty, zabíjačky, zmrzliny, ako aj krížová kontaminácia kuchynskými pomôckami a dlhé časové prestoje pri príprave pokrmov, najmä v lete.

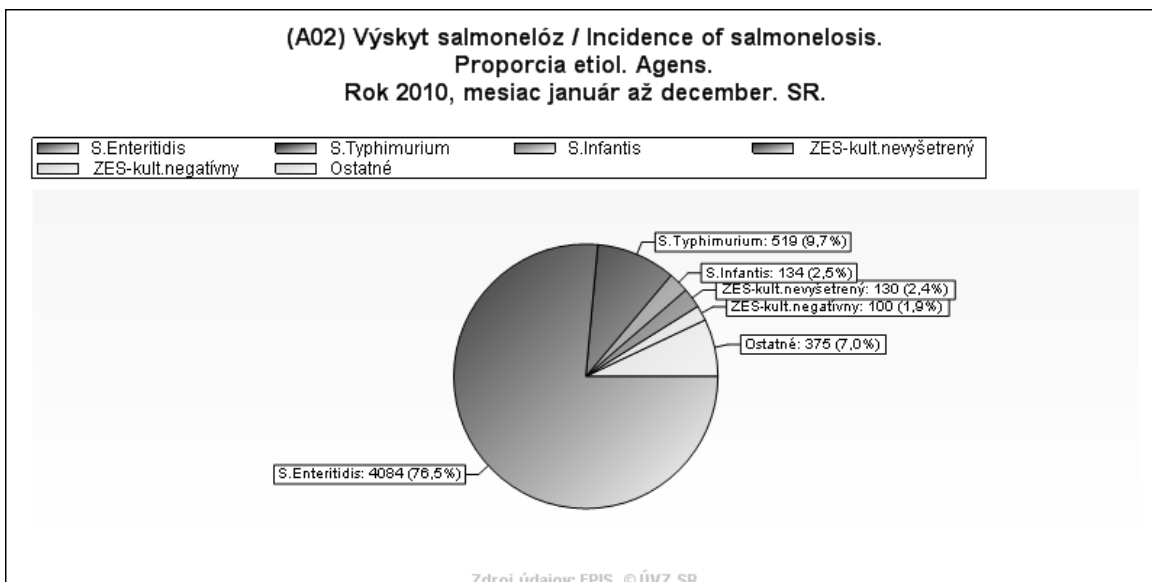




**Obr. 1** Trend výskytu salmonelóz za 10 rokov (URL 3)

### 1.7.2 Proporcia etiologického agens

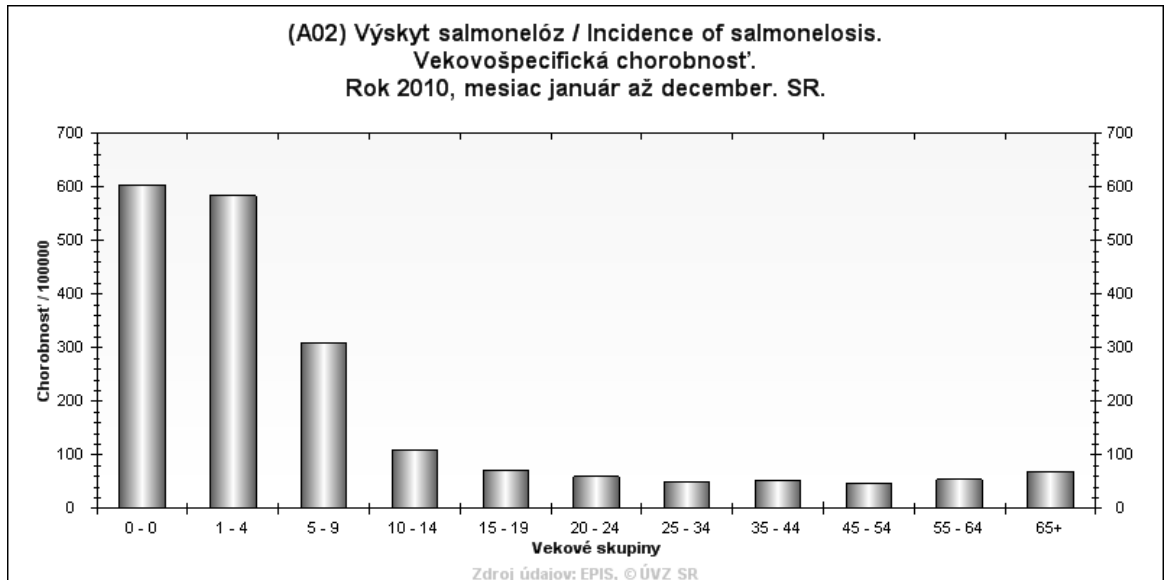
Zo všetkých salmonelových ochorení od januára do decembra za rok 2010 bola najčastejším pôvodcom ochorenia *S. Enteritidis* (76,5 %), menej *S. Typhimurium* (9,7 %) a *S. Infantis* (2,5 %).



**Obr. 2** Proporcia etiologického agens za rok 2010 (URL 3)

### 1.7.3 Vekovošpecifická chorobnosť

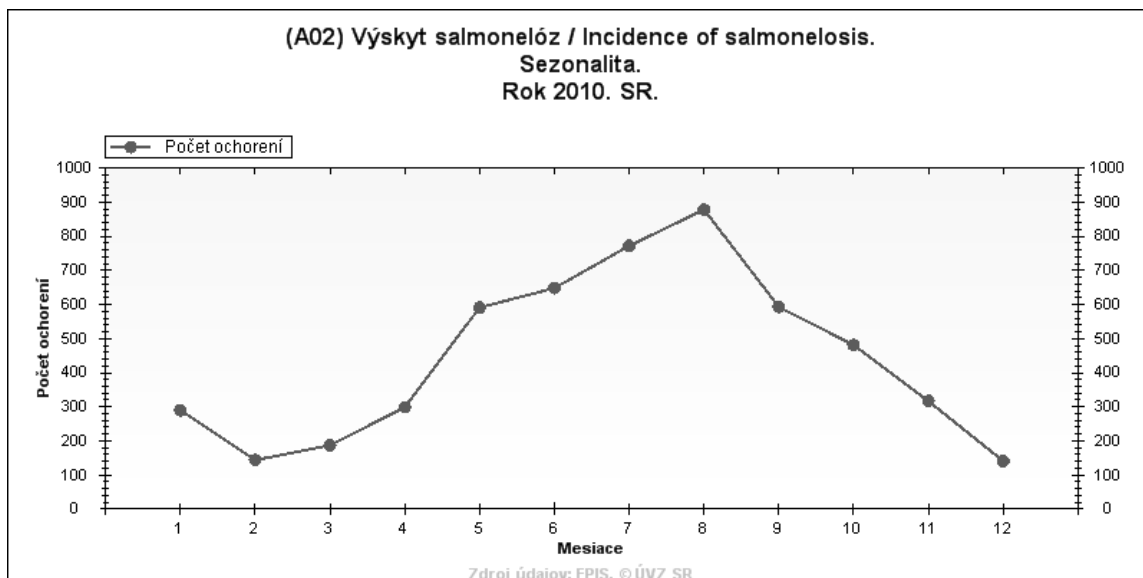
Na základe grafu vekovej špecifickosti na salmonelózu za rok 2010 možno usúdiť, že ochorenie býva najčastejšie vyvolané u detí vo veku 0 až 5 rokov a mierny nárast ochorenia je prítomný aj u starých ľudí. Príčinou je pravdepodobne nižšia imunita detí, ako aj nižšia infekčná dávka, ktorá je potrebná na vyvolanie ochorenia.



Obr. 3 Vekovošpecifická chorobnosť za rok 2010 (URL 3)

### 1.7.4 Sezonalita salmonelóz

V roku 2010, tak ako aj po iné roky, bol najväčší výskyt salmonelóz zaznamenaný v letnom období, najmä v mesiacoch jún až august, kedy potraviny a tie najviac rizikové, podliehajú mikrobiálnym zmenám, pretože mnoho patogénnych mikroorganizmov, vrátane salmonel, sa pri teplotách dosiahnutých v lete veľmi rýchlo množí za pomerne krátky čas.

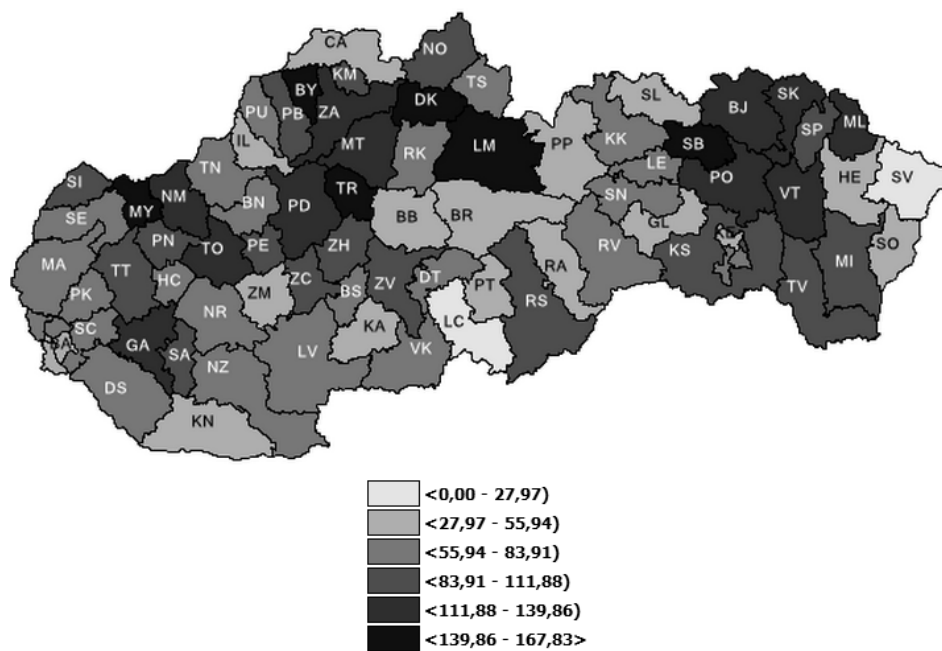


**Obr. 4 Sezonalita za rok 2010 (URL 3)**

### 1.7.5 Výskyt salmonelóz podľa okresov za rok 2009 a 2010

Porovnaním obidvoch máp okresov za spomínané roky možno konštatovať, že výskyt ochorenia je celoplošný, pričom najviac ochorení figuruje na západnom a severnom Slovensku s výnimkou okresov Svidník a Lučenec, ktoré vykazujú najnižší počet salmonelóz za roky 2009 a 2010. Vo všeobecnosti v roku 2010 bol menší výskyt salmonelóz, čo sa týka okresov, ako v roku 2009, čím sa potvrdzuje aj klesajúca tendencia salmonelóz.

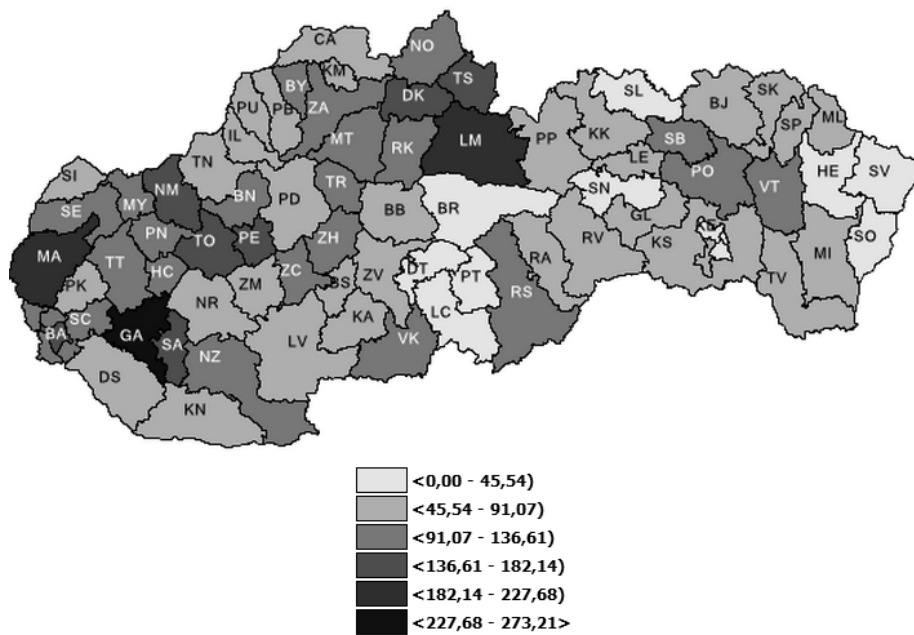
Výskyt salmonelóz (A 02) v SR podľa okresov  
v r. 2009



Zdroj údajov: EPIS, © ÚVZ SR

Obr. 5 Výskyt salmonelóz podľa okresov za rok 2009 (URL 3)

Výskyt salmonelóz (A 02) v SR podľa okresov  
v r. 2010



Zdroj údajov: EPIS, © ÚVZ SR

Obr. 6 Výskyt salmonelóz podľa okresov za rok 2010 (URL 3)

## 1.8 Detekcia *Salmonella* sp. v potravinách

Z mnohých používaných metód, určených na detekciu salmonel v potravinách, možno spomenúť najmä:

- konvenčné kultivačné metódy (napr. STN ISO 6579:2004),
- metódy skúmajúce nukleové kyseliny (napr. PCR),
- imunologické metódy (napr. ELISA).

Viacerí autori odporúčajú kombinovať rýchle testy s klasickými kultivačnými metódami. Napríklad program sérologického testovania vzoriek krvi a vaječných žĺtkov na prítomnosť *Salmonella* sp. v kombinácii s bakteriologickým skúšaním fekálií nosníc dosiahol v Dánsku značný úspech. Chovy veľkoproducentov sú tu testované každých 9 mesiacov a producentov predávajúcich na dvore každých 6 mesiacov (**Bager a Halgaard, 2002**). Tiež **WHO a FAO (2002)** popisujú výsledky testovania kŕdľov nosníc (počas 4 rokov) a vplyv tohto testovania na redukcii rizika nakazenia sa konzumentov zo surových vajec. Pri testovaní kŕdľov trikrát ročne bolo riziko redukované o viac ako 90 % (t. j. > 1 log). Pri testovaní raz do roka bolo redukované o viac ako 70 %.

### 1.8.1 Klasické kultivačné metódy

Klasické kultivačné metódy patria medzi konvenčné, mnoho rokov používané a vyvíjané metódy. Založené sú na viacstupňovej kultivácii vzoriek na pomnožovacích a pre daného patogéna selektívnych živných médiách. Tradičné metódy na detekciu sú však veľmi pomalé. Vyžadujú 1 – 2 dni na každé zo selektívnych pomnožení na získanie kolónií, 2 dni na selektívnych platniach pre pufríkáciu a ďalšie 2 dni na biochemickú charakterizáciu (**Wang et al., 1999**).

U mikrobiologických metód je potrebná dobrá homogenizácia vzoriek, vhodné a presné riedenie. Najvhodnejším riedením je také riedenie, kde na platni vyrastie do 300 kolónií. Takéto vzorky sa najlepšie počítajú a dajú sa ľahko rozlíšiť jednotlivé kolónie. Vzorky sa získavajú v období bakteriémie z krvi a z moču a neskôr z kostnej drene. Vyšetrenie stolice nemusí byť pozitívne (**Votava et al., 2003**).

Dôvody pre používanie kultivačných metód uvádzajú **Downes a Itō (2001)**. Za hlavný dôvod považujú schopnosť detegovať veľmi malú počiatočnú populáciu buniek (už jednu bunku v 500 g potravín). Ďalej je možné kultiváciou zotaviť aj technologickým spracovaním potravín poškodené bunky na detekovateľnú mieru a súčasne potlačiť rast nežiaducej flóry.

Na dôkaz salmonel v potravinách sa v súčasnosti na Slovensku používa metóda STN ISO 6579:2004, ktorá je založená na klasických kultivačných postupoch. Táto má veľmi dobré analytické parametre, avšak je časovo náročná, keďže vyžaduje 4 až 7 dní (**Štefanovičová a Kuchta, 1998**).

## 1.8.2 Alternatívne metódy

### 1.8.2.1 PCR

Metódy na princípe polymerázovej reťazovej reakcie (PCR) detegujú salmonely na základe enzýmovej amplifikácie charakteristických sekvencií ich genómovej DNA, najčastejšie častí génov súvisiacich s patogenitou alebo kódujúcich štruktúrne proteíny (**Kuchta a Vráblová, 1998**). Práve genotypové charakteristiky buniek sú oproti fenotypovým oveľa stabilnejšie. Miera prirodzenej mutácie bakteriálnej kultúry je totiž asi 1 zo 100 miliónov buniek. Aj z tohto dôvodu je v súčasnosti vyvíjaný tlak na uznanie výsledkov genetických testov ako definitívnych a rozhodujúcich v rámci mikrobiálnej diagnostiky (**Wilson, 2008**). Pôvodne sa predpokladalo, že PCR umožní, vzhľadom na svoju citlivosť, detekciu mikroorganizmov priamo v potravine. Niekoľkoročný výskum však ukázal, že príprave templátovej DNA a vlastnej PCR musí predchádzať kultivačné množenie 4 – 18 hodín v neselektívnej pôde (**Štefanovičová a Kuchta, 1998**). Teoreticky by mala postačovať pre identifikáciu patogénna PCR metódou prítomnosť jednej bunky v testovanej vzorke. Prakticky však dodnes vyvinuté metódy vyžadujú prítomnosť aspoň približne 200 buniek (**Wilson, 2008**).

Autor k negatívam tejto metódy okrem technickej náročnosti a komplikáciám s testovaním niektorých druhov potravín zdôrazňuje najmä dva výrazné problémy tejto metódy. Ide o otázku inhibítorov PCR reakcie a detekciu mŕtvych buniek. Jedlo môže totiž obsahovať mnoho enzýmov, bielkovín či iných zložiek, ktoré môžu ovplyvniť PCR

reakciu a zapríčiniť vyhodnotenie pozitívnej vzorky ako negatívnu. Naopak, aj DNA z mŕtvych buniek býva detegovaná, aj keď bola potravinu riadne tepelne ošetrovaná.

#### 1.8.2.2 Imunologické metódy, ELISA

ELISA – enzýmová – imunoabsorbentová analýza, je súbor metód založených na princípe reakcie špecifických protilátok alebo antigénov mikroorganizmov a ich produktov (**Downes a Itō, 2001**).

**Hui (2006)** konštatuje, že ELISA testy sú dnes už bežne používané na detekciu patogénov v potravinách, aj keď ich vývoj je vecou len posledných desaťročí. Navyše do budúcnosti predpokladá ešte zvýšenie ich presnosti a popularity. **Ager a Halgaard (2002)** odporúčajú v rámci Programu kontroly *Salmonella* sp. v Dánsku ako príklad pre rutinný monitoring práve sérologické testovanie mäsových štiav alebo vaječných žĺtkov.

Viacero spoločností (BioControl, Organon Teknika, Tecra a i. ) už dnes vyvinulo sady ELISA testov detegujúce potravinové patogény a toxíny ako *Salmonella* sp., *Escherichia coli*, stafylokokové enterotoxíny a i. V súčasnosti niektoré z týchto spoločností kompletne zautomatizovali celý proces testovania a tak ho výrazne zjednodušili (**Wilson, 2008**). Takéto automatické systémy v sebe obsahujú analytický modul, počítač a záznamové zariadenie (tlačiareň) a dokážu automaticky zrealizovať všetky fázy analýzy. Takouto automatizovanou verziou metódy TECRA<sup>®</sup> UNIQUE<sup>™</sup> je TECRA<sup>®</sup> UNIQUE PLUS<sup>™</sup> (**Hui, 2006**).

**El Shamy et al. (2008)** dokázali, že práve metóda TECRA<sup>®</sup> UNIQUE<sup>™</sup> dosahovala pri testovaní pomnožovacích médií pre kultiváciu *Salmonella* sp. rôznymi ELISA testami najvyššiu mieru citlivosti a špecifity.

**Dworkin a Falklow (2006)** uvádzajú, že sérologické skúšanie pre identifikáciu jednotlivých sérotypov je možné iba ak je biochemicky overené, že ide o *Salmonella* sp., lebo antiséra môžu tiež reagovať s inými baktériami. **Wilson (2008)** k negatívam imunologického testovania (oproti PCR) zaraďuje ich závislosť od expresie fenotypu buniek patogéna, ktorý musí pre pozitívne testovanie produkovať kontrolované antigény či protilátky, čo môže byť do určitej miery ovplyvnené podmienkami jeho kultivácie, napr. teplotou, pH, prístupnosťou živín, oxidačno – redukčným potenciálom, chemickým stresom, toxínmi, vodnou aktivitou a i.

## 2 Cieľ práce

Cieľom diplomovej práce bolo mikrobiologické vyšetrenie vzoriek mäsa a mäsových výrobkov na prítomnosť baktérie rodu *Salmonella* pomocou screeningovej metódy TECRA<sup>®</sup> UNIQUE<sup>™</sup>, popísanie metodiky vykonania testu a zosumarizovanie najnovších poznatkov o rode *Salmonella* sp., ako aj o ďalších možnostiach diagnostiky tohto patogéna v potravinách.



### 3 Metodika práce a metody skúmania

Vzorky na laboratórne vyšetrenie odobrali inšpektori Regionálnej veterinárnej a potravinovej správy v Nitre v rámci úradnej kontroly potravín a vyšetrované boli v laboratóriách Štátneho veterinárneho ústavu.

V rokoch 2008 a 2009 sa metódou TECRA<sup>®</sup> UNIQUE<sup>™</sup> *Salmonella* test vyšetrilo 100 vzoriek (n = 100) mäsa a mäsových výrobkov. Zo 100 vzoriek (n = 100) bolo 61 mäsových výrobkov, 19 vzoriek mäsa a 20 vzoriek polotovarov.

TECRA<sup>®</sup> UNIQUE<sup>™</sup> metóda bola vyhodnocovaná v rámci rozsiahlych kruhových testov s rôznymi typmi potravín. Výsledky testov preukázali, že UNIQUE metóda je prinajmenšom taká senzitívna ako štandardné kultivačné techniky. TECRA<sup>®</sup> UNIQUE<sup>™</sup> test je schválená AOAC ako: "AOAC Official Method 2000.07 *Salmonella* in food, TECRA<sup>®</sup> UNIQUE<sup>™</sup> Test" pre všetky potraviny vrátane pomarančového džúsu s inkubáciou pri 42 °C.

#### 3.1 TECRA<sup>®</sup> UNIQUE<sup>™</sup> *Salmonella* test (na základe manuálu a informácií výrobcu)

TECRA<sup>®</sup> UNIQUE<sup>™</sup> *Salmonella* test (obr. 1) umožňuje spoľahlivú a rýchlu in vitro detekciu pohyblivých a nepohyblivých salmonel (vrátane *Salmonella Pullorum* a *Salmonella Gallinarum*) v potravinách a s potravinami súvisiacich vzorkách, ako aj v krmivách a v environmentálnych vzorkách. Nahrádza tradičné metódy screeningovej detekcie salmonel a poskytuje užívateľovi všetky potrebné činidlá v jednej testovacej súprave.

Na UNIQUE terčikoch sa robí imunochemické pomnoženie, ako aj konečná detekcia. Limit citlivosti je definovaný ako najnižší koncentračný bod, pri ktorom sa ešte dajú získať spoľahlivé analytické výsledky. Tieto sa menia v závislosti od sérotypu. Pre UNIQUE *Salmonella* test to bolo preukázané pri počte 1 – 5 buniek na 25 g vzorky, čo je rovné  $10^4 - 10^5$  salmonel.ml<sup>-1</sup> po pomnožení. Predpokladané pozitívne výsledky je možné získať do 22 hodín, potvrdenie by potom malo byť urobené štandardnými metódami.

### 3.1.1 Materiál potrebný na vykonanie testu

#### 1. Materiál dodaný s TECRA súpravou :

Každé balenie obsahuje:

- 20 alebo 40 UNIQUE modulov,
- 20 alebo 40 protilátkou potiahnutých štítkov v uzatvárateľnom vrecku,
- návod na použitie,
- farebnú kartu.

#### 2. Materiál nedodávaný v súprave

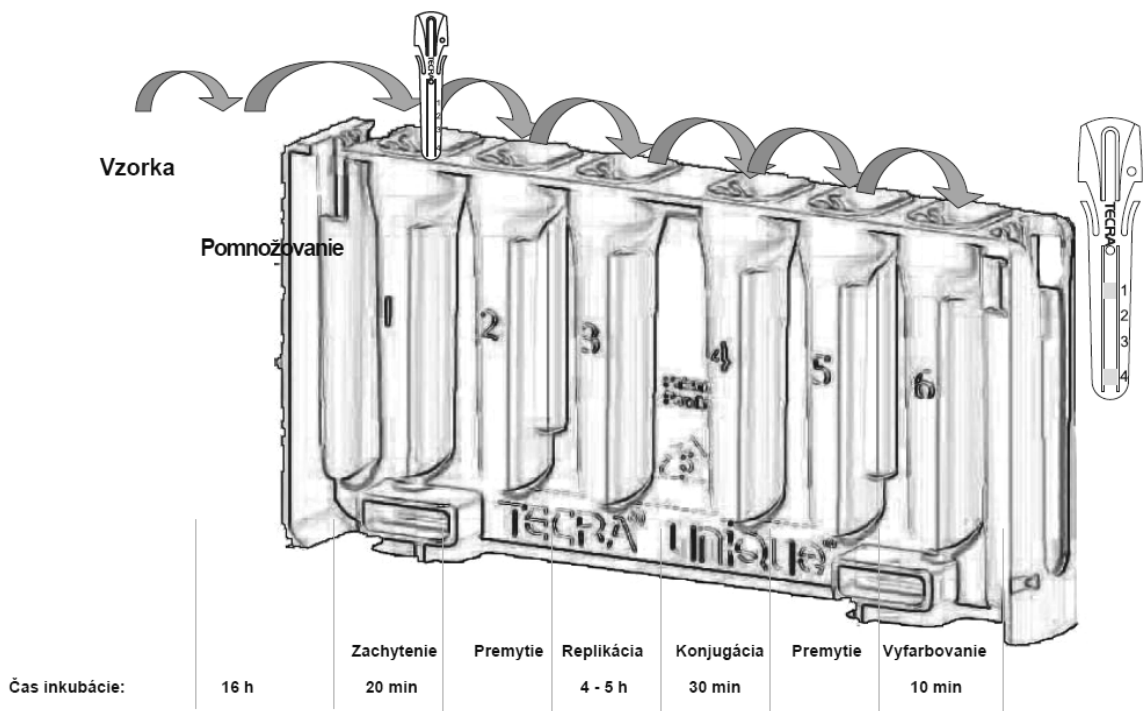
Materiál na pomnoženie vzorky :

- médiá,
- homogenizátor alebo mixér,
- 0,45 µm celulózový filter pre filtráciu vzoriek vody,
- plastové vrecko na vzorku,
- termostat 35 – 37 °C alebo 41 – 43 °C.

Materiál potrebný na vykonanie testu :

- pipety s objemom 1 ml,
- termostat 35 – 37 °C alebo 41 – 43 °C .

Keď sa testovacie UNIQUE moduly a štítky nepoužívajú, majú byť uchovávané v chladničke pri 2 – 8 °C, ale nesmú sa zmrazovať. Moduly musia byť použité pred "Use – By" dátumom, ktorý je na vonkajšej etikete balenia. Moduly a protilátkou potiahnuté štítky majú zhodné sériové čísla, a nesmú sa kombinovať s testami s inými sériovými číslami. Štítky s protilátkou sa musia použiť ihneď po vybratí z fóliového vrecka. Na uzavretie modulov je potrebné použiť UNIQUE uzatváraciu pásku. Unique podstavec (držiak) sa nesmie autoklávať.



**Obr.7** TECRA® UNIQUE™ *Salmonella* test (výrobca)

### 3.1.2 Pomnožovanie vzorky (pozri tab. 1)

Pred samotným vykonaním testu je nutné vykonať 16 – 20 hodinové pomnožovanie vzorky pri 35 – 37 °C, resp. 41 – 43 °C na výrobcom definovaných pomnožovacích bujónoch. Je potrebné zabezpečiť správne pH média pred sterilizáciou (v prípade potreby upraviť 1 M HCl alebo 1 M NaOH). Niektoré médiá si vyžadujú úpravu pH aj po sterilizácii. Pomnožovacie bujóny musia byť pred zmiešaním so vzorkou predhriate na laboratórnu teplotu 20 – 25 °C. Pri použití objemov väčších ako 225 ml je potrebné predhriať pomnožovacie bujóny na 35 – 37 °C pred pridaním ku vzorke. Na zabezpečenie dokonalého premiešania vzorky v médiu je možné použiť homogenizátor alebo mixér.

Pretože sa dá predpokladať, že sa v testovaných vzorkách môžu vyskytovať živé patogénne mikroorganizmy, je nutné dodržiavať zásady správnej laboratórnej praxe a bezpečnosť pri práci s potencióálne patogénnymi organizmami.

Ku vzorkám potravín sa asepticky pridá pomnožovací bujón, dobre sa premieša a inkubuje (obr. 1). Ku vzorkám vody sa pridáva  $0,5 \text{ g.l}^{-1}$  tiosulfátu sodného, ak je v nej chlór. Následne sa prefiltruje cez  $0,45 \text{ }\mu\text{m}$  celulózoacetátový filter, ktorý sa následne vloží do 100 ml MPPV a inkubuje sa pri  $35 - 37 \text{ }^\circ\text{C}$  po dobu 16 – 20 hodín. Z environmentálnych vzoriek sa berie ster pomocou Tecra Enviroswab sterovky, ktorá sa vráti späť do skúmavky, pridá sa 20 ml MPPV a dobre premieša. Inkubuje sa pri  $35 - 37 \text{ }^\circ\text{C}$  po dobu 16 – 20 hodín.

**Tab.1 Pomnožovanie vzoriek (výrobca)**

<b>Potravina</b>	<b>Množstvo vzorky</b>	<b>Pomnožovací bujón</b>	<b>Teplota (°C)</b>	<b>Inkubačný čas (hod)</b>	
väčšina potravín	25 g	225 ml MPPV	35 - 37	16 - 20	
surové mäso	25 g	MPPV + 11,25 ml Salmonela suplementu + 2,25 ml Imbentinu, konečný objem 225 ml	41 - 43	16 - 20	
surové celé vajcia	25 g	MPPV + 11,25 ml Salmonela suplementu + 2,25 ml Imbentinu, konečný objem 225 ml	41 - 43	16 - 20	
kakao + čokoládové produkty	25 g	225 ml pufrovaného odstredeného mlieka	35 - 37	2 homogenizujte 2 min potom: 35 - 37	16 - 20
väčšina morských a čerstvých vodných potravín	25 g	225 ml MPPV	35-37 alebo 41 - 43	16 - 20	
ryby a rybie produkty (vrátane údených)	25 g	MPPV + 2,25 ml Imbentinu s konečným objemom 225 ml	35-37 alebo 41 - 43	16 - 20	
Údené mušle (konzervované alebo čerstvé)	25 g	475 ml MPPV	35-37 alebo 41 - 43	16 - 20	
Zeleninové šaláty	25 g	MPPV + 11,25 ml Salmonela suplementu s konečným objemom 225 ml	41 - 43	16 - 20	
Aktívne sušené droždie	25 g	225 ml MPPV + Malachitová zelená*	35 - 37	16 - 20	
Kokos	25 g	MPPV + 2,25 ml Imbentinu s konečným objemom 225 ml	35 - 37	16 - 20	
Cibuľové vločky	25 g	225 ml MPPV + $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8^{**}$	35 - 37	16 - 20	
Cibuľový prášok	25 g	225 ml MPPV + $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8^{**}$	35 - 37	16 - 20	
Cesnakové vločky	25 g	225 ml MPPV + $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8^{**}$	35 - 37	16 - 20	
Korenie Škorica Oregano	2,5 g	247,5 ml MPPV	35 - 37	16 - 20	
Klinčeky	2,5 g	247,5 ml MPPV	35 - 37	16 - 20	
Krmivá pre zvieratá	25 g	MPPV*** + 11,25 Tecra suplement + 2,25 ml Imbentinu s konečným objemom 225 ml	41 - 43	16 - 20	

\* konečná koncentrácia pred sterilizáciou 0,1 %

\*\* konečná koncentrácia pred sterilizáciou 0,5 %

\*\*\* ak krmivo obsahuje antimikrobiálne zložky, MPPV sa nahradí modifikovaným Lethen bujónom.

### 3.1.3 Vykonanie testu

Pred samotným vykonaním testu je treba zabezpečiť, aby moduly a štítky mali laboratórnu teplotu 20 – 25 °C . Moduly sa označia a umiestnia do oporného podstavca, kde sa nechajú počas testovania. Následne sa premieša pomnožovací bujón, z prvých troch skúmaviek sa odstráni fólia a do prvej skúmavky sa pridá 1ml vzorky. Z fóliového vrečka sa vytiahnu štítky a vrečko sa opäť uzavrie priloženou páskou. Štítok sa vloží do skúmavky, premieša dvakrát hore a dole, vyberie sa z kvapaliny (nie ale zo skúmavky) a zasunie sa späť do skúmavky. Stojan s modulom sa následne vloží do termostatu na potrebnú dobu (tab. 2). Po inkubácii sa štítok premyje v druhej skúmavke štyrikrát hore a dole a preniesie sa do tretej skúmavky. Následne sa podstavec s modulom vráti do termostatu na potrebnú dobu. Po druhej inkubácii sa odstráni fólia zo skúmaviek štyri až šesť a štítok sa preniesie do štvrtej skúmavky. Prvé tri skúmavky je treba prelepiť Tecra Unique páskou na uzatváranie a následne sa podstavec s modulom opäť preniesie do termostatu. Po inkubácii sa štítok päťkrát premyje hore a dole v piatej skúmavke. Následne sa štítok vloží do šiestej skúmavky a 10 minút sa inkubuje pri laboratórnej teplote 20 – 25 °C. Štítok sa potom umiestni do konečnej pozície a pomocou farebnej karty sa odčítajú výsledky (do jednej hodiny). Test obsahuje pozitívnu kontrolu, negatívnu kontrolu a výsledok testovania. Pozitívna kontrola (PC) je umiestnená na štítku medzi pozíciami 1 a 2. Platný test bude zafarbený v tejto oblasti. Akýkoľvek odtieň alebo farba v tejto oblasti indikuje, že pozitívna kontrola je prítomná a test bol vykonaný správne. Ak sa táto plocha nezafarbí, znamená to, že niektorý z krokov nebol vykonaný správne alebo bol vynechaný a výsledky sa nedajú použiť. Negatívna kontrola je umiestnená na štítku medzi pozíciami 2 a 3. Platný test nemá žiadnu inú farbu v tejto oblasti (ostáva biely). Výsledok testu je lokalizovaný medzi pozíciami 3 a 4. Akékoľvek silné alebo slabé zafarbenie (sivé až purpurové) v tejto oblasti indikuje prítomnosť salmonel, vzorka je pozitívna. Ak v tejto oblasti nenastane žiadna farebná zmena (štítok ostal v tejto oblasti biely), vzorka je negatívna. Ak sa bude modul skladovať, prelomí sa vrchná časť štítku a modul sa

uzavrie UNIQUE páskou. Modul sa potom môže vybrať z podnosu a skladovať v chladničke (2 – 8 °C) pre ďalšie použitie. Vzhľad štítku sa môže počas skladovania zmeniť, aj keď sa skladuje v chladničke.

Vzorky považované za pozitívne sa odoberú zo skúmavky 3 a naočkujú na štandardné selektívne kultivačné médium a následne sa vykoná štandardné biochemické a sérologické testovanie.

**Tab. 2 Inkubačné podmienky testu (výrobca)**

Potravina	Skúmavka 1	Skúmavka 3	Skúmavka 4
väčšina potravín surové mäso surové celé vajcia šaláty aktívne sušené droždie kokos cibuľové vločky cibuľový prášok cesnakové vločky koreniny škoric oregano klinčeky krmivá voda enviro. vzorky	35 - 37°C 20 – 40 min.	35 - 37 °C 4 - 5 hod	35 -37 °C 30 - 40 min.
Ovocné džúsy morské a sladkovodné potraviny vrátane: - údené mušle (konzervované, čerstvé) - ryby a rybie produkty (vrátane údených)	35 – 37 °C alebo 41 – 43 °C 20 - 40 min.	35 – 37 °C alebo 41 – 43 °C, 4 - 5 hod.	35 -37 °C alebo 41 – 43 °C, 30-40 min.
Čokoláda vzorky s obsahom kakaa	41- 43 °C, 20 - 40 min.	41 – 43 °C, 5 - 5,5 min.	41 – 43 °C, 30 - 40 min.

### **3.1.4 Likvidácia odpadu**

Moduly aj štítky sa autoklávujú pri 121 °C minimálne 30 minút. Potom sa vyprázdni obsah modulov a zlikvidujú sa v súlade s platnými nariadeniami a požiadavkami. UNIQUE oporný podstavec sa dá opäť použiť a nesmie sa autoklávovať. Ak je to potrebné, vyčistí sa 70 % – ným etanolom alebo iným dezinfekčným roztokom, opláchne sa a vysuší

## 4 Výsledky práce a diskusia

V rokoch 2008 a 2009 bolo vyšetrených 100 vzoriek ( $n = 100$ ) mäsa a mäsových výrobkov metódou TECRA<sup>®</sup> UNIQUE<sup>™</sup> *Salmonella* test, z čoho bolo 61 vzoriek mäsových výrobkov, 19 vzoriek mäsa a 20 vzoriek polotovarov.

Z mäsových výrobkov bolo 10 vzoriek trvanlivých tepelne opracovaných mäsových výrobkov (TTOMV), 10 vzoriek trvanlivých tepelne neopracovaných mäsových výrobkov (TTNMV), 21 vzoriek mäkkých mäsových výrobkov (MMV), 7 vzoriek tepelne opracovaných šuniek (TOŠ), 6 vzoriek tepelne opracovaných solených mias (TOSM), 6 vzoriek varených mäsových výrobkov (VMV) a 1 vzorka pečeného mäsového výrobku (PMV).

Mleté mäsa tvorili 20 vzoriek polotovarov. Zo vzoriek mäsa bolo 14 vzoriek jatočného mäsa (JM) a 5 vzoriek výrobného mäsa (VM).

Zo 100 vzoriek mäsa a mäsových výrobkov ( $n = 100$ ) vyšetovaných metódou TECRA<sup>®</sup> UNIQUE<sup>™</sup> test bolo 97 vzoriek vyhodnotených ako negatívne na prítomnosť salmonel. V 3 vzorkách bol danou metódou preukázaný výskyt salmonel. Salmonela bola detegovaná v bravčovej svalovine (JM), domácej klobáse (MMV) a v mletom mäse mix (polotovar).

Je predpoklad, že prítomnosť salmonel vo vzorke bravčovej svaloviny a v mletom mäse mix môže byť z dôvodu, že ide o surové, tepelne neopracované potraviny, ktoré sa mohli získavať v menej hygienických podmienkach, prípadne mohlo dôjsť k sekundárnej kontaminácii použitými nástrojmi pri technológii výroby alebo porušeným obalom. Vzorka domácej klobásky mohla byť pozitívna na salmonelu jednak nedodržaním technológie výroby (nedodržanie parametrov ako je teplota alebo čas údenia) a tiež nedostatočné hygienické podmienky pri výrobe, z čoho vyplýva možná následná kontaminácia. Pri všetkých troch vzorkách je menej pravdepodobné, že by mohli byť kontaminované človekom – nosičom salmonel.

**Büchlerová a Jacková (2008)** uvádzajú, že mikrobiologických nedostatkov potravín, ktorých bolo v rokoch 2005 – 2006 spolu do systému “Rapid alert“ hlásených 141 prípadov, bolo 95 prípadov zistení *Salmonella* sp. v mäse – najmä v bravčovom mäse a v mäsových výrobkoch, napr. v klobásach, párkoch. Typizáciou salmonel boli zistené najmä sérotypy *S. Typhimurium D 104* (hovädzie mäso) a *S. Enteritidis*. Mnohé ale neboli typizované .



**Wyatt et al. (1996)** uvádzajú výsledky porovnávania testovania rovnakých vzoriek mrazených kurčiat klasickou kultivačnou a ELISA metódou v dvoch nezávislých britských laboratóriách. Výsledky metód boli pritom zhodné na 70, resp. 80 %. Pri ELISA metóde bola zaznamenaná 17 % – ná miera falošne pozitívnych výsledkov (po opätovnej kultivácii však klesla na 7 %) a 26 % – ná falošne negatívnych. Pri inom porovnaní klasickej kultivačnej metódy, BAX systému (PCR) a metódy TECRA® UNIQUE™ na detekciu salmonel (sérotypy Typhimurium, Enteritidis a Derby) v potravinových produktoch, ako surové bravčové mäso, surové hydínové mäso a skupiny deviatich hotových potravín určených na priamy konzum, uvádzajú **Cheung et al., (2007)**, že v pomnožovacích médiách pochádzajúcich z umelo inokulovaných potravín boli uvedenými metódami zistené porovnateľné výsledky. Ich výsledky ukázali, že vzorky pomletého surového bravčového a pomletého surového hydínového mäsa boli prirodzene kontaminované *Salmonella* spp. Čo sa týka citlivosti, všetky metódy dokázali detegovať 10<sup>1</sup> KTJ *Salmonella* Typhimurium v 25 g potraviny. Pri klasickej kultivačnej a TECRA® UNIQUE™ metóde však boli zaznamenané falošne negatívne výsledky detekcie *Salmonella* Typhi, ak bolo vo vzorke pomnožených aj viac iných mikroorganizmov. **Paula et al. (2002)** uvádzajú výsledky testov 200 vzoriek surových potravín živočíšneho pôvodu, testovaných kultivačnou metódou, metódou TECRA® UNIQUE™ a TECRA VIA. Počet pozitívnych vzoriek podľa analytickej metódy bolo 34 (75,6%) pre kultivačnú metódu, 29 (64,4%) pre Tecra *Salmonella* VIA a 27(60,0%) pre TECRA® UNIQUE™ *Salmonella*. TECRA® UNIQUE™ *Salmonella* zistila tri pozitívne vzorky, ktoré neboli zistené ďalšími dvomi metódami. Kultivačná metóda tiež zistila tri pozitívne vzorky, ktoré obidve rýchle metódy neboli schopné detekovať. Výsledky boli posúdené chí – kvadrát testom, z ktorého vyplynulo, že rozdiel medzi uvedenými ELISA testami a kultivačnou metódou nie je významný ( $P > 0,05$ ). Na základe vykonanej porovnávacej štúdie metód pre detekciu salmonel konštatuje **Karman (1997)**, že metódy MRSV (štandardná kultivačná metóda – modifikované polotuhé médium Rappaport – Vassiliadis), Diasalm, Transia ELISA, Genetrak a Vidas dosahujú veľmi dobré výsledky a na základe zvolených kritérií (detekčný limit, senzitivita, časová náročnosť a cena ) sú podľa neho vhodné pre bežné použitie. Metódy Tecra Unique, XLT4, Pathstik, Rambach a Dynabeads vykazovali vo vykonanej štúdii nižšie počty pozitívnych výsledkov v porovnaní s referenčnými metódami. **Poppe a Duncan (1996)** uvádzajú výsledky porovnania metódy TECRA® UNIQUE™ *Salmonella* test s klasickou kultivačnou

metódou. Zo 100 vzoriek (jatočné telá brojlerov, časti hydinového mäsa, vzorky prachu z chovov, mechanicky separované morčacie mäso) bolo metódou TECRA<sup>®</sup> UNIQUE<sup>™</sup> *Salmonella* test predpokladaných 36 % pozitívnych výsledkov z čoho bol jeden falošne pozitívny. Kultivačne bolo potvrdených 59 % z čoho vyplýva, že metóda TECRA<sup>®</sup> UNIQUE<sup>™</sup> *Salmonella* test má senzitivitu 59,3 % a špecifitu 97,6 %. **Hughes et al. (2001)** uvádzajú výsledky kolaboratívneho výskumu TECRA<sup>®</sup> UNIQUE<sup>™</sup> *Salmonella* testu v porovnaní s referenčnou kultivačnou metódou. Analyzované boli vzorky sušeného mlieka, čierneho korenia, sójovej múky, mliečnej čokolády a sušených vajec. Výsledky boli posúdené chí – kvadrát testom, z ktorého vyplynulo, že rozdiel medzi uvedenými metódami nebol významný ( $P > 0,05$ ).

Na základe výsledkov, štúdií a porovnaní viacerých metód možno konštatovať, že metóda TECRA<sup>®</sup> UNIQUE<sup>™</sup> *Salmonella* test je vhodná na detekciu salmonel v potravinách, ako aj v mäse a v mäsových výrobkoch. *Salmonella* sp. bola dokázaná v živočíšnych produktoch, kde možno pozorovať zhodu výsledkov vlastnej práce so štúdiami iných autorov, keď bola zistená prítomnosť salmonel v klobáse a v surovom mäse.

Z mikrobiologického vyšetrenia daných komodít vyplýva dôležitosť dodržiavania hygienických podmienok pri získavaní a manipulácii s prvotnou surovinou, ako aj uplatnenie rýchlej detekcie prítomnosti patogénov. TECRA<sup>®</sup> UNIQUE<sup>™</sup> *Salmonella* test je v kritériu rýchlosti analýzy aplikovateľný, pretože výsledky sú dosiahnuteľné do 22 hodín.

**Tab. 3 Mikrobiologické vyšetrenie mäsa a mäsových výrobkov**

<b>Číslo vzorky</b>	<b>Názov vzorky</b>	<b>Druh vzorky</b>	<b>Výsledky TECRA® UNIQUE™ Salmonella</b>
1	Čingovská saláma	TTOMV	neg.
2	Inovecká saláma	TTOMV	neg.
3	Turistická saláma	TTOMV	neg.
4	Ipeľská klobása	MMV	neg.
5	Vysočina saláma	TTOMV	neg.
6	Liptovská saláma	MMV	neg.
7	Bratislavské párky	MMV	neg.
8	Nitran saláma	TTNMV	neg.
9	Turistická saláma	TTOMV	neg.
10	Šunková saláma	MMV	neg.
11	Ľudová saláma	MMV	neg.
12	Mortadela so soľou a paprikou	MMV	neg.
13	Kuriatko saláma	MMV	neg.
14	Jemné párky	MMV	neg.
15	Lečo klobása	MMV	neg.
16	Svalovina bravčová	JM	neg.
17	Svalovina bravčová	JM	neg.
18	Svalovina bravčová	JM	neg.
19	Svalovina bravčová	JM	neg.

**Tab. 3 (pokrač.) Mikrobiologické vyšetrenie mäsa a mäsových výrobkov**

Číslo vzorky	Názov vzorky	Druh vzorky	Výsledky
			TECRA® UNIQUE™ <i>Salmonella</i>
20	Svalovina bravčová	JM	poz.
21	Liptovská saláma	MMV	neg.
22	Jaternica	VMV	neg.
23	Tlačenka obyčajná	VMV	neg.
24	Obyčajné párky	MMV	neg.
25	Pečená sekaná	PMV	neg.
26	Šunková saláma	MMV	neg.
27	Tlačenka obyčajná	VMV	neg.
28	Tlačenka obyčajná	VMV	neg.
29	Tlačenka obyčajná	VMV	neg.
30	Tlačenka obyčajná	VMV	neg.
31	Bratislavská klobása	TTNMV	neg.
32	Nitran saláma	TTNMV	neg.
33	Gombasecká klobása	TTNMV	neg.
34	Malokarpatská saláma	TNMV	neg.
35	Tokajská saláma	TTNMV	neg.
36	Lovecká saláma	TTNMV	neg.
37	Mleté mäso hovädzie	polotovar	neg.
38	Mleté mäso hovädzie	polotovar	neg.

**Tab. 3 (pokrač.) Mikrobiologické vyšetrenie mäsa a mäsových výrobkov**

Číslo vzorky	Názov vzorky	Druh vzorky	Výsledky
			TECRA® UNIQUE™ <i>Salmonella</i>
39	Mleté mäso hovädzie	polotovar	neg.
40	Mleté mäso hovädzie	polotovar	neg.
41	Mleté mäso mix	polotovar	neg.
42	Mleté mäso mix	polotovar	neg.
43	Mleté mäso mix	polotovar	neg.
44	Mleté mäso mix	polotovar	neg.
45	Mleté mäso mix	polotovar	neg.
46	Mleté mäso mix	polotovar	neg.
47	Svalovina hovädzia	JM	neg.
48	Svalovina hovädzia	JM	neg.
49	Svalovina hovädzia	JM	neg.
50	Svalovina hovädzia	JM	neg.
51	Bravčové mäso	VM	neg.  n = 5
52	Bravčové mäso	VM	
53	Bravčové mäso	VM	
54	Bravčové mäso	VM	
55	Bravčové mäso	VM	
56	Turistická saláma	TTOMV	neg.
57	Prešovská saláma	TTOMV	neg.

**Tab. 3 (pokrač.) Mikrobiologické vyšetrenie mäsa a mäsových výrobkov**

Číslo vzorky	Názov vzorky	Druh vzorky	Výsledky
			TECRA® UNIQUE™ <i>Salmonella</i>
58	Čingovská saláma	TTOMV	neg.
59	Strážovská saláma	TTOMV	neg.
60	Inovecká saláma	TTOMV	neg.
61	Mleté mäsa mix	polotovar	n = 5
62	Mleté mäsa mix	polotovar	
63	Mleté mäsa mix	polotovar	
64	Mleté mäsa mix	polotovar	
65	Mleté mäsa mix	polotovar	
66	Cesnaková klobása	TTNMV	neg.
67	Parížska saláma	MMV	neg.
68	Špekáčky	MMV	neg.
69	Spišské párky	MMV	neg.
70	Bratislavské párky	MMV	neg.
71	Pražská šunka	TOŠ	neg.
72	Šunka štandard	TOŠ	neg.
73	Goral šunka	TOŠ	neg.
74	Hydinová šunka	TOŠ	neg.
75	Dusená šunka	TOŠ	neg.
76	Údená krkovička	TOSM	neg.

**Tab. 3 (pokrač.) Mikrobiologické vyšetrenie mäsa a mäsových výrobkov**

Číslo vzorky	Názov vzorky	Druh vzorky	Výsledky
			TECRA® UNIQUE™ <i>Salmonella</i>
77	Údené karé	TOSM	neg.
78	Údené stehno	TOSM	neg.
79	Moravské údené mäso	TOSM	neg.
80	Rolované pliecko údené	TOSM	neg.
81	Údená krkovička	TOSM	neg.
82	Pohronská klobása	MMV	neg.
83	Sliačská saláma	MMV	neg.
84	Domáca klobása	MMV	<b>poz.</b>
85	Jemné párky	MMV	neg.
86	Mleté mäso mix	polotovar	neg.
87	Mleté mäso mix	polotovar	neg.
88	Mleté mäso mix	polotovar	neg.
89	Mleté mäso mix	polotovar	<b>poz.</b>
90	Mleté mäso mix	polotovar	neg.
91	Bravčová svalovina	JM	neg.
92	Bravčová svalovina	JM	neg.
93	Bravčová svalovina	JM	neg.
94	Bravčová svalovina	JM	neg.
95	Bravčová svalovina	JM	neg.

**Tab. 3 (pokrač.) Mikrobiologické vyšetrenie mäsa a mäsových výrobkov**

Číslo vzorky	Názov vzorky	Druh vzorky	Výsledky TECRA® UNIQUE™ <i>Salmonella</i>
96	Čaba saláma	TTNMV	neg.
97	Bravčová šunka	TOŠ	neg.
98	Hydinová šunka	TOŠ	neg.
99	Herkules saláma	TTNMV	neg.
100	Prešovské párky	MMV	neg.

**Vysvetlivky k druhom vzoriek**

- TTOMV – trvanlivý tepelne opracovaný mäsový výrobok  
TTNMV – trvanlivý tepelne neopracovaný mäsový výrobok  
MMV – mäkký mäsový výrobok  
JM – jatočné mäso  
TOŠ – tepelne opracované šunky  
TOSM – tepelne opracované solené mäso  
VM – výrobné mäso  
VMV – varený mäsový výrobok  
PMV – pečený mäsový výrobok



**Tab. 4 Kritériá bezpečnosti potravín** (Nariadenie komisie (ES) č. 1441/2007)

Kategória potravín	Mikroorganizmy ich toxíny, metabolity	Plán odberu vzoriek		Limity		Analytická referenčná metóda	Stupeň v ktorom sa uplatňuje kritérium
		n	c	m	M		
Mleté mäso a mäsové prípravky určené na spotrebu v surovom stave	<i>Salmonella</i>	5	0	Neprítomnosť v 25 g		EN/ISO 6579	Produkty uvedené na trh počas ich uchovateľnosti
Mleté mäso a mäsové prípravky z hydínového mäsa určené na spotrebu po tepelnej úprave	<i>Salmonella</i>	5	0	Od 1.1.2010 neprítomnosť v 25 g		EN/ISO 6579	Produkty uvedené na trh počas ich uchovateľnosti
Mleté mäso a mäsové prípravky z iných živočíšnych druhov ako hydina určené na spotrebu po tepelnej úprave	<i>Salmonella</i>	5	0	Neprítomnosť v 10 g		EN/ISO 6579	Produkty určené na trh počas ich uchovateľnosti
Mechanicky separované mäso	<i>Salmonella</i>	5	0	Neprítomnosť v 10 g		EN/ISO 6579	Produkty určené na trh počas ich uchovateľnosti
Mäsové výrobky určené na spotrebu v surovom stave okrem výrobkov, ktorých výrobný proces alebo zloženie vylučuje riziko salmonel	<i>Salmonella</i>	5	0	Neprítomnosť v 25 g		EN/ISO 6579	Produkty uvedené na trh počas ich uchovateľnosti
Mäsové výrobky z hydínového mäsa určené na spotrebu po tepelnej úprave	<i>Salmonella</i>	5	0	Od 1.1.2010 neprítomnosť v 25 g		EN/ISO 6579	Produkty uvedené na trh počas ich uchovateľnosti

- „n“ – počet vzoriek určených na MB vyšetrenie (rozsah výberu).
- „m“ – je množstvo MO, ktoré sa pripúšťa v rozsahu výberu (n) v ustanovenom množstve vzorky.
- „M“ – medzná (výstražná) hodnota počtu MO v ustanovenom množstve vzorky, ktorý sa ešte pripúšťa, ale len v počte vzoriek, ktorý je menší ako c alebo sa rovná c.
- „c“ – je počet vzoriek v rozsahu výberu (n), v ktorých sa pripúšťa najviac medzná hodnota (M), pričom platí, že vo vzorkách počte „n“ mínus „c“ môže byť najviac hodnota „m“.

## Záver

Na základe dosiahnutých výsledkov vyšetovaných vzoriek mäsa a mäsových výrobkov použitím metódy TECRA<sup>®</sup> UNIQUE<sup>™</sup> možno usúdiť, že najväčšie nedostatky boli pravdepodobne v hygiene získavania mäsa (jatočnom opracovaní). Zo 100 vzoriek (n=100) boli na salmonelu pozitívne 3 vzorky: mleté mäso mix, bravčová svalovina a domáca klobása.

U mletého mäsa a bravčovej svaloviny nebola použitá technológia tepelného opracovania, preto možno predpokladať, že uvedené komodity sa mohli kontaminovať nástrojmi používanými k získavaniu a spracovaniu mäsa, ako aj kontaktom s pracovnými plochami. Do úvahy pripadá tiež možnosť nedodržania chladiaceho reťazca a dlhý čas spracovávania surovín. Významným problémom v hygiene potravín je kontaminácia rozomletého mäsa salmonelami. Zloženie a štruktúra oboch vzoriek vytvára vhodné podmienky pre rozmnožovanie salmonel. Pri výrobku domáca klobása je možné sa domnievať, že nebola dodržaná správna technológia údenia (teplota, čas), alebo že použitá surovina na výrobu klobásy bola primárne vysoko kontaminovaná prípadne sa klobása mohla kontaminovať manipuláciou až po údení.

Na zamedzenie vzniku alimentárnych ochorení je vhodné vykonávať kontroly vstupných surovín a finálnych výrobkov. Dodržiavanie zásad správnej výrobnéj praxe, zavádzanie systému HACCP, dodržiavanie osobnej hygieny, vykonávanie sanitácie a kontrola jej účinnosti, rýchle opracovanie jatočných tiel a ich vychladenie sú preventívnymi opatreniami, ktoré znižujú až vylučujú riziko poškodenia zdravia konzumenta. Účinné sú aj samokontroly, ktoré vykonáva sám výrobca s využitím rýchlych metód.

TECRA<sup>®</sup> UNIQUE<sup>™</sup> *Salmonella* test sa preukázala ako metóda vhodná na detekciu salmonel v mäse aj v mäsových výrobkoch, aj napriek tomu, že niektorí autori poukazujú na nižšiu senzitivitu, najmä v porovnaní s metódou PCR. Špecifita testu je však vysoká. Vo všeobecnosti ju možno považovať za metódu rýchlu, spoľahlivú, nenáročnú na vykonanie a laboratórne vybavenie, pričom rozdiely vo výsledkoch v porovnaní s klasickou kultivačnou metódou sú málo významné.

## Zoznam použitej literatúry

1. ALCAINE, S. D. – WARNICK, L. D. – WIEDMANN, M. 2007. Antimicrobial resistance in nontyphoidal *Salmonella*. In: *Journal of Food Protection*. 70, 780 – 790. ISSN 0362 – 028X.
2. BAGER, F. – HALGAARD, C. 2002. *Salmonella* control programmes in Denmark – Global Forum of Food Safety Regulators. Marrakech, Morocco, 28 – 30 Jan. 2002, dostupné na: <<http://www.fao.org/docrep/meeting/004/ab527e.htm>>.
3. BAUMLER, A. J. – HARGIS, B. M. – TSOLIS, R. M. 2000. Tracing the origins of *Salmonella* outbreaks. In: *Science*. vol. 287, no. 5450 pp. 50 – 52. DOI: 10.1126/science.287.5450.50.
4. BAUMLER, A. J. – TSOLIS, R. M. – FICHT, T. A. – ADAMS L. G. 1998. Evolution of Host Adaptation in *Salmonella enterica*. In: *Infection and Immunity*. 66(10): 4579 – 4587. ISSN: 1098 – 5522.
5. BEDNÁŘ, M. – FRANĀKOVÁ, V. – SCHINDLER, J. – SOUČEK, A. – VÁVRA, J. 1996. *Lekárska mikrobiologie*, Praha : Marvil, 1996. 558 s.
6. BERGEY, D. H. – HOLT, J. G. 1994. *Bergey's manual of determinative bacteriology*. 9 th edition. Baltimore :, Williams & Wilkins. ISBN 0 – 683 – 00603 – 7.
7. BERNDT, A. – WILHELM, A. – JUGERT, C. – PIEPER, J – SACHSE, K – METHNER, U. 2007. Chicken cecum immune response to *Salmonella enterica* serovars of different levels of invasiveness. In: *Infection and Immunity*. 75(12):5993 – 6007. ISSN: 1098 – 5522.
8. BHUNIA, A. 2008. *Foodborne Microbial Pathogens*. XVIII, 276 p. Berlin: Springer. 2008. ISBN: 9780387745367.
9. BÓNA, V. 2000. Salmonelózy a ako im predchádzať. In *Výživa a zdravie*, roč. 14, 2000, č. 3, s. 55 – 56.

10. BOYEN, F. – PASMANS, F. – DONNÉ, E. – VAN IMMERSEEL, F. – ADRIAENSEN, C. – HERNALSTEENS, J. P. – DUCATELLE, R. – BOYEN, F. – HAESEBROUCK, F. – MAES, D. – VAN IMMERSEEL, F. – DUCATELLE, R. – PASMANS, F. 2008. Non – typhoidal *Salmonella* infections in pigs: a closer look at epidemiology, pathogenesis and control. In: *Veterinary Microbiology*. 130, 1 – 19. ISSN: 0378 – 1135.
11. BRANDL, M. T. – AMUNDSON, R. 2008. Leaf age as a riskfactor in contamination of lettuce with *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica*. In: *Applied and Environmental Microbiology*. 2008, p. 2298 – 2306, vol. 74, no. 8. DOI:10.1128/AEM.02459 – 07.
12. BRENNER, F. W. – VILLAR, R. G. – ANGULO, F. J. – TAUXE, R. – SWAMINATHAN, B. 2000. *Salmonella* nomenclature. In: *Journal of Clinical Microbiology*. 38(7): 2465 – 7. ISSN:0095 – 1137.
13. BUCK, J. W. – WALCOTT, R. R. – BEUCHAT, L. R. 2003. Recent trends in microbiological safety of fruits and vegetables. In: *Plant Health. Progress*. DOI: 10.1094/PHPA2003A0121A01ARV.
14. BÜCHLEROVÁ, Z. – JACKOVÁ, S. 2008. Podiel komodít mäsa a mäsových výrobkov na hláseniach v rámci systému rýchlej výmeny informácií (rasff). In: *HYGIENA ALIMENTORUM XXIX – Kvalita mäsa a mäsových výrobkov*. Zborník prednášok a posterov 5. – 7. mája 2008. Štrbské Pleso – Vysoké Tatry.
15. BURNENS, A. P. – STANLEY, J. – SECHTER, I. – NICOLET, J. 1996. Evolutionary origin of a monophasic *Salmonella* serovar, 9,12:l,v: – , revealed by IS200 profiles and restriction fragment polymorphisms of the fljB gene. In: *Journal of Clinical Microbiology*. 34(7): 1641 – 5. ISSN: 0095 – 1137.
16. CABADAJ, R. – SOKOL, J. – TUREK, P. 1995. Salmonelózy – spoločný problém humánných a veterinárnych hygienikov. In *Slovenský veterinársky časopis*, roč. 20, 1995, č. 2, s. 67 – 70.
17. CARATTOLI, A. 2003. Plasmid – mediated antimicrobial resistance in *Salmonella enterica*. In: *Current Issues in Molecular Biology*. 5, p. 113 – 122. ISSN 1467 – 3037.

18. CARTER, P. B. – COLLINS, F. M. 1974. The route of enteric infection in normal mice. In: *The Journal of Experimental Medicine*. 1974: 1189 – 1203. ISSN: 0022 – 1007.
19. CARY, J. W. – LINZ, J. E. – BHATNAGAR, D. 1999. Microbial Foodborne Diseases: Mechanisms of Pathogenesis and Toxin Synthesis. NYC : CRC Press, 1999, 550 p. ISBN: 1566767873.
20. CASBURN – JONES, A. C. – FARTHING, M. J. G. 2004. Management of infectious diarrhoea. In: *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 53:296A305. DOI: 10.1136/gut.2003.022103.
21. CHEUNG, P. Y. – KWOK, K. K. – KAM, K. M. 2007. Application of BAX system, Tecra Unique™ *Salmonella* test, and a conventional culture method for the detection of *Salmonella* in ready – to – eat and raw foods. In *Journal of Applied Microbiology*. Vol. 103, 2007, no.1, p. 219 – 227., ISSN: 1364 – 5072 .
22. CRUMP, J. A. – GRIFFIN, P. M. – ANGULO, F. J. 2002. Bacterial contamination of animal feed and its relationship to human foodborne illness. In *Clin. Infect. Dis.*, vol. 35, 2002, no. 7, p. 859 – 865.
23. DARBY, J. – SHEOREY H. 2008. Searching for *Salmonella*. In: *Australian family physician*. vol. 37, no. 10. 2008. ISSN: 0300 – 8495.
24. DE JONG, B. – EKDAHL, K. 2006. The comparative burden of salmonellosis in the European Union memberstates, associated and candidate countries. In: *BMC Public Health*. 2006. 6:4. DOI: 10.1186/1471 – 2458 – 6 – 4.
25. DOWNES, F. P. – ITŌ, K. 2001. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. Washington D. C.: American Public Health Association, 2001, 676 p. ISBN: 087553175X.
26. DWORKIN, M. – FALKOW, S. 2006. *The Prokaryotes: a handbook on the biology of bacteria*. NYC : Springer, 2006, 1194 p. ISBN: 038725496X.
27. EL – GAZZAR, F. E. – E. H. MARTH. 1992. *Salmonellae*, salmonellosis, a dairy foods: a review. In: *Journal of Dairy Science*, 75(9), 2327 – 2343. ISSN: 0022 – 0302.

28. EL SHAMY, H. A. – BAKR, W. M. – GOMAA, N. F. – BARHEEM, O. H. 2008. Evaluation of two enrichment broths, three plating media and ELISA technique for the isolation of *Salmonella* from dairy products. In *The Journal of the Egyptian Public Health Association*. vol.83, 2008, no. 1 – 2, p. 133 – 145. ISSN: 0013 – 2446.
29. EUROPEAN COMMISSION, 2000. Zoonotic agents. In: *Trends and sources of zoonotic agents in animals, feedingstuffs, food and man in Teh European Union and Norway in 2000*. 2000, p. 4 – 11.
30. EFSA. 2008. The Community Summary Report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food – borne outbreaks in the European Union in 2008. In: *EFSA Journal*. 2010 8(1):1496 [410 pp.]. DOI:10.2903/j.efsa.2010.1496.
31. EFSA. 2011. Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Campylobacter* in broiler batches and of *Campylobacter* and *Salmonella* on broiler carcasses, in the EU, 2008 – Part B: Analysis of factors associated with *Salmonella* contamination of broiler carcasses. In: *EFSA Journal*. 2011;9(2):2017 [85 pp.]. DOI:10.2903/j.efsa.2011.2017.
32. GOLIAN, J. 1998. Ochorenia z potravín. Nitra: SPU. 1998, 123 s. ISBN: 80 – 7137 – 519 – 5.
33. GUARD – PETTER, J. 2001. The chicken, the egg and *Salmonella* enteritidis. In: *Environmental Microbiology*. 2001. 3(7):421 – 30. ISSN: 14622912.
34. HASHIMOTO, Y – LI, N – YOKOYAMA, H – EZAKI, T. 1993. Complete nucleotide sequence and molecular characterization of *ViaB* region encoding *Vi* antigen in *Salmonella typhi*. In: *Journal of Bacteriology*. 1993 Jul;175(14):4456 – 4465. ISSN: 0021 – 9193.
35. HENSEL, M. 2000. *Salmonella* pathogenicity island 2. In: *Molecular Microbiology*. 2000. 36(5):1015 – 23. ISSN: 0950382X.
36. HOLEČKOVÁ, K. 2002. Salmonelám vstup zakázaný! In: *Dieta*, roč. 4, 2002, č. 1, s. 18 – 20.

37. HUGHES, D. – DAILIANIS, A. E. – HILL, L. – MCINTYRE, D. A. – ANDERSON, A. 2001. TECRA Unique test for rapid detection of *Salmonella* in food: collaborative study. In: *Journal AOAC Int.* 2001 Mar – Apr;84(2):416 – 29. ISSN: 1060 – 3271.
38. HUI, Y. H. 2006. Handbook of Food Science, Technology, and Engineering. NYC : CRC Press, 2006, 3632 s. ISBN: 0849398495.
39. JANDA, J. M. – ABBOTT, S. L. 2006. The Enterobacteria. 2nd edition. Washington : ASM Press, 2006, 411 p. ISBN: 1555813429.
40. KARMAN, A. H. 1997. Comparison of methods for detection of *Salmonella*. In: *Voedingsmiddelentechnologie*, 30 (6) 35 – 39. ISSN: 0042 – 7934AB.
41. KINGSLEY, R. A. – BAUMLER, A. J. 2002. Pathogenicity islands and host adaptation of *Salmonella* serovars. In: *Current Topics in Microbiology and Immunology*. 264(1): 67 – 87. ISSN: 0070 – 217X.
42. KONEČNÝ, S. 1998. Nemoci, o kterých treba vědět – *Salmonella* a salmonelóza. In *Maso*, roč. 9, 1998, č. 3, s. 39 – 41.
43. KOUTSOUMANIS, K. P. – KENDALL, P. A. – SOFOS, J. N. 2004. Modeling the boundaries of growth of *Salmonella typhimurium* in broth as a function of temperature, water acitivity, and pH. In *J. Food Prot.*, vol. 67, 2004, n. 1, p.53 – 59.
44. KUCHTA, T. – VRÁBLOVÁ, D. 1998. Metódy na rýchly dôkaz salmonel v potravinách. In *Bulletin potravinárskeho výskumu*, roč. 37, 1998, č. 2.
45. LEE, S. J. – ROMANA, L. K. – REEVES, P. R. 1992. Sequences and structural analysis of the rfb (O antigen) gene cluster from a serogroup C1 *Salmonella enterica* strain. In: *Journal of General Microbiology*. 138: 1843 – 1855. ISSN: 0022 – 1287.
46. MACELA, A. – STULÍK, J. – TREBICHA VSKÝ, I. – KROČA, M. – JANO VSKÁ, S. 2006. Infekční choroby a intracelulární parazitismus bakterií. 215 s. Grada Publishing. Praha. ISBN: 80 – 247 – 0664 – 4.



47. MASTROENI, P. – CHABALGOITY, J. A. – DUNSTAN, S. J. – MASKELL, D. J. – DOUGAN, G. 2001. *Salmonella*: immune responses and vaccines. In: *The Veterinary journal*. 161(2): 132 – 164. ISSN: 1090 – 0233.
48. MATIASOVICOVA, J. – ADAMS, P. – BARROW, P. A. – HRADECKA, H. – MALCOVA, M. – KARPISKOVA, R. – BUDINSKA, E. – PILOUSOVA, L. – RYCHLIK, I. 2007. Identification of putative ancestors of the multidrug – resistant *Salmonella enterica* serovar typhimurium DT 104 clone harboring *Salmonella* genomic island 1. In: *Archives of Microbiology*. 187(5): 415 – 424. ISSN:, 0302 – 8933.
49. MAZA, L. M. – PEZZLO, M. T. – SHIGEI J. T. – PETERSON, E. M. 2004. Color Atlas of Medical Bacteriology. Washington : ASM Press, 2004, 316 p. ISBN: 1555812066.
50. MAZOTTA, A. S. 2001. Thermal inactivation of Stationary – phase and acid adapted *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* and *Listeria monocytogenes* in fruit juices. In *Journal of Food Protection*, vol. 64, 2001, p. 315 – 320. ISSN: 0362 – 028X.
51. MURRAY, P. R. – ROSETHAL, K. S. – KOBAYASHI, G. S. – PFALLER, M. A. 2005. Medical microbiology series. Mosby. 2005. 963 p. ISBN: 0323033032.
52. NARIADENIE KOMISIE (ES) č. 1441/2007z 5. decembra 2007, ktorým sa mení a dopĺňa nariadenie (ES) č. 2073/2005 o mikrobiologických kritériách pre potraviny.
53. NESTLE, M. 2003. Safefood, bacteria, biotechnology, and bioterrorism. University of California Press, Berkley and Los Angeles, 350 p.. ISBN: 10: 0520242238.
54. PAULA, A. M. R. – GELLI, D. S. – LANDGRAF, M. – DESTRO, M. T. – FRANCO B. D. G . M. 2002. Research Note: Detection of *Salmonella* in Foods Using Tecra *Salmonella* VIA and Tecra *Salmonella* UNIQUE Rapid Immunoassays and a Cultural Procedure. In *Journal of Food Protection*. vol. 65, 2002, no. 3 p. 552 – 555. ISSN: 0362 – 028X.

55. POPOFF, M. Y. – LE MINOR, L. 2001. Antigenic formulas of the *Salmonella* serovar, eighth revision. WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*. World Health Organization : Geneva, Switzerland.
56. POPPE, C. – DUNCAN, C. L. 1996. Comparison of detection of *Salmonella* by the Tecra Unique *Salmonella* test and the modified Rappaport Vassiliadis medium. In: *Food Microbiology*. vol. 13, no. 1, 1996 , pp. 75 – 81(7). ISSN: 0740 – 0020.
57. RHEN, M. 2007. *Salmonella* : molecular biology and pathogenesis. Wyomondham: Horizon Scientific Press, 2007 194 p. ISBN: 1904933262.
58. ROSICKÝ, B. – SIXL, W. 1994. Salmonelózy. Praha : Scientia Medica, s. r. o., 1994, 208 s. ISBN: 80 – 855526 – 23 – 9.
59. ROSICKÝ, B. – SIXL, W. – BENEŠ, Č. – HAVLÍK, J. – HUBÁLEK, Z. – LÁT, J. – MATYÁŠ, Z. – MIKULÁŠKOVÁ, M. – SIXL, A. – VOIGT, B. – THIEL, W. – WOLF, A. 1994. Salmonelózy: Aktuální informace pro lékaře, veterinární lékaře, a potravinářskou praxi. Scientia Medica. 199 s. Praha. ISBN: 8085526239.
60. SALADIOVÁ, D. – CABADAJ, R. – ĎUREČKO, R. – PLEVA, J. 2000. Zámery v diagnostike salmonel. In *Hygiena Alimentorum XXI, Hygiena a technológia hydiny, vajec, rýb a zveriny* : zborník prednášok a posterov. Košice : Univerzita veterinárneho lekárstva, 2000, s. 58, ISBN: 80 – 7148 – 041 – X.
61. SHELOBOLINA, E. S. – SULLIVAN, S. A. – O'NEILL, K. R. – NEVIN, K. P. – LOVLEY, D. R. 2004. Isolation, characterization, and U(VI) – reducing potential facultatively anaerobic, acid – resistant bacterium from low – pH, nitrate – and U(VI) – contaminated subsurface sediment and description of *Salmonella subterranea* sp. nov. In: *Applied and Environmental Microbiology*. 70(5):2959 – 2965. DOI: 10.1128/AEM.70.5.2959 – 2965.2004.
62. STECHER, B. – ROBBIANI, R. – WALKER, A. W. – WESTENDORF, A. M. – BARTHEL, M. – KREMER, M. – CHAFFRON, S. – MACPHERSON, A. J. – BUER, J. – PARKHILL, J. – DOUGAN, G. – VON MERING, C. – HARDT, W. D. 2007. *Salmonella enterica* serovar Typhimurium exploits inflammation to compete with the intestinal microbiota. In: *PLoS Biology*. 2007. 5(10):2177 – 89. DOI:10.1371/journal.pbio.0050244.

63. STN ISO 6579:2004 Mikrobiológia potravín a krmív. Horizontálna metóda na dôkaz baktérií rodu *Salmonella*.
64. STOCK, K. – STOLLE, A. 2001. Incidence of *Salmonella* in miced meat producend in a European Union – approves cutting plant. In *Food Prot.*, vol. 44, 2001, n. 9, p. 143 – 148.
65. ŠIŠÁK, F. – HAVLÍČKOVÁ, H. – KARPÍŠKOVÁ, R. – KOLÁČKOVÁ, I. 2005. Výskyt salmonel a jejich resistance vůči antibiotikům u jatečných prasat. In *Veterinárství*, roč. 55, 2005, č. 3, s. 152 – 154.
66. ŠTEFANOVIČOVÁ, A. – KUČHTA, T. 1998. Dôkaz salmonel v potravinách s použitím polymerázovej reťazovej reakcie. In *Hygiena Alimentorum XIX. Katedra hygieny a technológie potravín : zborník prednášok a posterov*. Košice : Univerzita veterinárneho lekárstva, 1998, s. 206 – 208, ISBN: 80 – 7148 – 128 – 2.
67. TANČINOVÁ, D. – MAKOVÁ, J. – FELŠÖCIOVÁ, S. – KAČÁNIOVÁ, M. – KMEŤ, V. 2005. Mikrobiológia potravín. SPU . Nitra, 2005, 147s. ISBN: 80 – 8069 – 567 – 7.
68. TAUXE, R.V. 1991. *Salmonella*: a postmodern pathogen. In *Journal of Food Production*. vol. 54, 1991, p. 563 – 8, ISSN: 0362 – 028X.
69. Tecra® Unique™ *Salmonella* test. Návod výrobcu.
70. THRELFALL, E. J. 2002. Antimicrobial drug resistance in *Salmonella*: problems and perspectives in food – and water – borne infections. In: *FEMS Microbiology Reviews*. 26: 141 – 14. ISSN: 0168 – 6445.
71. TODAR, K. 2008. *Salmonella* and salmonellosis. [cit. 12. mar. 2009], dostupné na: <<http://www.textbookofbacteriology.net/Salmonella.html>>.
72. USDA – FSIS (*Salmonella* Enteritidis Risk Assessment Team). 1998. *Salmonella* Enteritidis Risk Assessment. Shell Eggs and Egg Products. Final Report. 268 pp. [cit. 12. mar. 2009 ], dostupné na: <[www.fsis.usda.gov/ophs/risk/contents.htm](http://www.fsis.usda.gov/ophs/risk/contents.htm)>.
73. UZZAU, S. – BROWN, D. J. – WALLIS, T. – RUBINO, S. – LEORI, G. – BERNARD, S. – CASADESUS, J. – PLATT, D. J. – OLSEN, J. E. 2000. Host

- adapted serotypes of *Salmonella enterica*. In: *Epidemiology and Infection*. 125, 229 – 255. ISSN: 0950 – 2688.
74. VAN WINSEN, R. – LIPMAN, L. – BIESTERVELD, S. 2001. Mechanism of *Salmonella* reduction in fermented pig feed. In *J. Sci. Food Agricult.*, vol. 81, 2001, n. 3, p. 342 – 346.
75. VOTAVA, M. – ČERNOHORSKÁ, L. – HEROLDOVÁ, M. – HOLÁ, V. – MEJZLÍKOVÁ, L. – ONDROVČÍK, P. – RŮŽIČKA, F. – DVOŘÁČKOVÁ, M. – WOZNICOVÁ, V. – ZAHRADNÍČEK, O. 2003. Lékařská mikrobiologie speciální. 495 s. Neptun: Brno 2003. ISBN: 9788090289666.
76. WANG, H. – FABER, M. J. – MALIK, N. – SANDERS, G. 1999. Improved PCR detection of *Campylobacter jejuni* from chicken rinses by a simple sample preparation procedure. In *International Journal of Food Microbiology*, vol. 52, 1999, p. 39 – 45.
77. WILSON, C. L. 2008. Microbial Food Contamination. NYC : CRC Press, 2008, 632 p. ISBN: 0849390761.
78. WYATT, G. M. – LEE, H. A. – DIONYSIOU, S. – MORGAN, M. R. – STOKELY, D. J. – AL – HAJJI, A. H. – RICHARDS, J. – SILLIS, A. J. – JONES, P. H. 1996. Comparison of a microtitration plate ELISA with a standard cultural procedure for the detection of *Salmonella* spp. in chicken. In *Journal of food protection*. vol.59, 1996, no.3, s. 238 – 43. ISSN: 0362 – 028X.
79. WHO – FAO. 2002. Risk Assessments of *Salmonella* in Eggs and Broiler Chickens – 1 – Interpretative Summary. – Microbiological Risk Assessment Series 1. 2002, ISBN: 9291562307 [cit. 1. mar. 2009], dostupné na: <<http://www.fao.org/DOCREP/005/Y4393E/Y4393E00.HTM>>.
80. URL 1 <[http://www.tecra.net/product\\_range/rapid\\_pathogen\\_testing/Salmonella/unique\\_Salmonella#](http://www.tecra.net/product_range/rapid_pathogen_testing/Salmonella/unique_Salmonella#)> [cit. 19. mar. 2009].
81. URL 2 <<http://www.Salmonella.org/>> [cit. 19. mar. 2009].
82. URL 3 <<http://www.epis.sk/>> [cit. 19. feb. 2011].

83. URL 4 <[http://www.who.int/whosis/data/Search.jsp?countries=\[Location\].Members](http://www.who.int/whosis/data/Search.jsp?countries=[Location].Members)> [cit. 19. mar. 2011].