

Bakteriologická analýza potravin

a.

Souhrn

Ve studii zaměřené na bakteriologickou analýzu potravin jsme sledovali výskyt vybraných patogenních agens v potravinách z tržní sítě. Výběr vyšetřovaných komodit byl proveden podle spotřebního koše a byl zaměřen, jako v minulých letech, na ty skupiny potravin, které se u nás nebo v zahraničí podílely na vzniku alimentárních onemocnění.

Potraviny byly vyšetřovány na přítomnost čtyř etiologických agens - původců významných alimentárních onemocnění: *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Listeria monocytogenes* a *S. aureus*. Kromě salmonel a *L. monocytogenes*, jsou ostatní agens sledována v rámci běžné kontroly zdravotní nezávadnosti potravin pouze výjimečně. Informace o frekvenci jejich výskytu v jednotlivých komoditách a detailní fenotypová a genotypová charakteristika nejsou k dispozici.

Průkaz a stanovení počtu vyšetřovaných patogenů byl proveden referenčními kultivačními metodami (EN ISO). Suspektní kolonie sledovaných agens byly confirmovány a detailně charakterizovány fenotypovými a genotypovými metodami.

Na přítomnost bakterií rodu *Salmonella* bylo celkem vyšetřeno 276 vzorků potravin zahrnujících různé druhy mas, masné, mléčné a rybí výrobky, vejce, knedlík houskový i ovoce a zeleninu. V žádném z vyšetřených vzorků nebyla přítomnost salmonel potvrzena.

Na přítomnost bakterií rodu *Campylobacter* bylo celkem vyšetřeno 156 vzorků mas, mléčných výrobků (mražených krémů), ovoce a zeleniny. V žádném z vyšetřených vzorků nebyla přítomnost termotolerantních kampylobakterů potvrzena.

Na přítomnost *Listeria monocytogenes* bylo vyšetřeno 264 vzorků potravin. Celkem bylo získáno 18 (6,5 %) izolátů *L. monocytogenes*. Nejčastěji byla *L. monocytogenes* detekována v mase mletém (5/ 41,7 %), mase hovězím (8/ 33,3 %) a v mase rybím (3/ 12,5 %). V jednom případě byl zjištěn pozitivní nález *L. monocytogenes* v uzeném mase (1/ 4,2 %) a jedenkrát ve stěru z povrchu jablek (1/ 4,2%).

Přítomnost bakterií *Staphylococcus aureus* byla sledována u 276 vzorků potravin. U 22 (8,0 %) vzorků byla potvrzena přítomnost bakterií *S. aureus*. U všech vyšetřovaných potravin byly detekovány počty koagulázopozitivních stafylokoků < 50 KTJ/g s výjimkou 1 vzorku (knedlík houskový), kde byl stanoven počet koagulázopozitivních stafylokoků $9 \cdot 10^2$ KTJ/g.

b.

Spolupracující organizace a odborníci

Na laboratorních analýzách a zpracování dat se podíleli pracovníci mikrobiologické laboratoře OABP, CZVP, SZÚ (Doc. MVDr. Renáta Karpíšková, Ph.D., MVDr. Ivana Koláčková, Ph.D., Lea Jakubcová).

c.

Základní informace

Počty hlášených alimentárních onemocnění bakteriálního původu zejména salmonelóz a kampylobakterióz jsou v ČR v porovnání s ostatními státy EU vysoké. Většina alimentárních onemocnění probíhá ve formě sporadických případů nebo rodinných výskytů, při kterých nejsou dostupné relevantní informace o vehikulech (potvrzených kultivačně). Pouze malý podíl těchto onemocnění je hlášen v epidemické souvislosti, kdy bývají k dispozici konkrétní informace o vehikulech přenosu nákazy, avšak jen zřídka se vehikulum daří potvrdit i kultivačně.

Pro objektivnější analýzu dostupných informací o potravinách, podílejících se na vzniku alimentárních onemocnění bakteriálního původu, chybí laboratorně potvrzená data. Studie je proto zaměřena na vyšetřování potravin zakoupených v tržní síti, aby odrážely aktuální úroveň bakteriální kontaminace v době, kdy jsou buď přímo nebo po kulinární úpravě konzumovány spotřebitelem. Výběr vyšetřovaných komodit je prováděn podle spotřebního koše a je zaměřen zejména na ty skupiny potravin, které se v minulosti u nás nebo v zahraničí podílely na vzniku alimentárních onemocnění.

Cílem této studie není kontrola potravin, jak je běžně prováděna kontrolními orgány, ale sledování frekvence výskytu a charakteristik významných patogenů v potravinách v návaznosti na aktuální epidemickou situaci v ČR. V roce 2011 jsme se zaměřili na průkaz čtyř etiologických agens - původců významných alimentárních onemocnění: *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp. a *Listeria monocytogenes* a toxinogenní kmeny *S. aureus*.

d.

Použitá metodika

Mikrobiologická analýza byla prováděna podle mezinárodně platných norem:

- ČSN EN ISO 6579 - Horizontální metoda průkazu bakterií rodu *Salmonella*
- ČSN ISO 10272 - Horizontální metoda průkazu termotolerantních druhů rodu *Campylobacter*
- ČSN EN ISO 11290-1,2 - Horizontální metoda průkazu a stanovení počtu *Listeria monocytogenes*
- ČSN EN ISO 6888-1 - Horizontální metoda stanovení počtu koagulázo-pozitivních stafylokoků

U vyšetřovaných vzorků potravin byl prováděn průkaz a u potravin k přímé spotřebě bylo prováděno i stanovení počtu bakterií. Všechny suspektní kolonie sledovaných agens byly confirmovány podle příslušných norem a dále detailně charakterizovány. U kmenů *L. monocytogenes* byl určován sérotyp a makrorestrikční profil, u *S. aureus* byla sledována přítomnost genů kódujících stafylokokové enterotoxiny *sea – sej*.

e.

Výsledky laboratorní analýzy

Celkem bylo v tržní síti odebráno 276 vzorků potravin a bylo provedeno 972 analýz. Vzorky zahrnovaly komodity určené k dalšímu kulinárnímu zpracování i k přímé spotřebě. Nejčastěji byl ve vyšetřovaných vzorcích detekován *S. aureus* (7,9 %) a následně *L. monocytogenes* (6,5 %). Přítomnost salmonel a termotolerantních kampylobakterů nebyla prokázána

v žádném z vyšetřovaných vzorků. Přehled a počty vyšetřovaných komodit včetně detailních výsledků a pozitivních nálezů vyšetřovaných komodit uvádí tabulka č. 1.

Na přítomnost bakterií rodu *Salmonella* bylo celkem vyšetřeno 276 vzorků potravin zahrnujících různé druhy mas, masné, mléčné a rybí výrobky, vejce, knedlík houskový i ovoce a zeleninu. V žádném z vyšetřených vzorků nebyla přítomnost salmonel potvrzena.

Na přítomnost bakterií rodu *Campylobacter* bylo celkem vyšetřeno 156 vzorků mas, mléčných výrobků (mražených krémů), ovoce a zeleniny. V žádném z vyšetřených vzorků nebyla přítomnost termotolerantních kampylobakterů potvrzena.

Tabulka č. 1: Přehled vyšetřovaných komodit, počty vzorků a pozitivních nálezů sledovaných patogenních agens

Komodita	n	Počet (%) pozitivních nálezů			
		<i>L. monocytogenes</i> n=264	<i>Salmonella</i> spp. n=276	<i>S. aureus</i> n=276	<i>Campylobacter</i> spp. n=156
maso hovězí	24	8 (33,3)	0	3 (16,7)	0
maso mleté	12	5 (41,7)	0	2 (16,7)	0
maso rybí	24	3 (12,5)	0	6 (25)	0
mléčné výrobky	60	0	0	0	0 z 12
masné výrobky	24	1 (4,2)	0	3 (12,5)	NESTANOVOVÁNO
rybí výrobky	12	0	0	1 (8,3)	NESTANOVOVÁNO
vejce	24	0 z 12	0	0	NESTANOVOVÁNO
knedlík houskový	12	0	0	3	NESTANOVOVÁNO
ovoce	24	1 (4,2)	0	0	0
zelenina	60	0	0	4 (6,7)	0
Celkem	276	18 (6,5)	0	22 (7,9)	0

Z 264 vyšetřených vzorků potravin byla *Listeria monocytogenes* detekována v 18 případech (6,5 %). Nejčastěji byla *L. monocytogenes* izolována z mletého (5/ 41,7 %), hovězího masa (8/ 33,3 %) a rybího masa (3/ 12,5%) a jedenkrát z uzeného masa (4,2 %) a stěru z povrchu jablek (4,2 %).

Sérotypizací získaných izolátů *L. monocytogenes* byly nejčastěji prokázány sérotypy 1/2a (16/ 88,9 %), 1/2c (1/ 5,6 %) a 4b (1/ 5,6 %). Detailní charakteristika izolovaných kmenů *Listeria monocytogenes* podle komodit, sérotypů a země původu je uvedena v tabulce č. 2.

Typizací vyšetřovaných 18 kmenů na molekulární úrovni bylo prokázáno, že patří k patnácti různým klonům. Klonální shoda byla u kmenů *L. monocytogenes* prokázána ve třech případech. Dvakrát se jednalo o kmeny izolované z hovězího masa (L 770 a L 790), zboží bylo zakoupeno v různých prodejnách, ale pocházelo od stejného výrobce. Kmeny se shodným pulzotypem (L 717) byly izolovány ze stěru z povrchu jablek a hovězího masa,

pocházely od různých výrobců, ale zakoupeny byly ve stejné prodejně. Detailní výsledky makrorestrikční analýzy uvádí tabulka č. 3.

Tabulka č. 2: *Listeria monocytogenes* – přehled a charakteristika izolovaných kmenů podle komodity a země původu

Komodita	Sérotyp	Počet izolátů	Země původu
Maso	hovězí	1/2a	4 ČR
		1/2a	2 Polsko
		1/2a	1 Slovensko
	mleté	4b	1 ČR
		1/2a	4 ČR
		1/2c	1 Polsko
	uzené	1/2a	1 ČR
	rybí (kapr) (filé)	1/2a	2 ČR
1 Peru			
Ovoce	jablka (stěr)	1/2a	1 Itálie

Tabulka č. 3: *L. monocytogenes* – přehled a charakteristika izolovaných kmenů podle výrobce, prodejny a způsobu balení

Výrobce	Prodejna	Baleno	Pulzotyp	Komodita	Sérotyp
A	I	výrobce	770	maso hovězí	1/2a
		výrobce	770		
	III	výrobce	749		4b
		výrobce	215	maso mleté	1/2a
		výrobce	718		
B	II	výrobce	790	maso hovězí	1/2a
		výrobce	790		
C	III	výrobce	715	maso uzené	1/2a
D	IV	výrobce	1	maso mleté	1/2c
		výrobce	791	rybí filé	1/2a
F	V	výrobce	735	maso mleté	
G	VI	v tržní síti	769	maso hovězí	
			789	maso mleté	
H	VII	v tržní síti	717	maso hovězí	
			710	maso mleté	
I	VIII	výrobce	717	jablka (stěr)	
J		v tržní síti	765	kapr	
K		výrobce	746		

Přítomnost bakterií *Staphylococcus aureus* byla sledována u 276 vzorků potravin, u 22 (7,9 %) vzorků byl potvrzen pozitivní nález. U všech vyšetřovaných potravin byly detekovány počty koagulázopozitivních stafylokoků $< 5 \cdot 10^1$ KTJ/g s výjimkou 1 vzorku (knedlík houskový), kde byl stanoven počet koagulázopozitivních stafylokoků $9 \cdot 10^2$ KTJ/g.

U 13 (59,1 %) izolátů *S. aureus* byla prokázána přítomnost genů kódujících stafylokokové enterotoxiny *sea-sej*. Nejčastěji byla zjišťována přítomnost genu *seh* (5 izolátů). Byly detekovány také izoláty nesoucí kombinaci více genů kódujících stafylokokové enterotoxiny, a to u vzorků rybiho filé z Číny a Polska. Přehled detekovaných genů uvádí tabulka 4. Všechny kmeny *S. aureus* byly testovány na citlivost k 14 antimikrobiálním látkám. U 12 kmenů (54,5 %) byla prokázána rezistence k alespoň jedné antimikrobiální látce. V jednom případě byl izolát rezistentní ke třem různým látkám. Podrobné výsledky jsou uvedeny v tabulce č. 5.

Tabulka č. 4: *Staphylococcus aureus* – přehled a počet kmenů schopných produkovat enterotoxin

Schopnost tvorby enterotoxinů	Počet kmenů	Původ vzorku	Země původu
B, D, G, I, J	1	rybí filé	Čína
D, G, I, J	1	rybí filé	Polsko
A, H	1	maso uzené	ČR
D, J	1	maso hovězí	ČR
G, I	1	maso uzené	ČR
	1	špenát	ČR
A	1	rybí filé	ČR
	1	maso hovězí	ČR
C	1	knedlík houskový	ČR
H	1	maso mleté	ČR
	1	rybí filé	Tichý oceán
	1	špenát	Rakousko
	1	kapr	ČR