

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, stejně jako v minulých letech, na ty skupiny potravin, které se u nás nebo v zahraničí podílely na vzniku alimentárních onemocnění.

Pozornost byla zaměřena na průkaz 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 není k dispozici.

U vyšetřovaných vzorků potravin byl prováděn průkaz, u potravin k přímé spotřebě bylo prováděno i stanovení počtu. Mikrobiologická analýza byla prováděna referenčními kultivačními metodami (normy řady EN ISO).

Suspektní kolonie sledovaných agens byly potvrzeny, u salmonel a *L. monocytogenes* byl určován jejich sérotyp. U *S. Enteritidis* (SE) a *S. Typhimurium* (STM) byla prováděna fágová typizace. U salmonel a *S. aureus* byla monitorována rezistence k antimikrobiálním látkám diskovou difuzní metodou. U *S. aureus* byla metodou PCR sledována přítomnost genů kódujících stafylokokové enterotoxiny A – J (*sea – sej*).

Na přítomnost **salmonel** bylo vyšetřeno 528 vzorků různých potravin zahrnujících komodity určené k dalšímu kulinárnímu zpracování i k přímé spotřebě. Celkem bylo zjištěno 12 (2,3 %) vzorků s pozitivním nálezem salmonel, 10 bylo získáno z drůbežního masa a drobů, 1 z rybího masa a 1 ze stěru povrchu vejce.

U 4 izolátů byl zjištěn sérotyp *S. Enteritidis*, fágové typy PT8 (2 izoláty ze slepičího masa, 1 izolát ze stěru vejce) a PT6c (1 izolát z rybího filé). S výjimkou jednoho kmene *S. Enteritidis* PT8 pocházejícího ze stěru vejce, který vykazoval rezistenci k sulfonamidům, byly citlivé ke všem 17 testovaným antimikrobiálním látkám. U dvou vzorků z kuřecího a slepičího masa byly zjištěny kmeny sérotypu *S. 6,7:-:1,5* (defektní *S. Infantis*) rezistentní k streptomycinu, sulfonamidům, tetracyklinu a kyselině nalidixové. Ve vzorcích drůbežního masa byly dále prokázány sérotypy *S. Agona*, *S. Braenderup*, *S. Indiana*, *S. Kentucky*, *S. Newport* a *S. Virchow*. Kmen *S. Kentucky*, pocházející ze slepičího masa, byl stejně jako kmeny *S. Agona* a *S. Indiana*, izolované z masa kuřecího, citlivé ke všem testovaným antimikrobiálním látkám. *S. Braenderup* izolovaná z kuřecího masa vykazovala rezistenci k streptomycinu, sulfonamidům, tetracyklinu a kyselině nalidixové. Rovněž u izolátů z krůtího masa byla zjištěna rezistence ke třem a více antibiotikům. U kmene *S. Newport* byla zjištěna rezistence k ampicilinu, amoxicilinu a tetracyklinu a kmen *S. Virchow* vykazoval s výjimkou tetracyklinu navíc rezistenci k streptomycinu a kyselině nalidixové.

Přítomnost termotolerantních **kampylobakterů** byla sledována u syrového masa, čerstvé a mražené zeleniny a čerstvého ovoce. Celkem bylo vyšetřeno 204 vzorků potravin, u 30 (14,7 %) vzorků byl prokázán pozitivní nález. Jednalo se o 17 vzorků drůbežního masa, 10 vzorků drůbežích drobů, 2 vzorky vepřových jater a jeden vzorek králičího masa. Na základě druhové identifikace byl nejčastěji detekovaným zástupcem termotolerantních kampylobakterů určen druh *C. coli* (7,8 %), dále *C. jejuni* (5,9 %) a směsná kultura *C. jejuni* a *C. coli* (1,0 %). Ve vzorcích zeleniny a ovoce nebyla přítomnost bakterií rodu *Campylobacter* potvrzena.

Na přítomnost bakterií ***Listeria monocytogenes*** bylo vyšetřeno 564 vzorků potravin. Celkem bylo získáno 30 (5,3 %) izolátů *L. monocytogenes*. Ve vzorcích potravin určených k přímé spotřebě byla *L. monocytogenes* nejčastěji detekována v rybích (12,5 %) a masných (4,4 %) výrobcích. Ve skupině mléčných výrobků byla *L. monocytogenes* zjištěna pouze v jednom vzorku tvrdého sýra typu Eidam. Všechny vzorky zrajících sýrů (24 vzorků) byly na přítomnost této bakterie negativní. U těchto potravin bylo provedeno také kvantitativní vyšetření a v žádném ze vzorků nebyl překročen povolený limit $1,0 \cdot 10^2$ KTJ/g potravin.

Sérotypizací získaných izolátů *L. monocytogenes* byl nejčastěji prokázán sérotyp 1/2a (16/53,3 %) a 1/2b (6/20,0 %). Rovněž byly detekovány sérotypy 1/2c (4/13,3 %), 4b (3/10,0 %) a 4:- (1/3,3 %).

Přítomnost bakterií ***Staphylococcus aureus*** byla sledována u 588 vzorků potravin. U 94 (16,0 %) vzorků byla potvrzena přítomnost *S. aureus*. Kvantitativní vyšetření bylo prováděno u potravin určených k přímé spotřebě. U všech vyšetřovaných potravin k přímé spotřebě byly počty koagulázopozitivních stafylokoků $< 5 \cdot 10^1$ KTJ/g. Pouze v jednom vzorku houskového knedlíku byl zjištěn počet $8,7 \cdot 10^2$ KTJ/g.

U 54 (57,4 %) izolátů *S. aureus* byla prokázána přítomnost genů kódujících stafylokokové enterotoxiny. Nejčastěji byla u *S. aureus* zjištěna přítomnost kombinace genů *seg* a *sei* (22 izolátů). Rovněž byly detekovány izoláty nesoucí kombinaci tří a více genů kódujících stafylokokové enterotoxiny, a to *seb, seg, sei* (2 izoláty), *sec, seg, sei* (1 izolát), *sed, seg, sei, sej* (4 izoláty) a *sea, seb, sec, see* (1 izolát).

b.

Spolupracující organizace a odborníci

Pracovníci oddělení mikrobiologie, OLHVBP, CLČ, SZÚ (MVDr. Renáta Karpíšková, Ph.D., Mgr. Tereza Gelbíčová, Lea Jakubcová) a kolektiv pracovníků podpory zdraví SZÚ Praha.

c.

Základní informace

Počty hlášených alimentárních onemocnění bakteriálního původu zejména salmonelóz a kampylobakterióz jsou v ČR v porovnání s ostatními evropskými státy stále 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 (do 10 %), kdy bývají k dispozici konkrétní informace o vehikulech přenosu nákazy a jen u několika epidemií ročně 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 obchodní síti tak, 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 na ty skupiny potravin, které se v minulosti u nás nebo v zahraničí podílely na vzniku alimentárních onemocnění. Výběr vyšetřovaných komodit je oproti předchozím letům upraven a je zaměřen především na potraviny určené k přímé spotřebě.

Cílem této studie tedy není kontrola potravin tak, jak je běžně prováděna kontrolními orgány, ale je zaměřena na sledování frekvence výskytu a charakteristiky významných patogenů v potravinách v obchodní síti. V roce 2009 jsme se zaměřili na průkaz tří etiologických agens - původců významných alimentárních onemocnění: *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp. a *Listeria monocytogenes* a dále na průkaz a stanovení počtu *S. aureus* a sledování jeho schopnosti tvořit enterotoxiny.

d.

Použitá metodika

Mikrobiologická analýza byla prováděna podle platných norem:

ČSN EN ISO 6574 - 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 s pozitivním nálezem patogenů bylo prováděno i stanovení počtu bakterií. Všechny suspektní kolonie sledovaných agens byly potvrzeny podle příslušných norem, u salmonel a *L. monocytogenes* byl určován jejich sérotyp. U *S. Enteritidis* (SE) a *S. Typhimurium* (STM) byla prováděna fágová typizace. U *S. aureus* byla testována schopnost produkce stafylokokových enterotoxinů A – J (SEA – SEJ) stanovením přítomnosti genů kódujících stafylokokové enterotoxiny *sea – sej*.

e.

Výsledky laboratorní analýzy

Na přítomnost **salmonel** bylo vyšetřeno 528 vzorků různých potravin zahrnujících komodity určené k dalšímu kulinárnímu zpracování i k přímé spotřebě. Celkem bylo zjištěno 12 (2,3 %) vzorků s pozitivním nálezem salmonel. Nejvíce pozitivních nálezů (10/48) bylo detekováno ve vzorcích z drůbežního masa a droby. Jeden izolát byl zachycen rovněž ve vzorku rybiho masa a stěru z povrchu vajec (tabulka č. 1).

U 4 izolátů byl zjištěn sérotyp *S. Enteritidis*, fágové typy PT8 (2 izoláty ze slepičino masa, 1 izolát ze stěru vejce) a PT6c (1 izolát z rybiho filé). S výjimkou jednoho kmene *S. Enteritidis* PT8 pocházejícího ze stěru vejce, který vykazoval rezistenci k sulfonamidům, byly citlivé ke všem 17 testovaným antimikrobiálním látkám. U dvou vzorků z kuřecího a slepičího masa byly zjištěny kmeny sérotypu *S. 6,7:-:1,5* (defektní *S. Infantis*) rezistentní k streptomycinu, sulfonamidům, tetracyklinu a kyselině nalidixové. Ve vzorcích drůbežního masa byly dále prokázány sérotypy *S. Agona*, *S. Braenderup*, *S. Indiana*, *S. Kentucky*, *S. Newport* a *S. Virchow*. Citlivost k antimikrobiálním látkám je uvedena v tabulce č. 2.

Tabulka č. 1: *Salmonella* spp. – přehled a počet vyšetřených vzorků a pozitivní nálezy podle komodit

Komodita	Počet vzorků	
	vyšetřených	pozitivních (%)
Drůbež a droby	48	10 (20,8)
Játra vepřová	12	0
Maso králičí	12	0
Maso rybí	24	1 (4,2)
Maso mleté	12	0
Masné výrobky	204	0
Rybí výrobky	24	0
Vejce	24 (120 ks)	1
Čokoládové cukrovinky	12	0
Kakaový prášek	12	0
Zelenina mražená	36	0
Zelenina čerstvá	60	0
Ovoce čerstvé	12	0
Houby	12	0
Výživa kojenecká dětská	12	0
Knedlík houskový	12	0
Celkem	528	12 (2,3)

Tabulka č. 2: *Salmonella* spp. - přehled, počet a charakteristika izolovaných kmenů podle komodit

Komodita	Sérotyp	Fagotyp	Počet izolátů	Počet KTJ v 1 g	ATB
Maso slepičí	<i>S. Enteritidis</i>	PT 8	2	nestanovováno	citlivé
	<i>S. 6,7:-1,5</i>	-	1	nestanovováno	S, Su, Te, Na
	<i>S. Kentucky</i>	-	1	nestanovováno	citlivá
Maso kuřecí	<i>S. 6,7:-1,5</i>	-	1	nestanovováno	S, Su, Te, Na
	<i>S. Agona</i>	-	1	nestanovováno	citlivá
	<i>S. Braenderup</i>	-	1	nestanovováno	S, Su, Te, Na
	<i>S. Indiana</i>	-	1	nestanovováno	citlivá
Maso krůtí	<i>S. Newport</i>	-	1	nestanovováno	Amp, Amc, Te
	<i>S. Virchow</i>	-	1	nestanovováno	Amp, Amc, S, Na
Filé rybí	<i>S. Enteritidis</i>	PT 6c	1	nestanovováno	citlivá
Vejce-stěr	<i>S. Enteritidis</i>	PT 8	1	nestanovováno	Su

Přítomnost termotolerantních **kampylobakterů** byla sledována u syrového masa, čerstvé a mražené zeleniny a čerstvého ovoce. Celkem bylo vyšetřeno 204 vzorků potravin, u 30 (14,7 %) vzorků byl prokázán pozitivní nález. Jednalo se o 17 vzorků drůbežního masa, 10 vzorků drůbežích drobů, 2 vzorky vepřových jater a jeden vzorek králičího masa (tabulka č. 3). Na základě druhové identifikace byl nejčastěji detekovaným zástupcem kampylobakterů určen druh *C. coli* (7,8 %), dále *C. jejuni* (5,9 %) a směsná kultura *C. jejuni* a *C. coli* (1,0 %). Ve vzorcích zeleniny a ovoce nebyla přítomnost bakterií rodu *Campylobacter* potvrzena.

Tabulka č. 3: *Campylobacter* spp. – přehled a počet vyšetřených vzorků a pozitivní nálezy podle komodit

Komodita	Počet vzorků				
	vyšetřených	pozitivních (%)			
		celkem	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. jejuni</i> + <i>C. coli</i>
Drůbeží maso	36	17	9	8	0
Drůbeží droby	12	10	3	5	2
Játra vepřová	12	2	0	2	0
Maso králičí	12	1	0	1	0
Maso rybí	24	0	0	0	0
Zelenina čerstvá	60	0	0	0	0
Zelenina mražená	36	0	0	0	0
Ovoce	12	0	0	0	0
Celkem	204	30 (14,7)	12 (5,9)	16 (7,8)	2 (1,0)

Na přítomnost bakterií *Listeria monocytogenes* bylo vyšetřeno 564 vzorků potravin (tabulka č. 4). Celkem bylo získáno 30 (5,3 %) izolátů *L. monocytogenes*. Ve vzorcích potravin určených k přímé spotřebě byla *L. monocytogenes* nejčastěji detekována v rybích (12,5 %) a masných (4,4 %) výrobcích. Ve skupině mléčných výrobků byla *L. monocytogenes* zjištěna pouze v jednom vzorku tvrdého sýra typu Eidam. Všechny vzorky zrajících sýrů (24 vzorků) byly na přítomnost této bakterie negativní. U těchto potravin bylo provedeno také kvantitativní vyšetření a v žádném ze vzorků nebyl překročen povolený limit $1,0 \cdot 10^2$ KTJ/g potraviny.

Sérotypizací získaných izolátů *L. monocytogenes* byl nejčastěji prokázán sérotyp 1/2a (16/53,3 %) a 1/2b (6/20,0 %). Rovněž byly detekovány sérotypy 1/2c (4/13,3 %), 4b (3/10,0 %) a 4:- (1/3,3 %). Detaily uvádí tabulka č. 5.

Tabulka č. 4: *Listeria monocytogenes* – přehled a počet vyšetřených vzorků a pozitivní nálezy podle komodit

Komodita	Počet vzorků	
	vyšetřených	pozitivních (%)
Drůbež a droby	48	8 (16,7)
Játra vepřová	12	1 (8,3)
Maso králičí	12	2 (16,7)
Maso rybí	24	1 (4,2)
Maso mleté	12	2 (16,7)
Masné výrobky	204	9 (4,4)
Rybí výrobky	24	3 (12,5)
Mléčné výrobky	60	1 (1,7)
Čokoládové cukrovinky	12	0
Kakaový prášek	12	0
Zelenina mražená	36	3 (8,3)
Zelenina čerstvá	60	0
Ovoce čerstvé	12	0
Houby	12	0
Výživa kojenecká dětská	12	0
Knedlík houskový	12	0
Celkem	564	30 (5,3)

Tabulka č. 5: *L. monocytogenes* – přehled, počet a charakteristika izolovaných kmenů podle komodit

Komodita		Druh	Sérotyp	Počet izolátů	Počet KTJ v 1 g
Maso drůbeží	droby drůbeží	<i>L. monocytogenes</i>	1/2a	1	nestanovováno
		<i>L. monocytogenes</i>	1/2b	1	nestanovováno
	maso krůtí	<i>L. monocytogenes</i>	1/2a	1	nestanovováno
		<i>L. monocytogenes</i>	1/2b	2	nestanovováno
	maso slepičí	<i>L. monocytogenes</i>	1/2b	1	nestanovováno
		<i>L. monocytogenes</i>	1/2c	1	nestanovováno
	maso kuřecí	<i>L. monocytogenes</i>	1/2b	1	nestanovováno
	Maso králičí	<i>L. monocytogenes</i>	1/2a	2	nestanovováno
Maso rybí	sladkovodní ryba	<i>L. monocytogenes</i>	1/2a	1	nestanovováno
Játra vepřová		<i>L. monocytogenes</i>	4:-	1	nestanovováno
Masné výrobky	salám měkký	<i>L. monocytogenes</i>	1/2a	1	< 1.10 ¹
		<i>L. monocytogenes</i>	4b	1	< 1.10 ¹
	salám trvanlivý tep.opracovaný	<i>L. monocytogenes</i>	1/2a	1	< 1.10 ¹
	salám trvanlivý fermentovaný	<i>L. monocytogenes</i>	1/2c	1	< 1.10 ¹
	salám játrový	<i>L. monocytogenes</i>	4b	1	10
	jitrnice	<i>L. monocytogenes</i>	1/2a	1	< 1.10 ¹
	slanina anglická	<i>L. monocytogenes</i>	1/2a	2	< 1.10 ¹
	tlačenka vepřová	<i>L. monocytogenes</i>	1/2a	1	< 1.10 ¹
Mléčné výrobky	sýr tvrdý Eidam	<i>L. monocytogenes</i>	1/2a	1	< 1.10 ¹
Rybí výrobky	ryba uzená	<i>L. monocytogenes</i>	1/2a	3	< 1.10 ¹
Zelenina mražená	s kukuřicí	<i>L. monocytogenes</i>	1/2b	1	nestanovováno
		<i>L. monocytogenes</i>	4b	1	nestanovováno
	s košťálovinami	<i>L. monocytogenes</i>	1/2a	1	nestanovováno

Přítomnost bakterií *Staphylococcus aureus* byla sledována u 588 vzorků potravin (tabulka č. 6). U 94 (16,0 %) vzorků byla potvrzena přítomnost *S. aureus*. Kvantitativní vyšetření bylo prováděno u potravin určených k přímé spotřebě. U všech vyšetřovaných potravin k přímé spotřebě byly počty koagulázopozitivních stafylokoků $< 5.10^1$ KTJ/g. Pouze v jednom vzorku houskového knedlíku byl zjištěn počet $8,7.10^2$ KTJ/g, kmen *S. aureus* byl potenciálním producentem enterotoxinu SEC.

U 54 (57,4 %) izolátů *S. aureus* byla prokázána přítomnost genů kódujících stafylokokové enterotoxiny (tabulka č. 7). Nejčastěji byla u *S. aureus* zjištěna přítomnost kombinace genů *seg* a *sei* (22 izolátů). Rovněž byly detekovány izoláty nesoucí kombinaci tří a více genů kódujících stafylokokové enterotoxiny, a to *seb*, *seg*, *sei* (2 izoláty), *sec*, *seg*, *sei* (1 izolát), *sed*, *seg*, *sei*, *sej* (4 izoláty) a *sea*, *seb*, *sec*, *see* (1 izolát).

Tabulka č. 6: *Staphylococcus aureus* – přehled a počet vyšetřených vzorků a pozitivní nálezy podle komodit

Komodita	Počet vzorků	
	vyšetřených	pozitivních (%)
Drůbež a droby	48	9 (18,8)
Játra vepřová	12	4 (33,3)
Maso králičí	12	2 (16,7)
Maso rybí	24	5 (20,8)
Maso mleté	12	5 (41,7)
Masné výrobky	204	41 (20,1)
Mléčné výrobky	60	4 (6,7)
Rybí výrobky	24	0
Vejsce	24 (120 ks)	2
Čokoládové cukrovinky	12	0
Kakaový prášek	12	0
Zelenina mražená	36	2 (5,6)
Zelenina čerstvá	60	13 (21,7)
Ovoce čerstvé	12	0
Houby	12	1 (8,3)
Výživa kojenecká dětská	12	0
Knedlík houskový	12	6 (50,0)
Celkem	588	94 (16,0)

Tabulka č. 7: *Staphylococcus aureus* – přehled a počet kmenů schopných produkovat enterotoxin

Gen zodpovědný za tvorbu enterotoxinu	Počet kmenů	Gen zodpovědný za tvorbu enterotoxinu	Počet kmenů
A	7	G	29
B	7	H	7
C	10	I	29
D	5	J	5
E	1		

Závěr:

Ve vzorcích potravin určených k přímé spotřebě, analyzovaných v roce 2009, nebyly zjištěny patogenní bakterie v míře přesahující povolené limity. Zajímavé výsledky přinesla genetická analýza *S. aureus*, která odhalila kontaminaci potravin přímo v obsluhovaných úsecích některých prodejen, stejně jako v roce 2008.