

UNIVERZITA KARLOVA
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

Bakalářská práce

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
Katedra biologických a lékařských věd

Průkaz salmonel v biologickém materiálu

Detection of *Salmonella species* in biology material

Bakalářská práce

Vedoucí bakalářské práce: PharmDr. Barbora Voxová

Konzultant: MUDr. Nataša Bartoníková

Hradec Králové 2013

.....

Iveta Dvořáková

Prohlášení

„Prohlašuji, že tato bakalářská práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány. Práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.“

Hradec Králové 2013

.....

Iveta Dvořáková

Poděkování

Chtěla bych poděkovat PharmDr. Barboře Voxové za spolupráci a konzultaci.

Tímto bych chtěla poděkovat celému oddělení lékařské mikrobiologie ve Zlíně. Především paní primářce MUDr. Nataši Bartoníkové, která mi umožnila se tímto tématem zabývat. Děkuji jí za její kladný postoj, vstřícnost a poskytnutí materiálů pro moji bakalářskou práci. Také dalším laboratorním pracovnícím, které se mi věnovaly.

Dále bych chtěla poděkovat paní MUDr. Haně Tkadlecové, která mi pomohla se na danou věc podívat z epidemiologického hlediska a poskytla mi informace o výskytu salmonel ve Zlínském kraji.

Obsah

1	ABSTRAKT	8
1	ABSTRACT	8
2	ÚVOD	10
3	TEORETICKÁ ČÁST	11
3.1	Historie	11
3.2	Charakteristika	12
3.2.1	Biochemické vlastnosti	14
3.3	Faktory virulence	16
3.4	Taxonomie	17
3.4.1	Rozlišovací znaky 2 druhů a jejich poddruhů rodu <i>Salmonella</i>	19
3.5	Antigenní vlastnosti	20
3.5.1	Označení serotypů	22
3.5.2	Kauffmann a Whiteo diagnostické schéma	23
3.6	Patogeneze	24
3.7	Patogenita	26
3.8	Salmonelóza	26
3.8.1	Projevy onemocnění	27
3.8.2	Prevence	27
3.9	Léčba	28
3.10	Normální mikroflóra zažívacího traktu	29
3.11	Jednotlivé druhy salmonel	29
3.11.1	<i>Salmonella enterica subsp. enterica</i> sérovar Enteritidis	29
3.11.2	<i>Salmonella enterica subsp. enterica</i> sérovar Typhimurium	29
3.11.3	<i>Salmonella enterica subsp. enterica</i> sérovar Typhi	30
4	KULTIVAČNÍ MÉDIA	31
4.1	Wilson - Blairův agar	31
4.2	Mc Conkey agar	32

4.3	XLD agar	33
4.4	DCI agar	34
4.5	Endo agar s biochemickým klínem	35
4.6	Amiesova půda	36
5	PRAKTICKÁ ČÁST	37
5.1	Očkování na MC CONKEY agar	37
5.2	Očkování na DCI	38
5.3	Očkování na XLD agar	39
5.4	Očkování na Endo agar s biochemickým klínem	40
5.5	ENTEROtest 24N	41
5.6	Sérotypizace salmonel	44
6	ZÁCHYT SALMONEL VE ZLÍNSKÉM KRAJI	46
6.1	Celkový záchyt salmonel ve Zlínském kraji (2001-2011)	46
6.1.1	Nejčastější sérotypy salmonel ve Zlínském kraji (2001-2005)	47
6.1.2	Nejčastější sérotypy salmonel ve Zlínském kraji (2006-2011)	47
6.1.3	Vývoj záchytu nejčastějších sérotypů ve Zlínském kraji (2001–2011) ...	48
6.1.4	Záchyt salmonel v jednotlivých krajích za rok 2011	49
6.2	Záchyt salmonel ve Zlínském kraji za rok 2012	50
6.2.1	Nejčastější sérotypy salmonel ve Zlínském kraji v roce 2012.....	51
7	VÝSLEDKY ZÁCHYTU SALMONEL VE ZLÍNSKÉM KRAJI	52
8	ZÁCHYT SALMONEL U PACIENTŮ V ČR (2000 – 2012)	53
9	ZÁCHYT SALMONEL U PACIENTŮ V OKOLNÍCH STÁTECH (2000–2012)	54
9.1	Počet onemocnění způsobených salmonelou na Slovensku	54
9.2	Počet onemocnění způsobených salmonelou v Polsku.....	55
9.3	Počet onemocnění způsobených salmonelou v Německu.....	56
9.4	Počet onemocnění způsobených salmonelou v Rakousku	57

9.5	Porovnání záchytu salmonel v ČR se sousedními státy (2000-2012).	58
9.6	Porovnání incidence salmonel v ČR s okolními státy (2000 – 2012)..	59
10	DISKUSE.....	60
11	ZÁVĚR	62
12	SEZNAM ZKRATEK	63
13	SEZNAM VYSVĚTLIVEK.....	64
14	SEZNAM OBRÁZKŮ.....	65
15	SEZNAM TABULEK	66
16	ZDROJE	67

1 Abstrakt

Tato práce podává přehled laboratorních postupů k průkazu salmonel v biologickém materiálu. Pojednává o všeobecných vlastnostech rodu *Salmonella*, patogenezí, projevech onemocnění a léčbě. Jsou zde popsány jednotlivé kultivační půdy, na kterých se projeví typický růst rodu *Salmonella*. Salmonely jsou druhou nejčastější bakterií způsobující gastrointestinální onemocnění.

V této práci je uveden vývoj počtu nakažených lidí a nejčastější sérotypy ve Zlínském kraji (2000 – 2012). Dále jsou porovnány záznamy zachytu salmonel České Republiky (ČR) s okolními státy za období (2000 – 2012). Grafy podávají přehledný výskyt salmonel v ČR a okolních státech.

1 Abstract

This study tenders survey laboratory procedures for the establishment of *Salmonella* in biological material. The work deals with the general characteristics of the genus *Salmonella*, pathogenesis, symptoms of the disease and treatment. Here are described different culture media, which are reflected in the typical growth of *Salmonella*. *Salmonella* is the second most common bacteria causing gastrointestinal disease.

It also shows numbers of infected people and the most common serotypes in the Zlín region (2000 - 2012). Another records of *Salmonella* detection in Czech Republic are matched with the neighboring countries for the period (2000 - 2012). Graphs provide clear occurrence of *Salmonella* in the Czech Republic and neighboring countries.

Klíčová slova: *Salmonella*, *Salmonella* Enteritidis, Salmonelóza, Kultivační půdy

KEY words: *Salmonella*, *Salmonella* Enteritidis, Salmonellosis, Culture medium

Zadání práce

Tato práce je vypracována jako rešeršní. Je obohacena o laboratorní postup při průkazu salmonel v biologickém materiálu. Má podat základní informace o historii, vlastnostech, taxonomii, patogenezí bakterie rodu *Salmonella*.

Cíl práce

Cílem této práce je seznámit s laboratorním postupem při průkazu salmonel v biologickém materiálu. Popsat, jaká kultivační média slouží k danému záchytu. Zpracovat výsledky záchytu salmonel ve Zlínském kraji (2000 – 2012). Zhodnotit celkový záchyt salmonel v ČR s okolními státy (2000 – 2012).

2 Úvod

Teoretická část

Tato část je zaměřena na obecné rysy rodu *Salmonella*. Budou zde popsány obecné údaje o rodu *Salmonella*. Její biochemické vlastnosti, rozdělení podle taxonomie. *Salmonella* způsobuje onemocnění zvané salmonelóza. A proto v teoretické části uvádím, jakým mechanismem bakterie rodu *Salmonella* způsobuje toto onemocnění, jaké faktory zapříčiní patogenitu.

Všeobecné vlastnosti o půdách, především selektivních, které se používají pro záchyt bakterií rodu *Salmonella*. A jak se může rod *Salmonella* odlišit od jiných rodů na těchto půdách, především pomocí odlišného nárůstu kolonií.

Praktická část

Tato práce vznikla, aby umožnila popsat laboratorní postup při průkazu salmonel v biologickém materiálu. Měla by dát stručný a přesný postup, jak daný materiál zpracovat. Jaké pomůcky budeme potřebovat. Jak daný nárůst kolonií identifikovat na půdách.

V posledních letech byl zaznamenaný značný pokles záchytu rodu *Salmonella*, ale i přesto je onemocnění způsobené *Salmonella* Enteritidis jednou z nejčastějších onemocnění gastrointestinálního traktu. Proto praktickou část obohacují grafy o jednotlivém průběhu záchytu salmonel ve Zlínském kraji za uplynulé roky. Nejčastější sérotypy zachycené ve Zlínském kraji. Dále srovnání záchytu salmonel v ČR a okolních státech.

3 Teoretická část

3.1 Historie

Rod *Salmonella* je historicky velmi starý. První myšlenka se datuje k roku 323 před naším letopočtem k postavě Alexandra Velikého. Věřil, že záhadná úmrtí lze připsat bakteriím. Columbia University uvedla, že v roce 1861 podlehl na salmonelózu princ Albert, manžel královny Viktorie. [8]

V roce 1880 se německý bakteriolog Karl Joseph Eberth poprvé setkal se *Salmonella* Typhi v lymfatických orgánech pacienta. Proto se původně jmenovala Eberthella Typhi. V roce 1884 pozoroval Theobald Smith onemocnění dobytka. O rok později byla bakterie popsána jako *Salmonella Cholerae-suis* v odborné literatuře u prasat americkým patologem Theobaldem Smithem a veterinárním chirurgem Danielem Elmerem Salmonem. Salmon byl správcem výzkumného programu, a proto tento rod nese jeho jméno, ale skutečným objevitelem byl Theobald Smith. [1, 13, 14, 35]

V roce 1900 byl poprvé použit název „*Salmonella*“ pro původce způsobující onemocnění u prasat. [13].

V roce 1927 byl poprvé popsán páný W. Wilsonem a E. M. Blairem tzv. bizmut-sulfitový agar k průkazu salmonel v biologickém materiálu. Tento agar je dnes znám pod názvem Wilson – Blairův agar (WB). Na pracovištích klinické mikrobiologie se tento agar používá dodnes. [13]

V roce 1940 dánský mikrobiolog F. Kauffmann vydal dílo o bakterii rodu *Salmonella* pod názvem: „*Die Bakteriologie der Salmonella Gruppe*“. V dané knížce popisuje poznatky o rodu *Salmonella* a své výsledky výzkumů. Kniha zahrnuje informace o kultivaci těchto bakterií a jejich sérologické vlastnosti.

V roce 1951 v Kodani vydal F. Kauffmann přepracované dílo pod názvem „*Enterobacteriaceae*“ [13]

Rod *Salmonella* byl rozdělen podle společných biochemických vlastností a antigenů. Rod *Salmonella* obsahoval bakterie, které způsobovaly onemocnění jak u lidí, tak u zvířat. V dnešní době se preferuje zařazení do rodu podle biochemických vlastností. Rozdělení rodu se neustále obměňovalo a v minulých letech byly sérotypy považovány za jednotlivé druhy. Dnes tomu tak není. Po

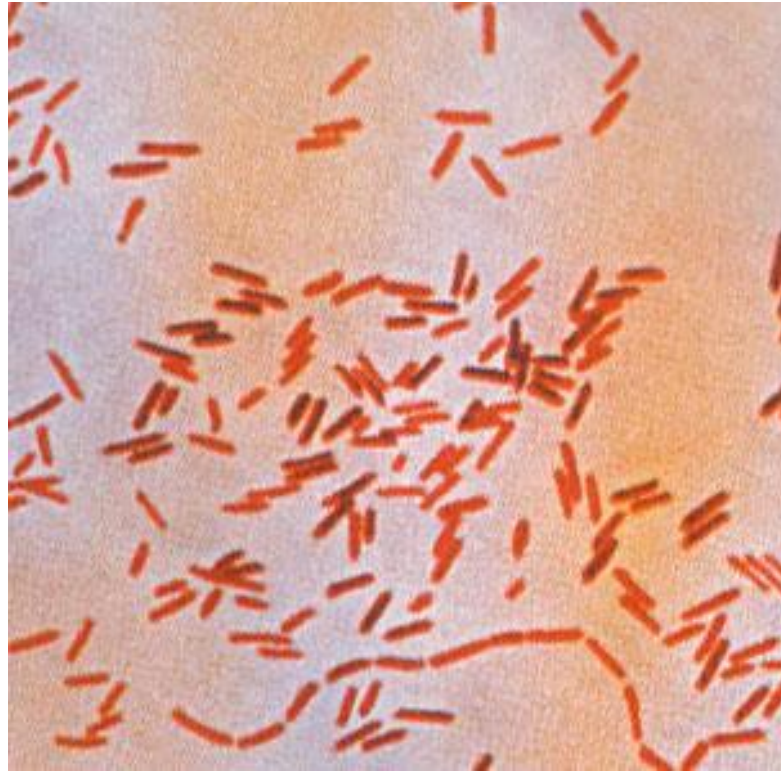
provedení genetické analýzy byl rod *Salmonella* rozdělen na 2 druhy: *Salmonella enterica* a *Salmonella bongorii*. Druh *Salmonella enterica* se dále dělí na 6 poddruhů. O přesné taxonomii bude pojednáno níže. [3, 18]

3.2 Charakteristika

Rod *Salmonella* je řazen do čeledi Enterobacteriaceae. Jedná se o gram negativní (G-) a fakultativně anaerobní nesporulující tyčinky. Jejich velikost se pohybuje kolem 0,7 - 1,5 μm a o délce 2 - 5 μm . Tento rod je převážně pohyblivý, jejich pohyb je uskutečňován pomocí peritrichálních bičků (výjimku tvoří *Salmonella Pullorum* a *Salmonella Gallinarum*). Vyskytují se u zvířat, lidí i v okolním prostředí. *Salmonella* je velice odolná vůči chladu i zmrazení, ale vyšší teplota nad 65°C ji inaktivuje. [3, 9, 10, 12, 15, 22]

Řadí se k chemoorganotrofním organismům. Tyto organismy získávají energii pomocí oxidačních a redukčních reakcí. Organické látky využívají jako zdroj při těchto reakcích. [10, 13]

Bakteriální stěna u rodu *Salmonella* obsahuje komplex lipopolysacharidů jako i u dalších G- bakterií. Lipopolysacharidový komplex obsahuje 3 základní složky. Vnější O polysacharidový obal, střední část a vnitřní obal lipid A. Lipopolysacharid je důležitý v patogenezi rodu *Salmonella*. O této problematice bude pojednáno dále. [15]



Obrázek 1 - Rod Salmonella pod mikroskopem

V mikroskopu pozorujeme G- bakterie jako růžovo – fialové tyčky uspořádané buď jednotlivě, nebo ve dvojicích až trojicích.

Převzato ze zdroje: [Todar, K., 2008-2012, web *Online Textbook of Bacteriology*] [<http://textbookofbacteriology.net/salmonella.html>]

3.2.1 Biochemické vlastnosti

Na základě biochemických vlastností můžeme určit, o jaký druh rodu *Salmonella* se jedná.

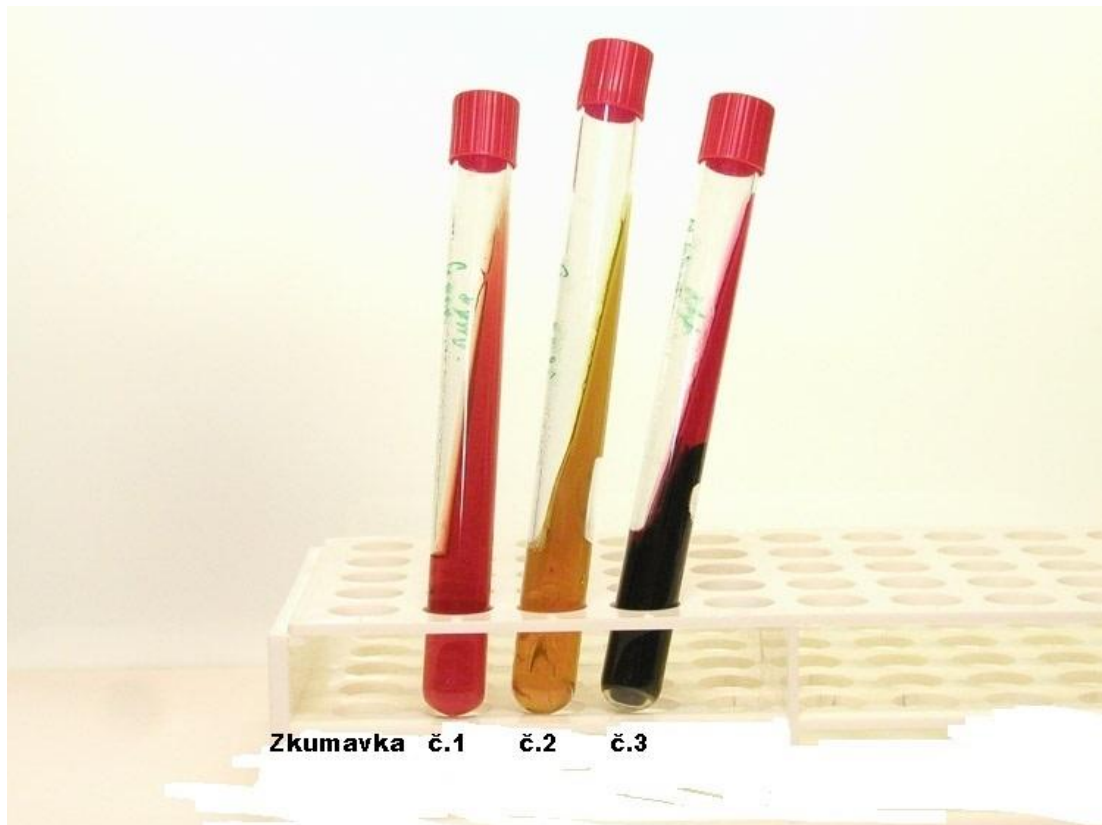
Ze základních informací vyplývá, že fermentují glukózu, maltózu, manitol a sorbitol za tvorby plynu a kyselin. Řadíme k bakteriím produkující sirovodík (H_2S). Jako zdroj uhlíku využívají citrát. Tyto biochemické změny se projeví barevnou změnou na daném kultivačním médiu.[3, 13, 22, 35]

A jaké zdroje nevyužívají? Nevyužívají indol, nehydrolyzují močovinu, protože si neumí nasyntetizovat enzym ureázu, která štěpí indol a močovinu. Nezkvašují laktózu, proto pozorujeme nárůst na půdách v bezbarvých koloniích. Takto roste rod *Salmonella* na Endo agar, McConkey agar a na DCI agar. Bezbarvé kolonie mívají charakteristicky tmavší střed, který se nemusí vždy objevit.[3, 12, 13]

Při první identifikaci se využívá test kataláza nebo oxidáza. Test na přítomnost enzymu kataláza odpovídá pozitivní reakci, naopak test na přítomnost cytochromoxidázy negativní. Kataláza je u většiny G- bakterií pozitivní, protože tvoří enzym katalázu. Principem dané metody je schopnost bakterií pomocí katalázy štěpit na podložním sklíčku 3% roztok peroxidu vodíku (H_2O_2) na vodu (H_2O) a kyslík (O_2). Pozorujeme tvorbu bublinek (unikající kyslík). [4, 38]

Testem oxidáza dokazujeme přítomnost cytochromoxidázy pomocí barevné reakce. Základem identifikace je detekční proužek. Po vetření kolonie bakteriologickou kličkou vzniká za přítomnosti cytochromoxidázy indolfenolová modř (modré zbarvení v místě vetření kolonie). Rod *Salmonella* enzym cytochromoxidázu netvoří a po nanesení kolonie na detekční proužek zůstane otisk neobarvený nebo šedavý. Test hodnotíme jako negativní. [38]

Vznikající H_2S je snadno detekován na médiu obsahující síran železnatý tzv. TSI agar. Daný agar je složen ze 3 cukrů – glukózy, sacharózy, laktózy a železa. Také se jí říká Hajnova půda. [10]



¹Obrázek 2 - Hajnova půda

Převzato ze zdroje:

[Web- Fakulta veterinárního lékařství, 2006, *Praktika z mikrobiologie pro farmaceuty – identifikace bakterií*]

[http://fvl.vfu.cz/sekce_ustavy/mikrobiologie/mikrobiologie_pro_farmaceuty/praktikum04/index.html]

¹ ¹Zkumavka č.1 – Hajnova půda –nenaočkovaná

Zkumavka č.2– Hajnova půda obsahující *E.coli*, která fermentuje glukózu, laktózu, sacharózu s tvorbou plynu

Zkumavka č. 3 – Hajnova půda obsahující *Salmonella Typhimurium*, která fermentuje glukózu a tvoří sirovodík

3.3 Faktory virulence

Geny kódující faktory virulence se nacházejí na specifických oblastech chromozomu a nazývají se ostrovy patogenity. Ostrovy patogenity zvyšují virulenci u bakterií a přispívají ke genetické přizpůsobivosti bakterií. Ostrovy patogenity byly poprvé popsány u *Salmonella* Typhimurium a to v letech 1995 a 1996. [5]

Endotoxiny a enterotoxiny patří k nejvýznamnějším faktorům virulence. Endotoxiny se vyskytují jako součást povrchové membrány u G- bakterií. U rodu *Salmonella* je endotoxin lokalizován na povrchu vnější membrány, kde se vyskytuje O antigenní polysacharid. O antigen se vyskytuje jako nejsvrchnější část lipopolysacharidu, čímž chrání bakterii rodu *Salmonella* před lytickým účinkem komplementu. Endotoxin je hlavní příčinou horečky a klinických příznaků akutní gastroenteritidy a tím vyvolává celkovou intoxikaci organismu. Intoxikace se rozvine během několika hodin po požití kontaminované potravy. Rod *Salmonella* lze rozlišit na jednotlivé skupiny podle O antigenu na tzv. O séroskupiny. [5]

Nejčastější skupinou způsobující salmonelózu u člověka je skupina D. Do této skupiny patří: *Salmonella* Typhi, Dublin, Enteritidis, Gallinarum, Pullorum. [3, 15]

Některé sérotypy rodu *Salmonella* dokáží produkovat enterotoxiny termolabilní, které jsou popisovány také u *Vibrio cholerae* nebo termostabilní známé u *Escherichia coli*. Účinky těchto enterotoxinů hrají důležitou roli u průjemových onemocnění. [5]

Vědci z Yale School of Medicine a Yale Microbial Diversity Institute přišli na to, že *Salmonella* se stává nebezpečně virulentní pouze tehdy, když její receptory zaznamenají změny v okolním prostředí bakterie, uvedli na stránkách časopisu NATURE. Vědci se domnívají, že podobné senzory aktivující virulentní geny mohou mít další nebezpečné bakterie. [7]

(A.Groisman, 2012) řekl: „Tento mechanismus může představovat nový cíl pro léky, které mohou odzbrojit schopnosti bakterií způsobit onemocnění.“

(A.Groisman, 2012) řekl: "Nikdy nebude svět bez salmonely, protože existuje v mnoha a mnoha živočišných nádržích," "Takže můžete zkusit předejít onemocnění salmonelou nebo se s ní naučit bojovat. Stovky tisíc lidí umírají na salmonelózu každý rok, a desítky milionů lidí je nakaženo. Je to hlavní problém veřejného zdraví. " [7]

3.4 Taxonomie

Názvosloví a třídění rodu *Salmonella* do skupin mělo složitý historický vývoj, který není ani dnes zcela uzavřen. V roce 1914 bylo popsáno 12 sérovarů rodu *Salmonella* a tento počet se zvyšoval. Každý sérovar byl podle Kauffmannových představ považován za samostatný druh. Daný druh byl pojmenován podle hostitele, místa výskytu, místa objevu, jména objevitele apod. S rostoucími počty bakterií rodu *Salmonella* se stal daný systém velmi nepřehledný. V dnešní době známe okolo 2 500 sérovarů. Od roku 1982 byl rod *Salmonella* rozdělen na základě genetických studií na 2 druhy: *Salmonella enterica* a *Salmonella bongorii*. Druh *Salmonella enterica* obsahuje 6 poddruhů. *Salmonella enterica*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae*, *indica*, *salamae*. [9]

Některé sérotypy rodu *Salmonella* se specializovaly na určitého hostitele

Salmonella Typhi a Paratyphi A – člověk

Salmonella Abortusovis – ovce

Salmonella Dublin – skot

Salmonella Pullorum a Gallinarum – drůbež

Salmonella Choleraesuis – prase

Jiné ze sérotypů *Salmonella* mají více hostitelů a to především ty salmonely, které způsobují enteritidy u člověka. Nejběžnější původci enteritid: *Salmonella* Enteritidis a *Salmonella* Typhimurium. [14]

Přes 95% sérovarů vyizolovaných z biologického materiálu spadá do poddruhu *Salmonella enterica*. Jméno sérovaru se píše velkým písmenem a na rozdíl od jména druhového bez kurzívy. Např.: *Salmonella enterica subsp. enterica* sérovar Montevideo.[9]

Psaní medicínsky významných sérovarů poddruhu *Salmonella enterica subspecies enterica* je povoleno používat zavedených validních jmen. Do daného poddruhu patří: *Salmonella* Enteritidis, *S. Paratyphi*, *S. Typhimurium* a *S. Typhi*. [9]

Tabulka 1- Taxonomické rozdělení

Doména	Bakterie
Říše	Bakterie
Oddělení	Proteobakterie
Třída	Gamma proteobakterie
Čeleď	Enterobacteriaceae
Rod	<i>Salmonella</i>
Druh	<i>Salmonella enterica</i> , <i>Salmonella bongorii</i>
<u>Poddruhy</u>	
	<i>S.enterica subspecies enterica</i>
	<i>S.enterica subspecies salamae</i>
	<i>S. enterica subspecies arizonae</i>
	<i>S. enterica subspecies diarizonae</i>
	<i>S. enterica subspecies houtenae</i>
	<i>S. enterica subpecies indica</i>

[39]

Jednotlivé druhy a poddruhy lze rozlišit na základě rozlišovacích znaků. Viz. Tabulka č. 2

3.4.1 Rozlišovací znaky 2 druhů a jejich poddruhů rodu *Salmonella*

Tabulka 2 - Jednotlivé rozlišovací znaky

Druh	<i>Salmonella enterica</i>						<i>S.bongori</i>
Poddruh	<i>enterica</i>	<i>salamae</i>	<i>arizonae</i>	<i>diarizonae</i>	<i>houstenae</i>	<i>indica</i>	
Dulcitol	+	+	-	-	-	d	+
ONPG (ortonitrophenyl- Beta-D- galactopyranosid)	-	-	+	+	-	d	+
Malonát	-	+	+	+	-	-	-
Želatinasa	-	+	+	+	+	+	-
Sorbitol	+	+	+	+	+	-	+
Kultura s KCN	-	-	-	-	+	-	+
L(+) tartarát (a)	+	-	-	-	-	-	-
Galakturonát	-	+	-	+	+	+	+
T- glutamyltransfera sa	+(*)	+	-	+	+	+	+
β - glukuronidasa	d	d	-	+	-	d	-
Mukát	+	+	+	-(70%)	-	+	-
Salicin	-	-	-	-	+	-	-
Laktosa	-	-	-(75%)	+(75%)	-	d	-
Lýza fágem 01	+	+	-	+	-	+	d
Obvykle napadají teplokrevné živočichy	Obvykle napadají studenokrevné živočichy a životní prostředí						

[18]

Vysvětlivky k tabulce

(a) = d - tartarát

(*) = Typhimurium d, Dublin -

+ = 90 % nebo více pozitivních reakcí

- = 90 % nebo méně negativních reakcí

d = různé reakce u různých sérovarů

3.5 Antigenní vlastnosti

Antigenní struktura je velmi významná pro jejich patogenitu, klasifikaci a identifikaci. Rod *Salmonella* má 3 hlavní druhy antigenů.[9, 35]

Antigenní struktury

Somatické (O) tzv. tělové antigeny - mají lipopolysacharidový charakter. Vyskytují se na povrchu vnější membrány. Tyto antigeny jsou charakteristické termostabilitou a odolností vůči působení ethanolu. Vydrží var po dobu dvou hodin a 30 minut. Všechny bakterie rodu *Salmonella* mají prakticky stejný lipopolysacharid. Ovšem jedna salmonela může obsahovat více O antigenů. Bakterie salmonela je klasifikována na základě přítomnosti charakteristického O antigenu na jejím povrchu. Bylo popsáno 67 O antigenů, které se používají pro serologickou identifikaci. Představují základní kritérium k řazení jednotlivých typů do Kauffmann - Whiteova schématu. [5, 9, 15, 35]

Bičkové (H) antigeny nacházejí se v bičíku. Na rozdíl od O antigenů jsou termolabilní proteinové povahy. Nestálé vůči alkoholu.

Jsou specifické pro tento rod a nevyskytují se na dalších bakteriích čeledi Enterobacteriaceae. H antigen je silně imunogenní a je spojen s tvorbou protilátek a vyvolání infekce. Po přidání bakterie do antiséra H dochází ke vzájemnému kontaktu daných bičkových antigenů a my pozorujeme tvorbu

shluků. Jde o komplex parciálních antigenů, které se mohou vyskytovat ve dvou fázích.

Fáze I je známá jako specifická. Více než 80 antigenů se nachází v této fázi.

Fáze II se nazývá nespecifická nebo skupinová fáze, protože více salmonel obsahuje stejné antigeny, které nacházíme v této fázi. Antigeny první a druhé fáze se od sebe liší pouze primární strukturou bílkovin. Celková identifikace sérotypu závisí na detekci sérologických struktur v obou fázích.[15, 37]

Povrchové (s) antigeny. Do této skupiny antigenů řadíme: Vi antigen, M antigen, N antigen a F antigen. Tyto antigeny mohou maskovat O antigen, a po přidání O antiséra nedojde k aglutinaci.[15, 37]

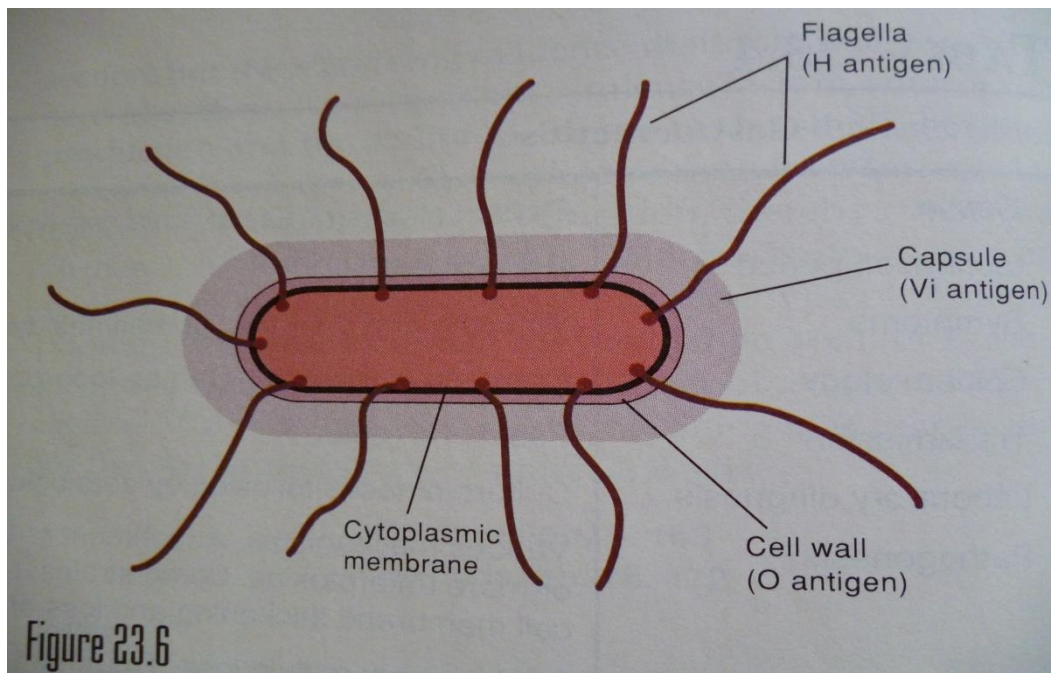
Vi antigen tzv. kapsulární – vyskytuje se na povrchu nad O antigenem. Felix a Pitt, kteří ho poprvé popsali, věřili, že má souvislost s virulencí. Je pro něj charakteristická termolabilita, takže se rozkládá varem.

Vyskytuje se pouze na několika sérotypech: *Salmonella* Paratyphi C, *Salmonella* Dublin, *Salmonella* Typhi.[15, 37]

M a N antigeny – nacházejí se na povrchu ve formě polysacharidů. Jsou také termolabilní jako Vi antigen. Přítomnost M antigenu je zodpovědná za mukoidní povahu u *Salmonella* Colonies. [15]

F antigen- je přítomný na fimbriích [15]

Antigeny jsou také nacházeny i u jiných zástupců čeledi Enterobacteriaceae např. *Escherichia coli* a *Klebsiella*. [37]



Obrázek 3- Struktura bakterie rodu Salmonella

Převzato ze zdroje: [Sievers, E.M., *Microbiology a human perspective*, Brown Communications, United State of America, 1995, str. 526, ISBN: 0-697-12760-5]

3.5.1 Označení serotypů

Antigenní formule je složena z 3 částí

- 1- Nejprve se popisuje somatický antigen
- 2- Poté se popíše H antigen první a druhé fáze

Somatický antigen se označuje arabskými číslicemi, první fáze malými písmeny od a do z, druhá fáze arabskými číslicemi 1-12 a písmeny. [18]

3.5.2 Kauffmann a Whiteo diagnostické schéma

Toto schéma primárně třídí rod *Salmonella* podle společných O antigenů. Vyskytuje-li se více somatických antigenů současně, pak pouze jeden z nich je hlavní a podle něho se salmonela zařadí do skupiny. Dříve se skupiny označovaly velkými písmeny (A-Z), v dnešní době se toto označení nahradilo označením hlavního O antigenu číslicemi 2 - 50. V tomto schématu najdeme všechny podskupiny salmonel tj. asi 2 200 serotypů. [3]

Tabulka 3 - Kauffmann a Whiteo schéma

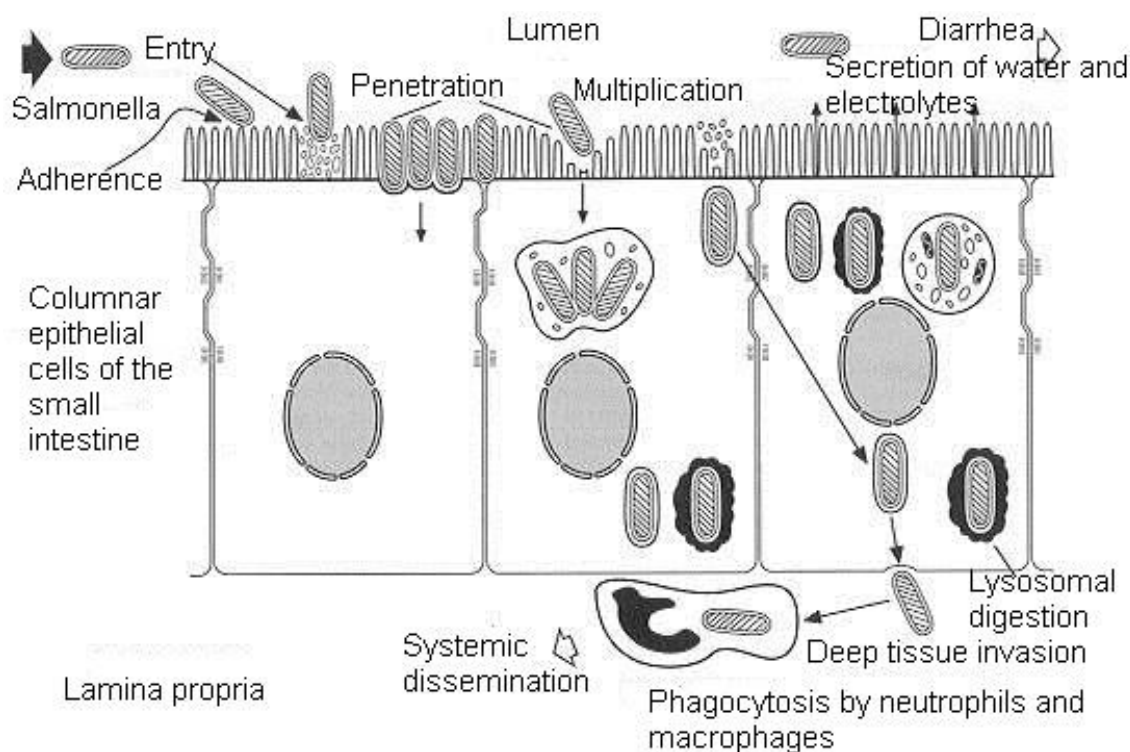
Skupina		Sérotyp
Dnešní označení	Dřívější označení	
O:2	A	<i>Salmonella Paratyphi A</i>
O:4	B	<i>Salmonella Paratyphi B</i>
		<i>Salmonella Typhimurium</i>
		<i>Salmonella Stanley</i>
O:7	C1	<i>Salmonella Paratyphi C</i>
		<i>Salmonella Choleraesuis</i>
O:8	C2	<i>Salmonella Muenchen</i>
O:9	D	<i>Salmonella Typhi</i>
		<i>Salmonella Enteritidis</i>
		<i>Salmonella Pullorum</i>
		<i>Salmonella Gallinarum</i>

[15, 18]

3.6 Patogeneze

Salmonela se do těla dostane po požití kontaminované potravy nebo šířením z člověka na člověka. Prochází kyselým prostředím žaludku a dostává se do zažívacího traktu, kde napadá střevní epitel a množí se – nejčastěji v oblasti ilea a proximálního kolonu. Mechanismus napadení zahrnuje počáteční vazbu na specifické receptory na povrchu epitelu. Tímto dojde k proniknutí dovnitř enterocyty (invaze). Invaze je závislá na přeskupení buněk a zahrnuje zvýšení buněčného inositolfosfátu a vápníku. V enterocytech se salmonela množí ve fagosomálních vakuolách, ale nemnoží se v cytoplazmě. Proto je jejich množení pomalejší. Po rozpadu buněk dochází k uvolnění salmonel do krevního oběhu a tudíž stavu zvaném septikémie. Některé sérotypy mohou infikovat játra, slezinu, žlučník, kosti. Většina bakterií rodu *Salmonella* se omezuje pouze na střevo. Některé kmeny produkují exotoxiny, ale jejich role v patogenezi není plně pochopena. [2, 5, 35, 37]

Jakmile dojde k invazi, tak epitelální buňky začnou syntetizovat a uvolňovat různé prozánětlivé cytokiny, např.: Interleukin 1,6,8 (IL-1,IL-6,IL-8), tumor nekrotizující faktor-2 (TNF-2), růstový faktor granulocytární a monocytární vývojové řady (GM-CSF). Působení těchto cytokinů vyvolá akutní zánětlivou odpověď, která může být zodpovědná za poškození střeva. Dále dochází k syntéze prostaglandinů a enterotoxinů. Poškození střeva se projevuje typickými příznaky pro onemocnění bakterií rodu *Salmonella*. Po invazi je buňka stimulována ke zvýšené aktivitě adenylátcyklázy, tudíž se syntetizuje více cAMP – cyklický adenosinmonofostát. Mechanismus stimulace adenylátcyklázy není znám. Tenké a tlusté střevo produkují tekutiny a elektrolyty, což způsobuje průjem. Mechanismy sekrece jsou nejasné, ale sekrece není pouze projevem destrukce tkáně a ulcerace. *Salmonella* proniká přes střevní epitelové buňky, na rozdíl od *Shigelly*. [2]



Obrázek 4 - Patogeneze salmonel

2

Převzato ze zdroje: [Baron, S.: *Medical Microbiology*, 4.vydání, Galveston, Texas, 1996, 21.kapitola]

² Salmonela napadá střevní epitel počáteční vazbou na specifické receptory a tím dojde k degradaci mikrokliků. Tím se salmonela dostává dovnitř enterocytu, kde se množí ve fagosomálních vakuolách. Tenké střevo začne produkovat vodu a elektrolyty, které způsobují průjem.

3.7 Patogenita

Salmonely můžeme dělit do 3. skupin podle vyvolávaných onemocnění

1. Tyfózní salmonely – do této skupiny patří původci břišního tyfu a příbuzných onemocnění označovaných jako paratyfy. (*Salmonella* Typhi a *S. Paratyphi*) [9]
2. Enterické salmonely – způsobují onemocnění zvané salmonelóza. Patří k neinvazivním původcům gastrointestinálních průjemových onemocnění. Tato skupina je nejvíce rozšířená. Nejčastějším sérotypem způsobujícím dané onemocnění je *Salmonella* Enteritidis. Salmonela se nemusí u některých jedinců projevit svými typickými příznaky, tzv. bezpříznaková forma, která se vyskytuje u 1 – 5 % nakažených. [9, 13]
3. Původci diseminovaných infekcí – na rozdíl od enterických salmonel se řadí k invazivním původcům. Způsobují bakteriémií, tj. stav, kdy se bakterie nacházejí v krevním oběhu po proniknutí přes střevní sliznici. Bakterie kolující v krvi mohou vyvolat sepsi. Nejčastějšími vyizolovanými sérotypy jsou *Salmonella* Choleraesuis, Gallinarum, Dublin. [9]

3.8 Salmonelóza

Salmonelóza patří mezi významné alimentární nákazy. Toto onemocnění je způsobené zoopatogenními bakteriemi rodu *Salmonella*. Salmonelóza patří k infekčním onemocněním s krátkou inkubační dobou, která se pohybuje nejčastěji v rozmezí mezi 12 - 72 hodinami. Nemoc trvá 4 - 7 dní. Záleží na množství požitých bakterií a vnímavosti každého jedince. Většina případů je bez komplikací, pouze s klasickými projevy střevní infekce. [13, 21, 37]

Toto onemocnění je nebezpečné u malých dětí, starších osob a u osob s oslabenou imunitou (HIV), kde hrozí salmonelová sepsi, která může být smrtelná. [5, 35]

3.8.1 Projevy onemocnění

Salmonelóza a její typické příznaky

- průjem – s častou frekvencí vodnaté konzistence, později zbarvený dozelená a bez přítomnosti krve
- bolesti břicha – velmi silné bolesti
- zvracení – se objevuje jen u některých případů
- horečka – vždy přítomna, pohybuje se nad 39 stupňů Celsia
- bolest hlavy – v některých případech
- dehydratace – je nutné hodně pít, protože díky průjmu ztrácí tělo hodně tekutin a minerálů. Dehydratace je nejhorší u malých dětí a starších osob, kteří nedoplňují tekutiny. [16]

3.8.2 Prevence

Abychom předešli onemocnění bakterií rodu *Salmonella* je vhodné veškerou zmraženou drůbež adekvátně nechat projít varem. Salmonela neodolá teplotám vyšším než 80°C a po dobu minimálně 20 minut. Nakazit se můžeme také z dalších potravin - vejce, výrobky z drůbežího masa, majonézy a cukrářské krémy. Těchto surovin bychom se měli vyvarovat převážně v letních měsících, kdy nesprávným skladováním dochází k rychlému množení salmonel v potravině. [35, 37]

3.9 Léčba

Jestliže se bude jednat o mírnější průběh je možné pouze domácí léčení. Základem je dostatečný přísun tekutin, které ztrácíme při vodnatém průjmu. K zastavení průjmu se používá živočišné uhlí. Je nutné dodržovat dietu, při které tělu musíme dodávat chybějící minerály. Proto bychom měli zařadit do jídelníčku banány, suchary, bílou rýži, dušenou mrkev, vývar ze zeleniny. Návrat k normální stravě by měl být pozvolný a opatrný. [9, 16]

Během posledních let byla zaznamenána zvýšená odolnost bakterie na některá antibiotika (ATB). Příčinou je bezohledné používání ATB jak u lidí, tak u zvířat. Tato odolnost se vyskytuje převážně u kmenů: *Salmonella* Typhi, Infantis, Panama. Rezistence byla pozorována u daných ATB: ampicilin, streptomycin, tetracyklin, chloramfenikol, sulfonamidy. U Kolicistinu nebyla pozorována rezistence. [37]

Antibiotika se nasazují v případě, hrozí-li komplikace, je jiné základní onemocnění a také u malých dětí. U těžších forem salmonelózy je pacient převezen do nemocnice a napojen na kapačku. [17]

Mikroflóru gastrointestinálního traktu bychom měli doplňovat probiotiky, které osidlují náš zažívací trakt a tím vytlačují bakterie rodu *Salmonella*. Současně s probiotiky bychom měli užívat prebiotika, která napomáhají probiotikům se lépe uchytit na střevní stěně. [38]

Probiotika

Živé bakterie, které jsou nepatogenní a netoxické. Přežívají v potravinách a snášejí průchod skrz žaludek a tenké střevo. Slouží k pozitivnímu ovlivnění stavu střevní mikroflóry tlustého střeva. Tím snižují adhezenci patogenních bakterií. [38] Nejčastější rody: Lactobacily a Bifidobakterie.

Prebiotika

Látky podporující účinek probiotik. Pro člověka nestravitelné oligosacharidy, které můžeme nalézt v cibuli, česneku, pórků a luštěninách. [38]

3.10 Normální mikroflóra zažívacího traktu

Mikroflóra zažívacího traktu brána od dutiny ústní až po tlusté střevo je ve větší míře osídlena bakteriemi. V ústní dutině a na zubech se vyskytují streptokoky a nesporeující anaeroby. V jícnu nebývá obvyklý záchyt bakterií. V žaludeční dutině vlivem kyseliny chlorovodíkové (HCl) se nevyskytuje velký počet bakterií, avšak celá řada bakterií může procházet do dalších částí gastrointestinálního traktu. V žaludku se vyskytují druhy, které umí neutralizovat kyselé prostředí. Žaludeční sliznici kolonizují laktobacily a některé streptokoky. Tenké střevo je ze začátku málo osídlené bakteriemi, poté přibývá bakterií. Množství bakterií v tenkém střevě je ovlivněno pohyblivostí střeva a kyselostí žaludku. V ileu se nacházejí laktobacily, enterobakterie, enterokoky. V tlustém střevě můžeme považovat více jak 400 druhů bakterií za normální flóru. Nejčastěji identifikované bakterie jsou: nesporeující anaeroby, enterobakterie, enterokoky. [3, 20]

3.11 Jednotlivé druhy salmonel

3.11.1 *Salmonella enterica subsp. enterica sérovar Enteritidis*

Tato bakterie je původcem náhlých gastrointestinálních obtíží s typickými příznaky: nevolnost, zvracení, průjem a horečka. Původce onemocnění – alimentární přenos z kontaminované potravy (maso, vejce, drůbež) a přenos z člověka na člověka. *Salmonella* Enteritidis není přítomna v krvi, ale pouze ve stolici. [21]

3.11.2 *Salmonella enterica subsp. enterica sérovar Typhimurium*

Salmonella enterica sérovar Typhimurium je druhým z nejčastějších sérovarů způsobující salmonelózu u lidí. Hned po sérovaru *S. Enteritidis*. Má stejné klinické projevy jako zmiňovaná *S. Enteritidis*. (průjem, horečka, křeče v břiše) Některé případy vedou k hospitalizaci. *Salmonella* Typhimurium se snadno přenáší stolicí lidí nebo zvířat. [19]

3.11.3 *Salmonella enterica subsp. enterica* sérovar Typhi

Způsobuje břišní tyfus. Závažné onemocnění, které se většinou vyskytuje v rozvojových zemích, ale může se objevit i ve vyspělých zemích při zhroucení hygienických opatření. Infekce se nepřenáší ze zvířat, ale je zde přenos z člověka na člověka. Je možno se infikovat od člověka, který je bacilonosičem. Způsobuje celkové onemocnění organismu s typickými projevy: silnou bolestí hlavy, horečkou, slabostí, nechutenstvím a bledě růžovou vyrážkou na trupu. Ze začátku se vyskytuje zácpa, bez průjmových příznaků. Objevuje se hepatosplenomegalie, hypotenze a bradykardie. Toto onemocnění ročně prodělá 33 milionů lidí, z nichž 600 tis. podlehne této chorobě. V současné době se břišní tyfus v ČR nevyskytuje. Inkubační doba trvá mnohem déle než u *Salmonella* Enteritidis, nejčastěji kolem 14 dnů. Salmonely se dají kultivovat z krve, ze stolice i z moči. Tato infekce trvá několik týdnů. Neléčený tyfus trvá jen měsíc. Léčba pomocí ATB: chloramfenikolu, ampicilinu, amoxicilinu a biseptolu. Diagnosticky se provádí vyšetření aglutinačních protilátek. Zjišťují se protilátky proti O a H antigenům a jejich vzestup při prvních příznacích infekce. Paratyfus je mírnější. [13, 14, 23]



Obrázek 5- *Salmonella typhi*

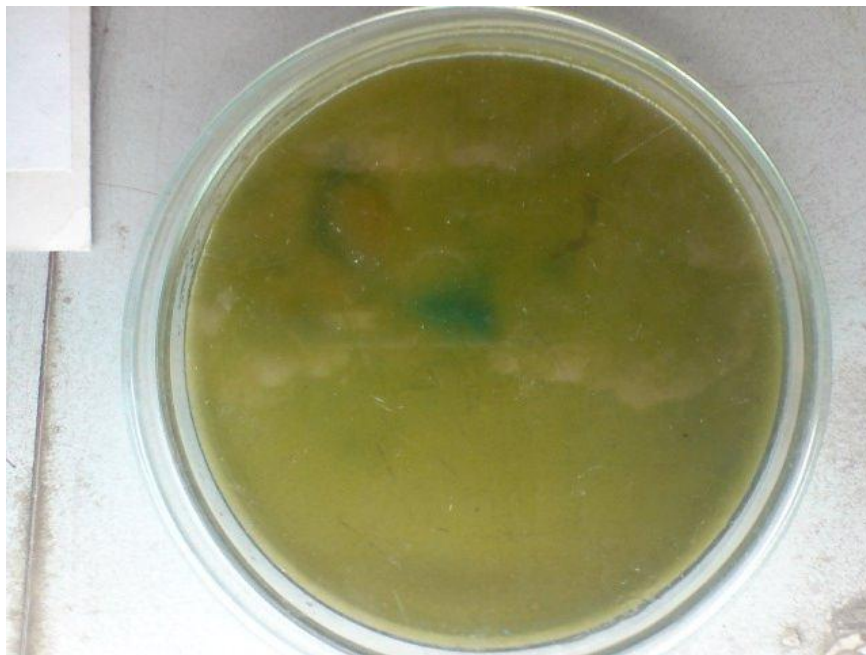
Převzato ze zdroje: [Todar, K., 2008 - 2012, web *Online Textbook of Bacteriology*] [http://textbookofbacteriology.net/salmonella_2.html]

4 Kultivační média

4.1 Wilson - Blairův agar

Tento agar se používal ke kultivaci a částečně i k identifikaci. Ještě dnes je v některých laboratořích využíván. Půda obsahuje jednak nutriční komponenty, ale také síran železnatý a indikátor bizmut - sulfitový. Bizmut sulfitový spolu s brilantovou zelení inhibuje bakteriální flóru zejména G+ a koliformních bakterií. Kovový lesk vzniká redukcí iontů bizmutu na kovový prvek. [12]

Rod *Salmonella* roste v černých lesklých koloniích obklopených světlejším kovově lesklým dvorcem.



Obrázek 6 - Wilson - Blair agar

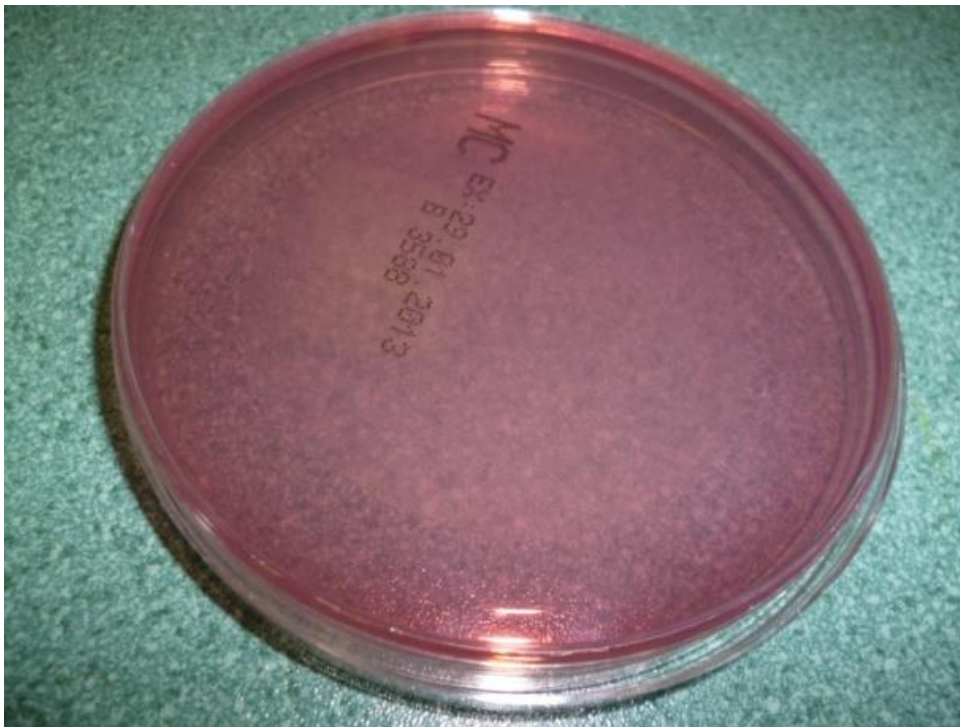
Převzato ze zdroje: [Web, *Agar Plates in microbiology*, 2009]

[<http://agarinmicro.blogspot.cz/2009/01/agar-plates.html>]

4.2 Mc Conkey agar

Patří do selektivních pŮd. Rostou zde pouze G- bakterie. Tato pŮda obsahuje žlučové kyseliny, které inhibují rŮst G+ bakterií. Obsahuje laktózu, dezoxycholan sodný a neutrální červeň. Pozorujeme fermentaci laktózy. [25]

Dokážeme na něm rozeznat G- bakterie nefermentující laktózu (*Salmonella*) od G- bakterií, které laktózu fermentují (*Escherichia coli*).[25]



Obrázek 7 - Mc Conkey agar

4.3 XLD agar

Médium určeno k identifikaci patogenních bakterií čeledi Enterobacteriaceae, především *Salmonella* a *Shigella*. Roste na ni také *Proteus* ve žlutých koloniích a *Escherichia coli* také ve žlutých koloniích, ale se světlým okrajem. [25]

Shigella sonnei naroste v červených koloniích, na rozdíl od *Salmonella*, které narostou v červených koloniích s černým středem. (*Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Typhimurium, *Salmonella* Typhi). [25]



Obrázek 8 - XLD agar

4.4 DCI agar

Selektivní půda pro rod *Salmonella* a *Shigella*. Tato půda inhibuje růst G+ koků a částečně také inhibuje růst střevních bakterií rodu *Klebsiella*, *Enterobacter* a *Citrobacter*. [25]

Rod *Salmonella* roste v bezbarvých až světle růžových koloniích, které jsou mírně matné s černou tečkou uprostřed.

Rod *Shigella* roste v bezbarvých až světle růžových koloniích, např.: (*Shigella sonnei*). *Shigella flexneri* roste stejně jen s vypouklým středem a plochým okrajem.

Většina z kmenu *Proteus* (např: *Proteus vulgaris*, *krabilis*) rostou podobně jako *Salmonella* s černou tečkou.

Růst *Escherichia coli* je částečně potlačen, jinak naroste v růžových koloniích, kolem kterých se nachází vysrážená zóna o průměru 1 – 2 mm.

Růst rodu *Klebsiela* a *Enterobacter* je inhibován, jinak jejich kolonie vypadají bezbarvě až růžově, jsou vypouklé, matné a mukoidní. [25]

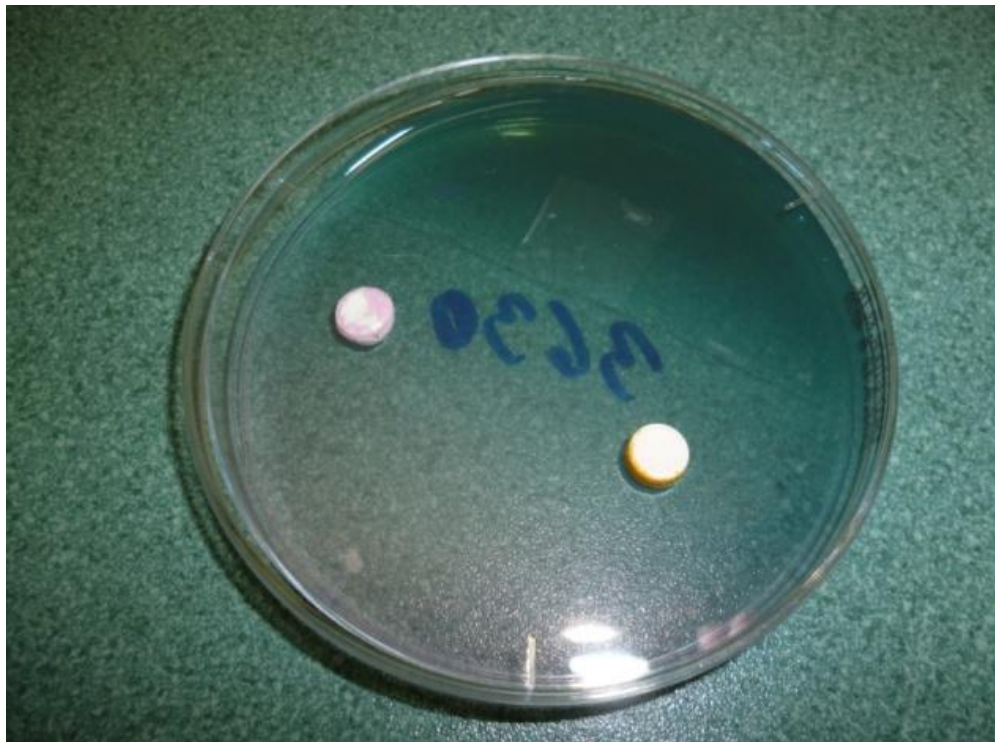


Obrázek 9 - DCI agar

4.5 Endo agar s biochemickým klínem

Slouží k identifikaci běžných střevních patogenů, a dále slouží k záchytu řady podmíněně patogenních bakterií, včetně *Aeromonád* a *Yersinií*. [25]

Růst bakterií lze odečíst podle toho, jaký substrát využívají: glukóza, laktóza, sacharóza, manitol, tvorba plynu, tvorba H₂S a hydrolýza močoviny. [25]

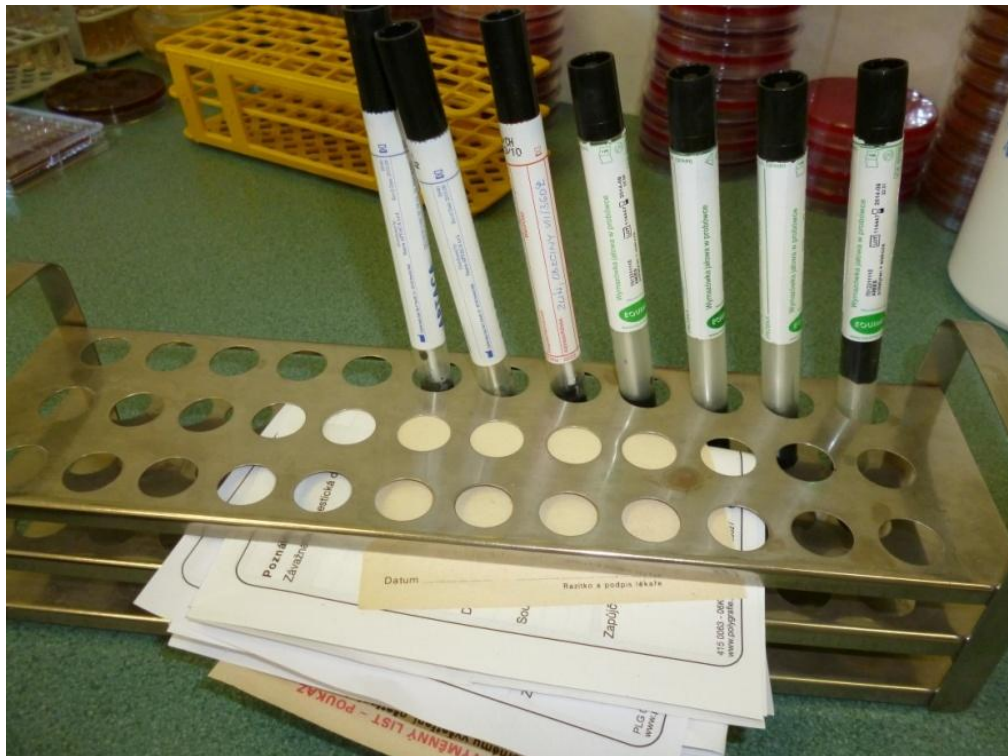


Obrázek 10 – KLIN

4.6 Amiesova půda

Univerzální transportní půda, která udržuje životaschopnost odebraných mikroorganismů po dobu 48 hodin, včetně náročných druhů. Před a po odběru se skladuje při pokojové teplotě. [36]

Amiesova půda je polotuhá o pH cca 7,4 a bez využitelného zdroje dusíku.[25]



Obrázek 11 - Amiesova půda

5 Praktická část

Průkaz salmonel se provádí z biologického materiálu. Tímto materiálem bývá nejčastěji stolice, ale může se prokázat i z krve nebo moče. Oddělení lékařské mikrobiologie ve Zlíně nejčastěji prokazuje rod *Salmonella* ve stolici, s dalšími materiály se často neseťkává.

Biologický materiál přichází na příjem společně s řádně vyplněnou žádankou. Tento dodaný materiál je dále rozdělen na příslušná oddělení lékařské mikrobiologie. Zde žádanka společně se vzorkem dostávají identifikační číslo, pod kterým se provádějí všechny testy. Údaje ze žádanky jsou zaznamenány do počítačového programu.

Bakteriologické vyšetření stolice

5.1 Očkování na MC CONKEY agar

Pomůcky: agar, SEL bujón, bakteriologická klička, mikrobiologická kultura, termostat

Postup

- 1) Pomocí tampónu nanese se mikrobiální kulturu na agar
- 2) Tampón vložíme do SEL bujónu
- 3) Bakteriologickou kličkou provedeme izolační čáry na agaru
- 4) Vložíme do termostatu na 18-24hodin při 37°C
- 5) Po 24 hodinách provedeme odečet=identifikaci

Identifikace

Nález hodnotíme jako negativní při nárůstu žlutých kolonií. Při záchytu patogenního kmene neboli pozitivní nárůst. Patogenní kmen naroste v růžových koloniích. Nutno provést další dourčení.[26]

5.2 Očkování na DCI

Pomůcky: agar, bakteriologická klička, mikrobiální kultura, termostat

Postup

- 1) Bakteriologickou kličkou nabereme kolonii
- 2) Naneseme kolonii na agar
- 3) Provedeme izolační čáry
- 4) Vložíme do termostatu na 18-24 hodin při 37°C
- 5) Po 24 hodinách provedeme identifikaci

Identifikace

Nárůst bezbarvých až světle růžových kolonií s tmavým středem může naznačit, že se jedná o salmonelu. Nárůst černých kolonií může souviset s dalšími patogenními kmeny. Provedeme další testy. Existuje více bakterií, které mohou svým růstem připomínat salmonelu. Doporučuje se provést identifikaci na více selektivní půdě jako je XLD agar a Endova půda s biochemickým klínem. [26]



Obrázek 12 - Naočkovaná DCI půda

5.3 Očkování na XLD agar

Pomůcky: XLD agar, bakteriologická klička, bakteriální kultura, termostat

Postup

- 1) Bakteriologickou kličkou nabereme kolonii
- 2) Naneseme kolonii na agar
- 3) Provedeme izolační čáry
- 4) Vložíme do termostatu na 18-24 hodin při 37°C
- 5) Po 24 hodinách provedeme identifikaci

Identifikace

Nárůst černých kolonií hodnotíme jako pozitivní reakci pro salmonely. Nárůst žlutých kolonií hodnotíme jako negativní. Při pozitivní reakci provedeme biochemický test ENTEROtest. [26]



Obrázek 13 - XLD agar - černé kolonie podezření na salmonelu

5.4 Očkování na Endo agar s biochemickým klínem

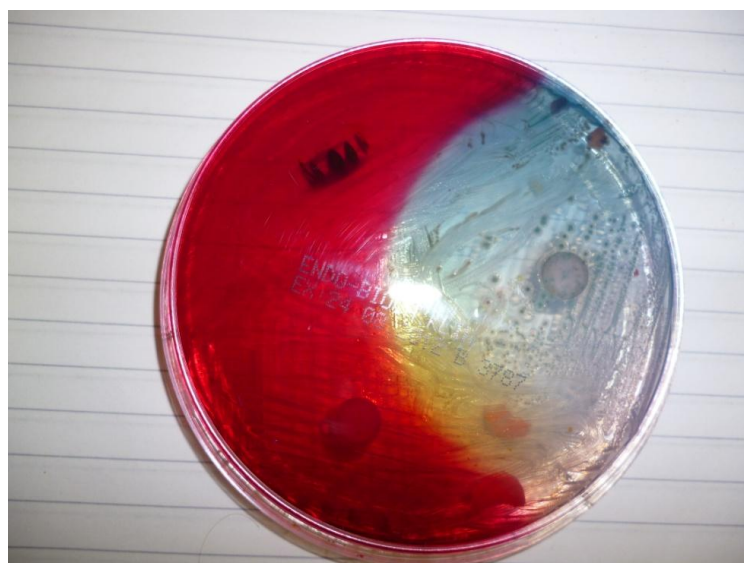
Pomůcky: Endo agar s biochemickým klínem, bakteriologická klička, mikrobiální kultura, pinzeta, páska, manitol, sacharóza

Postup

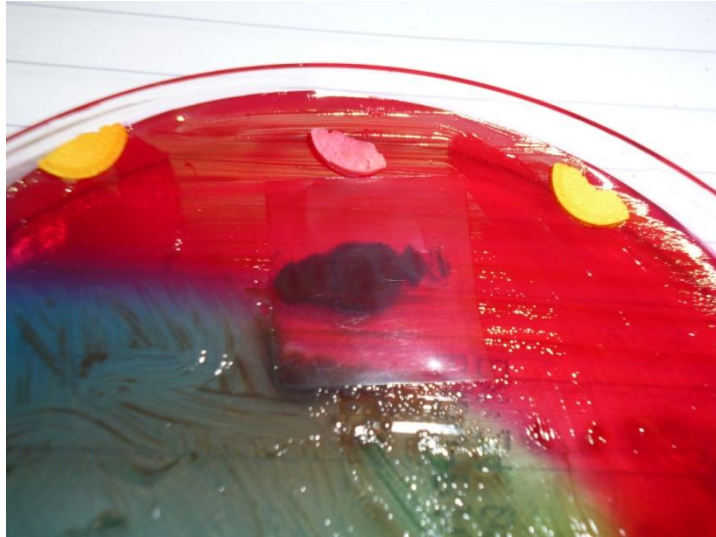
- 1) Bakteriologickou kličkou nabereme kolonii
- 2) Na Endo agar rozočkujeme kolonii
- 3) Do biochemického klínu provedeme 2 vpichy pomocí bakteriologické kličky
- 4) Na vpichy položíme pásku
- 5) Na Endo agar pomocí pinzety položíme sacharózu na levou stranu
- 6) Na Endo agar pomocí pinzety položíme manitol na pravou stranu
- 7) Vložíme do termostatu na 18-24 hodin při 37°C
- 8) Po 24 hodinách provedeme identifikaci

Identifikace

Při pozitivní reakci se mění barva půdy na tmavě fialovou, pod páskou můžeme pozorovat tvorbu sirovodíku a plynu. Typické pro salmonely. Při negativní reakci pozorujeme nárůst světle růžových kolonií. [26]



Obrázek 14 - Endo agar s biochemickým klínem



Obrázek 15 - Růst salmonely na Endo agar - tvorba sirovodíku

5.5 ENTEROtest 24N

Princip

Je jeden z biochemických identifikačních testů, kterým rozeznáváme jednotlivé druhy bakterií podle jejich produktů, které vznikají při jejich metabolismu. Biochemické testy jsou založeny na změně indikátoru. Tato přeměna se projeví barevnou změnou testovacího média.[6]

ENTEROTest 24N slouží k identifikaci bakterií z čeledi Enterobacteriaceae a Vibrionaceae. [6]

Pomůcky: biochemická destička, mikropipeta, špičky, bakteriologická klička, denzitometr, třepačka, zkumavka s fyziologickým roztokem

Postup

- 1) Bakteriologickou kličkou nabereme mikrobiální kulturu z agaru
- 2) Vložíme do zkumavky s fyziologickým roztokem
- 3) Dobře homogenizujeme na třepačce
- 4) Na denzitometru změříme hustotu zákalu, který by měl odpovídat 1McF

- 5) Mikropipetu nastavíme na 0,1ml
- 6) Pomocí mikropipety přeneseme (inokulujeme) toto množství do všech jamek biochemické destičky
- 7) K prvním pěti jamkám prvního řádku přidáme dvě kapky parafinového oleje
- 8) Biochemickou destičku vložíme do termostatu na 18-24 hodin při 37°C
- 9) Po 24 hodinách provedeme identifikaci [26]

Tabulka 4 - Identifikační tabulka pro ENTEROtest

	I N D	U R E	A R G	O R N	L Y S	H 2 S	S C I	M A L	O N P	S A L	S O R	M L B	C E L	L A C	T R E	M A N	G L R	D U L	A D O	A R T	S U C	I N D O	R A F	E S L	b X Y
<i>S.bon gori</i>	-	-)	+	+	+	(-	(-	+	(-	-	+	+	-	(-	-	-	-	-	-	(-)
<i>S.ent erica subs. arizo nae</i>	-	-	d	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	(-)	+	+	d	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. enteri ca</i>	-	-	d	+	+	d	d	-	-	-	(d	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	(-)
<i>S.diar izona e</i>	-	-	d	+	+	+	+	+	(-	+	+	-	(+	+	d	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S.hou tenae</i>	-	-	d	+	+	+	+	-	-	d	+	+	d	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S.sal amae</i>	-	-	(+	+	+	+	+	(-	-	+	(-	-	-	+	+	-	(-	-	-	-	-	(-	-
<i>S.Ent eritidi s</i>	-	-	d	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-	-	d	-	-	-
<i>S.Par atyphi</i>	-	-	(-	+	-	(-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	(-	+	-	-	-	-	-	-	(-
<i>S.Typ hi</i>	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Vysvětlivky k tabulce

+ = pozitivní reakce

- = negativní reakce

(-) = většinou negativní

(+) = většinou pozitivní

d = variabilní

Identifikace

Destičku hodnotíme vizuálně pomocí přiložené tabulky. Zaznamenané hodnoty pozitivní, negativní nebo variabilní jsou vkládány do počítačového programu, který určí, o jaký nejpravděpodobnější kmen se jedná.



Obrázek 16 - ENTEROtest

5.6 Sérotypizace salmonel

Princip

Slouží k odlišení jednotlivých sérotypů salmonel pomocí protilátek. Bude-li přítomný antigen, dochází k vytvoření komplexu antigen – protilátka a daný komplex vytváří shluky (aglutinaci). Danou reakci hodnotíme jako pozitivní. [24]

Pomůcky: podložní sklíčko, mikrobiologická kultura, bakteriologická klička, fyziologický roztok, antiséra

Postup

- 1) Na podložní sklíčko kápneme 2 kapky fyziologického roztoku
 - 2) Bakteriologickou kličkou odebereme bakteriální kulturu
 - 3) Bakteriologickou kličkou vetřeme bakteriální kulturu do obou kapek fyziologického roztoku, aby vznikla homogenní suspenze
 - 4) Na novou bakteriologickou kličku kápneme kapku antiséra a poté vetřeme do první suspenze
 - 5) Postup zopakujeme jen s jiným antisérem a vetřeme do druhé suspenze
 - 6) Kroužíme podložním sklíčkem, aby se smísilo antisérum s bakteriální kulturou
 - 7) Aglutinaci pozorujeme proti černému pozadí
 - 8) Provedeme identifikaci
- [26]

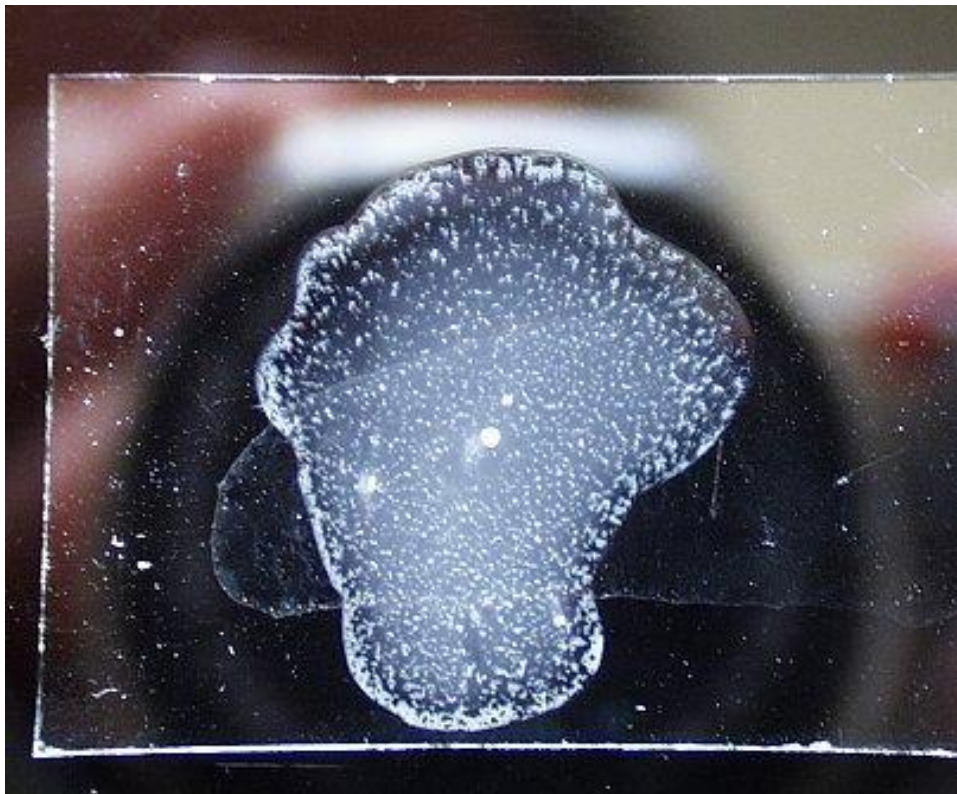
Tabulka 5 - Nejčastější typy salmonel, které aglutinují se séry

<i>Salmonella</i>	O antigen	H antigen 1. fáze	H antigen 2. fáze
S. Enteritidis	9,12	g	m
S. Typhimurium	4,5,12	i	1,2
S. Typhi	9,12	d	Vi
S. Paratyphi A	2,12	a	
S. Paratyphi B	4,5,12	b	1,2
S. Paratyphi C	6,7	c	1,5

[26]

Identifikace

Vznikne-li aglutinace hodnotíme ji jako pozitivní. U většiny vzorů aglutinuje kombinace O antigen 9,12 a H antigen g, m. Jedná se o *Salmonella* Enteritidis. Jakmile tyto kombinace nedají pozitivní reakci, zkouší se jiné kombinace a současně se vzorek posílá do Národní Referenční laboratoře (NRL) v Praze na přesné určení, o jaký sérotyp se jedná. V nemocniční laboratoři jsou k dispozici pouze určitá séra, kdežto v NRL mají větší spektrum těchto sér.



Obrázek 17 – Aglutinace

Převzato ze zdroje: [Web-Univerzita Karlova, 3.Lékařská fakulta]

[<http://old.lf3.cuni.cz/mikrobiologie/bak/uceb/obsah/sklicaglu/sklicaglu.htm>]

6 Záchyt salmonel ve Zlínském kraji

6.1 Celkový záchyt salmonel ve Zlínském kraji (2001-2011)

Tabulka 6 - Celkový záchyt salmonel ve Zlínském kraji (2001-2005)

	Rok				
	2001	2002	2003	2004	2005
Počet nakažených lidí	1686	1245	1667	1754	1289
Incidence	282,29	208,56	281,05	295,89	218,21

[28]

Tabulka 7- Celkový záchyt salmonel ve Zlínském kraji (2006-2011)

	Rok					
	2006	2007	2008	2009	2010	2011
Počet nakažených lidí	1233	1023	573	2649	631	393
Incidence	208,78	173,44	96,99	147,95	106,76	66,57

[28]



6.1.1 Nejčastější sérotypy salmonel ve Zlínském kraji (2001-2005)

Tabulka 8 - Nejčastější sérotypy salmonel ve Zlínském kraji (2001-2005)

Sérotypy	Rok				
	2001	2002	2003	2004	2005
S. Enteritidis	1399	897	1322	1403	1008
S. Typhimurium	27	29	27	15	16
S. Infantis	2	1	2	1	2
S. Heidelberg	0	1	0	0	2
S. Blockley	0	0	1	0	1
Negativní	21	43	29	30	6
Nevyšetřeno	13	3	24	35	15
Nedotypováno	218	264	248	262	234
Celkem	1686	1245	1667	1754	1289

[28]

6.1.2 Nejčastější sérotypy salmonel ve Zlínském kraji (2006-2011)

Tabulka 9 - Nejčastější sérotypy salmonel ve Zlínském kraji (2006-2011)

Sérotypy	Rok					
	2006	2007	2008	2009	2010	2011
S. Enteritidis	898	700	520	786	521	329
S. Typhimurium	29	9	29	51	47	33
S. Infantis	1	1	5	8	10	16
S. Kentucky	2	0	1	1	0	2
S. Thompson	0	0	2	0	2	1
S. Anatum	0	1	1	1	0	0
Jiná určená	3	5	5	8	10	4
Celkem	1233	1023	573	875	631	393

[28]

6.1.3 Vývoj záchytu nejčastějších sérotypů ve Zlínském kraji (2001–2011)

		Sérotypy			Celkový počet sérotypů
		S. Enteritidis	S. Typhimurium	S. Infantis	
Rok	2001	1399	27	2	1686
	2002	897	29	1	1245
	2003	1322	27	2	1667
	2004	1403	15	1	1754
	2005	1008	16	2	1289
	2006	898	29	1	1233
	2007	700	9	1	1023
	2008	520	29	5	573
	2009	786	51	8	875
	2010	521	47	10	631
	2011	329	33	16	393

[28]

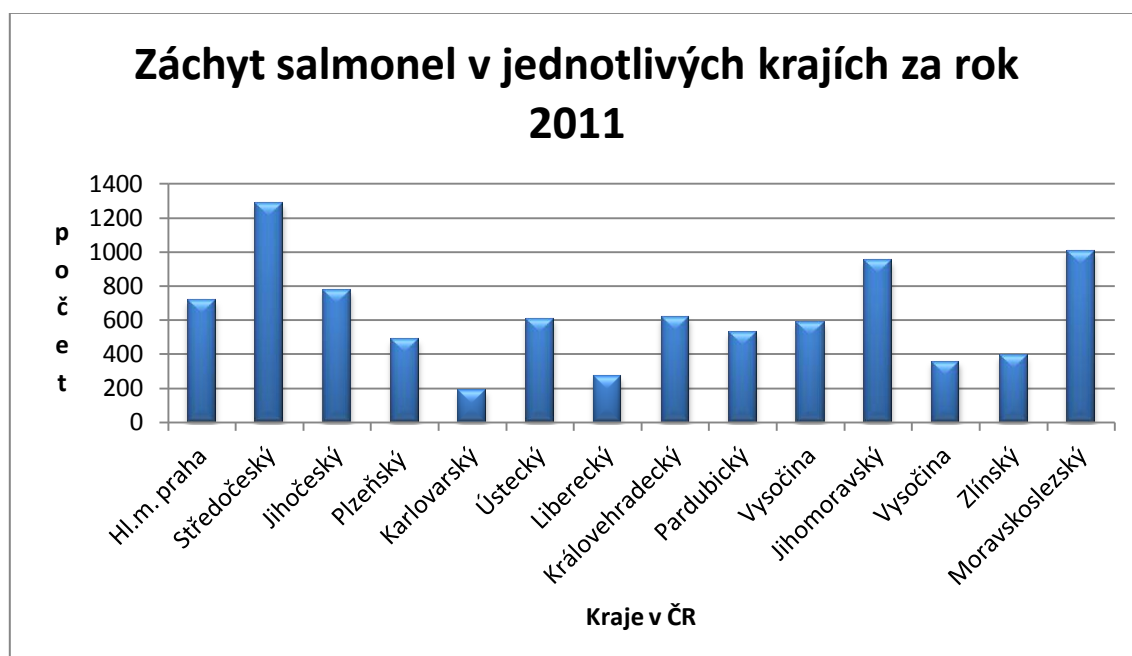


6.1.4 Záchyt salmonel v jednotlivých krajích za rok 2011

Tabulka 10 - Záchyt salmonel v krajích za rok 2011

Kraje	Počet záchytu salmonel
ČR	8752
Hl. m. Praha	716
Středočeský	1284
Jihočeský	772
Plzeňský	487
Karlovarský	188
Ústecký	606
Liberecký	268
Královehradecký	615
Pardubický	529
Vysočina	586
Jihomoravský	948
Vysočina	354
Zlínský	393
Moravskoslezský	1006

[28]



6.2 Záchyt salmonel ve Zlínském kraji za rok 2012

Tabulka 11 - Záchyt salmonel ve Zlínském kraji za rok 2012

Měsíc	Počet salmonel
leden	7
únor	8
březen	31
duben	23
květen	37
červen	54
červenec	96
srpen	109
září	165
říjen	80
listopad	57
prosinec	35

[28]

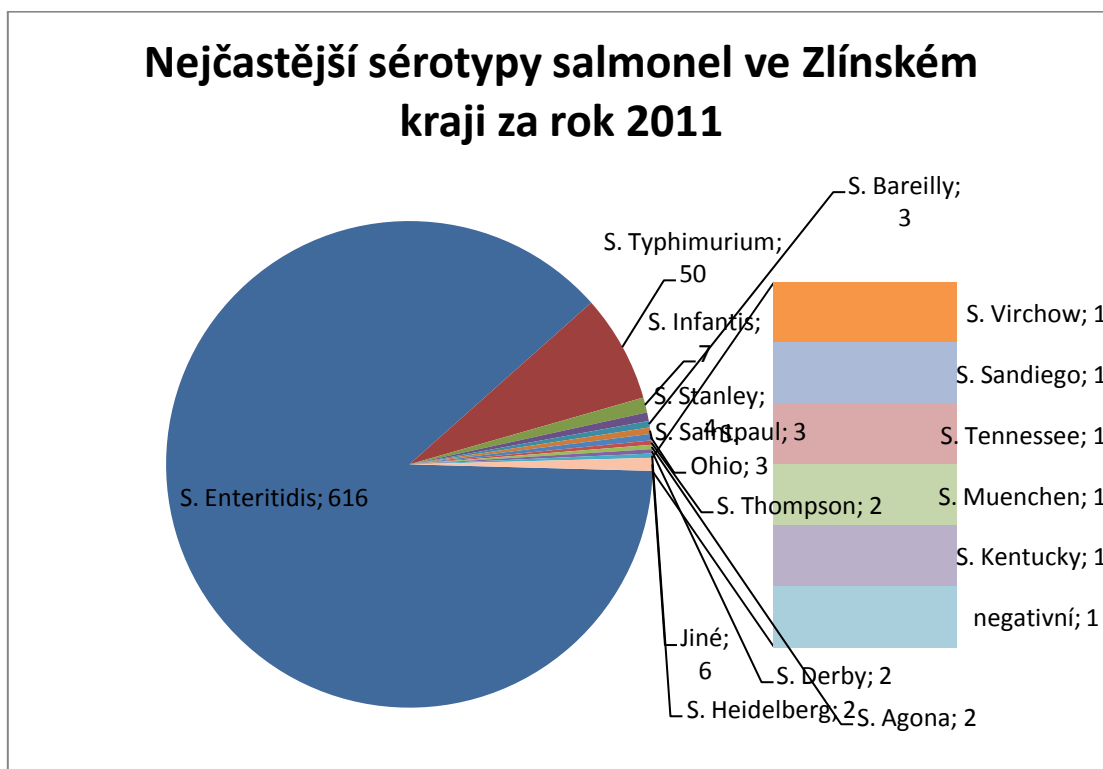


6.2.1 Nejčastější sérotypy salmonel ve Zlínském kraji v roce 2012

Tabulka 12 - Nejčastější sérotypy salmonel ve Zlínském kraji v roce 2012

Sérotyp	Počet
S. Enteritidis	616
S. Typhimurium	50
S. Infantis	7
S. Stanley	4
S. Bareilly	3
S. Saintpaul	3
S. Ohio	3
S. Thompson	2
S. Agona	2
S. Derby	2
S. Heidelberg	2
S. Virchow	1
S. Sandiego	1
S. Tennessee	1
S. Muenchen	1
S. Kentucky	1
Neurčená	1

[28]



7 Výsledky záchyty salmonel ve Zlínském kraji

Z výše uvedených grafů můžeme vypožorovat, že onemocnění způsobené rodem *Salmonella* se vyskytuje hlavně v letních měsících. V období 2001 - 2005 se počet onemocnění pohyboval kolem 1 530 obyvatel. Nejvyšší počet byl v roce 2004 a nejnižší v roce 2002. Nejčastějším sérotypem v tomto období byla *Salmonella* Enteritidis a *Salmonella* Typhimurium.

V období 2006 - 2011 se počet onemocnění pohyboval v nízkých číslech kromě roku 2009. Tehdy jsme zaznamenali nárůst onemocnění. Na rozdíl od roku 2009 byl rok 2011 v počtu onemocnění nejnižší. Tehdy bylo bakterií rodu *Salmonella* nakaženo pouhých 353 lidí. Průměr počtu onemocnění se za toto období pohyboval kolem 1 084 obyvatel. Nejčastějším sérovarem byla již zmiňovaná *Salmonella* Enteritidis způsobující salmonelózu, na dalším místě *Salmonella* Typhimurium.

Rok 2012 se ve Zlínském kraji vyvíjel dobře, až do července. Tehdy byl zaznamenán vzestup záchyty salmonel. Nejvyšší počet záchyty salmonel byl ovšem v měsíci září. Ke konci roku dané počty opět postupně klesaly. Z nejčastějších sérotypů jednoznačně převyšovala *S. Enteritidis* a po ní *S. Typhimurium*. Další sérotypy se objevovaly v menším počtu.

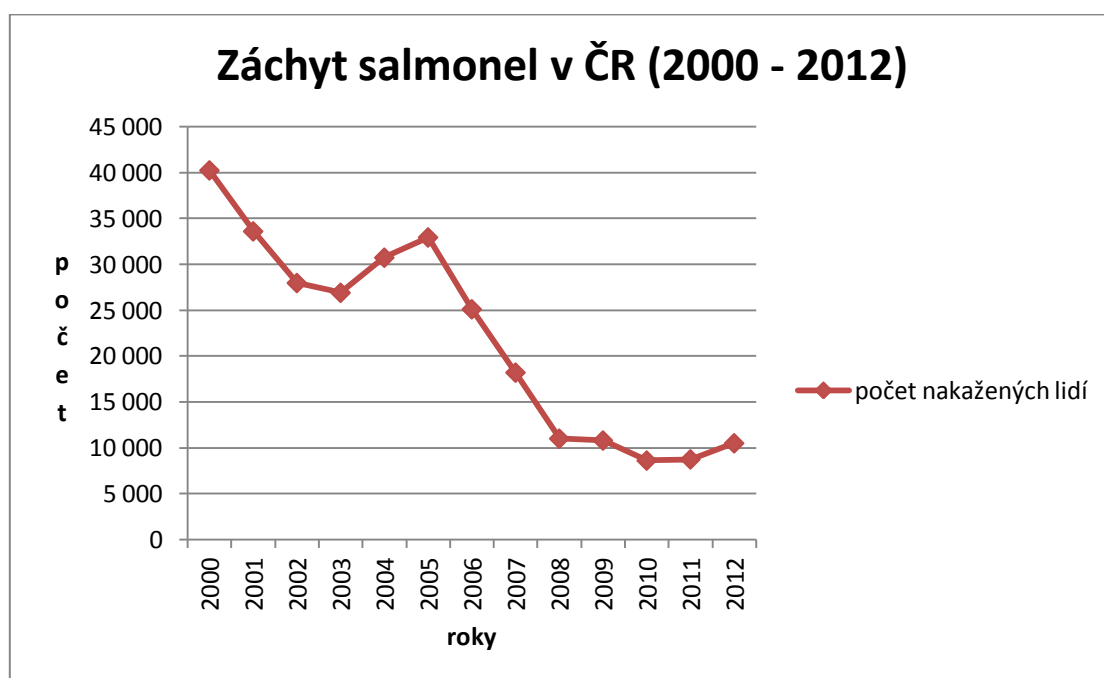
V porovnání výskytu salmonel za rok 2011 se Zlínský kraj umístil na 4. místě s nejnižším počtem výskytu salmonel. Nejnižší výskyt byl zaznamenán v Karlovarském kraji a naopak nejvyšší výskyt zjistili v kraji Středočeském.

8 Záchyt salmonel u pacientů v ČR (2000 – 2012)

Tabulka 13 - Záchyt salmonel v ČR (2000 - 2012)

Rok	Počet nakažených lidí	Incidence
2000	40 233	391,7
2001	33 594	326,6
2002	27 964	274,1
2003	26 899	263,7
2004	30 724	301,0
2005	32 927	321,7
2006	25 102	244,5
2007	18 205	176,4
2008	11 009	105,1
2009	10 805	103,0
2010	8 622	82,0
2011	8 752	83,4
2012	10 507	100,0

[27, 33]



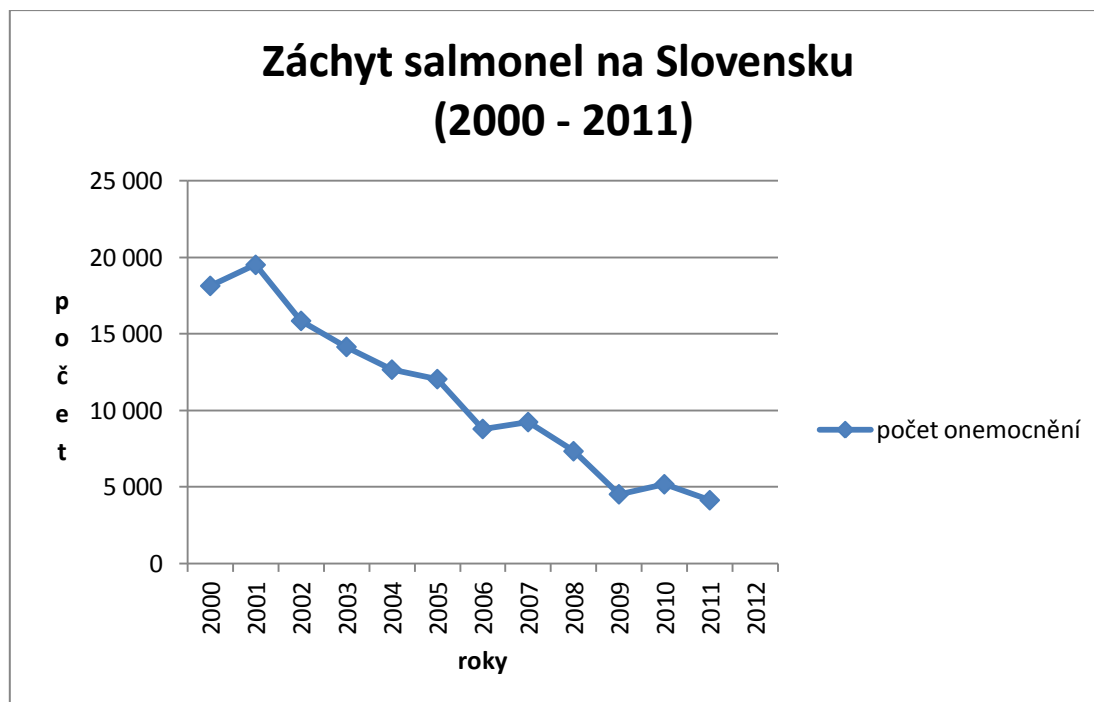
9 Záchyt salmonel u pacientů v okolních státech (2000–2012)

9.1 Počet onemocnění způsobených salmonelou na Slovensku

Tabulka 14 - Počet onemocnění způsobených salmonelou na Slovensku

Rok	Počet onemocnění	Incidence
2000	18 143	336,3
2001	19 517	361,3
2002	15 854	293,5
2003	14 153	263,1
2004	12 667	235,4
2005	12 050	223,8
2006	8 790	163,1
2007	9 241	171,3
2008	7 335	135,8
2009	4 519	83,5
2010	5 175	95,4
2011	4 132	76,0

[29]

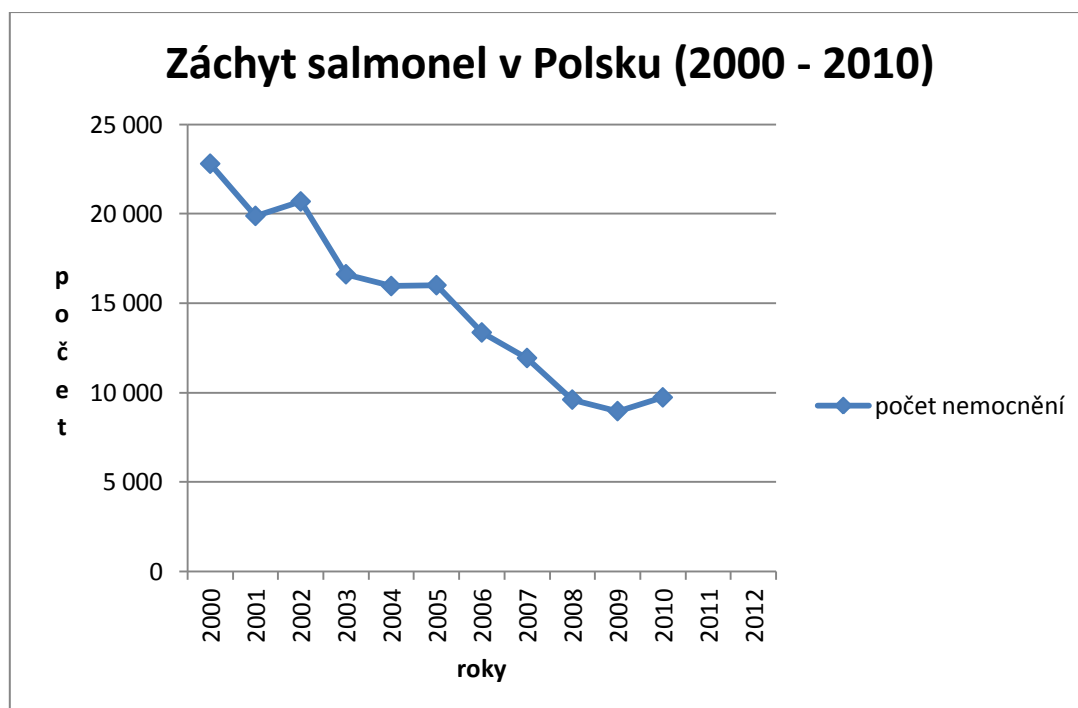


9.2 Počet onemocnění způsobených salmonelou v Polsku

Tabulka 15 - Počet onemocnění způsobených salmonelou v Polsku

Rok	Počet onemocnění	Incidence
2000	22 799	59,0
2001	19 881	51,5
2002	20 688	54,1
2003	16 617	43,5
2004	15 958	41,8
2005	16 006	41,9
2006	13 362	35,0
2007	11 934	30,7
2008	9 608	25,2
2009	8 964	23,5
2010	9 732	25,2

[30]

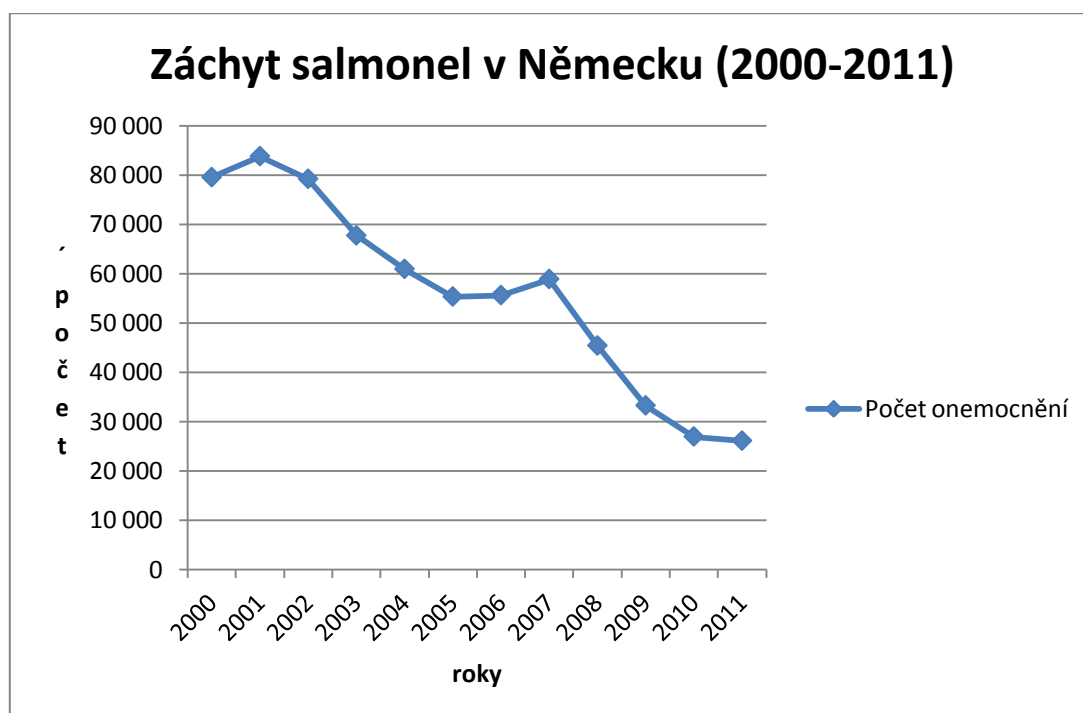


9.3 Počet onemocnění způsobených salmonelou v Německu

Tabulka 16 - Počet onemocnění způsobených salmonelou v Německu

Rok	Počet onemocnění	Incidence
2000	79 535	59,9
2001	83 792	77,1
2002	79 202	52,3
2003	67 722	63,0
2004	60 936	56,9
2005	55 343	52,2
2006	55 622	52,5
2007	58 878	55,4
2008	45 408	42,9
2009	33 263	31,4
2010	26 955	25,3
2011	26 116	24,5

[31]

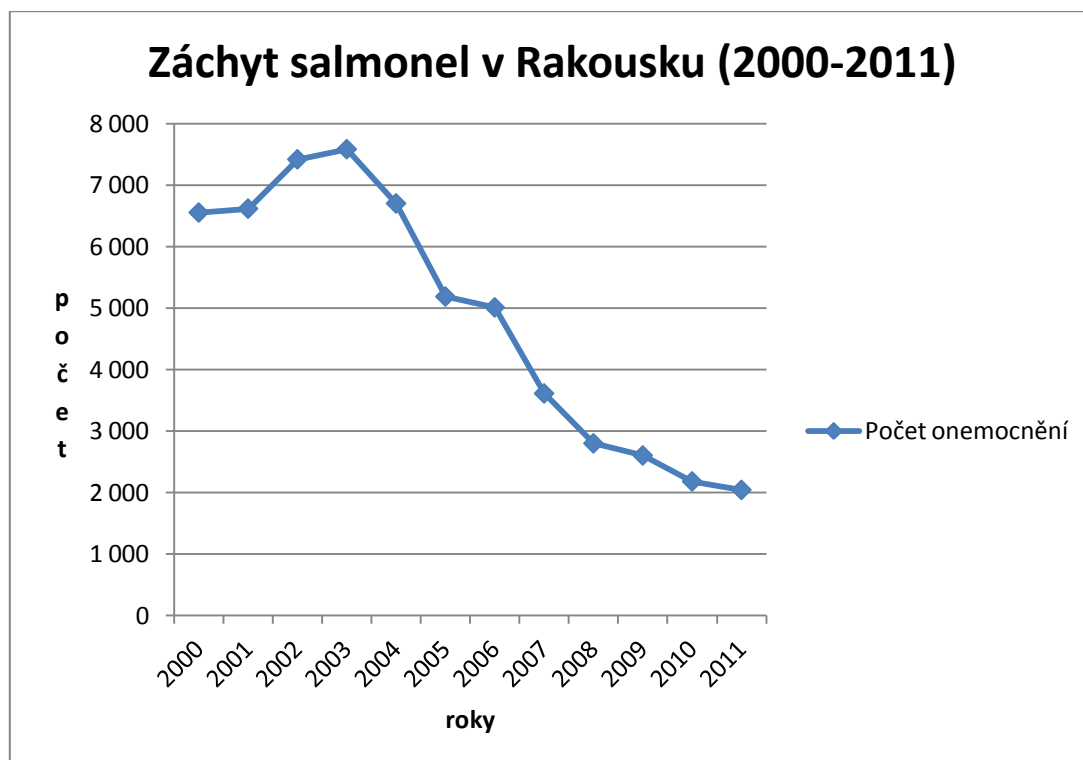


9.4 Počet onemocnění způsobených salmonelou v Rakousku

Tabulka 17 - Počet onemocnění způsobených salmonelou v Rakousku

Rok	Počet onemocnění	Incidence
2000	6 552	77,9
2001	6 615	78,7
2002	7 417	88,3
2003	7 582	90,2
2004	6 700	79,7
2005	5 185	61,7
2006	5 009	59,6
2007	3 610	43,0
2008	2 798	33,3
2009	2 601	31,0
2010	2 179	25,9
2011	2 041	24,3

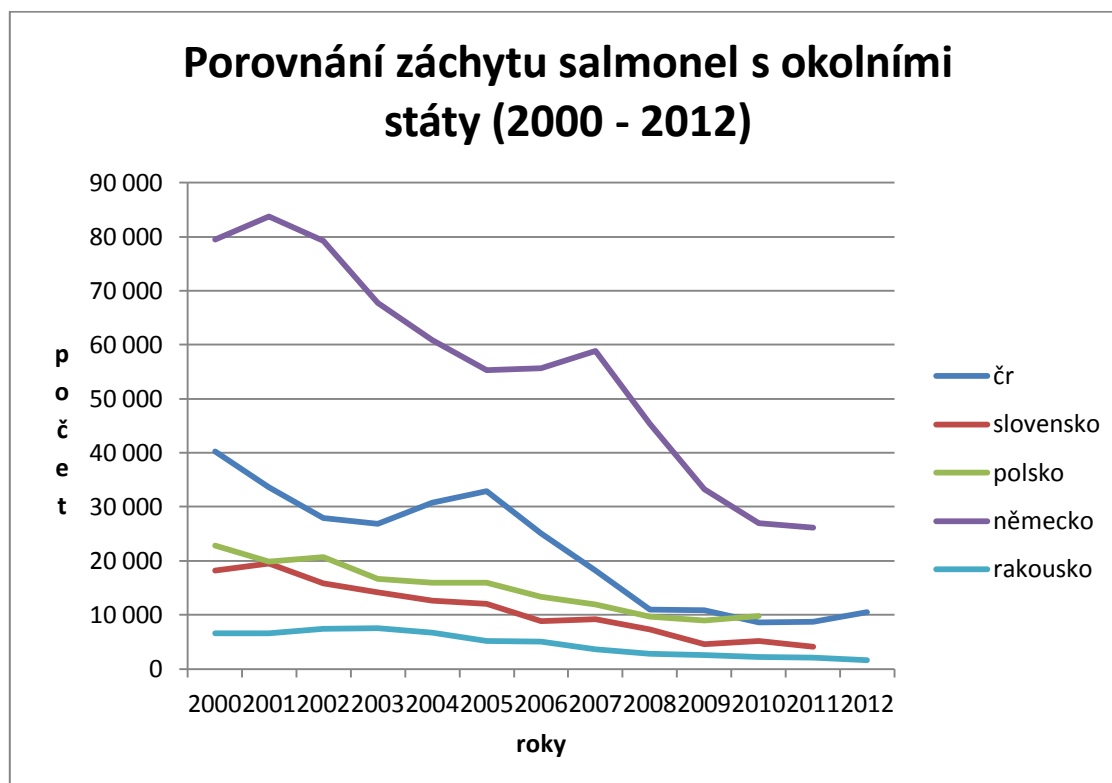
[32]



9.5 Porovnání záchytu salmonel v ČR se sousedními státy (2000-2012)

Tabulka 18 - Srovnání záchytu salmonel v ČR a okolních států (2000 - 2012)

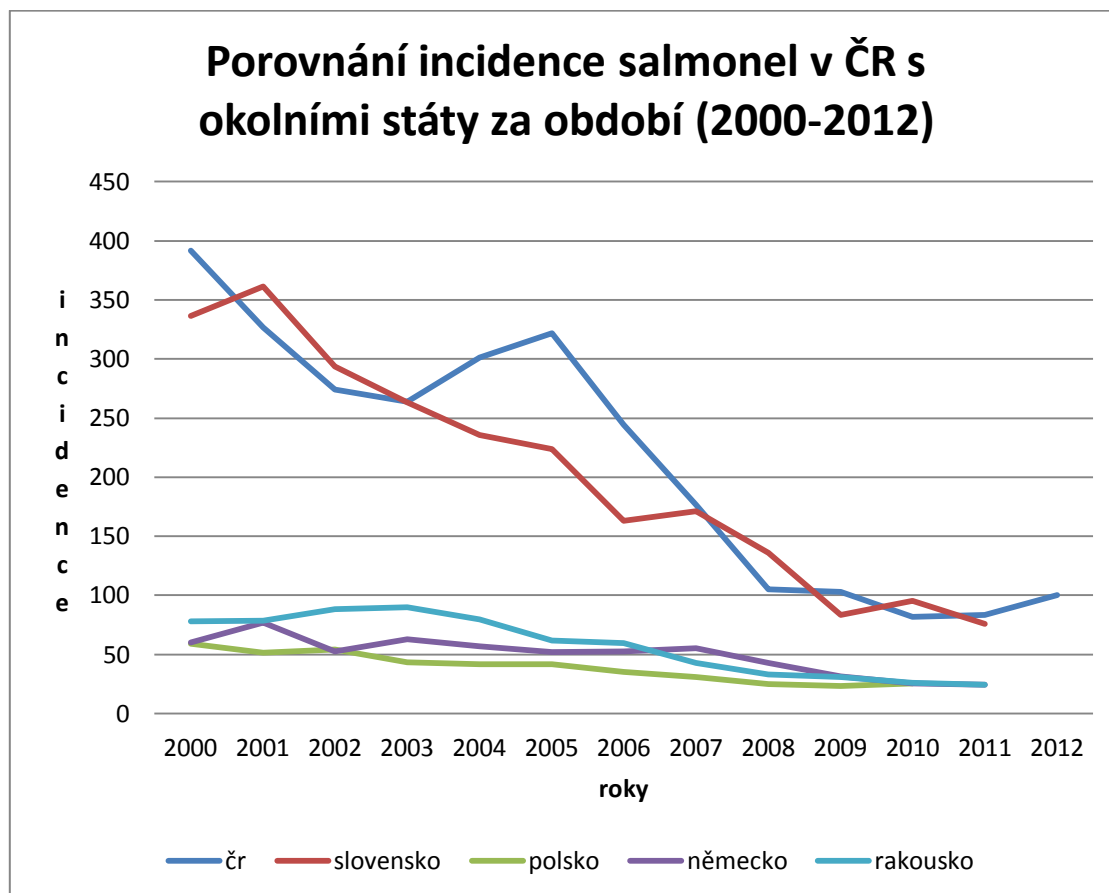
Rok	ČR	Slovensko	Polsko	Německo	Rakousko
2000	40 233	18 143	22 799	79 535	6 552
2001	33 594	19 517	19 881	83 792	6 615
2002	27 964	15 854	20 688	79 202	7 417
2003	26 899	14 153	16 617	67 722	7 582
2004	30 724	12 667	15 958	60 936	6 700
2005	32 927	12 050	16 006	55 343	5 185
2006	25 102	8 790	13 362	55 622	5 009
2007	18 205	9 241	11 934	58 878	3 610
2008	11 009	7 335	9 608	45 408	2 798
2009	10 805	4 519	8 964	33 263	2 601
2010	8 622	5 175	9 732	26 955	2 179
2011	8 752	4 132		26 116	2 041
2012	10 507				



9.6 Porovnání incidence salmonel v ČR s okolními státy (2000 – 2012)

Tabulka 19 - Porovnání incidence salmonel v ČR s okolními státy (2000-2012)

rok	ČR	Slovensko	Polsko	Německo	Rakousko
2000	391,7	336,3	59,0	59,9	77,9
2001	326,6	361,3	51,5	77,2	78,7
2002	274,1	293,5	54,1	52,3	88,3
2003	263,7	263,1	43,5	63,0	90,2
2004	301,0	235,4	41,8	56,4	79,7
2005	321,7	223,8	41,9	52,2	61,7
2006	244,5	163,1	35,0	52,6	59,6
2007	176,4	171,3	30,7	55,4	43,0
2008	105,1	135,8	25,2	42,9	33,3
2009	103,0	83,5	23,5	31,4	31,0
2010	82,0	95,4	25,5	25,3	25,9
2011	83,4	76,0		24,5	24,3
2012	100,0				



10 Diskuse

V 80. a 90. letech minulého století došlo k výraznému nárůstu hlášených onemocnění, která byla způsobena bakterií rodu *Salmonella* především v USA, Kanadě, Jižní Americe a Evropě. Tento nárůst byl způsoben především sérotypem *Salmonella* Enteritidis. Od roku 1989 byl v ČR také zaznamenán nárůst způsobený *S. Enteritidis*. [11]

Ve většině zemí dominuje *Salmonella* Enteritidis a to například: v evropských zemích, v USA, v Kanadě. Ovšem v některých zemích dominuje *Salmonella* Typhimurium: Austrálie, Nový Zéland, Jihoafrická republika. [11]

Salmonella patří mezi nejčastěji hlášené gastrointestinální infekce v rámci EU. Od roku 2004 celkový výskyt bakterií rodu *Salmonella* klesá. Tato klesající tendence spočívá v kontrole drůbeže. V roce 2008 byla míra nákazy způsobená *Salmonella* Enteritidis o 24% větší než v roce 2011. Infekce bakterií rodu *Salmonella* bývá nejčastěji hlášena u dětí do pěti let. [34]

Salmonelóza patří mezi povinně hlášená onemocnění, k její evidenci a analýze v ČR slouží program EPIDAT. Tento program je využíván celostátně Hygienickou službou ČR. [11]

K objektivnímu porovnání nám slouží incidence - přepočet počtu nakažených na 100 000 obyvatel.

Z příslušných tabulek a grafů můžeme pozorovat vývoj počtu nakažených v jednotlivých státech. Incidence v ČR má klesající tendenci, ale oproti okolním státům pořád ještě hodně vysokou hodnotu.

Incidence v ČR je podobná s incidencí na Slovensku. V roce 2003 se incidence České republiky a Slovenské téměř shodovala. Největší rozdíl v počtu osob nakažených bakterií rodu *Salmonella* byl zaznamenán v roce 2005 a 2006. ČR zaznamenala v těchto letech vyšší incidenci než Slovensko.

Incidence v porovnávaných státech je poměrně nižší než v ČR. Polsko, Rakousko i Německo jsou v incidenci na tom podobně. Incidence ČR a Slovenska výrazně převyšuje incidenci porovnávaných států. Je zde vyšší počet nakažených na 100 000 obyvatel. Od roku 2000 incidence ve všech státech

klesá. Nejvýraznější pokles se dá přičíst ČR, kde byla v roce 2000 incidence nejvyšší. Ta v roce 2012 klesla na hodnotu 100.

Při porovnání incidence mezi Německem a Rakouskem docházíme k závěru, že incidence ve sledovaných letech byly poměrně shodné, ale přece jen na tom bylo Německo o něco lépe mezi roky 2000 – 2006.

Ze všech sledovaných států je na tom nejlépe Polsko, které si udržuje velmi nízké hodnoty incidence už od roku 2000 a tento stav má stále klesající tendenci.

Záchyt rodu *Salmonella* ve vybraných státech má klesající tendenci.

Když nebudeme porovnávat jednotlivé počty rodu *Salmonella* v zemích, kde jsou velké rozdíly, ale zaměříme se na porovnání jednotlivých sérotypů tak dojdeme k závěru, že nejčastějším vyizolovaným sérotypem je *Salmonella* Enteritidis, která převyšuje všechny ostatní sérotypy. Procentuální zastoupení *Salmonella* Enteritidis každý rok převyšuje 80%. Druhým nejčastěji vyizolovaným sérotypem je *Salmonella* Typhimurium, která se vyskytuje už poměrně méně často. Procentuální zastoupení *S. Typhimurium* se liší v jednotlivých zemích, ale rozdíly nejsou tak vysoké. Ostatní sérotypy se vyskytují podstatně méně. Jejich procentuální zastoupení ze všech vyizolovaných bakterií rodu *Salmonella* se pohybuje v rozmezí od 0,1 – 2 %. V každém státě je rozdílné zastoupení daných sérotypů a některé se nemusejí ani objevit.

Těmi častějšími jsou *S. Virchow*, *Montevideo*, *Infantis*, *Newport*, *Agona*...

V Polsku byl zaznamenán nárůst sérotypu *Mbandaka*, který v ostatních zemích nebyl ani vyizolován.

11 Závěr

Tato práce měla objasnit celkovou problematiku záchyty salmonel, jejich laboratorní postup a vývoj počtu onemocnění ve Zlínském kraji a celkově poté v ČR. Porovnání záchyty salmonel v ČR s okolními státy a nejčastějšími původci daného onemocnění. V ČR je klesající tendence záchyty salmonel, ale oproti okolním státům se pohybuje ve vyšších hodnotách. Z jednotlivých sérotypů se nejvíce uplatňuje *S. Enteritidis*, která se řadí mezi nejčastější původce gastrointestinálního onemocnění. Můžeme konstatovat, že se u nás nevyskytuje *Salmonella* Typhi ani Paratyphi, která způsobuje závažné onemocnění tyfus nebo paratyfus.

12 Seznam zkratek

ATB	Antibiotikum
cAMP	Cyklický adenosinmonofosfát
ČR	Česká republika
DCI	Deoxycholátový citrátový agar
EU	Evropská Unie
G -	Gram negativní
G +	Gram pozitivní
GM-CSF	Faktor stimulující granulocytovou a monocytovou vývojovou řadu
HCl	Kyselina chlorovodíková
H ₂ S	Sirovodík
H ₂ O ₂	Peroxid vodíku
H ₂ O	Voda
HIV	Human Immunodeficiency Virus
IL-1	Interleukin 1
IL-6	Interleukin 6
IL-8	Interleukin 8
MC	McConkey agar
NRL	Národní Referenční laboratoř
O ₂	Kyslík
Sel bujón	Selenitový bujón
TNF-2	Tumor nekrotizující faktor 2
TSI	Triplet Sugar Iron
WB	Wilson – Blair agar
XLD	Xylosou lysinový deoxycholátový agar

13 Seznam vysvětlivek

Bradykardie	Zpomalení srdeční frekvence pod 60 stahů za minutu
Hepatosplenomegalie	Zvětšení jater a sleziny
Hypotenze	Nízký krevní tlak
Ileum	Dolní část tenkého střeva
Patogeneze	Vznik a vývoj změn v těle během onemocnění
Patogenita	Schopnost zárodků vyvolat onemocnění
Proximální kolon	Blíže ke středu tlustého střeva
Ulcerace	Tvorba vředů
Virulence	Schopnost bakterií vyvolat infekci

14 Seznam obrázků

Obrázek 1 - Rod <i>Salmonella</i> pod mikroskopem	13
Obrázek 2 - Hajnova půda	15
Obrázek 3- Struktura bakterie rodu <i>Salmonella</i>	22
Obrázek 4 - Patogeneze salmonel	25
Obrázek 5- <i>Salmonella typhi</i>	30
Obrázek 6 - Wilson - Blair agar	31
Obrázek 7 - Mc Conkey agar	32
Obrázek 8 - XLD agar	33
Obrázek 9 - DCI agar	34
Obrázek 10 – KLIN.....	35
Obrázek 11 - Amiesova půda	36
Obrázek 12 - Naočkovaná DCI půda.....	38
Obrázek 13 - XLD agar - černé kolonie podezření na salmonelu.....	39
Obrázek 14 - Endo agar s biochemickým klínem	40
Obrázek 15 - Růst salmonely na Endo agar - tvorba sirovodíku	41
Obrázek 16 - ENTEROtest.....	43
Obrázek 17 – Aglutinace	45

15 Seznam tabulek

<i>Tabulka 1- Taxonomické rozdělení</i>	18
<i>Tabulka 2 - Jednotlivé rozlišovací znaky</i>	19
<i>Tabulka 3 - Kauffmann a Whiteo schéma</i>	23
<i>Tabulka 4 - Identifikační tabulka pro ENTEROtest.....</i>	42
<i>Tabulka 5 - Nejčastější typy salmonel, které aglutinují se séry</i>	44
<i>Tabulka 6 - Celkový záchyt salmonel ve Zlínském kraji (2001-2005).....</i>	46
<i>Tabulka 7- Celkový záchyt salmonel ve Zlínském kraji (2006-2011).....</i>	46
<i>Tabulka 8 - Nejčastější sérotypy salmonel ve Zlínském kraji (2001-2005).....</i>	47
<i>Tabulka 9 - Nejčastější sérotypy salmonel ve Zlínském kraji (2006-2011).....</i>	47
<i>Tabulka 10 - Záchyt salmonel v krajích za rok 2011</i>	49
<i>Tabulka 11 - Záchyt salmonel ve Zlínském kraji za rok 2012.....</i>	50
<i>Tabulka 12 - Nejčastější sérotypy salmonel ve Zlínském kraji v roce 2012</i>	51
<i>Tabulka 13 - Záchyt salmonel v ČR (2000 - 2012).....</i>	53
<i>Tabulka 14 - Počet onemocnění způsobených salmonelou na Slovensku.....</i>	54
<i>Tabulka 15 - Počet onemocnění způsobených salmonelou v Polsku.....</i>	55
<i>Tabulka 16 - Počet onemocnění způsobených salmonelou v Německu</i>	56
<i>Tabulka 17 - Počet onemocnění způsobených salmonelou v Rakousku</i>	57
<i>Tabulka 18 - Srovnání záchytu salmonel v ČR a okolních států (2000 - 2012)</i>	58
<i>Tabulka 19 - Porovnání incidence salmonel v ČR s okolními státy (2000-2012)</i>	59

16 Zdroje

1. Web- *News Medical*, vystaveno:2010, [cit. 27-3-2013]
<http://www.news-medical.net/health/Salmonella-History.aspx>
2. **BARON, S.:** *Medical Microbiology*, 4.vydání, Galveston, Texas, 1996, Kapitola 21, ISBN: 10: 0-9631172-1-1
3. **BEDNÁŘ, M. a spol.:** *Lékařská mikrobiologie*, 1. vydání, Marvil, Praha, 1996, str. 267-270, 362-363,
4. **BETINA, V. a spol.:** *Mikrobiologické laboratorní metody*, 1. vydání, Alfa, Bratislava, 1988, str. 330, ISBN: 302-05-126
5. **CUPÁKOVÁ, Š., NECIDOVÁ, L., KARPÍŠKOVÁ, R.:** *Bakteriální původci alimentárních onemocnění*, vystaveno:2011, [cit. 27-3-2013]
<http://cit.vfu.cz/alimentarni-onemocneni/sal/sal.html>
6. **CUPÁKOVÁ, Š., NECIDOVÁ, L., KARPÍŠKOVÁ, R.:** *Bakteriální původci alimentárních onemocnění*, vystaveno:2011, [27-3/2013]
<http://cit.vfu.cz/alimentarni-onemocneni/uni06/uni06.html>
7. **HATHAWAY, B.:** *Internal cellular sensors make Salmonella dangerous*, vystaveno:2012,[cit. 27-3-2013]
<http://news.yale.edu/2012/06/14/internal-cellular-sensors-make-salmonella-dangerous-yale-researchers-find>
8. **JEWEL, E.:** *Salmonella History*, copyright:1999-2013, [cit. 27-3-2013]
http://www.ehow.com/about_5245889_salmonella-history.html
9. **JULÁK, J.:** *Úvod do lékařské mikrobiologie*, 1. vydání, Karolinum, Praha, 2006, str. 230 -233, ISBN: 80-246-1270-4
10. Web- *News Medical*, vystaveno:2010, [cit. 27-3-2013]
<http://www.news-medical.net/health/Salmonella-What-is-Salmonella.aspx>
11. **KARPÍŠKOVÁ, R. a DĚDIČKOVÁ, D.:** *Epidemiolog. Mikrobiolog. Imunol.* Výskyt a charakteristika salmonel ve vybraných lokalitách České republiky - porovnání epidemiologických a laboratorních dat, Státní zdravotní ústav, Praha, 2009, str. 31-35
http://www.szu.cz/uploads/documents/CeM/NRLs/salmonely/publikace/Vyskyt_a_charakteristika_salmonel_v_CR.pdf

12. **KLABAN, V.:** *Ekologie mikroorganismů*, 1. vydání, Galén, Praha, 2011, str. 415, ISBN: 978-80-7262-770-7
13. **KLABAN, V.:** *Svět mikrobů*, 2. vydání upravené, Gaudeamus, Hradec Králové, 2001, str. 311-312, 388-391, ISBN: 80-7041-687-4
14. **MACELA, A. a spol.:** *Infekční choroby a intracelulární parazitismus bakterií*, 1. vydání, Grada, Praha, 2006, str. 181-190, ISBN:80-247-0664-4
15. **PARIJA, S. Ch.:** *Textbook of Microbiology and Immunology*, 1. vydání, Elsevier, India, 2009, str. 281-286, ISBN:978-81-312-2163-1
16. Web- *Zdraví a nemoci*, vystaveno:2012, [cit. 27-3-2013]
<http://www.namal.cz/salmonela-priznaky-lecba/>
17. Web- *Salmonelóza*, [cit. 27-3-2013]
<http://salmoneloza.ordinace.biz/lecba.php>
18. **POPOFF, M. Y. a Le Minor, L.:** *Antigenní formule sérovarů salmonel*, příloha č. 3/1998, Státní zdravotní ústav, Praha, 1998, str. 3,9, ISSN: 0862-5956
19. Web- *EMBL-EBI*, copyright: 2013, [cit. 27-3-2013]
[http://www.ebi.ac.uk/2can/genomes/bacteria/Salmonella typhimurium.html](http://www.ebi.ac.uk/2can/genomes/bacteria/Salmonella_typhimurium.html)
20. **RYŠKOVÁ, O.:** *Základy lékařské mikrobiologie a imunologie*, 1. vydání, Karolinum, Praha, 2008, str. 89, ISBN: 978-80-246-0135-9
21. **ŠINDLER, J.:** *Mikrobiologie Pro studenty zdravotnických oborů*, 1. vydání, Grada, Praha, 2010, str. 81-82, ISBN:978-80-247-3170-4
22. **VOTAVA, M. a kol.,** *Lékařská mikrobiologie speciální*, dotisk, Neptun, Brno, 2003, str. 60-62, ISBN: 80-902896-6-5
23. **ZAHRADNICKÝ, J. a spol.:** *Mikrobiológia a epidemiológia*, 1. vydání, Osveta, Banská Bystrica, 1991, str. 292-296, ISBN:80-217-0326-1
24. Web- *Velký lékařský slovník*, vystaveno:2008, [cit. 27-3-2013]
<http://lekarske.slovníky.cz/pojem/serotypizace>
25. Trios, spol. s.r.o., *Mikrobiologická kultivační média*, Praha
26. Oddělení lékařské mikrobiologie ve Zlíně- Standardní operační postupy
27. Web- *Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR*, copyright: 2010-2013, [cit. 27-3-2013]
<http://www.uzis.cz/cr-kraje>

28. **TKADLECOVÁ, H.**, Krajská hygienická stanice Zlínského kraje se sídlem ve Zlíně, ústní sdělení, 2013
29. Web- *Epidemiologický informačný systém, Výročná správa za SR pre rok 2000-2011*, copyright 2006, [cit. 27-3-2013]
<http://www.epis.sk/InformacnaCast/Publikacie/VyročneSpravy.aspx>
30. Web, *Salmonellosis in Poland in 2000- 2010*, Przegł Epidemiol., Abstrakt databáze PubMed [cit. 27-3-2013]
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23101214>
31. Web- *Robert Koch Institut*, Infektionsepidemiologisches Jahrbuch 2000-2011, copyright:2013, [cit. 27-3-2013]
http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Jahrbuch/jahrbuch_node.html
32. Web- *Bundesministerium für Gesundheit*, Jahresbreicht 2000-2011, [cit. 27-3-2013]
http://www.bmg.gv.at/home/Schwerpunkte/Krankheiten/Uebertragbare/Krankheiten/Statistiken/Jahresstatistiken_meldepflichtiger_Infektionskrankheiten_seit_dem_Jahr_2000
33. Web- *Státní zdravotní ústav*, vystaveno:2013, [cit. 27-3-2013]
<http://www.szu.cz/publikace/data/infekce-v-cr-2007-kumulativne>
34. European center for disease prevention and control, *Výroční epidemiologická zpráva 2011*, str. 3,
http://ecdc.europa.eu/cs/publications/Publications/1111_SUR_Annual_Epidemiological_Report_on_Communicable_Diseases_in_Europe.pdf
35. **SIEVERS E. M.**, *Microbiology a human perspektive*, Brown Communications, United State of America, 1995, str. 270,522, ISBN: 0-697-12760-5
36. Web- *Medipos*,copyright: 2013, [cit. 27-3-2013]
<http://www.medipos.cz/odberove-nadoby-pomucky/odberovy-tampon-amies.html>
37. **TODAR, K.**, *Salmonella and Salmonellosis*, Chapter 2, 4, 5, copyright 2008-2012, [cit. 27-3-2013]
http://textbookofbacteriology.net/salmonella_2.html
http://textbookofbacteriology.net/salmonella_4.html
http://textbookofbacteriology.net/salmonella_5.html

38. **VOXOVÁ B.**, *Přednášky Lékařská mikrobiologie - Gram pozitivní tyčky*

<https://docs.faf.cuni.cz/KBLV/?path=!%c3%a9ka%c5%99sk%c3%a1+mikrobiologie%5cp%c5%99edn%c3%a1%c5%a1ky+!%c3%a9ka%c5%99sk%c3%a1+mikrobiologie>

39. Web- *Wikipedie*, copyright 2013 [cit. 27-3-2013]

<http://cs.wikipedia.org/wiki/Salmonella>