Chem. Listy *106*, 920–925 (2012) Referát

# MIKROBIOLOGICKÁ BEZPEČNOST POTRAVIN: SOUČASNÉ STRATEGIE PRO EFEKTIVNÍ KONTROLU

**KATEŘINA DEMNEROVÁ**

*Ústav biochemie a mikrobiologie, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6*
*Katerina.Demnerova@vscht.cz*

Klíčová slova: patogenní mikroorganismy, chromogenní půdy, imunochemické stanovení, polymerázová řetězová reakce, genotypizace

## Obsah

1. Úvod
2. Mikroorganismy přenášené potravinami
3. Současná legislativa
4. Systém HACCP
5. Moderní metody stanovení mikroorganismů v potravinách
   5.1. Chromogenní média
   5.2. Imunochemické metody
      5.2.1. ELISA
      5.2.2. LFIA Imunochromatografické testy
   5.3. Molekulárně biologické metody
      5.3.1. Kvalitativní PCR
      5.3.2. Kvantifikace pomocí real-time PCR
      5.3.3 Genotypizační metody
6. Závěr

## 1. Úvod

Trendem dnešní doby je konzumace čerstvých, nezávadných a bezpečných potravin. Ne však každý, kdo vyžaduje tento typ potravin na svém stole, ví, co se vlastně skrývá pod pojmem „bezpečnost potravin“. Ke dvěma, běžně používaným možným přístupům, chemickému a mikrobiologickému, přibyl koncem minulého století další – sledování přítomnosti a obsahu transgenních složek potravin (GMO).

## 2. Mikroorganismy přenášené potravinami

Z mikrobiologického hlediska je nutné si uvědomit, že potraviny používané pro výživu jsou zřídka sterilní, většinou obsahují četná mikrobiální společenstva, jejichž složení je dáno původem potraviny a jejím zpracováním. Většina těchto mikroorganismů pochází z přirozené mikroflóry potravinářských surovin a z mikroflóry vnesené do ní během zpracování (sklizeň, porážka), skladování a distribuce. Počty jednotlivých mikroorganismů v daných potravinách vypovídají o historii jejich přípravy. Ve většině případů mikroflóra potravin nemá patrný účinek na kvalitu, a konzumace potraviny nepůsobí problémy. Jsou však případy, kdy přítomnost mikroorganismů má účinek nevratný, ať pozitivní či negativní:

- způsobuje kažení potraviny a mění její organoleptické vlastnosti,
- je původcem onemocnění konzumenta,
- pozitivně mění vlastnosti potraviny, jako např. různé typy fermentací.

Mikroorganismy, které se v potravině mohou nacházet, patří mezi bakterie, kvasinky, plísně nebo protozoa. Působí buď kažení potravin, nebo jsou nositeli různých onemocnění, převážně spojených s trávicím traktem (alimentární onemocnění). Tato onemocnění mohou být způsobena buď přítomností samotného mikroorganismu, nebo produkcí různých toxinů, jejichž požití může mít i smrtelné následky (*Clostridium botulinum* – botulotoxin, *Bacillus anthracis* – antrax).

Jako alimentární onemocnění je označováno každé onemocnění člověka a zvířat, kdy se jedinec nakazí pozřením kontaminované potravy či tekutiny (vstupní branou infekce je trávicí trakt).

Potravní patogeny jsou jednou z hlavních příčin onemocnění a úmrtí v rozvojových zemích, ročně se jedná přibližně o 1,8 milionů lidí. Ve vyspělých zemích jsou potravní patogeny každý rok zodpovědné za asi milion případů infekčních gastrointestinálních onemocnění. Vlivem evoluce patogenů, ale také díky změnám v zemědělských postupech a zavádění nových technologií zpracování a výroby potravin, se neustále vyskytují nová onemocnění.

Dle Světové zdravotnické organizace (WHO) představují z hlediska celosvětového výskytu největší riziko pro lidské zdraví bakterie rodu *Salmonella*, *Vibrio cholerae*, patogenní kmeny *Escherichia coli*, dále pak parazitní prvoci (zejména *Entamoeba histolytica*, *Giardia intestinalis*, *Cryptosporidum parvum*), a viry (Hepatitis A, Norovirus, Rotavirus, Poliovirus).

Tyto údaje však neodrážejí nejnovější trendy, kdy v průmyslově rozvinutých zemích Evropy a Severní Ameriky je jako původce gastrointestinálních onemocnění již po několik let bakterie *Campylobacter jejuni/coli.* Ze shora uvedených mikroorganismů je pro Českou republiku a další evropské státy významné sledovat výskyt *Listeria monocytogenes* v různých typech zrajících sýrů a syrovém mléce, které se stále častěji objevuje na trhu[1,2]. Výskyt tohoto mikroorganismu nemá rozměr výskytu kampylobakterios a salmonelos, ale jako jediný z patogenů přenášených potravinami vyvolává až 30% mortalitu. Podobný význam má také studium *Cronobacter sakazakii*[3–5].

Tato bakterie je řazena mezi oportunní patogeny, jejichž cílovou skupinou jsou novorozenci s nízkou porodní váhou a obecně kojenci do 3 měsíců věku s dosud plně nefunkčním imunitním systémem. *Staphylococcus aureus* tvoří termostabilní enterotoxiny. Do dnešní doby jich bylo identifikováno více než dvě desítky. Tělo na tyto toxiny reaguje již krátkou dobu po požití infikované potraviny alimentárními obtížemi. V obr. 1 jsou uvedeny fotografie vybraných patogenních bakterií přenášených potravinami.

Mikroorganismy působící kažení potravin neohrožují přímo zdraví konzumenta, ale mění objekt lákavý pro naše chuťové buňky v oslizlou beztvarou hmotu, kterou do úst nevložíme ani za nic, nebo na pohled v krásnou chlupatou kouli (pomeranč, citron – plísně), která se nám sice tak nehnusí, ale poživatelná stejně není. A co výborná maminčina hovězí polévka, na kterou se těší celá rodina, ale díky bakteriím se přes noc změnila v kyselou tekutinu, která zanechává nepříjemnou pachuť na jazyku. A možná jste si doma nechtěně vyrobili vinný ocet, když jste nechali nedopitou láhev dobrého vína přes noc otevřenou v kuchyni na stole[6].

## 3. Současná legislativa

Nařízení EU o mikrobiologické bezpečnosti potravin

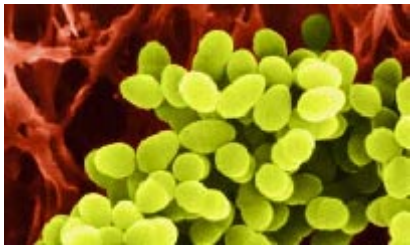
Před vstupem naší republiky do EU platila v naší republice legislativa, která kladla na výrobce a distributory potravin, ve srovnání s jinými státy Evropy, poměrně vysoké nároky. Státy EU, po roce 2004 i s naším přispěním, se snažily vytvořit nové nařízení o mikrobiologické bezpečnosti potravin, které by bylo akceptovatelné pro všechny členské státy. Tato snaha vyústila ve vydání nařízení komise (ES) č.2073/2005 o mikrobiologických požadavcích na potraviny, které bylo po dvou letech novelizováno nařízením komise (ES) č. 1441/2007.

Základním motem těchto nařízení, která zahrnují pouze ty mikroorganismy, u kterých je dokladováno reálné nebezpečí s ohledem na jejich výskyt a rozšíření, je, že potraviny nesmějí obsahovat mikroorganismy nebo jejich toxiny či metabolity v množstvích, která představují nepřijatelné riziko pro lidské zdraví. Hlavní odpovědnost za plnění tohoto nařízení leží na provozovatelích potravinářských zařízení – výrobcích potravin.

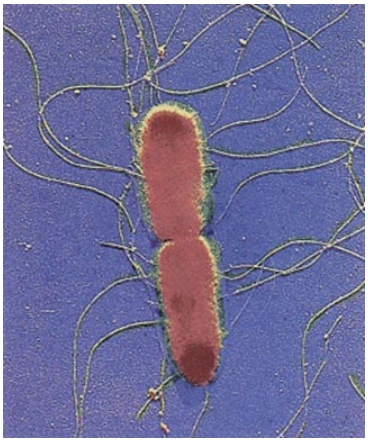
## 4. Systém HACCP

Do 70. let minulého století se ke kontrole přítomnosti nežádoucích mikroorganismů v potravinách a potravinářských technologiích používaly tradiční kultivační metody na ztužených médiích. S nástupem moderní koncepce kontroly potravin a potravinářských technologií, Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP) systému, vznikla potřeba rychlé odpovědi na otázku, zda je či není přítomen nežádoucí mikroorganismus. Systém HACCP vznikl v 60. letech v NASA – USA a jeho cílem

a

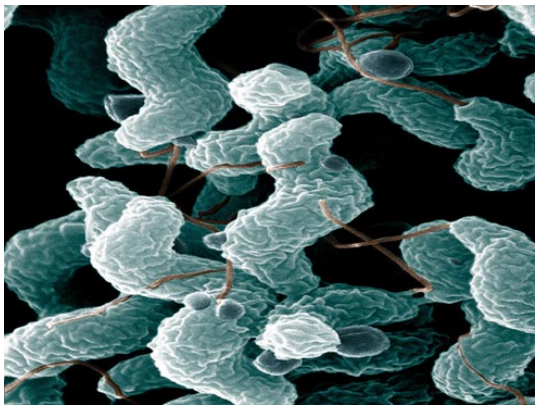


b



c

d



Obr. 1. **Vybrané potravní patogeny;** a – *Staphylococcus aureus*, b – *Salmonella* sp., c – *Listeria monocytogenes*, d – *Campylobacter jejuni*

bylo zajistit nulové zdravotní riziko z potravin připravovaných pro kosmonauty. HACCP systém klade důraz na odhad nebezpečí založený hlavně na evidenci epidemiologie, spojený s kultivací, sklizní, technologickým procesem, distribucí, přípravou a použitím surového materiálu a potravinářských výrobků, dále na stanovení kritických kontrolních bodů a zavedení moderních rychlých metod na monitorování kritických kontrolních bodů. Lze říci, že jde o jakýsi systém preventivních opatření, která slouží k zajištění zdravotní nezávadnosti potravin a pokrmů během všech činností souvisejících s výrobou, zpracováním, skladováním, manipulací, přepravou a prodejem konečnému spotřebiteli. V ČR se zkratka HACCP velice rychle stala součástí slovníku odborné i laické veřejnosti, avšak v legislativě se setkáváme s označením „Systém kritických bodů“. Systém kritických bodů stanovuje, jaké prostředky a postupy jsou nutné, aby se předešlo nebezpečím, která by mohla ohrozit zdraví konzumenta ještě předtím, než se mohou projevit. V naší republice byl tento systém od 1.1. 2000 povinně zaveden pro všechny výrobce potravin (vyhláška Ministerstva zemědělství 147/1998 Sb.). S tímto systémem úzce souvisí Správná laboratorní praxe – Good Laboratory Practice (GLP) a Správná výrobní praxe – Good Manufacturing Practice (GMP)[6].

Z mikrobiologického hlediska je pro naplnění současné legislativy důležité mít při kontrole kritických bodů k dispozici takové metody, které nám co nejrychleji dají odpověď na to, zda je nežádoucí, patogenní mikroorganismus přítomen.

## 5. Moderní metody stanovení mikroorganismů v potravinách

Metody moderní mikrobiologie využívají principů biochemie, biofyziky, imunochemie či molekulární biologie a umožňují rychlejší stanovení mikroorganismů ve srovnání s klasickými kultivačními metodami. Zavedení těchto technik do mezinárodních ISO norem doporučovaných legislativou pro mikrobiologickou kontrolu potravin je zdlouhavá práce a závisí na výsledcích řady validačních studií potvrzujících spolehlivost naměřených výsledků.

Z metod, které se v současné době využívají v kontrolních laboratořích lze doporučit následující: chromogenní média, imunochemické metody a molekulárně biologické metody –polymerázovou řetězovou reakci (PCR).

### 5.1. Chromogenní média

V oblasti kultivačních metod bylo výrazným pokrokem zavedení moderní kategorie diagnostických půd, tzn. chromogenní media, která dokáží odlišit jednotlivé mikroorganismy, a to nejen na úrovni rodů, ale i na úrovni druhů (*Listeria monocytogenes vs.* ostatní druhy), na základě specifické reakce mikroorganismů se složkami média, která se projeví odpovídající barvou jejich kolonií. Složení takovýchto médií je obvykle obchodním tajemstvím výrobce. V současné době je na trhu celá řada chromogenních půd od různých firem, které od sebe dokážou odlišit např. patogenní bakterii *Listeria monocytogenes* od ostatních druhů listerií. Selektivní chromogenní médium pro stanovení počtu *C. jejuni* a *C. coli* ze vzorků drůbeže a souvisejících vzorků. Příkladem může být nabídka chromogenních médií firmy Oxoid: Bacillus cereus Agar používaný pro izolaci a diferenciaci *B. cereus* ze vzorků potravin, CampyCount Agar – selektivní chromogenní médium pro stanovení počtu *C. jejuni* a *C. coli* z drůbeže a souvisejících vzorků, E. coli/coliform Agar – selektivní chromogenní médium pro diferenciaci *E. coli* a jiných koliformních bakterií ze vzorků potravin a životního prostředí, Enterobacter sakazakii Agar používaný pro diferenciaci a stanovení počtu *E. sakazakii* ze sušené kojenecké stravy a dalších vzorků potravin, Listeria Agar vhodné pro izolaci, stanovení počtu a identifikaci listerií a *Listeria monocytogenes* ze vzorků potravin, Salmonella Agar – selektivní chromogenní médium, které se stalo součástí doporučované metody identifikace a diferenciace salmonel. Dále pak Staph 24 Agar – selektivní chromogenní médium pro izolaci a stanovení počtu koaguláza-pozitivních stafylokoků v potravinách během 24 hodin.

Po nástupu chromogenních médií, se většina z nich staly základem současných kultivačních ISO norem.

### 5.2. Imunochemické metody

Imunochemické metody využívají k detekci interakci mezi protilátkou a antigenem. Pro stanovení mikroorganismů se využívají buď monoklonální protilátky (u bakterií jako antigen nejčastěji slouží virulentní proteiny) či polyklonální protilátky (antigenem mohou být celé usmrcené buňky). Imunochemické metody mají řadu výhod, jako je specifita, rychlost a jednoduchost provedení, detekce bakterií v poměrně komplexní matrici, nenáročnost na laboratorní vybavení a relativně nízká cena. K úskalím imunochemických technik patří náročná příprava specifických protilátek s vysokou afinitou k danému analytu, jejichž kvalita přímo ovlivňuje detekci. Imunochemické metody jsou nejvíce rozšířené v klinické biochemii, v analýze potravin a ve veterinární medicíně. V praxi mohou sloužit pro „vychytávání“ patogenů ze vzorků magnetické kuličky pokryté protilátkami, jejichž detekce může být dále potvrzena buď kultivací na chromogenním médiu či využitím PCR se specifickými primery. Na současném trhu je dostupná celá řada imunochemických souprav založených na různých metodách[7].

#### *5.2.1. ELISA*

Jedna z nejčastěji využívaných imunochemických metod pro detekci bakterií je enzymová imunoanalýza na pevné fázi neboli ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) v uspořádání přímého nekompetitivního tzv. sendvičového formátu. Při této metodě je protilátka imobilizována na pevný nosič. Poté je přidán vzorek obsahující buňky mikroorganismů, které interagují s navázanou proti-

látkou. Po odstranění nenavázaných složek následuje aplikace druhé protilátky, která je značená enzymem. Finální detekce je uskutečněna enzymovou reakcí, kdy je bezbarvý substrát přeměn na barevný produkt, a kvantifikace je provedena měřením intenzity zabarvení. Pro aplikaci této metody je nutné, aby daný antigen měl alespoň dva epitopy interagující s protilátkou. Před vlastní reakcí je nutné namnožit bakterie ve vzorcích potravin pomocí běžných kultivačních metod.

Vlastní provedení metody může být formou mikrotitrační destičky, která je vyrobena z polystyrenu. Toto uspořádání je vhodné pro stanovení velkého množství vzorků. Obměnou jamky mikrotitrační destičky může být tzv. „dipstick“[7,8].

*5.2.2. LFIA Imunochromatografické testy*

Imunochromatografické testy neboli LFIA (Lateral Flow Immuno Assay) se v poslední době začaly využívat pro detekci různých látek. Výhody tohoto uspořádání se promítají i do mikrobiologické diagnostiky. Tyto metody jsou velmi rychlé, jednoduché a nenáročné na přístrojové vybavení, což umožňuje jejich realizaci v provozních podmínkách. Nevyžadují téměř žádné pracovní zkušenosti.

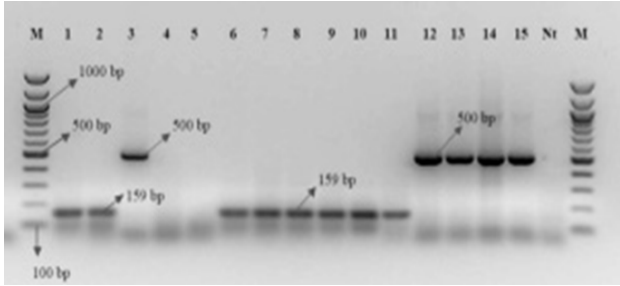
Testovaný vzorek je nanesen na počátek nitrosocelulosové membrány a začíná postupovat testem. Nejprve se dostává do kontaktu s barevným konjugátem s navázanou protilátkou, rozpustí jej a společně s ním vzlíná membránou. Pokud je ve vzorku přítomen antigen, specificky interaguje s těmito protilátkami a vytváří se imunokomplex, který migruje porézní vrstvou nitrocelulosové membrány. Pomocí kapilárních sil vzlíná až k testovací zóně. Zde interaguje se specifickými protilátkami imobilizovanými na membráně, což se projeví vznikem barevné linky v testovací oblasti. Na membráně je také přítomna tzv. kontrolní zóna, která slouží ke kontrole funkčnosti testu. Je na ní imobilizována protilátka připravená proti imunoreaktantu konjugovaném k barevné částici. Přebytek konjugátu vzlíná až k této zóně a váže se na ni. Vytvořená linka potvrdí správné provedení testu. Na trh již bylo uvedeno několik imunochromatografických metod např. pro detekci rodů *Salmonella* a *Listeria*[9,10].

## 5.3. Molekulárně biologické metody

Tyto metody jsou založené na principu řetězové polymerázové reakce (PCR) a znalosti genomu detegovaného mikroorganismu. V reakci se používají ty části genomu, které jsou pro daný mikroorganismus charakteristické. Detekce takové sekvence ve zkoumaném materiálu indikuje přítomnost konkrétního mikroorganismu.

*5.3.1. Kvalitativní PCR*

Nejprve je izolována DNA ze vzorku či z kolonie narostlé po kultivaci vzorku na agarovém médiu. Vzhledem k tomu, že součástí procesu bývá amplifikační proces, stačí k detekci velmi malé množství nukleové kyseliny v analyzovaném vzorku. Tato DNA slouží jako templát




Obr. 2. **Druhově specifická PCR detekce *Campylobacter jejuni* a *Campylobacter coli***

PCR, kdy jsou do reakční směsi přidány primery specifické pro konkrétní mikroorganismus. Specifické primery jsou navrženy tak, aby na základě znalosti sekvence genomové DNA (je dostupná ve veřejně přístupných databázích na internetu – př. NCBI) a jejího porovnání s DNA ostatních mikroorganismů, umožňovaly amplifikovat pouze takový úsek DNA, který je pro detegovaný organismus vysoce specifický. Detekce nasyntetizovaného produktu, fragmentu DNA o očekávané velikosti, spočívá v jeho obarvení barvivem, jež se váže do dvouřetězcové DNA (např. ethidium bromid, SYBR green), následné elektroforéze v agarózovém, popř. akrylamidovém gelu, a konečné vizualizaci pod UV lampou[12–14]. Pozitivní reakce svědčí o přítomnosti testovaného mikroorganismu, případně patogenu v potravinovém vzorku, neříká však nic o jeho množství či počtu MO v testovaném vzorku (obr. 2).

*5.3.2. Kvantifikace pomocí real-time PCR*

V případě provedení real-time PCR probíhá detekce vznikajících produktů již v průběhu všech cyklů („v reálném čase“) PCR a nikoli až po jejich ukončení. Různé uspořádání real-time PCR umožňuje nejen detekci, ale též kvantifikaci MO ve vzorku. Zjištění přítomnosti a stanovení množství patogenu ve vzorku nespočívá tentokrát v potvrzení amplifikovaného fragmentu DNA o určitém počtu párů basí (bp) po ukončení běhu PCR, ale v zaznamenaném signálu, většinou fluorescenčním, jehož síla se zvyšuje úměrně s narůstající koncentrací DNA v reakční směsi. Fluorescenční signál je automaticky přístrojem zaznamenáván po každém reakčním cyklu do křivek, jejichž průběh je poté analyzován.

Princip detekce je tedy založen na záznamu síly fluorescenčního signálu. Jako fluorescenční činidlo se používají buď specifické nebo nespecifické sondy. Specifickou sondou rozumíme fluorescenčně značenou synteticky připravenou krátkou sekvenci nukleotidů komplementární k hledanému úseku. Hybridizací mezi hledaným úsekem nukleové kyseliny stanovované bakterie a sondou, která je následně štěpena polymerasou během elongace řetězce, dochází k nárůstu fluorescence. Hlavní předností těchto metod je jejich vysoká specifita. Nespecifická sonda, jakou je například SYBR green, se váže nespecificky do dvouřetězcové DNA.

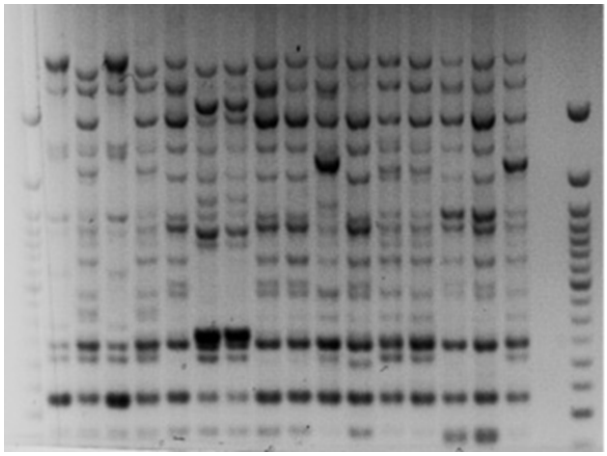
Zvyšující se míra fluorescence v obou případech použitých sond souvisí vždy s narůstajícím množstvím vznikajících produktů (počtem molekul dvouřetězcové DNA). Rychlost nárůstu fluorescence je úměrná počtu kopií genu typického pro sledovaný mikroorganismus v templátu DNA reakce. Čím větší byl počet buněk v původním vzorku, tím je vyšší rychlost nárůstu fluorescence a tím méně cyklů PCR musí proběhnout, aby bylo dosaženo určité detegovatelné míry fluorescence. Cyklus, ve kterém je již měřitelný nárůst fluorescence ve vzorku, se označuje jako prahový cyklus (Ct – treshold cycle). Pro přesnou kvantifikaci mikroorganismů ve vzorku je vždy nutné sestrojení kalibrační křivky ze standardních vzorků o známém množství buněk. Z této křivky, vyjadřující závislost Ct (cyklu o detegovatelné míře fluorecence) na známém množství DNA standardního vzorku, se pak určuje počet kopií DNA daného mikroorganismu v neznámém vzorku.

Pro patogeny přenášené potravinami, jako jsou např. *Listeria monocytogenes*, *Staphyloccoccus aureus*, *Campylobacter jejuni/coli*, *Cronobacter sakazakii* a *Salmonella* sp. byly v řadě laboratoří zavedeny a validovány protokoly pro jejich kvalitativní i kvantitativní stanovení založené právě na izolaci DNA s následnou PCR reakcí[15,16].

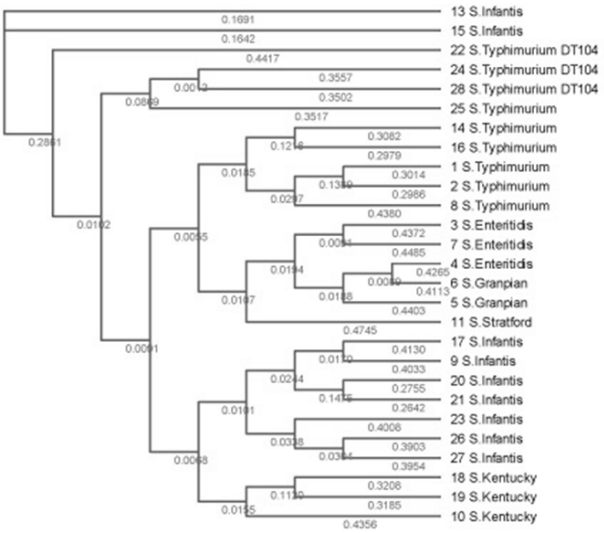
Uvedené metody využívající princip PCR metody patří k základním metodám. Pro podrobnější charakteristiku jednotlivých mikroorganismů se využívají genotypizační metody.

*5.3.3. Genotypizační metody*

Genotypizační metody jsou užívány ke zjištění míry příbuznosti mezi jednotlivými izoláty daného druhu získanými z různých zdrojů v různém čase. Genotypizační metody mohou být založeny na štěpení DNA restrikčními endonukleasami s následnou amplifikací získaných fragmentů pomocí PCR (AFLP – Amplified Fragment Length Polymorphism), na amplifikaci úseků ohraničených repetitivními sekvencemi (REP-PCR, ERIC-PCR) či na amplifikaci fragmentů náhodnými primery (RAPD)[17,18]. Metoda PFGE (Pulsed Field Gel Electrophoresis) využívá makrorestrikční analýzu genomové DNA provedenou *in situ*. Množina získaných fragmentů je poté analyzována z hlediska jejich přítomnosti či nepřítomnosti u jednotlivých izolátů, kdy míra shody je mírou jejich příbuznosti. Srovnání sekvencí vybraných konzervativních genů využívá metoda MLST (Multi-Locus Sequence Typing). Na obr. 3 je znázorněna ukázka genotitypizace metodou ERIC-PCR u salmonel a obr. 4 ukazuje dendrogram sestrojený na základě genotypizace salmonel[19].



Obr. 3. **Ukázka genotypizace salmonel metodou ERIC-PCR**




Obr. 4. **Dendrogram sestrojený pro izoláty *Salmonella* na základě ERIC-PCR genotypizace**

## 6. Závěr

V dnešní době je sledování zdraví lidské populace v popředí zájmu společnosti. Do lidského těla se nežádoucí chemické látky a mikroorganismy mohou dostat v průběhu konzumace potravin. Pro řadu mikroorganismů jsou potraviny, obzvláště ty s příznivým pH, dostatečným obsahem cukrů, bílkovin, vody, velmi dobrým substrátem pro růst. Úkolem dnešních potravinářských mikrobiologů je nejen rychlá identifikace přítomnosti nežádoucích i patogenních mikroorganismů, ale i navržení a zajištění takových podmínek při výrobních technologiích, distribuci a skladování, které by zabránily jejich šíření. Takže vedle vývoje nových specifických robusních metod je nutné se zaměřit na studium chování a vlastností mikroorganismů např. schopnost tvorby biofilmů, a hledání prostředků, které potlačí růst mikroorganismů v potravinách a přitom neovlivní negativně finální výrobek.

Seznam použitých zkratek

| | |
|---|---|
| PCR | polymerázová řetězová reakce |
| HACCP | analýza rizik a tvorba kritických kontrolních bodů (Hazard Analysis and Critical Control Point) |
| MLST | multilokusová sekvenční typizace (Multi-Locus Sequence Typing) |
| AFLP | délkový polymorfismus amplifikovaných fragmentů (Amplified Fragment Length Polymorphism) |
| PFGE | pulzní gelová elektroforéza (Pulsed Field Gel Electrophoresis) |
| REP-PCR | PCR založené na repetitivních sekvencích (Repetitive Sequence-Based PCR) |
| ERIC-PCR | konzervativní enterobakteriální mezigenová repetitivní sekvence PCR (Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus PCR) |
| RAPD | polymorfismus náhodně amplifikované DNA (Randomly Amplified Polymorphic DNA) |

*Tato práce vznikla s finanční podporou NAZV při řešení projektu QJ1210300 v programu Komplexní udržitelné systémy v zemědělství.*

LITERATURA

1. Pazlarová J., Demnerová K., Růžičková H., Roubal P., Němečková I., Karpíšková R.: Mlékařské Listy *128*, 7 (2011).
2. Gelbíčová T., Karpíšková R., Demnerová K.: Mlékařské Listy *128*, 12 (2011).
3. Demnerová K., Hajšlová J., Voldřich M., v knize: *Technologie potravin - Co bystě měli vědět o výrobě potravin*, (Kadlec P., Melzoch K., Voldřich M. ed.), kap. Zdravotní nezávadnost potravin str. 75. Key Publishing, Ostrava 2009.
4. Hochel I., Růžičková H., Krásný L., Demnerová K.: J. Appl. Microbiol. *112*, 1257 (2012).
5. Javůrková B., Blažková M., Fukal L., Rauch P.: Chem. Listy *105*, 193 (2011).
6. Blažková M., Fukal L., Rauch P.: Chem. Listy *104*, 113 (2010).
7. Blažková M.: *Doktorská disertační práce*, VŠCHT, Praha 2008.
8. Karamonova L., Blazkova M., Fukal L., Rauch P., Greifova M., Horakova K., Tomaska M., Roubal P., Brett G. M., Wyatt G. M.: Food Agric. Immunol. *15*, 167 (2003).
9. Blazkova M., Javurkova B., Fukal L., Rauch P.: Biosens. Bioelectron. *26*, 2828 (2011).
10. Blazkova M., Koets M., Wichers J. H., Vanamerongen A., Fukal L., Rauch P.: Czech J. Food Sci. *27*, 350 (2009).
11. Blazkova M., Koets M., Rauch P., van Amerongen A.: Eur. Food Res. Technol. *229*, 867 (2009).
12. Šabatková Z., Pazlarová J., Demnerová K.: Folia Microbiol. *49*, 693 (2004).
13. Ercolini D., Blaiotta G., Fusco V., Coppola S.: J. Appl. Microbiol. *95*, 1090 (2004).
14. Šabatková Z., Demnerová K., Pazlarová J.: Czech J. Food Sci. *26*, 291 (2008).
15. Valihrach L, Demnerova K.: J. Microbiol. Methods *90*, 214 (2012).
16. Vondráková L., Baudišová D., Purkrtová S.: Vodohospodářské technicko-ekonomické informace *54*, 4 (2012).
17. Benešová A.: *Diplomová práce*, VŠCHT, Praha 2012.
18. Rohlová E.: *Diplomová práce*, VŠCHT, Praha 2011.
19. Bártová M.: *Diplomová práce*, VŠCHT, Praha 2010.

**K. Demnerová** *(Department of Biochemistry and Microbiology, Institute of Chemical Technology, Prague):*
**Microbiological Food Safety: Current Strategy of Efficient Control**

Modern societies put emphasis on a better quality of human life. An important part of that seems to be healthy food. Food safety can be evaluated by chemical and microbiological assessment. The latter assessment is based on the methods used for food-borne pathogens. In the last decades rapid techniques were developed and validated by immunochemical and molecular biology methods (ELISA, PCR), including genotypization of isolated bacteria.