

Detekce a typizace patogenů v potravinách rostlinného původu pomocí MOL-PCR

Barbora Zalewska a kol.

Projekt – třetí rok

- » Projekt Ministerstva Zemědělství ČR
- » Trvání projektu: 01/2018 – 12/2022
- » Projektový a řešitelský tým:
 - » Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i.
 - » Veterinární a farmaceutická univerzita v Brně
 - » Zelinářská unie Čech a Moravy z.s.
- » Vyvinutí metod pro průkaz původců alimentárních onemocnění



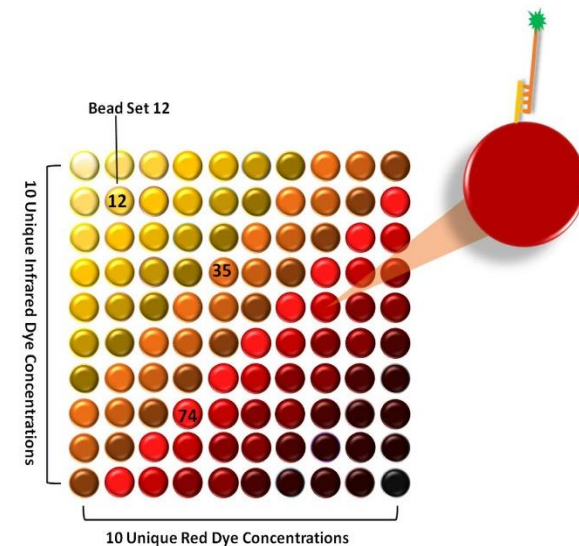
Cíl projektu

- » Potraviny rostlinného původu
- » Potraviny živočišného původu
- » Voda (zavlažování, oplachová, výroba)
- » „Ready to eat“ → vyšší riziko infekce
- » Navázání na předchozí projekt
 - » „Mykovir“ (2012 – 2016)
 - » VÚVeL, ZUČM
 - » Kultivace, qPCR



Cíl projektu

- » Metoda multiplexní technologie – xMAP (MOL PCR)
- » MagPix (Luminex)
- » Výhody
 - » Detekce více patogenů v jedné reakci – úspora fin. nákladů
 - » Bližší určení (poddruhy, typy)
 - » Skládání do panelů
 - » Rychlost, citlivost, specificita



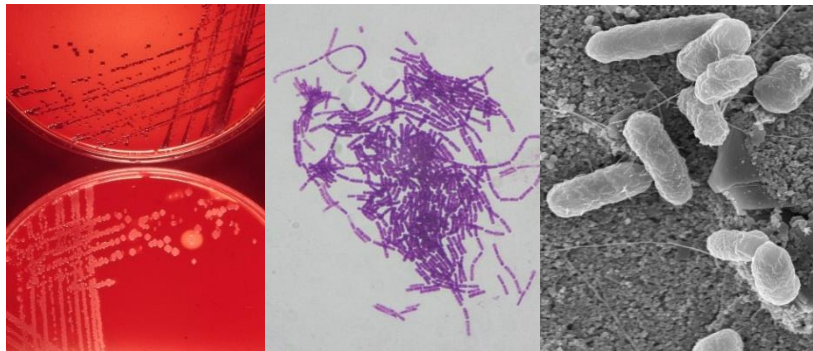
Proč vyšetřovat?

- » Kontaminace potravin → alimentární infekce
- » Celosvětově zvýšený výskyt hlášených epidemií, případů, hospitalizací
- » Zvýšená spotřeba čerstvého ovoce a zeleniny
- » Nárůst populace se sníženou imunitou
- » Kontaminace
 - » Prvovýroba
 - » Další zpracování



Bakterie

- » Gastrointestinální potíže
- » Letní měsíce
- » Inkubační doba je v průměru 15 h
- » Onemocnění může trvat 2 – 3 dny



| Patogen | Symptomy |
|--------------------------------|--|
| <i>Salmonella</i> spp. | bolest břicha, průjem, zimnice, horečka, nevolnost, zvracení |
| <i>E. coli</i> O157:H | bolest břicha, krvavý průjem, HUS |
| <i>Listeria monocytogenes</i> | horečnatá gastroenteritida, aborty, septikemie a meningitidy |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | bolest břicha, průjem, nevolnost, zvracení, bolesti hlavy |
| <i>Yersinia enterocolitica</i> | Horečka, bolest břicha, průjmy, příp. tvorba nekrotických vředů |
| <i>Vibrio parahaemolyticus</i> | bolest břicha, průjem, nevolnost, zvracení, horečka nebo zimnice |
| <i>Clostridium perfringens</i> | Břišní bolesti, nevolnost, průjem. Nebo jen silné zvracení. |

Parazité

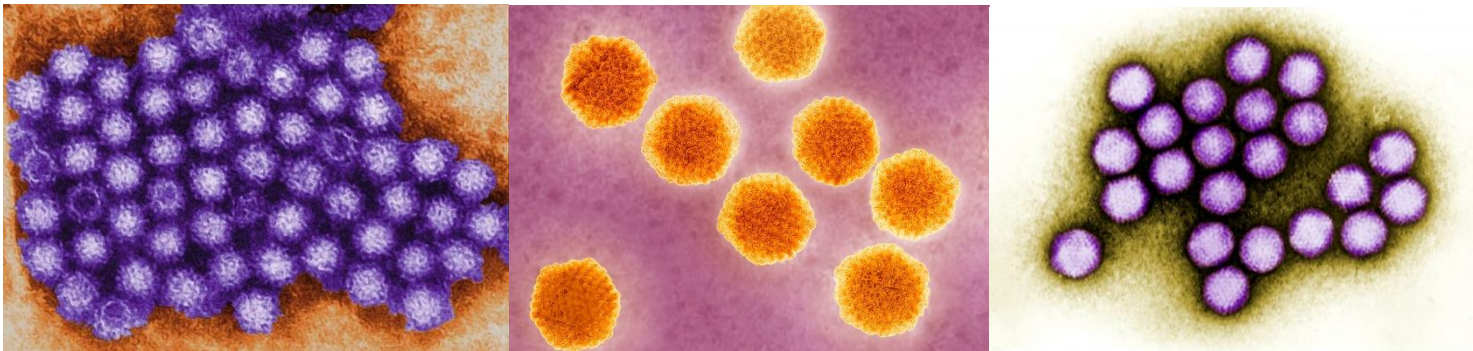
- » Infekce trávicího traktu × komplikace
- » Zdroj infekce: zvířata, trus
- » Kontaminovaná voda, zelenina, ovoce
- » Vysoká odolnost
- » 2 EU projekty – popředí zájmu

| Patogen | Symptomy |
|-------------------------------|--|
| <i>Cryptosporidium parvum</i> | průjem lidí i zvířat, zvracení, bolesti břicha, onem. trvá 1 - 2 týdny |
| <i>Giardia intestinalis</i> | průjem, plynatost, hubnutí trvání nejméně 5 dní - většinou déle |
| <i>Anisakis</i> | bolesti břicha, zvracení |
| <i>Toxoplasma gondii</i> | bezpříznaková |



Viry

- » Průjmová onemocnění
- » Rychlý nástup, rychlé odeznění
- » Vysoký počet nakažených/ krátké čas. období
- » Zdroj infekce: lidé, zvířata



| Patogen | Symptomy |
|---------------------------------|---|
| Norovirus (NoV) | křeče v břiše, průjem, zvracení, horečka |
| Virus hepatitidy A (HAV) | bolest břicha, nevolnost, horečka, žloutenka, tmavá moč |
| Adenoviry (AdV) | průjmy, bolesti břicha, zvracení, horečka |
| Rotaviry | průjmy, zvracení, horečka |

Multiplexní technologie

| Bakterie | Symptomy |
|--------------------------------|--|
| <i>Salmonella</i> spp. | bolest břicha, průjem, zimnice, horečka, nevolnost, zvracení |
| <i>E. coli</i> O157:H | bolest břicha, krvavý průjem, HUS |
| <i>Listeria monocytogenes</i> | horečnatá gastroenteritida, aborty, septikemie a meningitidy |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | bolest břicha, průjem, nevolnost, zvracení, bolesti hlavy |
| <i>Yersinia enterocolitica</i> | Horečka, bolest břicha, průjmy, příp. tvorba nekróz a vředů |
| <i>Vibrio parahaemolyticus</i> | bolest břicha, průjem, nevolnost, zvracení, horečka nebo zimnice |
| <i>Clostridium perfringens</i> | Břišní bolesti, nevolnost, průjem. Nebo jen silné zvracení. |

| Viry | Symptomy |
|---------------------------------|---|
| Norovirus (NoV) | křeče v břiše, průjem, zvracení, horečka |
| Virus hepatitidy A (HAV) | bolest břicha, nevolnost, horečka, žloutenka, tmavá moč |
| Adenoviry (AdV) | průjmy, bolesti břicha, zvracení, horečka |
| Rotaviry | průjmy, zvracení, horečka |

| Parazité | Symptomy |
|--------------------------------------|--|
| <i>Cryptosporidium parvum</i> | průjem lidí i zvířat, zvracení, bolesti břicha, onem. trvá 1 - 2 týdny |
| <i>Giardia intestinalis</i> | průjem, plynatost, hubnutí trvání nejméně 5 dní - většinou déle |
| <i>Anisakis</i> | bolesti břicha, zvracení |
| <i>Toxoplasma gondii</i> | bezpříznaková |

Vyšetření jednoho vzorku až na 50 patogenů - různé detekční panely

Vyšetření ovoce a zeleniny

| Druh potravin | Vyšetřeno | Pozitivních | Patogen |
|----------------------|-----------|-------------|--|
| Listová zelenina | 129 | 96 | Listeria, Cronobacter, Escherichia coli, Norovirus, Toxoplasma, Cryptosporidium, Giardia |
| Výhonky | 35 | 0 | |
| Mrkev | 138 | 100 | Listeria |
| Okurka | 139 | 131 | Listeria, Cronobacter, Escherichia coli, Norovirus, Toxoplasma, Cryptosporidium, Giardia |
| Bylinky | 227 | 97 | Listeria, Cronobacter, Escherichia coli, Norovirus |
| Mražená zelenina | 43 | 3 | Listeria |
| Jahody | 156 | 92 | Cronobacter, Escherichia coli, Norovirus, Cryptosporidium, Giardia |
| Čerstvé ovocné šťávy | 80 | 6 | Yersinia, Cryptosporidium, Giardia |

Plán 2021

- Rozbor a výklad získaných výsledků
- Pokračování ve vývoji dalších detekčních systémů
- Řešení VAŠICH problémů



Děkuji za pozornost



zalewska@vri.cz Tel: +420 777 786 711