

OBSAH

	<i>Strana</i>
ÚVOD	11
1 Zaměření mikrobiologické kontroly	13
2 Všeobecné pokyny pro provádění mikrobiologických rozborů	15
2.1 <u>VOLBA METODY</u>	15
2.2 <u>ZÁSADY PRO PROVÁDĚNÍ MIKROBIOLOGICKÝCH ROZBORŮ</u>	15
2.2.1 Vybavení mikrobiologické laboratoře	15
2.2.2 Dekontaminace a asepse	18
2.2.3 Mytí a příprava skleněného nádobí a pomůcek k mikrobiologickým rozborům	26
3 Provádění mikrobiologických rozborů	29
3.1 <u>ODBĚR VZORKŮ (VZORKOVÁNÍ)</u>	29
3.2 <u>PŘÍPRAVA VZORKŮ K ROZBORU, ŘEDĚNÍ</u>	33
3.2.1 Uchovávání vzorků	33
3.2.2 Navážka nebo odměření množství vzorku k rozboru	34
3.2.3 Homogenizace	34
3.2.4 Ředění vzorků	35
3.2.5 Ředící roztoky a jejich složení	37

3.3	<u>KLASICKÉ MIKROBIOLOGICKÉ METODY</u>	41
3.3.1	Mikroskopické metody	42
3.3.1.1	P ř í m é mikroskopování vykultivovaných kolonií	42
3.3.1.2	P ř í p r a v a živého (nativního) preparátu	42
3.3.1.3	P ř í p r a v a fixovaného preparátu	43
3.3.1.4	B a r v e n í Löfflerovým činidlem	44
3.3.1.5	G r a m o v o barvení	44
3.3.1.6	B a r v e n í spor bakterií	45
3.3.1.7	N e g a t i v n í barvení	46
3.3.1.8	P ř í m é počítání mikroorganismů mikroskopicky	47
3.3.1.9	M ě ř e n í velikosti mikroorganismů mikroskopicky	48
3.3.2	Kultivační vyšetření	49
3.3.2.1	K u l t i v a č n í vyšetření v tekutých půdách	50
3.3.2.2	K u l t i v a č n í vyšetření na agarových půdách	61
	■ <i>Isolace a přeočkování</i>	62
	■ <i>Identifikace</i>	65
	■ <i>Resuscitace</i>	70
	■ <i>Stanovení mikroorganismů na agarových půdách plotnovou metodou</i>	72
	■ <i>Všeobecné pokyny k odečítání kolonií</i>	74
3.3.2.3	V ý b ě r kultivačního média	78
3.3.2.4	M e m b r á n o v á filtrace	78
3.4	<u>ORIENTAČNÍ METODY</u>	82
3.4.1	Metody enzymatické	82
3.4.1.1	R e d u k t á z o v á zkouška	82
3.4.1.2	R e s a z u r i n o v á zkouška	83
3.4.1.3	P y r u v á t o v á zkouška	84
3.4.1.4	K v a s n á zkouška	84

3.4.2	Mikrobitesty	85
3.4.2.1	T e c h n i k a práce s různými druhy mikrobitestů	86
3.4.2.2	D r u h y mikrobitestů podle zjišťovaných skupin mikroorganismů	90
3.4.3	Petrifilm	91
3.5	<u>AUTOMATIZOVANÉ METODY A INSTRUMENTÁLNÍ TECHNIKA</u>	92
3.5.1	Metoda s použitím mikrokličky	92
3.5.2	Automatizované očkování mikroorganismů (přístroj Mini-Petrifoss)	93
3.5.3	Automatické počítání kolonií (přístroj Biofoss)	94
3.5.4	Automatická metoda přímého počítání baktérií v mléce (přístroj Bactoscan)	94
3.5.5	Metoda měření změn bioluminiscence na základě změn ATP (přístroj Bactofoss)	96
3.5.6	Měření impedance (přístroj Bac Trac, Bactometer)	96
3.5.7	Limulus test (LAL test)	97
4	Zjišťování ukazatelů mikrobiologické a hygienické jakosti mléka a mlékárenských výrobků	98
4.1	<u>MEZOFILNÍ AEROBNÍ A FAKULTATIVNĚ ANAEROBNÍ MIKROORGANISMY</u>	99
4.1.1	Všeobecné informace	99
4.1.2	Stanovení počtu mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů	101

4.1.2.1	S t a n o v e n í počtu mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů kultivací v tekutých půdách	102
4.1.2.2	S t a n o v e n í počtu mezofilních aerobních a fakultativně anaerobních mikroorganismů plotnovou metodou	103
4.2	<u>PSYCHROTROFNÍ MIKROORGANISMY</u>	106
4.2.1	Všeobecné informace	106
4.2.2	Stanovení počtu psychrotrofních mikroorganismů	107
4.2.2.1	S t a n o v e n í počtu psychrotrofních mikroorganismů kultivační metodou při 6,5 °C ..	107
4.2.2.2	Z k r á c e n á metoda stanovení počtu psychrotrofních mikroorganismů	108
4.3	<u>TERMOREZISTENTNÍ MIKROORGANISMY</u>	110
4.3.1	Všeobecné informace	110
4.3.2	Stanovení počtu termorezistentních mikroorganismů	112
4.4	<u>KOLIFORMNÍ BAKTÉRIE</u>	115
4.4.1	Všeobecné informace	115
4.4.2	Stanovení koliformních bakterií	116
4.4.2.1	S t a n o v e n í počtu koliformních bakterií kultivací v tekutých půdách	116
4.4.2.2	S t a n o v e n í počtu koliformních bakterií plotnovou metodou	118
4.5	<u>ENTEROKOKY</u>	126
4.5.1	Všeobecné informace	126
4.5.2	Průkaz a stanovení enterokoků	126
4.5.2.1	P r ů k a z enterokoků v tekutém médiu...	127
4.5.2.2	S t a n o v e n í enterokoků plotnovou metodou	127

4.5.2.3	I d e n t i f i k a č n í t e s t y	128
4.6	<u>KVASINKY A PLÍSNE</u>	133
4.6.1	Všeobecné informace	133
4.6.2	Stanovení počtu kvasinek a plísni	134
4.7	<u>ANAEROBNÍ MIKROORGANISMY</u>	136
4.7.1	Všeobecné informace	136
4.7.2	Metody anaerobní kultivace	137
4.7.2.1	K u l t i v a c e v t e k u t ý c h a a g a r o v ý c h půdách	137
4.7.2.2	S t a n o v e n í m e z o f i l n í c h a n a e r o b n í c h mikroorganismů metodou MPN	139
4.7.2.3	S t a n o v e n í p o č t u m e z o f i l n í c h klostridií metodou MPN	140
4.7.2.4	S t a n o v e n í n e j p r a v d ě p o d o b n ě j š í h o počtu bakterií máselného kvašení metodou MPN v tekuté půdě s kyselinou mléčnou a glukózou	141
4.7.2.5	S t a n o v e n í n e j p r a v d ě p o d o b n ě j š í h o počtu bakterií máselného kvašení kultivací v bujónu s laktátem a průkaz přítomnosti <i>Clostridium tyrobutyricum</i>	143
4.8	<u>PROTEOLYTICKÉ A LIPOLYTICKÉ BAKTÉRIE</u>	148
4.8.1	Všeobecné informace	148
4.8.1.1	S t a n o v e n í p o č t u p r o t e o l y t i c k ý c h mikroorganismů	148
4.8.1.2	S t a n o v e n í p o č t u l i p o l y t i c k ý c h mikroorganismů	149
4.9	<u>BAKTÉRIE MLÉČNÉHO KVAŠENÍ</u>	152
4.9.1	Všeobecné informace	152
4.9.2	Stanovení počtu bakterií mléčného kvašení	153

4.9.3	Stanovení počtu laktobacilů a laktokoků ve směsných kulturách	155
4.10	<u>PATOGENNÍ MIKROORGANISMY</u>	160
4.10.1	Bacillus cereus	163
4.10.1.1	V š e o b e c n é informace	163
4.10.1.2	S t a n o v e n í počtu Bacillus cereus .	165
4.10.2	Stafylokoky	170
4.10.2.1	V š e o b e c n é informace	170
4.10.2.2	Z j i š ť o v á n í přítomnosti a počtu stafylokoků	171
4.10.2.2.1	Stanovení nejpravděpodobnějšího počtu stafylokoků (MPN) v tekutém médiu	171
4.10.2.2.2	Stanovení počtu stafylokoků na agaro- vých půdách	174
5	Živná média	181
5.1	<u>TYPY ŽIVNÝCH MÉDIÍ</u>	181
5.2	<u>PŘÍPRAVA ŽIVNÝCH MÉDIÍ</u>	183
5.3	<u>POKYNY K PŘÍPRAVĚ ŽIVNÝCH MÉDIÍ</u>	185
6	Inhibiční látky v mléce	187
6.1	<u>VŠEOBECNÉ INFORMACE</u>	187
6.2	<u>DIFÚZNÍ PLOTNOVÝ TEST</u>	188
6.3	<u>STANOVENÍ INHIBIČNÍCH LÁTEK NA MIKRODESTIČKÁCH</u>	191

6.4	<u>STANOVENÍ KYSACÍ SCHOPNOSTI MLÉKA</u>	196
7	Bakteriofágy	197
8	Mikrobiologický rozbor mléka a mlékárenských výrobků	199
8.1	<u>SYROVÉ MLÉKO</u>	200
8.2	<u>MLÉKÁRENSKY OŠETŘENÉ MLÉKO</u>	202
8.2.1	Pasterované mléko	202
8.2.2	Trvanlivé mléko	204
8.3	<u>SMETANY SLADKÉ</u>	205
8.4	<u>OCHUCENÁ MLÉKA, MLÉČNÉ KOKTEJLY</u> <u>NEFERMENTOVANÉ</u>	206
8.5	<u>KYSANÉ MLÉČNÉ VÝROBKY</u>	207
8.6	<u>SMETANOVÉ KRÉMY A DEZERTY</u>	209
8.7	<u>MÁSLO</u>	211
8.8	<u>MRAŽENÉ SMETANOVÉ KRÉMY A DEZERTY</u>	212
8.9	<u>SÝRY</u>	214
8.10	<u>TVAROHY</u>	217
8.11	<u>ZAHUŠTĚNÁ MLÉKA</u>	218
8.12	<u>SUŠENÉ MLÉKO A SUŠENÉ MLÉČNÉ VÝROBKY</u>	220

8.13	<u>KASEIN A KASEINÁTY</u>	222
8.14	<u>SYŘIDLA</u>	223
8.15	<u>POMOCNÉ LÁTKY</u>	225
9	Mikrobiologická kontrola povrchů, prostředí a vody	227
9.1	<u>MIKROBIOLOGICKÁ KONTROLA POVRCHŮ, STYČNÝCH PLOCH A ZAŘÍZENÍ</u>	227
9.1.1	Stanovení mikrobiální kontaminace metodou stěrovou	227
9.1.2	Stanovení mikrobiální kontaminace otiskovým mikrobitem	228
9.1.3	Stanovení mikrobiální kontaminace otiskem na živnou půdu	229
9.1.4	Stanovení mikrobiální kontaminace výplachovou metodou	230
9.2	<u>MIKROBIOLOGICKÁ KONTROLA VZDUCHU</u>	232
9.2.1	Stanovení počtu kontaminujících mikrobů z ovzduší	232
9.2.2	Stanovení počtu mikrobů ve vzduchu aeroskopem	234
9.2.3	Metoda probublávání ("impinger")	235
9.3	<u>MIKROBIOLOGICKÁ KONTROLA VODY</u>	236
	LITERATURA	237
	PŘEHLED TABULEK A OBRÁZKŮ	241