

Obsah

1. ODBĚR A PŘÍPRAVA VZORKŮ K MIKROBIOLOGICKÉMU VYŠETŘENÍ

1.1. Odběr vzorků	11
1.1.1. Obecné zásady	11
1.1.2. Množství odebraného vzorku	12
1.1.3. Způsoby odběru vzorků	12
1.1.3.1. Kusové materiály	13
1.1.3.2. Tekuté a kašovitě materiály	13
1.1.3.3. Sypké materiály	13
1.1.3.4. Materiály smíšené konzistence	13
1.2. Přeprava, příjem a uchovávání vzorků	15
1.2.1. Přeprava vzorků	15
1.2.2. Příjem a uchovávání vzorků v laboratoři	15
1.3. Zpracování vzorků v laboratoři	16
1.3.1. Otevírání obalů vzorků	16
1.3.2. Navážka vzorku	17
1.3.3. Homogenizace vzorku	18
1.3.4. Ředění vzorku	18
1.3.4.1. Příprava výchozí suspenze	18
1.3.4.2. Příprava desetinásobných ředění vzorku	20
2. METODY STANOVENÍ POČTU MIKROORGANISMŮ	21
2.1. Kultivační metody stanovení počtu mikroorganismů	21
2.1.1. Stanovení počtu mikroorganismů při použití tekutých půd	21
2.1.1.1. Hodnocení a interpretace výsledků	22
2.1.2. Stanovení počtu mikroorganismů při použití pevných půd	24
2.1.2.1. Vyjádření výsledku – metoda výpočtu	24
2.1.2.2. Odhad počtu N_E – méně než 10 kolonií	26
2.1.2.3. Odhad počtu N_E – kolonie nepřítomny	27
2.1.2.4. Odhad počtu N_E – více než 300 (150) kolonií	27
2.1.3. Stanovení počtu mikroorganismů membránovou filtrací	28
2.1.3.1. Vyjádření výsledku – vyšetření pitné vody	28
2.1.3.2. Vyjádření výsledku – vyšetření ostatních filtrovatelných vzorků	28
2.1.4. Stěrová metoda	29
2.1.4.1. Kvantitativní stěr	29
2.1.4.2. Kvalitativní stěr	29
2.1.5. Metoda seškrabu	30
2.1.6. Otisková metoda	30
2.1.6.1. Sklopný otiskový nosič - Hygicult®	30
2.1.7. Metoda oplachu	31
2.1.8. Metoda výplachu	31
2.1.9. Metoda spadu	32
2.1.10. Kultivační destičky Petrifilm™	32
2.2. Mikroskopické metody stanovení počtu mikroorganismů	33
2.2.1. Vitální barvení kvasinek	33
2.2.2. Přímá epifluorescenční filtrační metoda	34
2.2.3. Automatická metoda přímého počítání bakterií – BactoScan	34

2.3.	Nepřímé metody stanovení počtu mikroorganismů	35
2.3.1.	Metody založené na redukci barviv	35
2.3.2.	Elektrické metody (impedanční měření)	35
2.3.3.	Metody založené na průkazu metabolitů	35
2.3.3.1.	Limulus test	36
2.3.3.2.	Radiometrie – stanovení ¹⁴ CO ₂	36
2.3.3.3.	ATP bioluminiscenční metoda	36
2.4.	Praktické rady pro provedení kvantitativního vyšetření	37
2.4.1.	Volba ředění – porovnání s limitní hodnotou	37
2.4.2.	Volba ředění – hodnocení mikrobiální kontaminace	38
2.4.3.	Hodnocení a interpretace nestandardních výsledků	38
3.	STANOVENÍ INDIKÁTOROVÝCH MIKROORGANISMŮ	41
3.1.	Stanovení celkového počtu mikroorganismů	41
3.1.1.	Technika počítání kolonií vykultivovaných při 30 °C – plotnová metoda	42
3.1.1.1.	Princip metody	42
3.1.1.2.	Postup metody	42
3.1.1.3.	Hodnocení výsledků	42
3.1.2.	Technika nejvýše pravděpodobného počtu – metoda MPN	43
3.1.2.1.	Princip metody	43
3.1.2.2.	Postup metody	43
3.1.2.3.	Hodnocení výsledků	43
3.2.	Stanovení bakterií čeledi <i>Enterobacteriaceae</i>	44
3.2.1.	Technika počítání kolonií – plotnová metoda	44
3.2.1.1.	Princip metody	44
3.2.1.2.	Postup metody	44
3.2.1.3.	Konfirmace a hodnocení výsledků	45
3.2.2.	Metoda průkazu bakterií čeledi <i>Enterobacteriaceae</i>	46
3.2.2.1.	Princip metody	46
3.2.2.2.	Postup metody	47
3.2.2.3.	Konfirmace a hodnocení výsledků	47
3.2.3.	Stanovení počtu technikou nejvýše pravděpodobného počtu s předpomnožením – metoda MPN	48
3.2.3.1.	Princip metody	48
3.2.3.2.	Postup metody	48
3.2.3.3.	Konfirmace a hodnocení výsledků	49
3.3.	Stanovení koliformních bakterií	50
3.3.1.	Technika počítání kolonií vykultivovaných při 30 °C	50
3.3.1.1.	Princip metody	50
3.3.1.2.	Postup metody	50
3.3.1.3.	Hodnocení výsledků	51
3.4.	Stanovení <i>Escherichia coli</i>	51
3.4.1.	Stanovení počtu β-D-glukuronidázopozitivních <i>E. coli</i>	52
3.4.1.1.	Princip metody	52
3.4.1.2.	Postup metody	52
3.4.1.3.	Hodnocení výsledků	53
3.5.	Stanovení bakterií <i>Enterococcus spp.</i>	53
3.5.1.	Technika počítání kolonií vykultivovaných při 37 °C	54

3.5.1.1. Princip metody	54
3.5.1.2. Postup metody	54
3.5.1.3. Hodnocení výsledků	54
3.6. Stanovení kvasinek a plísní	55
3.6.1. Technika počítání kolonií u výrobků s a_w vyšší než 0,95	56
3.6.1.1. Princip metody	56
3.6.1.2. Postup metody	56
3.6.1.3. Hodnocení výsledků	56
3.6.2. Technika počítání kolonií u výrobků s a_w nižší nebo rovnou 0,95.....	57
3.6.2.1. Princip metody	57
3.6.2.2. Postup metody	57
3.6.2.3. Hodnocení výsledků	58
3.7. Stanovení mezofilních bakterií mléčného kvašení	59
3.7.1. Technika počítání kolonií vykultivovaných při 30 °C	59
3.7.1.1. Princip metody	59
3.7.1.2. Postup metody	59
3.7.1.3. Hodnocení výsledků	60
3.8. Stanovení proteolytických a lipolytických mikroorganismů	61
3.8.1. Stanovení počtu proteolytických mikroorganismů.....	61
3.8.1.1. Princip metody	61
3.8.1.2. Postup metody	61
3.8.1.3. Hodnocení výsledků	61
3.8.2. Stanovení počtu lipolytických a proteolytických mikroorganismů.....	62
3.8.2.1. Princip metody	62
3.8.2.2. Postup metody	62
3.8.2.3. Hodnocení výsledků	62
3.9. Stanovení ostatních indikátorových mikroorganismů	63
3.9.1. Stanovení psychrotrofních mikroorganismů	63
3.9.1.1. Princip metody	63
3.9.1.2. Postup metody	63
3.9.1.3. Hodnocení výsledků	64
3.9.2. Stanovení aerobních a anaerobních sporetvorných bakterií.....	64
3.9.2.1. Princip metody	64
3.9.2.2. Postup metody	64
3.9.2.3. Hodnocení výsledků	65
4. STANOVENÍ PATOGENNÍCH MIKROORGANISMŮ	66
A. VÝZNAMNÍ PŮVODCI ALIMENTÁRNÍCH INFEKČÍ A TOXOINFEKČÍ	
4.1. Stanovení bakterií <i>Salmonella</i> spp.	66
4.1.1. Metoda průkazu bakterií rodu <i>Salmonella</i>	67
4.1.1.1. Princip metody	67
4.1.1.2. Postup metody	67
4.1.1.3. Konfirmace a hodnocení výsledků	67
4.2. Stanovení <i>Campylobacter</i> spp.	69
4.2.1. Metoda průkazu termotolerantních druhů rodu <i>Campylobacter</i>	69
4.2.1.1. Princip metody	70
4.2.1.2. Postup metody	70

4.2.1.3. Konfirmace a hodnocení výsledků	70
4.3. Stanovení <i>Listeria monocytogenes</i>	71
4.3.1. Metoda průkazu <i>Listeria monocytogenes</i>	72
4.3.1.1. Princip metody	72
4.3.1.2. Postup metody	72
4.3.1.3. Konfirmace a hodnocení výsledků	73
4.3.2. Metoda stanovení počtu <i>Listeria monocytogenes</i>	74
4.3.2.1. Princip metody	74
4.3.2.2. Postup metody	74
4.3.2.3. Konfirmace a hodnocení výsledků	75
4.4. Stanovení <i>Escherichia coli</i> O157	76
4.4.1. Metoda průkazu <i>Escherichia coli</i> O157	76
4.5. Stanovení <i>Cronobacter sakazakii</i>	77
4.5.1. Metoda průkazu <i>Cronobacter sakazakii</i>	77
4.5.1.1. Princip metody	77
4.5.1.2. Postup metody	78
4.5.1.3. Konfirmace a hodnocení výsledků	78
4.6. Stanovení <i>Clostridium perfringens</i>	79
4.6.1. Technika počítání kolonií – plotnová metoda	80
4.6.1.1. Princip metody	80
4.6.1.2. Postup metody	80
4.6.1.3. Konfirmace a hodnocení výsledků	80
B. VÝZNAMNÍ PŮVODCI ALIMENTÁRNÍCH INTOXIKACÍ	
4.7. Stanovení <i>Staphylococcus aureus</i>	81
4.7.1. Technika s použitím agarové půdy podle Baird-Parkera	82
4.7.1.1. Princip metody	82
4.7.1.2. Postup metody	82
4.7.1.3. Konfirmace a hodnocení výsledků	82
4.7.2. Technika s použitím agarové půdy s králičí plazmou a fibrinogenem	83
4.8. Stanovení <i>Bacillus cereus</i>	84
4.8.1. Technika počítání kolonií vykultivovaných při 30 °C	84
4.8.1.1. Princip metody	84
4.8.1.2. Postup metody	84
4.8.1.3. Konfirmace a hodnocení výsledků	85
5. DOPLŇKOVÉ MIKROBIOLOGICKÉ VYŠETŘOVACÍ METODY	87
5.1. Stanovení účinku pasterace	87
5.1.1. Stanovení vlivu pasterace na mikrobiální obraz mléka	87
5.1.1.1. Princip metody	87
5.1.1.2. Postup metody	88
5.1.1.3. Hodnocení výsledků	88
5.2. Mikrobiologické vyšetření čistých mlékařských kultur	89
5.2.1. Kvantitativní mikroskopické vyšetření čistých mlékařských kultur	89
5.2.1.1. Princip metody	89
5.2.1.2. Postup metody	89

5.3.	Mikrobiologické vyšetření pitné vody	91
5.3.1.	Odběr vzorků	91
5.3.2.	Vlastní rozbor	91
5.3.3.	Metody rozboru	92
5.4.	Stanovení mikrobiální kontaminace prostředí potravinářských provozů	94
5.4.1.	Používané metody	94
5.4.2.	Hodnocení výsledků	95
5.5.	Mikrobiologické vyšetření obalů a obalových materiálů	95
5.5.1.	Odběr vzorků	96
5.5.2.	Používané metody	96
5.6.	Stanovení reziduí inhibičních látek	97
5.6.1.	Plotnové metody	97
5.6.1.1.	Příprava testovacích ploten	97
5.6.1.2.	Kontrola citlivosti testovacích ploten	98
5.6.1.3.	Obecné zásady provedení plotnových metod	98
5.6.1.4.	Pracovní postup pro zpracování vzorků	99
5.6.1.5.	Hodnocení výsledků	100
5.6.2.	Širokospektrální testy	100
5.6.2.1.	Test Eclipse 50	101
5.6.2.2.	BR-Test® AS Brilliant	101
6.	LEGISLATIVNÍ PŘEDPISY V OBLASTI MIKROBIOLOGIE POTRAVIN	102
6.1.	Nařízení komise (ES) č. 2073/2005	102
6.1.1.	Příloha I	102
6.1.2.	Stanovení <i>Listeria monocytogenes</i>	103
6.1.3.	Mikrobiologické vyšetření jatečně upravených těl	104
6.2.	ČSN 56 9609 – Pravidla správné hygienické a výrobní praxe	106
6.3.	Přehled vybraných norem pro mikrobiologické zkoušení potravin	106
6.3.1.	Kapitola 1 a 2	106
6.3.2.	Kapitola 3	106
6.3.3.	Kapitola 4	107
6.3.4.	Kapitola 5	107