

První praktikum s Doc. Šimůnkem - obaly

Stěr

Sterilním tamponem provedeme setření definované plochy na potravinovém obalu. Podle charakteru plochy a podložky bude setření buď na sucho nebo jej předem namočíme do sterilního fyziologického roztoku (Erlenmayerova baňka s kuličkami).

Vytřepání

Vatovou část tamponu odломíme o okraj Erlenmayerovy baňky. Necháme vatovou část spadnout dovnitř. Krouživým pohybem a třepáním vystavujeme tampon pohybu kuliček. Chvilí třepáme a chvíli necháváme stát, cca 30 minut. Můžete použít rotační třepačku.

Ředění

O přestávkách mezi vytřepáváním si připravíme 3 zkumavky sterilní, do nichž napipetujeme sterilní fyziologický roztok po 4,5 ml. Máte k dispozici sterilní fyziologický roztok, sterilní zkumavky a automatické pipety do 5 ml. Špičky jsou balené každá zvlášť v alobalu.

Po ukončení vytřepávání odebereme z Erlenmayerovy baňky 0,5 ml výtřepku, napipetujeme do první zkumavky, promícháme, 0,5 ml napipetujeme do druhé, opět promícháme a napipetujeme 0,5 ml do třetí a promícháme. Na to použijete pipety na menší objem, špičky jsou v plastových krabicích.

Z každé zkumavky a z baňky odebereme 1 ml do Petriho misky (opět pipeta na menší objemy) a zalijeme dodaným Plate count agarem, ochlazeným na cca 45 °C.

Odečtení

Budeme odečítat zítra. Spočítáme nejlépe dvě „počítatelné“ misky a přepočteme na cm² stěru, případně jinou veličinu (např. u konzerv na cm vytíraného spoje).

Protokol

- Sledovaný vzorek
- Postup
- Výsledek

Hodnocení podle vyhlášky min. zdravotnictví č. 38/2001 Sb. ve znění pozdějších předpisů o hygienických požadavcích na výrobky určené pro stak s potravinami a pokrmy:

CPM max. 10^2 KTJ.100 cm^{-2} pro plochy, přicházející do kontaktu s potravinou
CPM max. 10^3 KTJ.100 cm^{-2} pro plochy, nepřicházející do kontaktu s potravinou
(spoj na konzervě berte jako cca 1mm široký)

Možné výsledky

Vztahy

1 ml výtřepku odpovídá 10 % setřené plochy. Tj. pokud jsme stírali 100 cm^2 , bude 1 ml neředeného výtřepku odpovídat 10 cm^2 , 1 ml z prvního ředění 1 cm^2 , 1 ml druhého ředění $0,1 \text{ cm}^2$ (atd.).

Pokud by na vnitřní straně obalu bylo zrovna 100 KTJ na ploše 100 cm^2 , bylo by na miskách z výtřepku 10 kolonií (v průměru, musíme počítat s nehomogenitami při míchání) na jedné misce, u prvního ředění bude na miskách jen několik málo nebo žádná kolonie (u tak nízkých počtů se nehomogenity při míchání projevují již velice silně).

Pokud se při vyšších ředěních objeví více kolonií než ve vyšších nebo v neředeném výtřepku, může jít buď o chybu míchání, nebo o znečištění (např. dotknutí se špičkou mikropipety ruky nebo jiného nesterilního objektu).

Ještě existuje jeden důvod, proč napočítáme na miskách s vyšší koncentrací výtřepku méně kolonií (nebo dokonce žádné): Pokud je kolonií příliš mnoho, mohou se vzájemně inhibovat a vyrostou tak malé, že si jich, zejména nezkušený, laboratorní pracovník nevšimne.

V případě maxima plochy, nepřicházející do kontaktu s potravinami, je třeba výše uvedená čísla násobit deseti. Tj. na miskách s neředeným výtřepkem bude kolem 100 kolonií a v jednotlivých ředěních příslušně méně.

Při počítání průměrů počtu kolonií z misek zaokrouhlujeme zpravidla nahoru (a-bychom nevykazovali např. 7,25 kolonií na misku).

Co můžeme vidět

Kolonie jsou buď světlejší nebo tmavší než okolní půda podle druhu bakterií, způsobu, jakým misku osvítíme a barvě a jasu pozadí (nad kterým misku prohlížíme).

