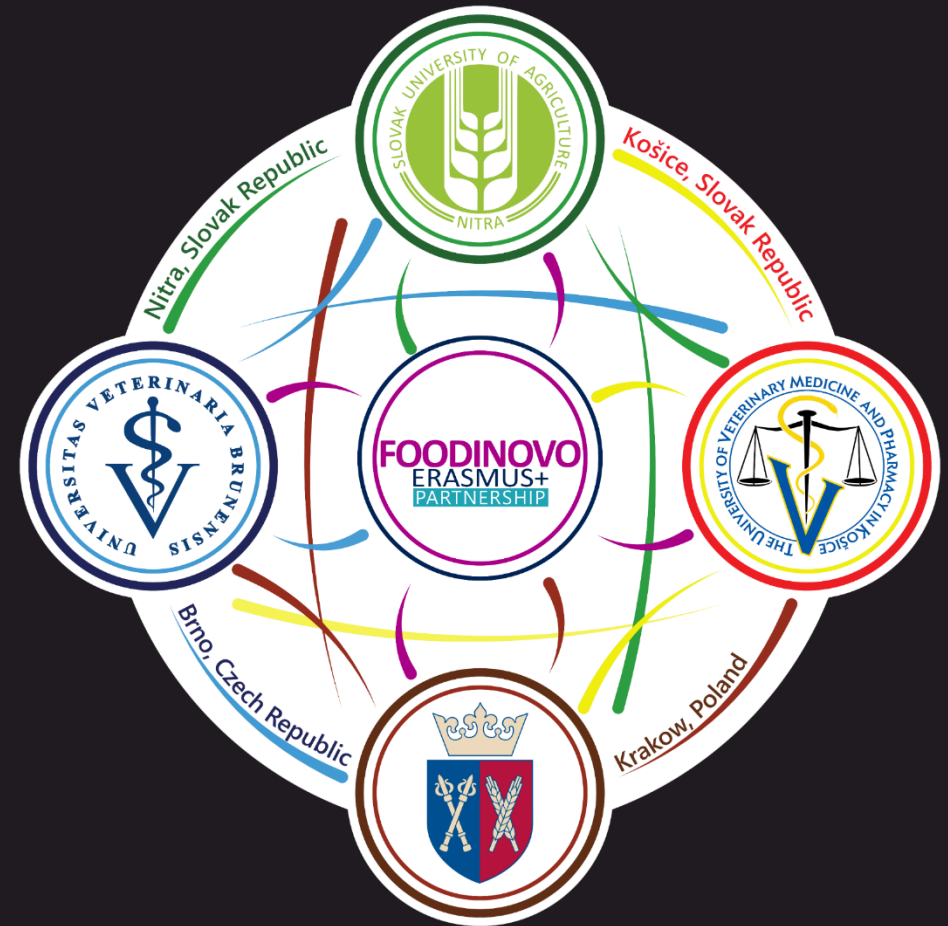


Mikrobiologická kvalita pitnej vody v laboratóriu

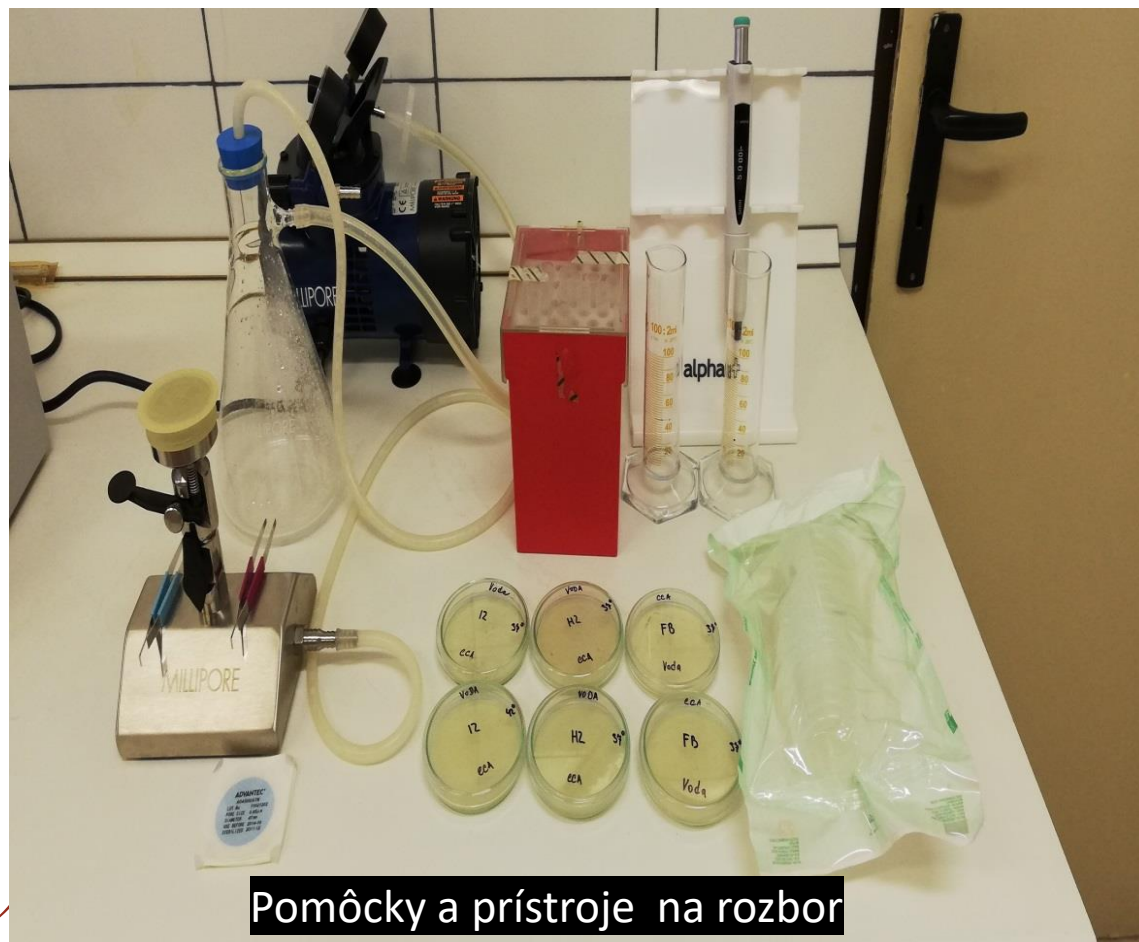
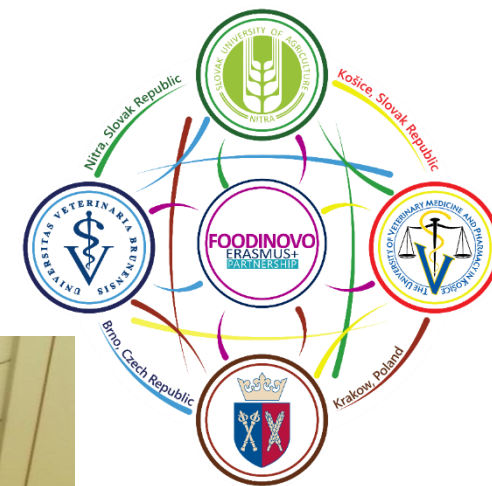
Praktická časť



Co-funded by the
Erasmus+ Programme
of the European Union



Mikrobiologické analýzy pitnej vody



Pomôcky a prístroje na rozbor

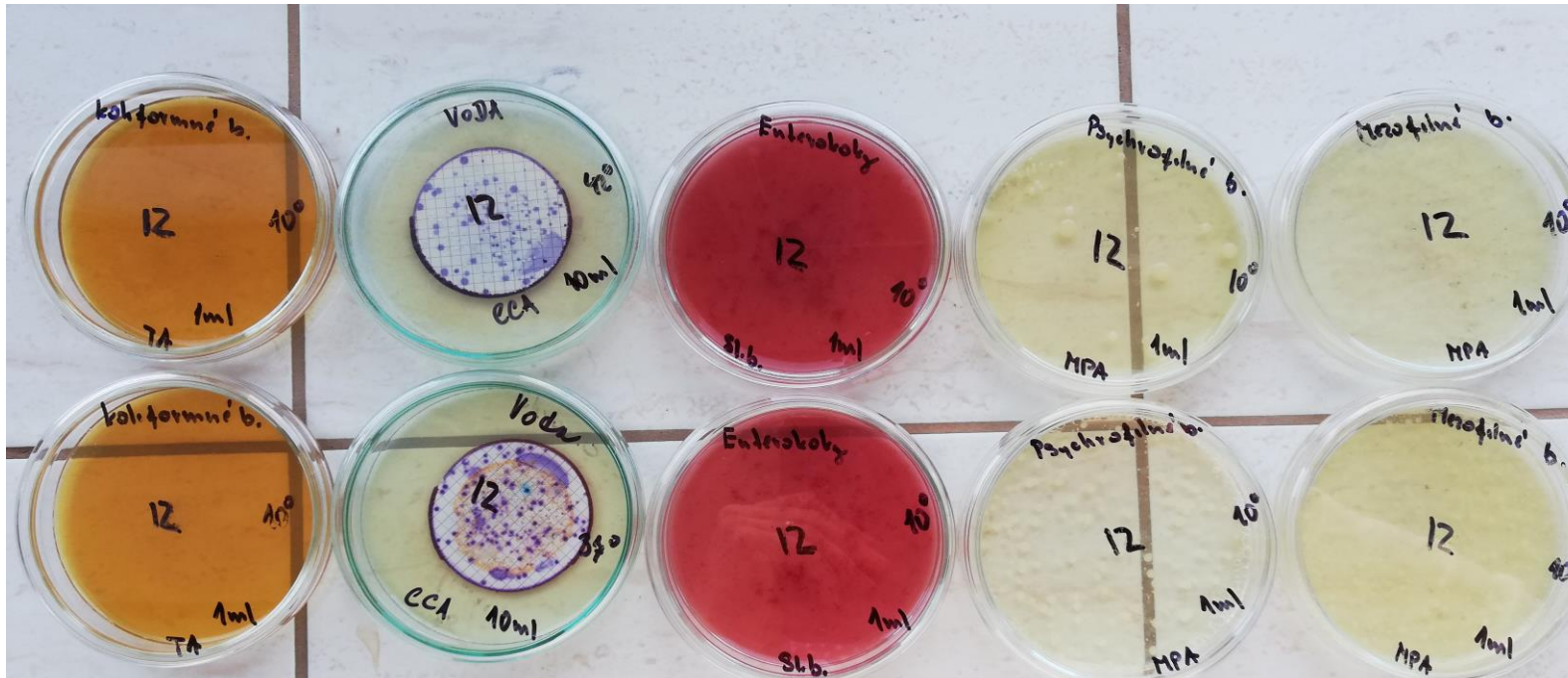
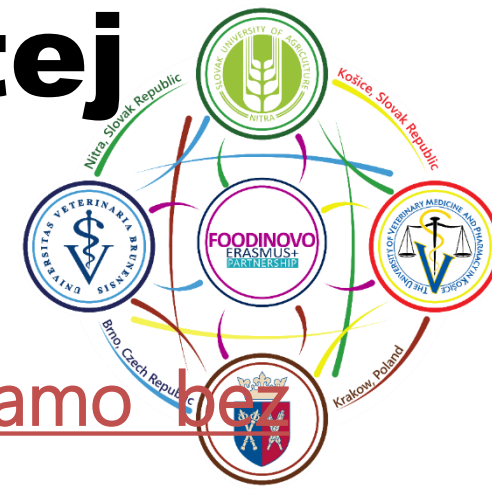


Filtrácia vzorky na analýzu

Stanovenie baktérií v čistej vode

Platňová metóda

- v prípade čistej pitnej vody inokulum 10/100/250ml priamo riedenia



Ak je voda výrazne znečistená je potrebné ju pred stanovením riediť

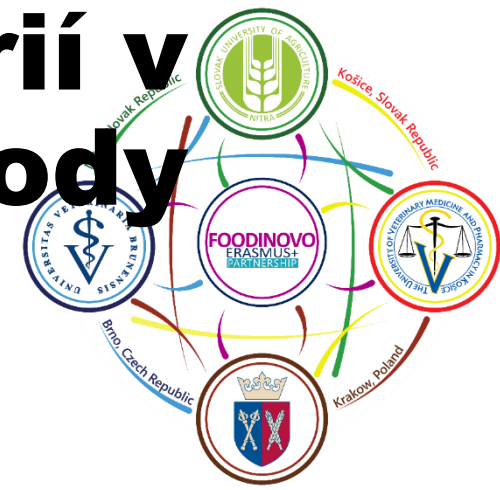
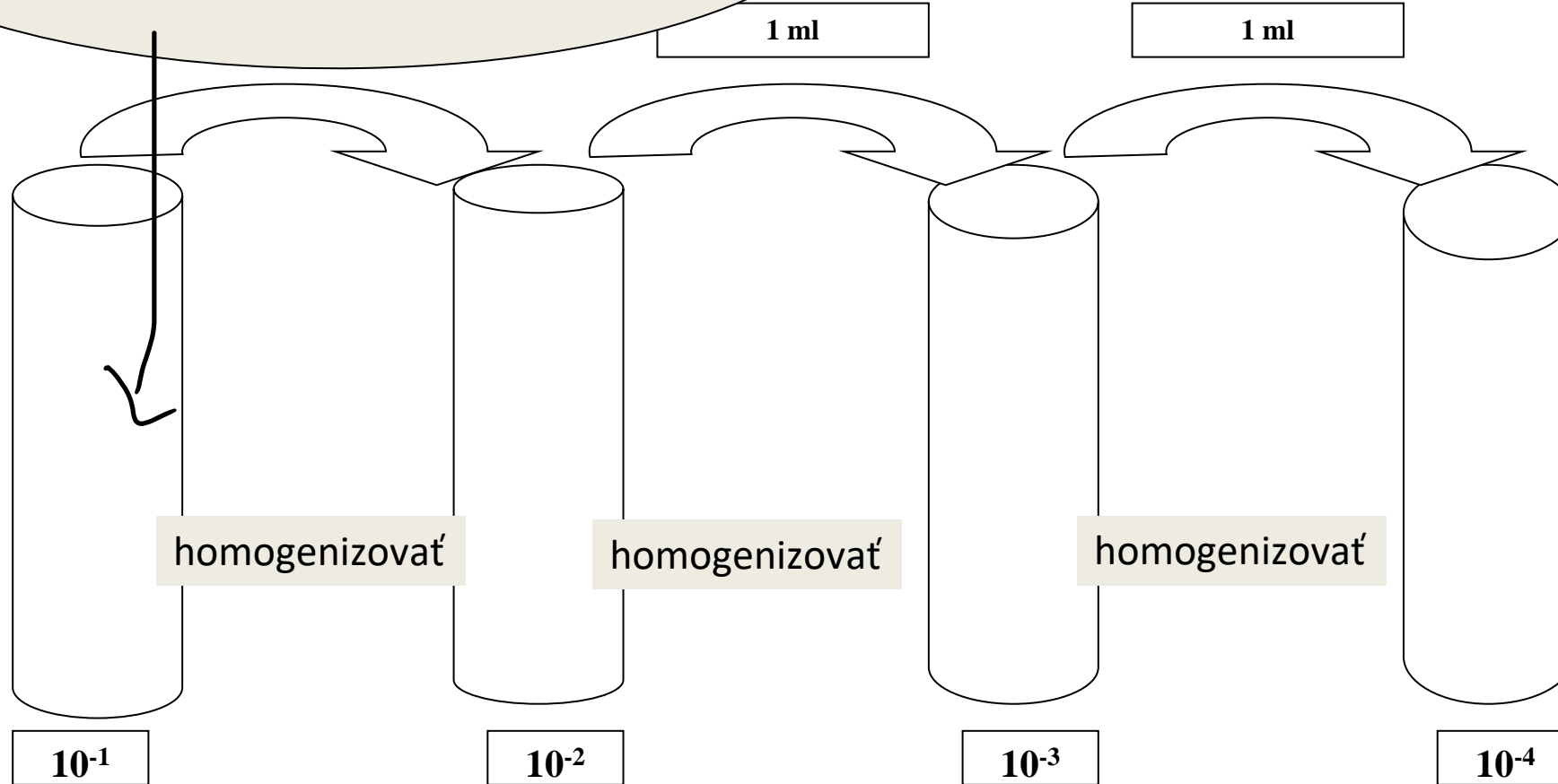


Stanovenie baktérií v odpadovej vode

Inokulum - vzorka

5 ml vzorky odpadovej vody + 45 ml
fyziologického roztoku / sterilná voda
resp. 10 ml vzorky + 90 ml fyziol. roztok /
sterilná voda

Základné riedenie je 1:10



Selektívne kultivačné médiá na stanovenie koliformných baktérií a *E. coli*



1. Endov agar s laktózou (EA s L)

2. Chromogénny koliform agar (CCA) - bez laktózy so sorbitolom

3. Tergitolový laktózový agar s TTC (TA s TTC)

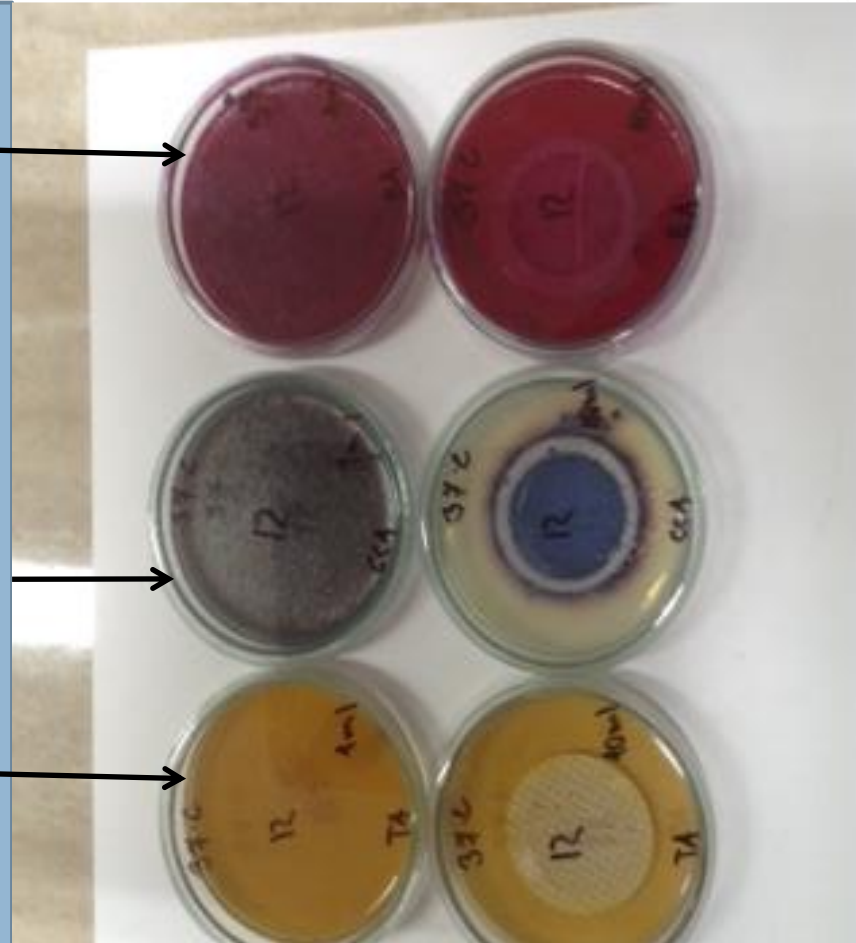
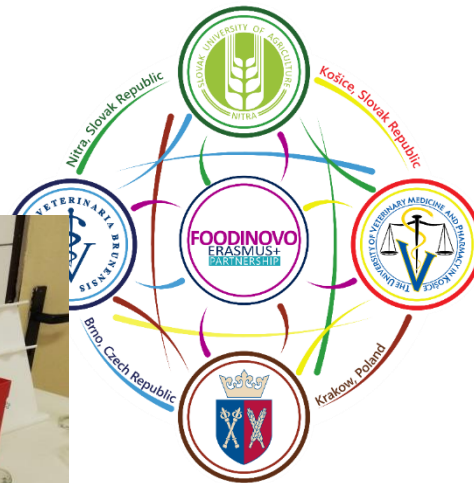
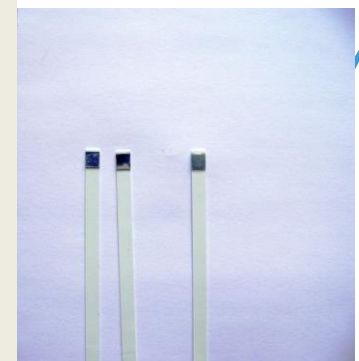


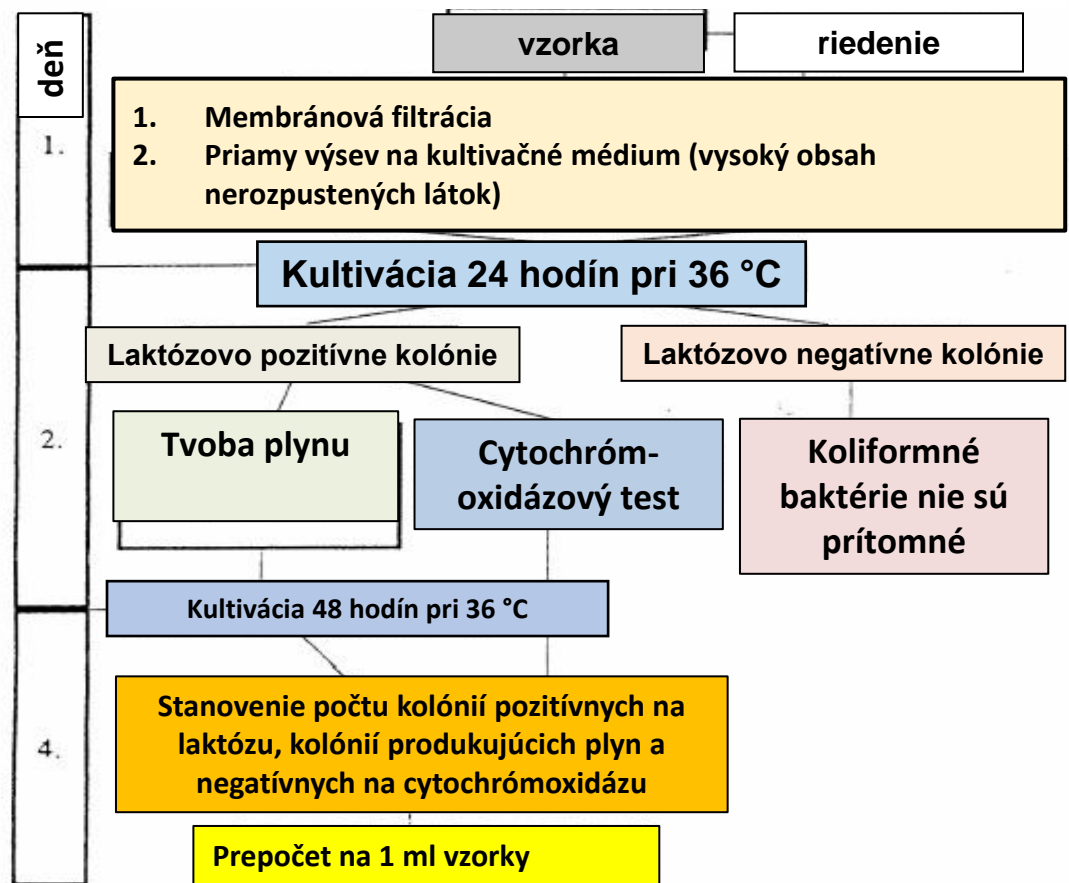
Schéma stanovenia koliformných a predpokladaných *E. coli* v pitnej vode



Pozitívny OXI test má do 30 sekúnd tmavomodrú farbu. Do 2 minút tiež zmodrie - oneskorená pozitívna reakcia. Sivá alebo zelenkastá farba po dvoch minútach znamená negatívnu reakciu.



Produkcia enzýmu β -D-galaktózidáza (laktáza), ktorý štiepi laktózu na jednoduché sacharidy (D-glukóza a D-galaktóza) - žltá farba spôsobené tvorbou kyseliny fermentáciou



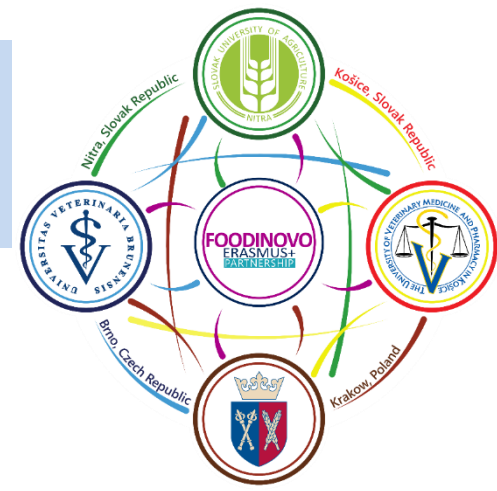
Cytochrómoxidázový test

Oxidázovým testom sa identifikujú organizmy, ktoré produkujú enzým cytochróm C oxidáza (posledný enzým v dýchacom reťazci) – prenos elektrónov v elektrónovom transportnom reťazci aeróbnych baktérií na kyslík.

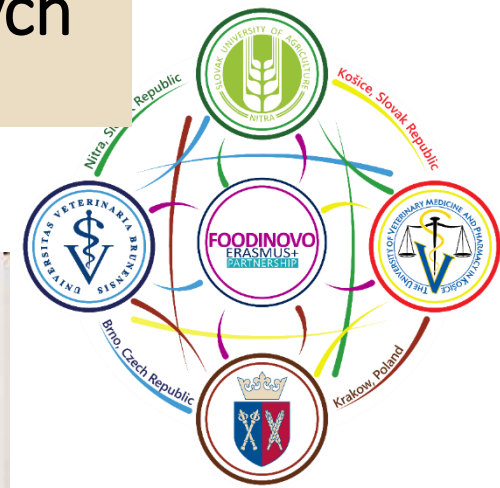
Princíp: Reakcia N,N-dimetyl-1,4-fenyléndiamínu a alfa-naftolu s mikrobiálnym enzýmom cytochrómoxidáza za vzniku indofenolovej modrej

Pozitívne na oxidázu: *Pseudomonas aeruginosa*, *Pasteurella multocida*, *Vibrio* sp., *Aeromonas* sp. alebo *Neisseria* sp.

Negatívny výsledok: *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia* sp. alebo *Acinetobacter* sp.



Stanovenie koliformných baktérií a Escherichia coli na membránových filtroch (mf) a Tergitol agare s TTC



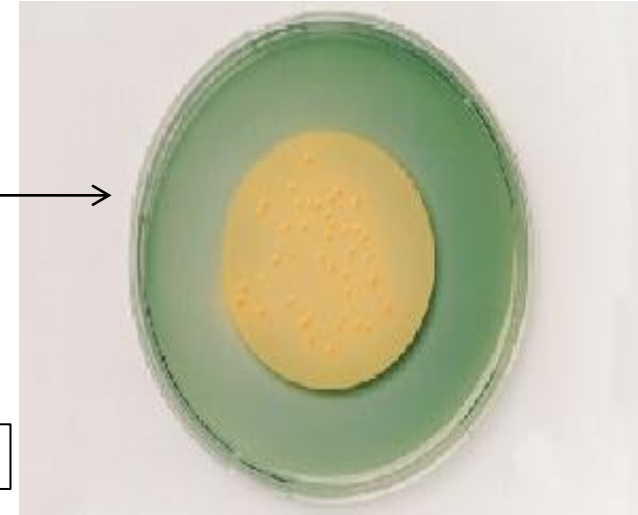
Standardný test

mf on TTC selektívny agar s tergitolom

Kultivácia 36 °C, 24 h

Laktóza pozitívne,
žltý dvorec pod filtrom

10 kolónií, čistá kultúra



neselektívny tryptón - sója
agar TSA

tryptofánový agar

Kultivácia 36 h

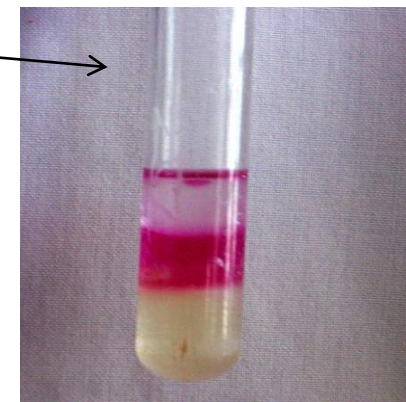
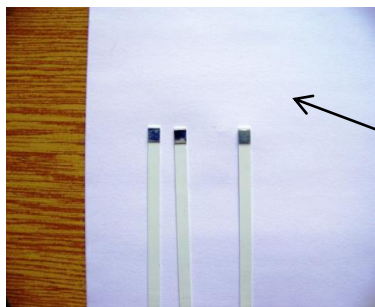
Kultivácia 24 h

oxidázový test

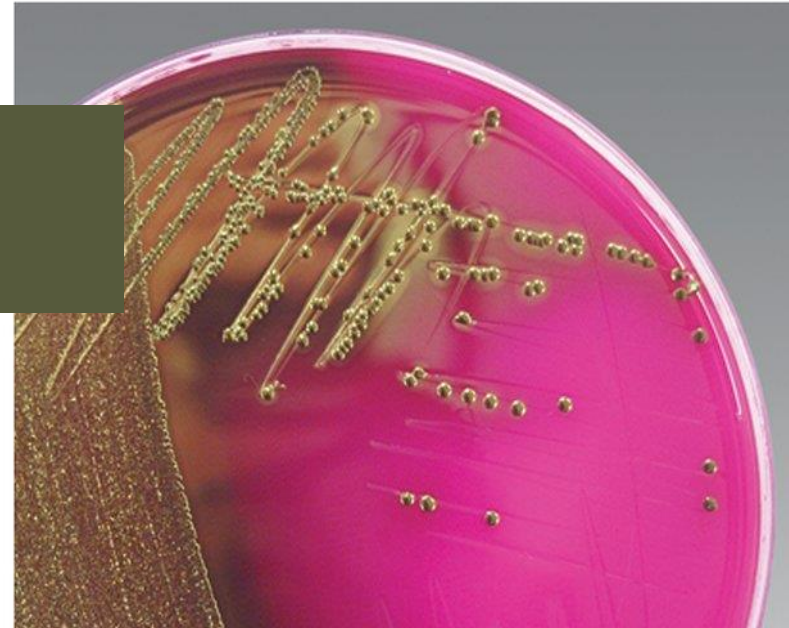
Indol test- Kovacs

koliformné baktérie,
Oxidáza negatívna

Escherichia coli,
Oxidáza negatívna
Indol pozitívny



Endov agar



Agarová selektivita vzniká kombináciou sulfitu a zásaditého fuchsínu, ktoré potláčajú rast grampozitívnych mikroorganizmov. Koliformné baktérie fermentujúce laktózu tvoria na Endo agare ružovočervené až sýtočervené vypuklé kolónie, v niektorých prípadoch s kovovým leskom (E. coli). Médium okolo kolónií je tiež zafarbené.

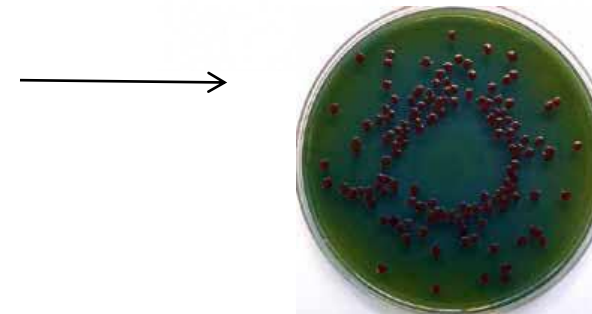
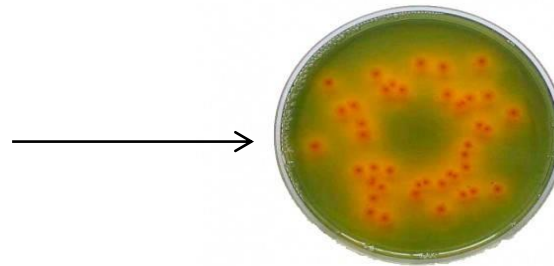
Mikroorganizmy, ktoré nefermentujú laktózu, sú bezfarebné, dobre pozorovateľné na ružovom pozadí agaru.



Hodnotenie rastu baktérií na Tergitolovom agare



<i>Escherichia coli</i>	žlté kolónie v žltej zóne niekedy od hrdzavočerveného stredu
<i>Salmonella sp.</i>	červené kolónie s modrastou zónou
<i>Shigella sp.</i>	červené kolónie s modrastou zónou
<i>Proteus sp.</i>	červené kolónie s modrastou zónou
<i>Pseudomonas sp.</i>	červené kolónie s modrastou zónou

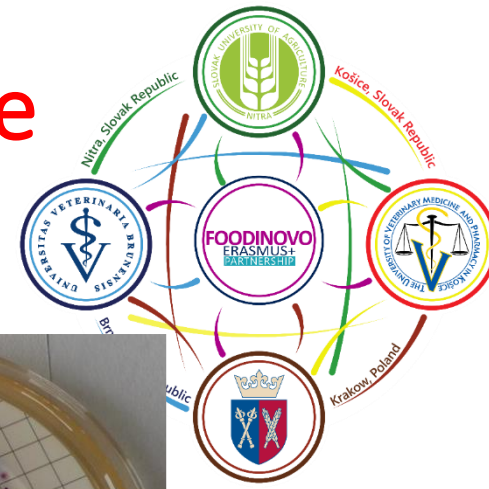
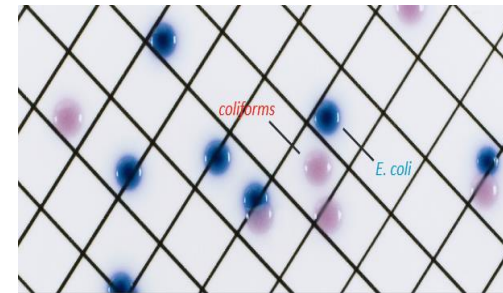
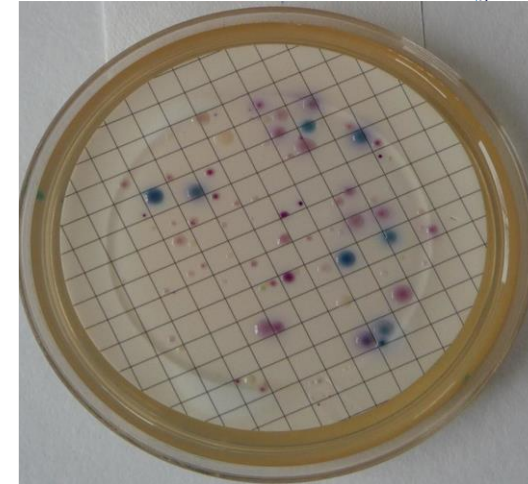
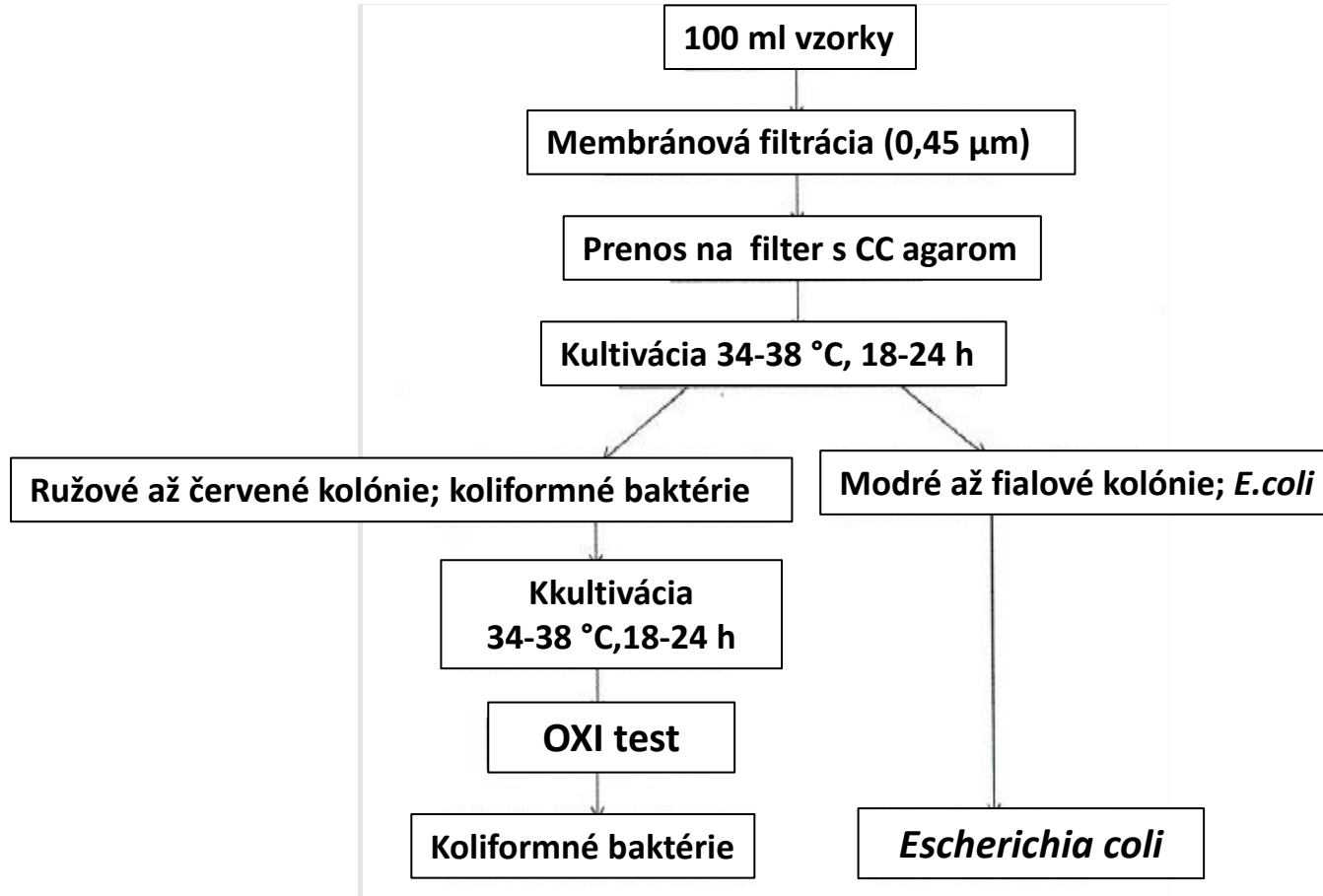


Princíp:

Tergitolový agar inhibuje rast G + baktérií a G- zástupcov v rodu *Proteus*. Pridaný TTC (3-fenyltetrazoliumchlorid) je redukovaný na červený formazán prítomnými baktériami okrem *E. coli* a *Enterobacter sp.*



Stanovenie koliformných baktérií a *E.coli* na CC agare



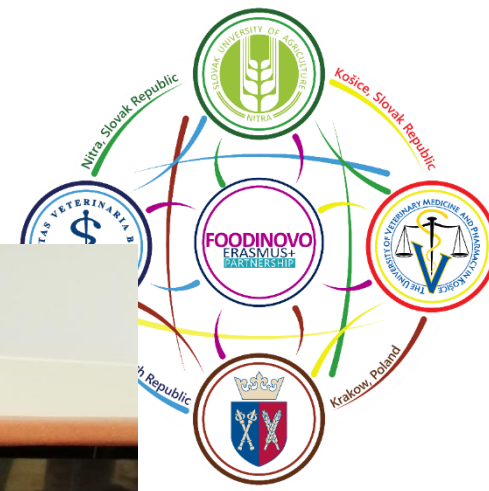
Chromogénny koliformný agar - CC agar

Zriedkavé kmene *E. coli* negatívne na B-glukuronidázu sú na tomto médiu falošne negatívne (typicky O157 *E. coli*), ale javia sa ako koliformné baktérie (t. j. ružové kolónie). Ak sa výskum zameriava na zriedkavé patogénne kmene, ako je *E. coli* O157: mal by sa použiť CHROMagar™ O157.



Prezumpatívna *Escherichia coli*

1. Spĺňa všetky potvrdzujúce testy ako ostatné koliformné baktérie (laktáza pozitívna, oxidáza negatívna, tvorí indol z tryptofánu).
2. Pozitívny dôkaz enzýmu β -D glukuronidázy: hydrolyzuje MUG (4-metylumbelliferyl - β -D-glukuronid) ako modro-bielu fluorescenciu v slabo alkalickom prostredí pod UV na 4-metylumbelliferon.



Indikátor	Pitná voda					
	HZ	IZ	BPV	HZ	IZ	BPV
<i>Escherichia coli</i>	NMH	NMH	NMH	0 KTJ v 100 ml	0 KTJ in 10 ml	0 CFU in 250 ml
Coliforms bacteria	MH	MH	MH	0 KTJ v 100 ml	0 KTJ in 10 ml	0 CFU in 250 ml
Enterokoky	NMH	NMH	NMH	0 KTJ v 100 ml	0 KTJ in 10 ml	0 CFU in 250 ml
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	HLV			0 CFU in 250 ml
Cultivable at 22 °C/ Psychrophilic bacteria	MH	MH	MH	200 KTJ v 1 ml	500 KTJ v 1 ml	100 CFU In 1 ml
Cultivable at 36 °C/ Mesophilic bacteria	MH	MH	MH	50 KTJ v 1 ml	100 KTJ v 1 ml	20 CFU In 1 ml
Living organisms (excluding colorless flagella)	MH	Mh	-	0 v 1ml	0 v 1ml	
Dead organisms	MH	-	-	30 v 1ml		
Colorless flagella	MH	MH	-	10 v ml (bez dezinfekcie) 0 v 1 ml (s dezinfekciou)	50 v 1 ml (bez dezinfekcie)	
Iron and manganese bacteria	MH	MH	-	10 % pokryvnosť poľa	10 % pokryvnosť poľa	
Abioseston	MH	MH	-	10 % pokryvnosť poľa	10 % pokryvnosť poľa	
<i>Clostridium perfringens</i>	IH	IH	-	0 CFU in 100 ml – iba pitná voda upravená z povrchovej vody alebo podzemnej vody ovplyvnenej povrchovými		



Ukazovatele kvality pitnej vody upravené nariadením vlády SR č. 91/2023 platnom na Slovensku

HZ - hromadné zásobovanie (viac ako 15 domácností, viac ako 50 osôb)

IZ - individuálna dodávka (15 a menej domácností, menej ako 50 osôb a menej ako 10 m3 dennej produkcie)

BPV - balená pitná voda

Ien pre pitnú vodu upravenú z povrchovej vody alebo z podzemnej vody ovplyvnenej povrchovou vodou

Medzná hodnota (MH) - hodnota ukazovateľa, prekročením ktorej pitná voda stráca vyhovujúcu kvalitu v ukazovateli, ktorého hodnota bola prekročená.

Najvyššia medzná hodnota (NMH) - hodnota ukazovateľa kvality vody s prahovým účinkom, ktorej prekročenie vylučuje použitie vody na určený účel.

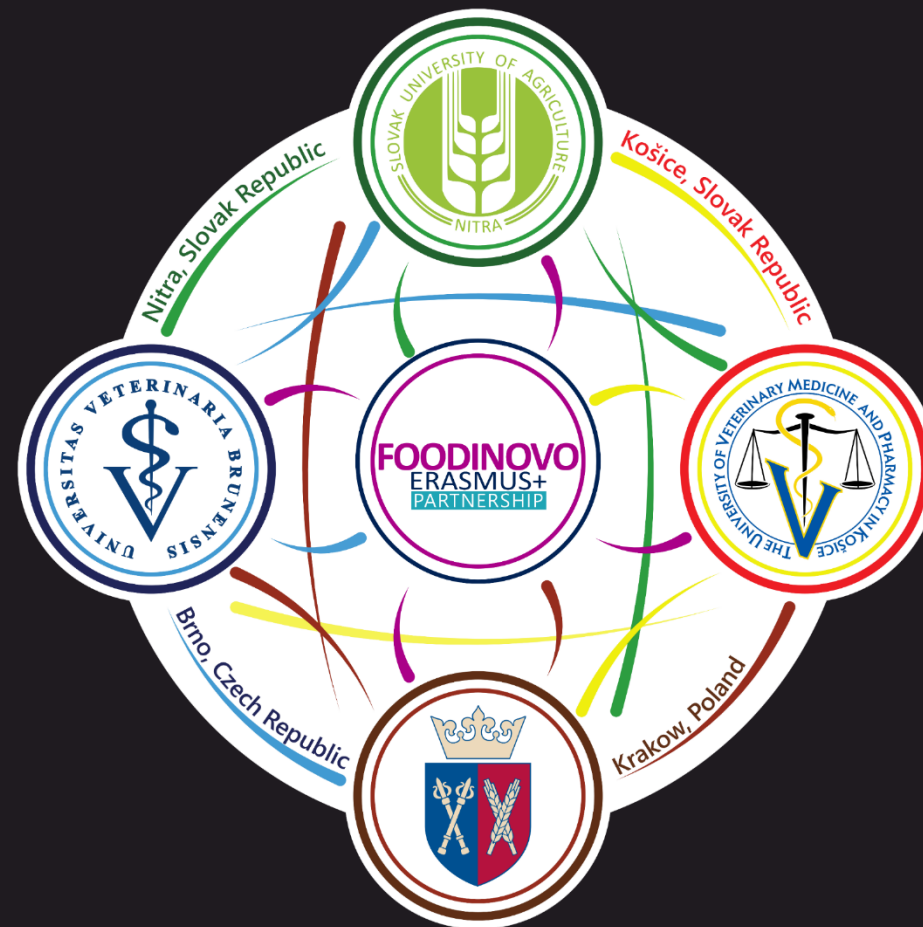
Indikačná hodnota (IH) - hodnota nešpecifického alebo skupinového ukazovateľa kvality vody používaná na posúdenie potreby podrobnejších testov kvality vody.

KTJ – Kolónie tvoriace jednotky



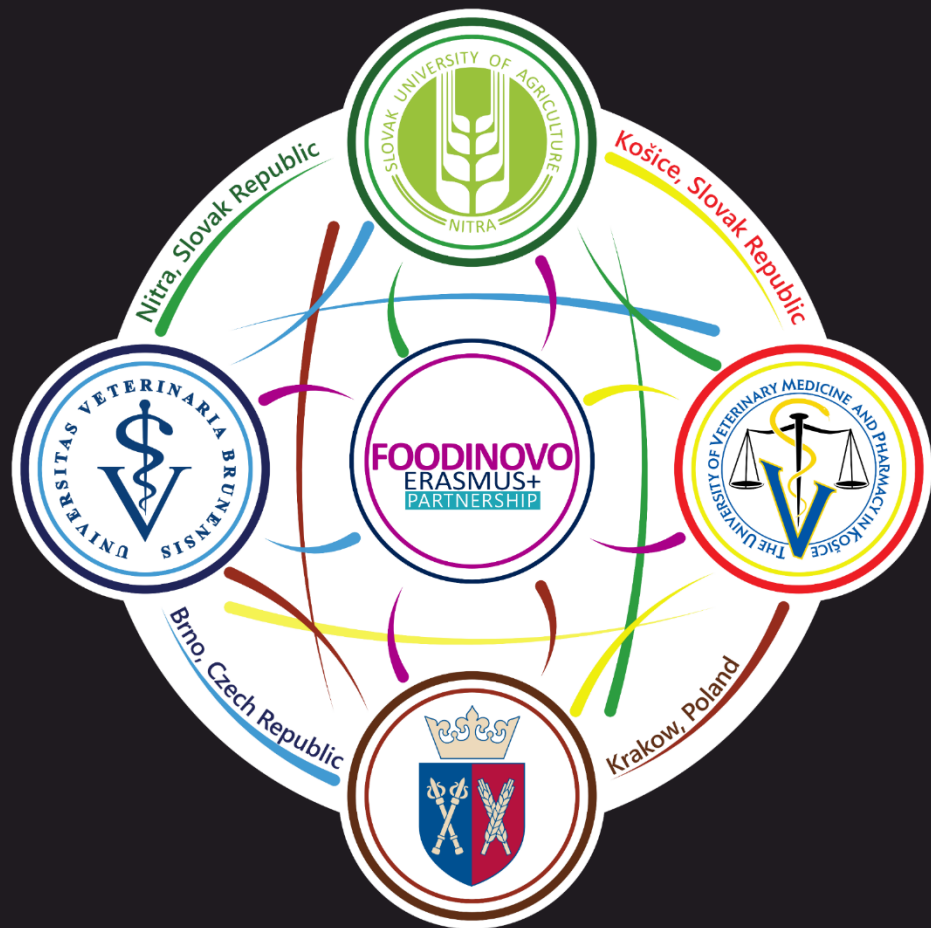
Táto publikácia bola spolufinancovaná programom
Európskej Únie Erasmus+
Inovácia štruktúry a obsahového zamerania študijných
programov profilujúcich potravinárske
študijné odbory s ohľadom na digitalizáciu výučby

FOODINOVO | 2020-1-SK01-KA203-078333



Co-funded by the
Erasmus+ Programme
of the European Union





Financované Európskou úniou. Vyjadrené názory a postoje sú názormi a vyhláseniami autora(-ov) a nemusia nevyhnutne odrážať názory a stanoviská Európskej únie alebo Európskej výkonnej agentúry pre vzdelávanie a kultúru (EACEA). Európska únia ani EACEA za ne nepreberajú žiadnu zodpovednosť.

FOODINOVO | 2020-1-SK01-KA203-078333

Co-funded by the
Erasmus+ Programme
of the European Union

