

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky (FAPPZ)



**Mikrobiologická kvalita čerstvého mléka v závislosti
na způsobu distribuce**

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Sylva Martínková, DiS.

Vedoucí práce: Ing. Eva Popelářová, Ph.D.

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Mikrobiologická kvalita čerstvého mléka v závislosti na způsobu distribuce" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucí diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne:10.4. 2015, Martínková Sylva

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala paní Ing. Popelářové Evě Ph.D. za cenné rady a odborné vedení práce.

Mikrobiologická kvalita čerstvého mléka v závislosti na způsobu distribuce

Souhrn

Tato práce se zabývá mikrobiologickou kvalitou mléka distribuovaného mezi zákazníky různými způsoby. V průběhu jednoho roku bylo provedeno 16 odběrů čerstvého mléka z pojízdné prodejny, 16 odběrů čerstvého mléka z kamenné prodejny a pro porovnání mikroflóry bylo provedeno i 16 odběrů mléka syrového z mlékomatu.

U všech vzorků byl stanovován celkový počet mikroorganismů, koliformních bakterií a bakterií z čeledi *Enterobacteriaceae*. U čerstvého mléka z pojízdné prodejny a syrového mléka z mlékomatu byl stanovován také počet bakterií *Staphylococcus aureus*.

Pasterované mléko distribuované v kamenné prodejně mělo po celý rok nulové hodnoty u všech stanovení a vyhovělo tak všem mikrobiologickým požadavkům na pasterovaná mléka. U pasterovaného mléka z pojízdné prodejny nebyl prokázán výskyt bakterie *Staphylococcus aureus*, v dalších parametrech však vykazovalo po celý rok nevyrovnané hodnoty. Zvláště u stanovení bakterií čeledi *Enterobacteriaceae*, dosahovaly výsledky vyšších hodnot než u mléka syrového. U syrového mléka z mlékomatu bylo zjištěno v letním období u třetího odběru překročení limitu pro celkové počty mikroorganismů, avšak v dalších parametrech vyhovělo po celou dobu odběrů.

Klíčová slova: čerstvé mléko, mikrobiologická kvalita, pojízdná prodejna, kontaminace

Microbiological quality of fresh milk, depending on the method of distribution

Summary

This work focuses on microbiological quality of milk distributed to customers in varied ways. Thorough a year, there were 16 samples taken from a going-around shop, 16 taken from a classical shop and in order to compare micro flora as well, there were taken 16 samples from raw milk from a milk machine. All the samples were tested to see the count of microorganisms; coli form bacteria and also the *Enterobacteriaceae bacteria*.

From the fresh and raw milk from the machine, we also took a look at *Staphylococcus aureus bacteria*. Pasteurized milk distributed through classical shop had zero bacteria and corresponded well with all the requirements for pasteurized milk. With the pasteurized milk from the mobile shop, there was no sign of *Staphylococcus aureus*, but the other measures were not steady. Especially in regards to *Enterobacteriaceae*, the results were higher than in war milk. Raw milk from milk machine was over the limit in summertime for the total count of microorganisms, but otherwise well for all parameters through the whole time of the research.

Keywords: fresh milk, microbiological quality, mobile shop, contamination

OBSAH

1	Úvod	7
2	Cíl práce	8
3	Literární rešerše	9
3.1	Mléko a jeho spotřeba	9
3.2	Složení mléka	10
3.2.1	Rozdělení mléka podle tučnosti	11
3.2.2	Rozdělení mléka podle ošetření	12
3.3	Postup výroby mléka	13
3.3.1	Pasterované mléko	13
3.3.2	UHT	15
3.3.3	Sterilované mléko	16
3.4	Distribuce ke konečnému spotřebiteli	17
3.4.1	Prodej mléka v kamenných prodejnách	17
3.4.2	Prodej mléka z pojízdné prodejny	17
3.4.3	Prodej mléka z mléčných automatů	18
3.5	Kontaminanty mléka	18
3.5.1	<i>Salmonella</i> spp.	19
3.5.2	<i>Listeria monocytogenes</i>	21
3.5.3	<i>Escherichia coli</i>	22
3.5.4	<i>Staphylococcus aureus</i>	24
4	Materiál a metody	26
4.1	Pasterované mléko z kamenného obchodu	26
4.2	Pasterované mléko z pojízdné prodejny	27
4.3	Syrové mléko z mléčného automatu	28
4.4	Sledované parametry	29
4.5	Media použitá pro stanovení mikroorganismů	29
4.6	Postup	31
5	Výsledky	34
6	Diskuze	45
7	Závěr	49

1 Úvod

Kvalita potravin se stává v posledních letech stále diskutovanějším tématem. S oblibou televizních pořadů zabývajících se vařením, nebo již samotnou kvalitou potravin, se spotřebitelé stále více zajímají o produkty, které jsou ošetřeny co nejšetrnějšími metodami. Mezi takovéto produkty patří i čerstvé, nebo syrové mléko. Čerstvé mléko, oproti mléku ošetřenému UHT technologií, je pouze pasterováno. Tato metoda ošetření zaručuje, při dodržení doporučení na skladování a spotřebu, zdravotní nezávadnost. Zároveň díky pasteraci dochází k zachování více původních vlastností, jako jsou např. chuť či schopnost kysnutí. Surové mléko je bráno jako potenciálně zdravotně rizikové a z tohoto důvodu je doporučováno, aby sám spotřebitel provedl tepelnou úpravu. Dalším trendem spojeným s prodejem čerstvého mléka jsou různé způsoby distribuce, které mohou být přidanou hodnotou pro zákazníka. Těmito způsoby jsou kromě kamenných obchodů i distribuce mléčnými automaty a pojezdými prodejny.

2 Cíl práce

Cílem této práce bylo zjistit mikrobiologickou kvalitu čerstvého mléka distribuovaného k zákazníkovi různými cestami. Tato práce měla také za cíl potvrdit hypotézu, že mikrobiální nezávadnost čerstvého mléka není závislá na způsobu distribuce mléka. V neposlední řadě bylo cílem této práce poukázat na rozdílnou mikroflóru mezi mlékem syrovým a pasterovaným.

3 Literární rešerše

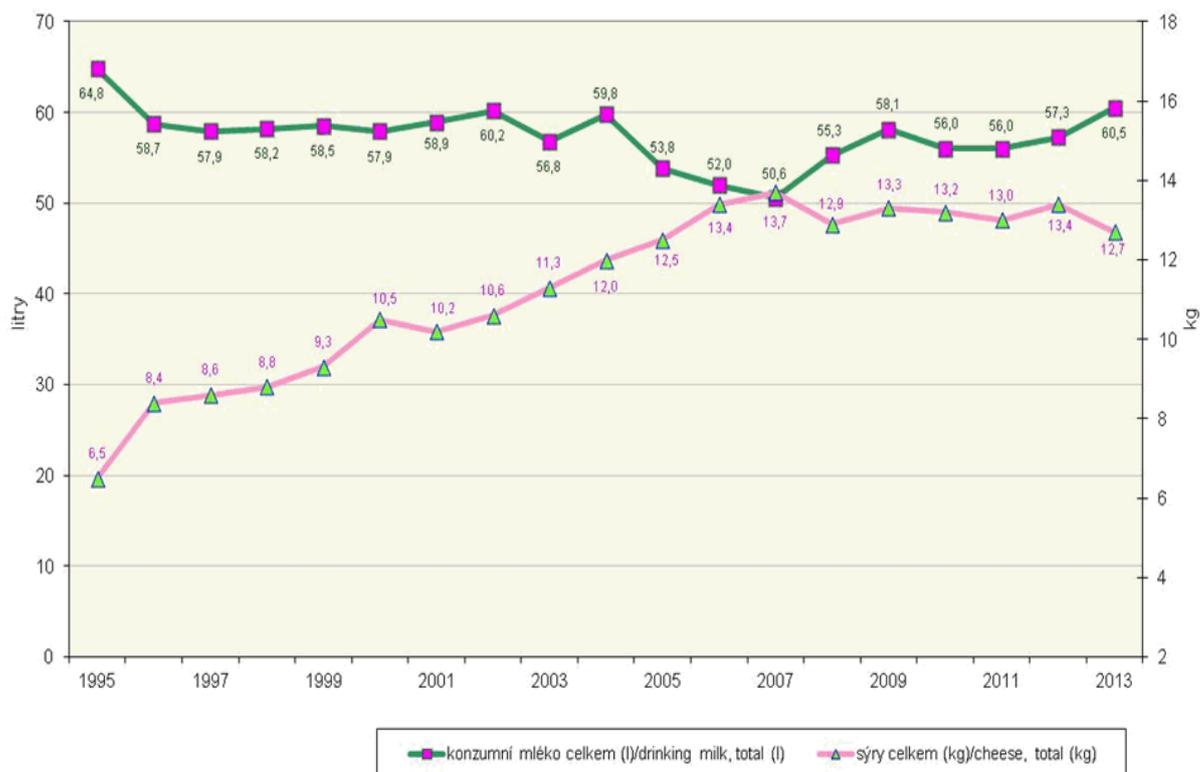
3.1 Mléko a jeho spotřeba

Pokud mluvíme o mléku kravském, můžeme říci, že se jedná o tekutý sekret mléčných žláz savců. Původním účelem mléka byla výživa mláďat, tento účel samozřejmě stále plní, ale je také nedílnou součástí lidské stravy a to ve formě samotného mléka, nebo mléčných výrobků. Jelikož v obchodech nakupujeme mléko určené k lidské spotřebě, je nezbytné dbát na jeho mikrobiologickou nezávadnost a celkovou jakost. Mléko je možné zakoupit v různých stupních tučnosti, ale také s rozdílným tepelným ošetřením. Co se však nesmí změnit je jeho zdravotní nezávadnost.

Názory na konzumaci mléka se liší. Jedni zastávají názor, že mléko je důležitou složkou zdravé výživy, druzí zas na opak tvrdí, že mléko je nezdravou a nepřírozenou složkou stravy. Nelze však mléku upřít jeho složení, přítomnost základních složek potravy a obsah esenciálních mastných kyselin, které člověk ke svému životu potřebuje. Na základě výživových hodnot mléka a jeho spotřebě vznikají různorodé programy pro podporu spotřeby mléka a mléčných výrobků. Jedním z projektů je projekt „Bílé plus“, který vychází z informací, že od roku 1989 klesá v dlouhodobém horizontu spotřeba mléka a mléčných výrobků. Tento projekt je pod záštitou Agrární komory ČR a je financován z prostředků Evropské unie a České republiky a má za cíl zvýšit spotřebu mléka a mléčných výrobků (Bílé plus, 2014).

Na obrázku č. 1 je zobrazena spotřeba konzumního mléka a sýrů (na obyvatele za rok) od roku 1995 až do roku 2013. Z grafu je patrné, že v roce 2007 došlo nejen k zastavení poklesu spotřeby konzumního mléka, ale v dalších letech došlo k významnému nárůstu spotřeby konzumního mléka. Od roku 2007, kdy průměrná spotřeba konzumního mléka na obyvatele za rok činila 50,6 litrů, vzrostla tato spotřeba do roku 2013 na 60,5 l. Mezi rokem 2012 a 2013 došlo podle údajů z Českého statistického úřadu k nárůstu spotřeby z 57,3 litrů na 60,5 litrů.

Obr. 1 Spotřeba konzumního mléka a sýrů (na obyvatele za rok) (Český statistický úřad, 2014)



Podle údajů společnosti Gfk však došlo k poklesu konzumace mléka. Společnost uvádí pokles o 5,32 % oproti roku 2012 (Tetra Pak, 2014).

3.2 Složení mléka

Základními složkami mléka jsou laktóza, tuk, bílkoviny, nebílkovinné dusíkaté látky a minerální látky. Obsah těchto látek kolísá v závislosti na složení krmných dávek a typu skotu - zda se jedná o masné nebo mléčné plemeno a dále na konkrétním plemeni. V tabulce č. 1 vidíme, průměrné obsahy základních složek mléka. Tabulka č. 2 obsahuje průměrné obsahy základních složek mléka vztahených ke konkrétnímu plemeni. Vidíme zde, že mezi různými plemeny nejvíce kolísá obsah tuku, což se projevuje na výsledné chuti mléka.

Tab. č. 1 Průměrné složení kravského mléka (Varnam et Sutherland, 2001).

Složka	Obsah složky v %
Tuk	3,7
Bílkoviny	3,4
Laktóza	4,8
Minerální látky	0,7

Tab. č. 2 Obsah základních složek mléka v závislosti na druhu plemene (Tamime, 2009)

Plemeno	Obsah tuku %	Obsah bílkovin %	Obsah laktózy %	Minerální látky %
Airshire	4,0	3,3	4,6	0,7
Brown Swiss	3,8	3,2	4,8	0,7
Guernsey	4,6	3,5	4,8	0,8
Holstein	3,6	3,0	4,6	0,7
Jersey	5,0	3,7	4,7	0,8

3.2.1 Rozdělení mléka podle tučnosti

Základním dělením konzumního mléka je dle tučnosti na mléko plnotučné, polotučné a odstředěné. K těmto třem kategoriím lze přidat ještě skupinu mlék plnotučných selských nestandardizovaných, které má stejnou, nebo vyšší tučnost jako mléko plnotučné. Přehled rozdělení mléka dle tučnosti je zanesen do tabulky č. 3.

Tab. č. 3 Rozdělení mléka dle tučnosti (Informační centrum Ministerstva zemědělství, 2015)

Typ mléka	Obsah tuku
plnotučné mléko	min. 3,5 %
plnotučné selské nestandardizované mléko	stejný jako byl po nadojení, ale min. 3,5 %
polotučné mléko	1,5 – 1,8 %
nízkotučné (odstředěné)	max. 0,5 %

3.2.2 Rozdělení mléka podle ošetření

Vyhláška č. 77/2003 Sb. definuje tepelné úpravy, kterými lze mléko ošetřit, aby byla prodloužena údržnost. Základními ošetřeními jsou 2 typy pasterací, vysokotepebné ošetření a sterilace.

Pasterace – jedná se o tepelné ošetření mléka a mléčných výrobků, kdy mléko zahříváme na teplotu minimálně 71,7 °C po dobu minimálně 15 sekund nebo jinou kombinací teploty a času při dosažení stejného účinku (Robinson, 1993, Vyhláška č. 77/2003 Sb, Weeks et Alcamo, 2008). Vysoká pasterace – tato pasterace je tepelným ošetřením mléka a mléčných výrobků zahřátím na teplotu minimálně 85 °C s negativním výsledkem fosfatázového a peroxidázového testu (Vyhláška č. 77/2003 Sb.).

Vysokotepebné ošetření = ultra high temperature (UHT) – při tomto tepelném ošetření mléka a mléčných výrobků, dochází ke krátkodobému zahřátí nepřerušovaného proudu mléka na vysokou teplotu, která odpovídá účinku zahřátí minimálně na teplotu 135 °C po dobu nejméně 1 sekundu. Po tomto ošetření následuje aseptické balení do neprůsvitných obalů, aby fyzikální, chemické a smyslové změny byly sníženy na minimum (Vyhláška č. 77/2003 Sb.).

Sterilace – další z možností tepelného ošetření mléka a mléčných výrobků. Principem je nepřímý ohřev v hermeticky uzavřených obalech za použití teploty nad 100 °C po dobu, která zajistí splnění požadavku na mikrobiologickou nezávadnost dle zvláštního právního předpisu, aniž by došlo k porušení uzávěru (Vyhláška č. 77/2003 Sb.).

3.3 Postup výroby mléka

V závislosti na typu mléka se liší i způsob a kroky při výrobě mléka. Konzumní mléko, které rozdělujeme podle tučnosti, prochází několika stupni úpravy. Oproti tomu mléko syrové podstupuje pouze případnou filtraci a zchlazení. Počtem kroků při úpravě se liší i mléko selské nestandardizované, u kterého nedochází k úpravě tučnosti, pouze je tepelně ošetřeno, případně homogenizováno. Jeden krok mají však všechna mléka uváděná na trh společný, tímto krokem je rychlé zchlazení mléka ihned po nadojení – je to jeden z prvních kroků vedoucí k mikrobiální nezávadnosti mléka. Zchlazením na požadovanou teplotu zpomalíme rozvoj a působení většiny mikroorganismů ve mléce, čímž předcházíme zkáze mléka.

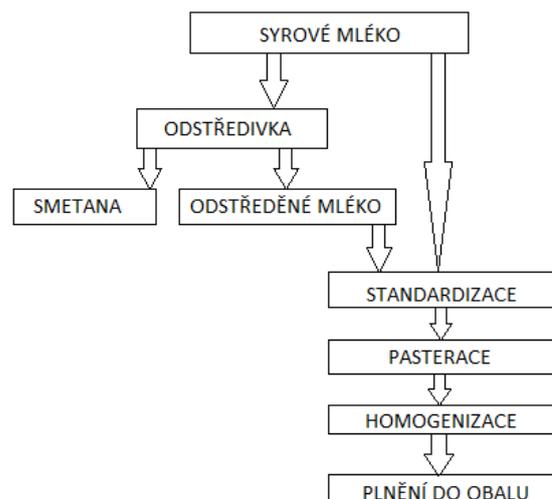
3.3.1 Pasterované mléko

Postup výroby pasterovaného mléka se skládá z několika kroků. Prvním krokem je samozřejmě samotné dojení, kterým získáme syrové mléko. Surové mléko je ihned zchlazeno a následně přepraveno do mlékárny. V případě malé farmy, kde se provádí dojení i mlékárenské zpracování, může být mléko vedeno potrubím. U průmyslových mlékáren je mléko dopravováno ke zpracování nejčastěji v cisternách, odkud je přečerpáno do společných tanků. Poté již následuje samotné zpracování mléka, které se může lišit v závislosti na konkrétním zpracovateli (Robinson, 1993).

Na obrázku č. 2 je znázorněno průmyslové zpracování mléka na mléko pasterované, kde je část syrového mléka vedena na odstředění do odstředivek a část je vedena přímo na standardizaci obsahu tuku. Z odstředivek odchází dva produkty, prvním je smetana a druhým odtučněné mléko (Ministerstvo zemědělství ČR, 2006). Smetana má tučnost okolo 40 %, odstředěné mléko zhruba 0,03 % – 0,04 % a syrové neodstředěné má průměrných 3,7 %. Podle požadované tučnosti se míchají různé poměry odstředěného mléka a syrového neodstředěného mléka, tomuto procesu se říká standardizace tučnosti, výslednými produkty jsou odtučněné mléko, polotučné mléko a plnotučné mléko. Vzniklá mléka jsou vedena do pastéru, kde probíhá pasterace. Dalším krokem je homogenizace, která se provádí v homogenizátorech.

Cílem homogenizace je zabránění vyvstávání smetany na povrchu mléka (Walstra, 2013). Podle dokumentu Ministerstva zemědělství ČR z roku je vhodné provádět ještě před homogenizací. To je dáno tím, že výsledkem homogenizace je nejen rovnoměrné rozptýlení tukových kapének do celého objemu, ale i zmenšení tukových kapének na střední průměr, což představuje u pasterovaného mléka 1 – 2 μm . Zmenšením kapének docílíme zvětšení volného povrchu tuku, a tím i značné podpory aktivity enzymů ze skupiny lipáz. Zvýšená aktivita lipáz je nežádoucí, jelikož by vedla ke zkáze mléka. Po homogenizaci následuje plnění do finálních obalů, pasterované mléko lze plnit do skleněných lahví, nejčastěji se však setkáváme s lahvemi plastovými. Pasterované mléko má být skladováno při teplotě pod 8 °C (Směrnice rady EHS 92/46).

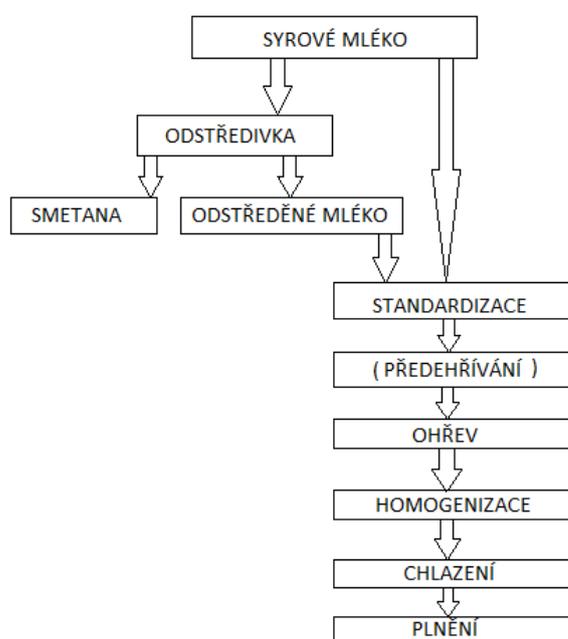
Obr. č. 2 Diagram výroby pasterovaného mléka



3.3.2 UHT

Postup výroby mléka ošetřeného UHT technologií se až po samotné tepelné ošetření shoduje s výrobou pasterovaného mléka. Konkrétní UHT tepelné ošetření může být provedeno dvěma různými způsoby. Jedním ze způsobů je dvoustupňový, při tomto způsobu je nejprve mléko pomocí nepřímého výměníku předeřháto na zhruba 80 °C, poté přímým smíšením páry s mlékem na teplotu odpovídající UHT ošetření. V případě dvoustupňového ošetření při přímém ohřevu je hmotnostní poměr páry a mléka zhruba 1 : 10. Druhým způsobem je nepřímý ohřev pomocí tepelných výměníků s trubkami a deskami různých typů. Poté je mléko homogenizováno, oproti mléku pasterovanému dochází při homogenizaci ke zmenšení tukových kapének na 0,7 µm. Důvodem je dosažení delší doby trvanlivosti než u mléka pasterovaného. Dále je mléko zchlazeno a plněno do finálních obalů (Ministerstvo zemědělství ČR, 2006). Celý proces je vyobrazen na obrázku č. 3.

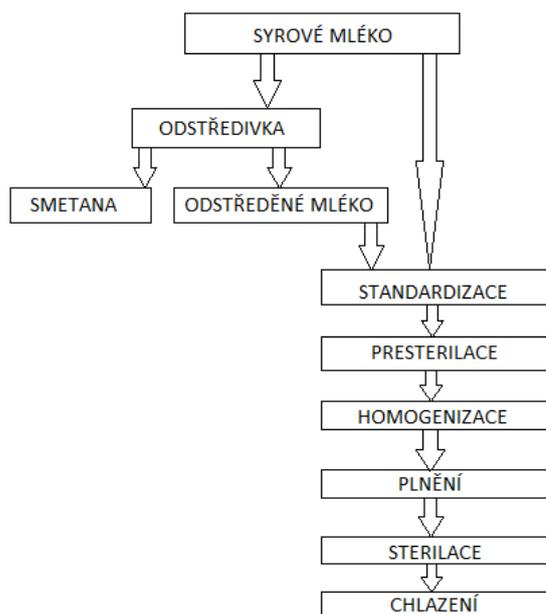
Obr. č. 3 Diagram výroby mléka ošetřeného UHT záhřevem



3.3.3 Sterilované mléko

Výroba sterilovaného mléka vychází z mléka standardizovaného, které je homogenizováno a ošetřeno presterilací, samotné tepelné ošetření je dvoustupňové. První fází je presterilace, což je kontinuální ohřívání podobné, jako u ošetření UHT záhřevem. Druhou fází je konečné ošetření, které působí na uzavřenou nádobu s presterilovaným mlékem. Druhá fáze je nejčastěji prováděna za pomoci autoklávu, nebo kontinuálního hydrostatického sterilizátoru. Mezi tyto dva kroky je včleněna homogenizace a plnění do obalů, jak je patrné na obrázku č. 4. Po sterilaci následuje už jen zchlazení (Ministerstvo zemědělství, 2006).

Obr. č. 4 Diagram výroby sterilovaného mléka



3.4 Distribuce ke konečnému spotřebiteli

Výrobci distribuují mléko ke spotřebiteli různými cestami, např. přes kamenné prodejny, mléčné automaty, nebo pojízdné prodejny. V kamenných a pojízdných prodejnách se setkáme výhradně s mléky tepelně ošetřenými, mléko prodávané v mléčných automatech může být syrové, nebo tepelně ošetřené – nejčastěji šetrnou pasterací.

Mléko syrové a pasterované by mělo být uchováváno při teplotě pod 8 °C (Směrnice rady EHS 92/46), mléko ošetřeno UHT může být uchováváno po určitou dobu při pokojové teplotě, proto je v obchodních řetězcích nalézáme mimo chladicí boxy.

3.4.1 Prodej mléka v kamenných prodejnách

Jedná se o nejrozšířenější způsob distribuce mléka. V kamenných obchodech se nachází nejširší nabídka sortimentu mléka, ať již po stránce tučnosti, tepelného ošetření, nebo obalového materiálu. Do kamenných obchodů je mléko distribuováno vždy ve finálních obalech za předepsané teploty. Zákazník si může zakoupit výrobek pouze ve standartních obalech a standartního objemu určeného primárně pro maloobchodníky. Pasterované mléko musí být v obchodech vždy umístěné ve chlazených regálech.

3.4.2 Prodej mléka z pojízdné prodejny

I v tomto případě platí, že mléko je nutné po nadojení rychle zchladit pod 8 °C (Směrnice rady EHS 92/46). Dále je pasterováno a plněno do lahví. Stejně, jako u mléka distribuovaného do kamenných prodejen, je mléko prodáváno ve standartním obalu a objemu. I v tomto případě si tak zákazník kupuje již mléko naplněné v lahvi. Prostor pojízdné prodejny, určený pro uskladnění mléčných výrobků během prodeje musí být chlazen na předepsanou teplotou platnou pro uchování pasterovaného mléka.

3.4.3 Prodej mléka z mléčných automatů

Jak již bylo napsáno, po nadojení je nutné mléko zchladit, aby nedošlo k nežádoucímu rozvoji mikroorganismů. V případě mléka, které není do 2 hod od nadojení zpracováno, je nutné jej zchladit na min. 6 – 8 °C (Směrnice rady EHS 92/46). Z mléčných automatů je prodáváno mléko syrové, nebo šetrně pasterované. Do automatů je dodáváno již v nerezovém zásobníku, který pouze je vyměněn za prázdný zásobník. Po celou dobu transportu a dále i v automatu je mléko stále chlazeno na předepsanou teplotu.

3.5 Kontaminanty mléka

Mléko je ideální médium pro růst bakterií. Obsahuje dostupné lipidy, sacharidy i tuky a má vysokou vodní aktivitu (Walstra, 2013). Mikroflóra syrového a pasterovaného mléka se liší, jelikož při pasteraci se zneškodní většina bakterií, mimo termorezistentních bakterií, které jsou teple odolné.

Nežádoucí bakterie mohou tvořit různé enzymy, které následně degradují mléko, příkladem je tvorba proteáz, hydroláz, nebo lipáz. Další nežádoucí složkou, kterou mohou některé mikroorganismy produkovat, jsou různé toxiny, jež odolávají i tepelnému ošetření a přechází tak i do pasterovaného mléka. Mezi skupinou bakterií osidlujících, jak syrové, tak pasterované mléko se velmi často nacházejí i bakterie patogenní, které mohou být původci rozmanitých alimentárních onemocnění, tzn. onemocnění z potravin, přehled těchto bakterií je uveden níže v tab. č. 4.

Kontaminanty syrového mléka

Skupina kontaminantů syrového mléka zahrnuje bakterie *Pseudomonas* spp., *Alcaligenes* spp., *Aeromonas* spp., *Acinetobacter* spp., *Flavobacterium* spp., *Micrococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Corynebacterium* spp., *Lactobacillus* spp., *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* a bakterie z rodu *Enterobacteriaceae*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Brucella* spp., *Bacillus* spp., *Microbacterium* spp., *Clostridium* spp. Kontaminující mikroorganismy mohou způsobit zkázu mléka, ale hlavně mohou být nebezpečné lidskému zdraví (Forsythe, 2010, Tamime, 2009)

Kontaminanty pasterovaného mléka

Častým kontaminantem pasterovaného mléka jsou termorezistentní mikroorganismy, nebo termorezistentní spory bakterií, které přežívají pasterační záhřev. Kontaminanty pasterovaného mléka mohou být i bakterie z okolního prostředí. Mezi tyto bakterie patří *Streptococcus thermophilus*, *Enterococcus faecalis*, *Micrococcus luteus*, *Microbacterium lacticum*, *Lactobacillus* spp., *Lactococcus* spp., *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, bakterie z rodu *Enterobacteriaceae* a spory bakterií *Bacillus* spp. a *Clostridium* spp. (Forsythe, 2010, Tamime, 2009)

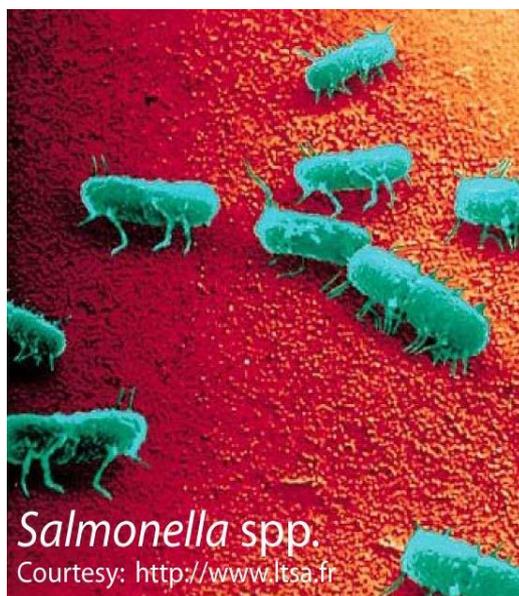
Tab. č. 4 Významné patogenní mikroorganismy vyskytující se v mléce syrovém i čerstvém (Tamime, 2009)

<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Salmonella</i> spp.
<i>Listeria monocytogenes</i>
<i>Escherichia coli</i>

3.5.1 *Salmonella* spp.

Salmonella spp. (obr. č. 5 a č. 6) je skupinou bakterií řazených do čeledi *Enterobacteriaceae*. Jedná se o gramnegativní anaerobní tyčinky netvořící spory. Celá skupina bakterií *Salmonella* spp. je tvořena 4 druhy, *S. enteritidis*, *S. typhi*, *S. typhimurium*, *S. choleraesuis*. Tyto 4 druhy zahrnují přes 2000 sérotypů, patogenními sérotypy je všech 2000 sérotypů (Šilhánková, 2008). *S. enteritidis* je druhem, který se podílí na více než 98 % všech salmonelových onemocnění. V Evropě je tento druh považovaný za nejčastěji se vyskytující druh salmonelozy (Göpfertová et al., 2006).

Obr. č. 5



<https://www.vetmed.auburn.edu/salmonlla?op=makePrintable;>

Obr. č. 6



<http://www.laboratoryequipment.com/product-releases/2012/01/medium-tackles-tough-salmonella-samples>

Salmonella může přežívat v rozmezí teplot 8-45 °C, optimální teplotou pro růst je však 38 °C. Přežívá v kyselém i zásaditém prostředí, kde se pH pohybuje v oblasti mezi 4-9 pH a při vodní aktivitě 0,94 (Silva et Gibbs, 2012). Jelikož nevytváří spory je relativně málo odolná vůči zahřívání. Pro usmrcení bakterií postačí teplota 60 °C působící po dobu 15-20 minut (Forsythe, 2009), což znamená, že pasterační záhřev při ošetření mléka je vhodným krokem k potlačení salmonelové kontaminace (Tamime, 2009).

Zdrojem bývají nejčastěji hospodářská zvířata, člověk se jako zdroj onemocnění uplatňuje minimálně. Mezi potraviny, které mohou být zdrojem salmonelového onemocnění, řadíme syrovou drůbež, dále všeobecně maso, mléko a mléčné produkty, zeleninu, ovoce, vejčeka, ořechy, čokoládu a ryby (Forsythe, 2009).

Za infekční dávku je považováno zhruba 10⁵ buněk, přesto extrémně citliví jedinci mohou reagovat již na dávku 15-20 buněk. Inkubační doba salmonelózy se pohybuje v rozmezí 6-72 hod., onemocnění trvá většinou 4-7 dní. Akutními příznaky onemocnění je nevolnost, zvracení, průjem, bolesti břicha, bolesti hlavy, horečky. Po prodělaném onemocnění lidé ještě zhruba 4-6 týdnů vylučují salmonely ve stolici. Postinfekční imunita je u tohoto onemocnění krátkodobá, trvalými nosiči se lidé stávají v 0,1-0,5 % případů.

Na vzestupu je výskyt *Salmonelly* odolné vůči běžně používaným antibiotikům, např. v některých zemích Asie bylo z izolovaných *Salmonell* více, jak 90 % rezistentních vůči běžně užívaným antibiotikům (Forsythe, 2009).

Prevenčí výskytu salmonelového onemocnění jsou vhodná hygienická opatření při zpracování, manipulaci a uchování potravin (Forsythe, 2009, Göpfertová et al., 2006).

3.5.2 *Listeria monocytogenes*

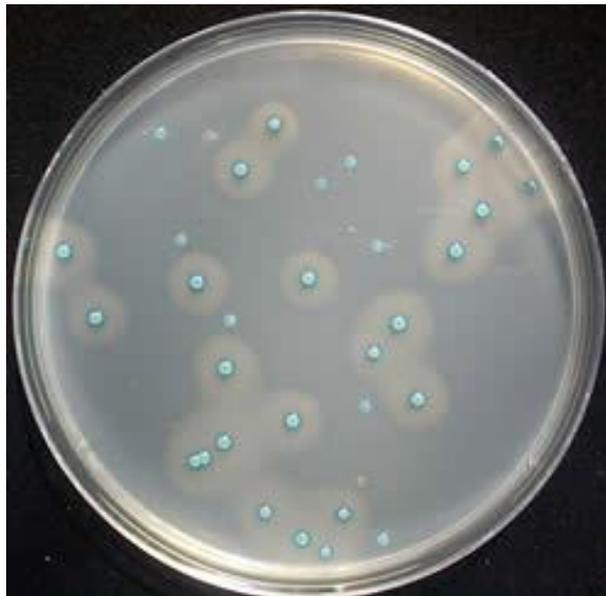
Listeria monocytogenes (obr. č. 7 a č. 8) je bakterie řazená mezi grampozitivní mikroorganismy, které netvoří spory. Její výskyt je ubikvitární. Jedná se o významný lidský patogen. (Forsythe, 2009, Göpfertová et al. 2006, Montville et Matthews, 2008, Tamime, 2009).

Obr. 7



<http://www.oxid.com/uk/blue/press/press.asp?art=Y&arch=Y&pRef=pr009703&c=uk&lang=EN&yr=2003>

Obr. 8



<http://www.sciencephoto.com/media/10954/view>

Rozmezí teplot, ve kterých je *L. monocytogenes* schopna růst se pohybuje mezi 0-42 °C. Teploty přesahující 50 °C nepřežívá, nepřežívá také pokles pH pod 4,3. Optimální hodnotou vodní aktivity, pro růst je $a_w \geq 0,97$ (Vázquez-Boland et al., 2001), Rod *Listeria* je rozdělen na 6 druhů, nejvýznamnější je právě *Listeria monocytogenes*, která je dále na

základě sérotypů dělena ještě do 13 skupin. Epidemiologicky významné sérotypy jsou 1/2a sérotyp, 1/2b sérotyp a 4b sérotyp. Poslední zmíněný, sérotyp 4b, je považován za nejčastější typ, který se vyskytuje v 37-64 % případů (Forsythe, 2009, Tamime, 2009).

Způsob nákazy *Listerií* je nejčastěji alimentární cestou, přenos kapénkami od nemocné osoby je vzácný, ale možný. Další možný způsob přenosu je transplacentárně z matky na dítě (Göpfertová et al., 2006).

Mezi potravinami lze najít zdroje nákazy hlavně z mléčných produktů a mléka, hot dogů, kuřete, mořských plodů a zeleniny.

Infekční dávka je diskutabilní, přesto byla určena od počtu $1,9 \times 10^5$ KTJ/ml(g) potravin (Swaminathan et Gerner-Smidt, 2007).

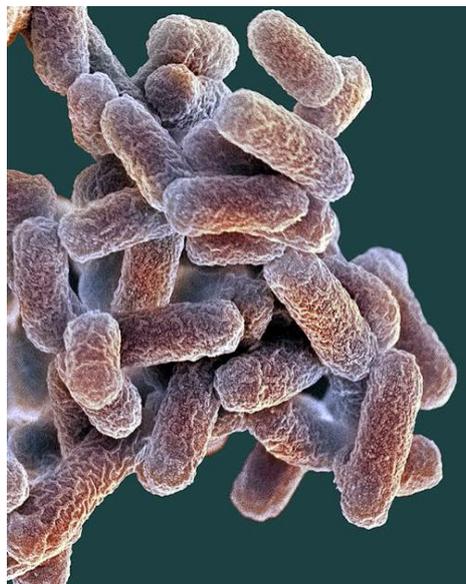
Příznaky listeriózy jsou meningitida, encefalitida, nebo septikemie, u těhotných žen ve druhém a třetím trimestru může vyvolat potrat, nebo předčasný porod. Pokud je projevem listeriózy meningitida, může úmrtnost dosahovat až 70 %.

Pasteračními teplotami je *Listeria* usmrcena (Forsythe, 2009). Prevencí výskytu listeriových onemocnění jsou vhodná hygienická opatření při zpracování, manipulaci a uchování potravin.

3.5.3 *Escherichia coli*

Escherichia coli (obr. č. 9 a č. 10) je gramnegativní, nesporulující tyčinka. Jedná se o anaerobní bakterii patřící do čeledi *Enterobacteriaceae*. Běžně osidluje tlusté střevo teplokrevných živočichů, kde se podílí na syntéze některých důležitých vitamínů a potlačuje růst škodlivých mikroorganismů. Tento rod bakterie zahrnuje kmeny patogenní, podmíněně patogenní a mnoho nepatogenních kmenů (Klaban, 1999).

Obr. č. 9



http://www.tabletsmanual.com/wiki/read/escherichia_coli

Obr. č. 10



<http://www.microbiologyinpictures.com/bacteria%20photos/escherichia%20coli%20photos/escherichia%20coli%2003.html>

Zdrojem onemocnění mohou být, jak zvířata, tak člověk. Nejčastěji se jedná o fekálně orální přenos, kdy jedinec porušil základní hygienické návyky. Jako zdroj nákazy z potravin se uplatňují sušené fermentované masné výrobky a masa, nepasterovaná mléka a mléčné produkty, čerstvé potraviny – jako jsou saláty, dále mohou být zdrojem džusy a voda. Patogenní druhy jsou na základě rozdílného mechanismu patogenity a klinických příznaků rozděleny do šesti hlavních skupin: enterohemoragická (EHEC), enterotoxigenní (ETEC), enteropatogenní (EPEC), enteroagregativní (EAaggEC), enteroinvazivní (EIEC), difusně adherentní (DAEC). Skupiny patogenních druhů se často liší průběhem onemocnění, dobou inkubace i dávkou vyvolávající onemocnění. Např. enterohemoragická *E. coli* sérotypu O157:H7 může vyvolat vážné onemocnění již při dávce 10 buněk (nebo i méně), zatímco u enterotoxigenní *E. coli* je potřeba, odhadem 10^8 – 10^{10} buněk, pro vyvolání mírného onemocnění.

Enterohemoragická *E. coli* (EHEC): tato skupina způsobuje hemoragickou kolitidu, krvácivé průjmy, HUS syndrom (hemolyticko uremický syndrom). Hlavním zástupcem této skupiny je *E. coli* produkující shiga toxin, známá také dříve pod označením verotoxikogenní *E. coli* (VTEC).

Enterotoxigenní *E. coli* (ETEC), známá svými projevy, jako cestovní průjem. Projevem je vodnatý průjem. Nejčastěji ETEC osidluje proximální část tenkého střeva.

Enteropatogenní *E. coli* (EPEC), nejčastěji způsobuje vodnaté průjmy u nemluvňat. Všeobecně projevy onemocnění touto bakterií jsou vodnatý průjem, průjem s hlenem, nevolnost, horečka. Po vstupu do organismu osidlují mikrokšky, kde vytváří typické léze.

Enteroagregativní *E. coli* (EAggEC), je příčinou perzistentních vodnatých průjmů u dětí, které trvají více než 14 dní. Bakterie se shlukují (agregují) na tkáňových buňkách a produkují termolabilní toxin. EAggEC nevyvolávající průjmy je spojována s malnutricí a růstovou retardací.

Enteroinvazivní *E. coli* (EIEC), je příčinou horeček a častých průjmů s hlenem a krví.

Difusně adherentní *E. coli* (DAEC) je dle některých studií spojována s průjmy, ale není to jednoznačné.

Prevencí výskytu onemocnění způsobených bakterií *E. coli* jsou vhodná hygienická opatření při zpracování, manipulaci a uchování potravin (Forsythe, 2009).

3.5.4 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus (obr. č. 11 a č. 12) je gram pozitivní, fakultativně anaerobní bakterie tvořící koky, shlukující se nejčastěji do hroznovitých útvarů. Produkuje zlatožlutý pigment, podle kterého získala pojmenování „zlatý“ (Freeman-Cook et al., 2006). Ideálním prostředím pro růst je pH 4–10, vodní aktivitou 0,83–0,99 a teplotě 7–48 °C.

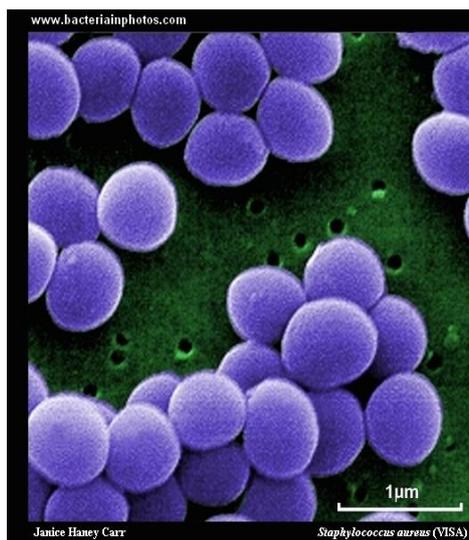
Staphylococcus aureus zahrnuje významný kmen, tzv. methicilin rezistentní *Staphylococcus aureus* (MRSA), který se vyznačuje odolností vůči široké škále antibiotik. Tato bakterie je řazena do skupiny nemocničních onemocnění tzv. nozokomiálních infekcí. (Weigelt 2007). Produkuje širokou škálu patogenních a virulentních faktorů, jako jsou: staphylokinasa, fosfatasa, hyaluronidasa, koagulasa a hemolysin. Otravy z potravin jsou způsobeny enterotoxiny, což jsou bílkovinné molekuly, které lze rozdělit podle antigenu do několika skupin. Ze 77 % se na otravách z potravin podílí typ toxinu SEA, druhým

nejčastějším typem podílejícím se na otravách z jídla je typ SED, který se podílí z 38 %. Třetím nejrozšířenějším typem je SEB, tento je zastoupen v případech stafylokokových otrav z jídla z 10 %. V těchto třech případech se jedná o termostabilní toxiny odolávající varu a také proteolytickým enzymům. Jsou spojovány se syndromem toxického šoku, autoimunitními onemocněními, alergiemi a otravami z potravin.

Mezi potencionálními zdroji onemocnění z potravin jsou uváděny potraviny ručně vyráběné, drůbeží maso, konzervované houby, ryby, salámy, šunky, mléčné produkty, salátové dresinky.

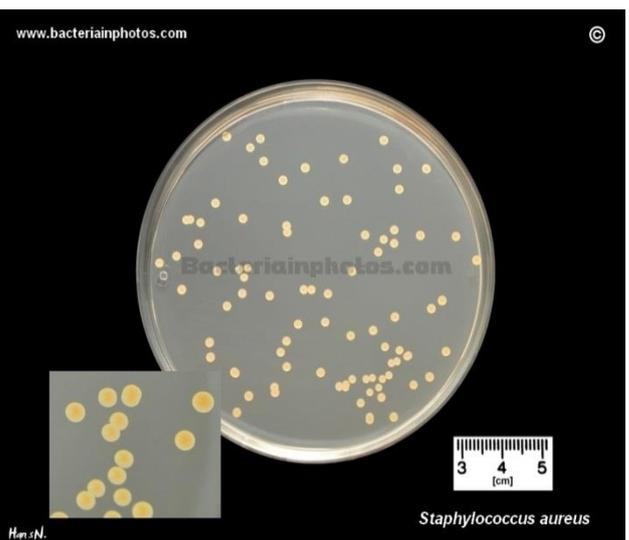
Akutními příznaky mohou být těžké nevolnosti, břišní křeče, průjemy. Onemocnění trvá obvykle 2–3 dny (Forsythe, 2009).

Obr. č. 11



<http://www.bacteriainphotos.com/bacteria%20under%20microscope/vancomycin%20intermediate%20resistant%20staphylococcus.html>

Obr. č. 12



http://www.bacteriainphotos.com/S.aureus_on_tryptic_soy_agar.html

4 Materiál a metody

Vzorky mléka určené k rozborům byly odebírány ze tří odlišných míst v průběhu jednoho roku. Jednalo se o dvě čerstvá mléka ošetřená pasterací a jedno mléko syrové. První z pasterovaných mlék bylo odebíráno z klasického kamenného supermarketu, toto mléko bylo odebíráno již naplněné do plastových lahví o objemu 1 l. Druhé pasterované mléko bylo odebíráno z pojízdné prodejny, opět se jednalo o již předem plněné mléko do plastové lahve o objemu taktéž 1 l. Distribuce tohoto mléka byla realizována pomocí rozvozových dodávek. Posledním vzorkem bylo syrové mléko, které bylo odebíráno z mléčného automatu, toto mléko bylo odebíráno v objemu 1 l do vlastní sterilní vzorkovnice.

4.1 Pasterované mléko z kamenného obchodu

Jedním vzorkem pasterovaného mléka, bylo SELSKÉ MLÉKO (obr. č. 13) od společnosti Olma a. s. Mléko svážené do mlékárny OLMA a. s. musí být po nadojení zchlazeno, jedná-li se o mléko, které není do 2 hod od nadojení zpracováno, je nutné jej zchladit na min 6 – 8 °C (Směrnice rady EHS 92/46). Mléko selské od firmy OLMA a. s. se řadí mezi mléka plnotučná bez standardizace obsahu tuku (OLMA, 2015), což znamená, že u tohoto mléka nebyla po nadojení změněna tučnost, bylo pouze pasterováno. Podle legislativy, musí takové mléko obsahovat nejméně 3,5 % tuku (Vyhláška č. 77/2003 Sb.).

Obr. č. 13



http://www.olma.cz/mleko-mleko-cerstve-selske-3-5---d_6_10.html

4.2 Pasterované mléko z pojízdne prodejny

Dalším vzorkem pasterovaného mléka bylo mléko prodávané z pojízdne prodejny (obr. č 14), konkrétně z Němcovy selské mlékárny Radonice, které je svázeno do mlékárny z Radonic od více dodavatelů – výhradně však českých farmářů. V mlékárně je mléko, které je určeno k distribuci v plastových lahvích, pasterováno. V tomto případě je použito šetrné pasterace (Klasa, 2014). Po pasteraci následuje zchlazení a plnění do obalů, poté již uskladnění do chladíren a následná distribuce rozvozovými auty. Mléko je nutné skladovat při teplotě 4 – 8 °C, proto je rozváženo auty, které mají speciální chlazený prostor, kde je tato teplota zajištěna (Mléko z farmy, 2011).

Rozvoz je prováděn podle rozvozových tras. Firma má po celé České republice 131 rozvozových tras. Každá trasa má stanovený rozvozový den a konkrétní místa a časy zastávek. Mléko je prodáváno v plastových ECO PET lahvích (Mléko z farmy, 2015).

Obr. č. 14



<http://www.mlekozfarmy.cz/nase-vyrobky/selske-mleko/>

4.3 Syrové mléko z mléčného automatu

Posledním vzorkem mléka bylo syrové mléko z mléčného automatu, konkrétně z mléčného automatu na Suchdole, který spravuje firma FARMA HOLE. Po nadojení dochází ke zchlazení na 4 °C a bez následného tepelného ošetření je dopravováno do mléčných automatů, ve kterých je uchováváno v chlazených zásobnících (Polášek, 2015).

Jelikož se jedná o syrové – tepelně neupravené mléko, doprovází jej na automatech informace, aby zákazník mléko před požitím tepelně upravil (Toko Agri, 2015).

Neznamená to však, že mléko prodávané v automatech by bez tepelného záhřevu bylo zdravotně závadné, zde je hlavní případnému riziku předcházet – přeci jen se jedná o syrové mléko, které je bohaté na širokou škálu mikroorganismů.

Při prodeji mléka z mléčného automatu na Suchdole, od firmy FARMA HOLE, si může zákazník rovnou zakoupit i nádobu na mléko, ať už plastovou, nebo skleněnou, do které si zakoupené mléko nechá natočit. Tato možnost by měla zajistit odběr mléka do nádob čistých a tím i prodloužení údržnosti. Samozřejmě si zákazník může donést i vlastní lahev, u které si za čistotu nádoby zodpovídá sám.

Na obrázku č. 15 je znázorněna cesta mléka od dojnice až do mléčného automatu, odkud může mléko zakoupit již samotný spotřebitel. V první fázi má mléko tělesnou teplotu dojnice, po zchlazení má již zhruba 4 °C a při této teplotě je udržováno až do samotného stáčení.

Obr. č. 15



<http://www.tmlsko.cz/cerstve-mleko/2.117.o-mlece/2.118.jak-zachazet-s-cerstvym-mlekiem/>

4.4 Sledované parametry

Ve vzorcích mléka byly sledovány čtyři parametry. Celkový počet mikroorganismů (CPM), stanovení počtu koliformních bakterií, stanovení počtu bakterií rodu *Enterobacteriaceae* a průkaz přítomnosti bakterie *Staphylococcus aureus*. Stanovení CPM, koliformních bakterií a bakterií rodu *Enterobacteriaceae* bylo provedeno pomocí deskové metody přelivem. Stanovení bakterie *Staphylococcus aureus* bylo provedeno roztěrem na živnou půdu selektivní pro stafylokoky. Narostlé kolonie byly podrobeny katalázovému a koagulázovému testu. Vybrané kolonie byly identifikovány pomocí STAPHYtestu 24 a vyhodnoceny za pomoci softwaru TNW ProAuto 7,0. Výsledky byly vyjádřeny v KTJ/ml (kolonie tvořící jednotky na mililitr).

Fyziologický roztok s peptonem

Složení

Pepton	1,0 g/l
Chlorid sodný	8,5 g/l

Složky fyziologického roztoku jsou odvažovány ve zmíněném poměru do 1 l destilované vody. Obě složky byly rozpuštěny v destilované vodě a rozplněny do Erlenmeyerových baněk a dále do zkumavek. Poté byl rozplněný fyziologický roztok sterilován při teplotě 120 °C po dobu 15 min.

4.5 Media použitá pro stanovení mikroorganismů

STANDARD PLATE COUNT AGAR (APHA), OXOID

Složení

Kvasnicový extrakt	2,5 g/l
Enzymatický hydrolyzát kaseinu	5,0 g/l
Glukóza	1,0 g/l
Agar	15,0 g/l

Při přípravě živné půdy na objem 1 l je váženo 23,5 g směsi. Půda byla připravena rozpuštěním směsi v destilované vodě a následným vysterilizováním za použití autoklávu, tedy za zvýšeného tlaku. Před použitím byl vždy agar temperován na teplotu zhruba 50 °C.

MacCONKEY AGAR, OXOID

Složení

Pepton	20,0 g/l
Laktóza	10,0 g/l
Žlučové soli	5,0 g/l
Chlorid sodný	5,0 g/l
Neutrální červeň	0,075 g/l
Agar	12,0 g/l

Při přípravě živné půdy je na 1 l destilované vody váženo 52 g směsi. Po rozpuštění byla živná půda vysterilována v autoklávu při teplotě 121 °C po dobu 15 min.

VIOLET RED BILE GLUCOSE AGAR, OXOID

Složení

Pepton	7,0 g/l
Kvasničný extrakt	3,0 g/l
Žlučové soli č. 3	1,5 g/l
Chlorid sodný	5,0 g/l
Neutrální červeň	0,03 g/l
Krystalová violet	0,002 g/l
Glukóza	10,0 g/l
Agar	12,0 g/l

Pěstební prostředí bylo připraveno rozpuštěním 38,5 g směsi v 1 l destilované vody. Suspenze byla za stálého míchání přivedena k varu. Var byl udržován, po dobu nutnou k rozpuštění směsi, minimálně však 2 min. Před použitím byla půda temperována na požadovaných 44 – 47 °C

BAIRD-PARKER AGAR BASE, OXOID

Složení

Trypton	10,0 g/l
Kvasničný extrakt	1,0 g/l
Hovězí extrakt	5,0 g/l
Pyruvát sodný	10,0 g/l
Glycin	12,0 g/l
Chlorid lithný	5,0 g/l
Agar	20,0 g/l

Živná půda byla připravena rozpuštěním 63 g směsi v 1 l destilované vody s následnou sterilací v autoklávu při teplotě 121 °C po dobu 15 min.

Po ochlazení živné půdy na 50 °C byla asepticky přidána žloutková emulze telluričitanu v objemu 50 ml. Takto připravená živná půda byla rozplněna do sterilních Petriho misek a nechána zatuhnout.

4.6 Postup

Vzorky mléka byly odebírány po dobu jednoho roku v období zima 2014/2015. Každý ze vzorků byl odebírán v množství 1 l. Vzorky pasterovaných mlék byly odebírány již naplněné v plastových lahvích, syrové mléko bylo odebíráno do skleněné vzorkovnice o objemu 1 l.

Mléka určená k rozborům byla ihned po odebrání uložena do boxu určeného k přepravě, kde teplota nepřekročila 6 °C. Takto uložené vzorky byly zpracovány do 3 hod. od odběru. Vzorky, které byly odebírány z automatu, byly zpracovány do 1 hod. od odebrání.

Celkem bylo provedeno 16 odběrů po 3 vzorcích (dvě pasterovaná mléka a jedno mléko syrové). Odběry byly rovnoměrně rozloženy po 4 odběrech do každého ročního období. U každého vzorku byla provedena 3 stanovení: stanovení celkového počtu mikroorganismů (CPM) v jednotkách KTJ/ml (kolonie tvořící jednotky na mililitr vzorku), druhé stanovení bylo stanovení počtu koliformních bakterií, opět v jednotkách KTJ/ml. Dalším sledovaným parametrem byl počet bakterií patřících do rodu *Enterobacteriaceae*

v KTJ/ml. U mléka z mlékomatu a rozvozového auta byla ještě stanovována přítomnost bakterie *Staphylococcus aureus*.

Stanovení celkového počtu mikroorganismů bylo provedeno za použití pěstebního prostředí Standard Plate Agar, jedná se o neselektivní živnou půdu. Celkový počet mikroorganismů byl stanovován pomocí deskové metody provedené ve dvou opakováních. U této metody je principem zaočkování tekutého vzorku na Petriho misky přelivem. Tekutý vzorek byl předem naředěn na požadované ředění dle předpokládané míry kontaminace. Pro ředění byl použit desítkový systém. Postup byl takový, že do Erlenmeyerovy baňky bylo odpipetováno 90 ml sterilního fyziologického roztoku a 10 ml vzorku, po protřepání baňky vznikl vzorek o ředění 10^{-1} . Z tohoto ředění byl odebrán 1 ml, který byl následně smíchán ve zkumavce s 9 ml sterilního fyziologického roztoku, po protřepání zkumavky vznikl vzorek o ředění 10^{-2} .

Opakovaným ředěním byla připravena ředící řada až do požadovaného stupně ředění. Samotné zaočkování na Petriho misky bylo provedeno odpipetováním vždy 1 ml vzorku o určitém ředění, popř. neředěného vzorku a následným přelivem agarem. Petriho misky byly připravovány ve dvojitým opakování. Takto připravené vzorky byly kultivovány v termostatu při teplotě 30 °C po dobu 3-5 dní,

Stanovení počtu koliformních bakterií bylo rovněž provedeno deskovou metodou za použití desítkového ředění. Stanovení bylo opět ve dvojitým opakování. Použitou živnou půdou bylo selektivní pěstebné prostředí MacConkey agar. Zaočkované živné půdy byly kultivovány v termostatu při 37 °C po dobu 24-48 hod.

Bakterie z rodu *Enterobacteriaceae* byly stanovovány na selektivní živné půdě VRBG deskovou metodou, za použití desítkového ředění. Vzorky byly očkovány ve dvojitým opakování. Kultivace probíhala v termostatu při 37 °C po dobu 24-48 hod.

Posledním sledovaným parametrem bylo stanovení přítomnosti bakterie *Staphylococcus aureus*. Pro toto stanovení byla použita selektivní živná půda Baird Parker agar, která je určená k izolaci a identifikaci koaguláza pozitivních stafylokoků. Toto stanovení bylo provedeno roztěrem 0,2 ml neředěného vzorku na živnou půdu ve dvojitým opakování. Kultivace v termostatu probíhala při teplotě 37 °C po dobu 24-48 hod. Pro potvrzení, nebo vyvrácení přítomnosti bakterie *Staphylococcus aureus* byl u narostlých kolonií proveden nejprve katalázový a koagulázový test. Po potvrzení katalázy pozitivního i koagulázy pozitivního testu byla provedena identifikace pomocí STAPHYtestu 24, vyhodnocení bylo provedeno za pomoci softwaru TNW ProAuto 7,0.

Výpočet použitý pro stanovení KTJ/ml u stanovení CPM, koliformních bakterií a bakterií rodu *Enterobacteriaceae*. ČSN EN ISO 7218 (560103).

$$N = \Sigma C / V(n_1 + 0,1 n_2) d$$

ΣC – součet kolonií ze všech ploten vybraných pro výpočet po sobě jdoucích ředění

V – objem inokula v mililitrech zaočkovaného na plotny

n1 – počet ploten vybraných k výpočtu z prvního vybraného ředění

n2 – počet ploten vybraných k výpočtu z druhého vybraného ředění

d – faktor odpovídající prvnímu pro výpočet zvolenému ředění

5 Výsledky

MLÉKOMAT – SYROVÉ MLÉKO

Z mlékomatu (automatu na mléko) bylo odebíráno mléko syrové, kde byly očekávány celkově vyšší počty mikroorganismů než u mléka čerstvého, které bylo ošetřeno pasterací.

Odběry jaro

Odběry vzorků mléka z mléčného automatu v jarním období jsou zaznamenány v tab. č. 5. Pro stanovení celkového počtu mikroorganismů (CPM) byly dosažené hodnoty porovnány s Nařízením Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004, který uvádí maximální povolený limit pro syrové mléko $\leq 10^5$ KTJ/ml. V jarním období byly všechny provedené odběry pod touto hodnotou.

Maximální hodnota pro výskyt koliformních bakterií v syrovém mléce byla dle ČSN 570529 stanovena na 10^3 KTJ/ml. Všechny vzorky odebrané v jarním období tento limit splnily.

Bakterie čeledi *Enterobacteriaceae* se v tomto období pohybovali max. do hodnoty $5,3 \times 10^2$ KTJ/ml, tedy méně než 10^3 KTJ/ml, což je limit pro koliformní bakterie, které jsou součástí této čeledě.

Stanovení počtu bakterií *Staphylococcus aureus* bylo po celé jarní období 0 KTJ/ml.

Tab. č. 5 Mlékomat – odběry jaro

Odběr →	1	2	3	4
Stanovení ↓				
CPM	$5,8 \times 10^4$	$1,1 \times 10^4$	$1,9 \times 10^4$	$7,6 \times 10^3$
Koliformní bakterie	0,0	$1,8 \times 10^1$	$1,1 \times 10^2$	$1,1 \times 10^1$
<i>Enterobacteriaceae</i>	8,0	$4,0 \times 10^1$	$5,3 \times 10^2$	$1,4 \times 10^1$
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	0	0	0

Odběry léto

Výsledky rozborů mléka z mlékomatu v letním období jsou zaznamenány v tab. č. 6. Červeně zvýrazněná hodnota je onačena z důvodu překročení limitu pro CPM v syrovém mléce, která je podle Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004 stanovena na hodnotu ≤ 100 tis. KTJ/ml. V tomto případě byl u třetího letního odběru stanoven CPM $1,6 \times 10^5$ KTJ/ml.

Všechna ostatní stanovení vyhověla příslušným limitům.

Tab. č. 6 Mlékomat – odběry léto

Odběr →	1	2	3	4
Stanovení ↓				
CPM	$1,1 \times 10^4$	$6,8 \times 10^3$	$1,6 \times 10^5$	$1,1 \times 10^4$
Koliformní bakterie	1,0	1,0	$2,9 \times 10^1$	1,0
<i>Enterobacteriaceae</i>	$2,0 \times 10^1$	1,0	$1,2 \times 10^2$	2,0
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	0	0	0

Odběry podzim

Odběry mléka z mlékomatu v podzimním období byly opět odebrány ve čtyřech různých odběrových termínech.

Stanovené hodnoty mikroorganismů jsou zaneseny do tab. č. 7. Nejvyšší hodnota u stanovení CPM byla $4,5 \times 10^4$ KTJ/ml.

U skupiny koliformních bakterií byla nejvyšší stanovená hodnota $5,3 \times 10^1$ KTJ/ml.

Při stanovení čeledi bakterií *Enterobacteriaceae* bylo stanoveno nejvýše $6,9 \times 10^2$ KTJ/ml.

Výskyt bakterie *Staphylococcus aureus* nebyl zaznamenán. V tomto období nebylo u žádného vzorku zjištěno překročení limitů pro konkrétní rozboru.

Tab. č. 7 Mlékomat – odběry podzim

Odběr→	1	2	3	4
Stanovení↓				
CPM	$1,0 \times 10^3$	$4,5 \times 10^4$	$8,8 \times 10^3$	$5,4 \times 10^3$
Koliformní bakterie	1,0	$5,3 \times 10^1$	1,0	$1,9 \times 10^1$
<i>Enterobacteriaceae</i>	$1,0 \times 10^1$	$6,9 \times 10^2$	1,0	$4,2 \times 10^2$
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,0	0,0	0,0	0,0

Odběry zima

Stanovení parametrů syrového mléka z mlékomatu v zimním období je znázorněno v tab. č. 8. Nejvyšší hodnota CPM byla zaznamenána ve čtvrtém odběru a to $1,7 \times 10^4$ KTJ/ml.

Pro koliformní bakterie byla nejvyšší hodnota u druhého odběru, kdy dosáhla hodnoty $1,5 \times 10^2$ KTJ/ml.

U bakterií čeledi *Enterobacteriaceae* byla nejvyšší hodnota $5,7 \times 10^2$ KTJ/ml.

Hodnoty stanovení bakterie *Staphylococcus aureus* byly opět 0 KTJ/ml.

Také v tomto období nebylo u žádného vzorku zjištěno překročení stanovených limitů.

Tab. č. 8 Mlékomat – odběry zima

Odběr→	1	2	3	4
Stanovení↓				
CPM	$8,6 \times 10^3$	$3,0 \times 10^3$	$1,9 \times 10^3$	$1,7 \times 10^4$
Koliformní bakterie	5,0	$1,5 \times 10^2$	1,0	1,0
<i>Enterobacteriaceae</i>	$6,4 \times 10^1$	$5,7 \times 10^2$	1,0	$2,5 \times 10^1$
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,0	0,0	0,0	0,0

POJÍZDNÁ PRODEJNA – PASTEROVANÉ MLÉKO

U vzorků z pojízdné prodejny bylo odebráno mléko čerstvé – pasterované, tedy byly očekávány nižší počty mikroorganismů než u mléka syrového.

Odběry jaro

Počty mikroorganismů u vzorků pasterovaného mléka z pojízdné prodejny v jarním období jsou uvedeny v tab. č. 9. Dle vyhlášky 132/2004 Sb., která uvádí limit CPM 10^5 KTJ/ml, byl tento limit u vzorků z rozvozového auta v jarním období dodržen.

U stanovení počtu koliformních bakterií byl u odběru č. 4 stanoven limitní počet těchto bakterií, jednalo se o limit dle vyhlášky 203/2003 Sb., která udává hodnotu max. 5 KTJ/ml. V dalších třech odběrech byl stanoven počet koliformních bakterií 0 KTJ/ml.

Při stanovení bakterií z čeledi *Enterobacteriaceae* bylo zjištěno u dvou odběrů: č. 1 a č. 4 překročení limitu, který je stanoven Nařízením Komise (ES) č. 2073/2005 počtem 10 KTJ/ml.

Stanovení počtu bakterií *Staphylococcus aureus* bylo v jarním období 0 KTJ/ml.

Tab. č. 9 Pojízdná prodejna – odběry jaro

Odběr→	1	2	3	4
Stanovení↓				
CPM	$1,5 \times 10^2$	$2,5 \times 10^1$	$4,4 \times 10^2$	$2,9 \times 10^4$
Koliformní bakterie	0,0	0,0	0,0	5,0
<i>Enterobacteriaceae</i>	$2,3 \times 10^1$	0,0	2,0	$1,1 \times 10^2$
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,0	0,0	0,0	0,0

Odběry léto

Odběry vzorků z pojízdné prodejny jsou zapsány v tab. č. 10. Výsledky stanovení CPM byly pod limitem 10^5 , který stanovuje vyhláška. Nejvyšší hodnota CPM $1,5 \times 10^4$, byla naměřena u odběru č. 3, tento vzorek však také vyhověl limitu.

U stanovení počtu koliformních bakterií bylo v případě odběru č.1 a č. 2 zjištěno 0 KTJ/ml, přesto v následujících odběrech č 3 a č. 4 byl zjištěn zvýšený počet koliformních

bakterií, který přesáhl limit 5 KTJ/ml. U odběru č. 3 byl stanoven počet $1,6 \times 10^1$ KTJ/ml, v případě odběru č. 4 byl stanoven počet $1,3 \times 10^1$ KTJ/ml.

Také u stanovení počtu bakterií čeledi *Enterobacteriaceae* byl u vzorků č. 3 a č. 4 zjištěn nadlimitní počet. Hodnota stanovená nařízením povoluje max. 10 KTJ/ml, u odběru č. 3 byl zjištěn počet $1,5 \times 10^2$ KTJ/ml a u odběru č. 4 byl zjištěno počet $2,6 \times 10^1$ KTJ/ml. Počty bakterií u odběrů č. 1 a č. 2 byly pod limitem.

Ani v tomto případě nebyla prokázána přítomnost bakterie *Staphylococcus aureus*.

Tab. č. 10 Pojízdna prodejna – odběry léto

Odběr→	1	2	3	4
Stanovení↓				
CPM	$2,2 \times 10^1$	$1,8 \times 10^1$	$1,5 \times 10^4$	$2,1 \times 10^3$
Koliformní bakterie	0,0	0,0	$1,6 \times 10^1$	$1,3 \times 10^1$
<i>Enterobacteriaceae</i>	3,0	0,0	$1,5 \times 10^2$	$2,6 \times 10^1$
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,0	0,0	0,0	0,0

Odběry podzim

Hodnoty podzimních odběrů z pojízdny prodejny jsou uvedeny v tab. č. 11.

Stanovení CPM mléka z pojízdny prodejny v podzimním období vyhovělo ve všech čtyřech odběrech. Limit 10^5 KTJ/ml nepřekročil žádný z nich.

Při stanovení počtu koliformních bakterií bylo zjištěno u odběru č. 1 překročení limitu 5 KTJ/ml, konkrétně byl stanoven počet $5,9 \times 10^1$ KTJ/ml. Následující tři odběry vyhověly.

Stanovení počtu bakterií čeledi *Enterobacteriaceae*, kde stěžejním limitem je počet 10 KTJ/ml, bylo u odběru č. 1 překročeno na hodnotu $1,3 \times 10^3$. Následující tři odběry opět vyhověly.

Stanovení počtu bakterie *Staphylococcus aureus* vyhovělo počtu 0 KTJ/ml.

Tab. č. 11 Pojízdna prodejna – odběry podzim

Odběr→	1	2	3	4
Stanovení↓				
CPM	$5,3 \times 10^4$	$1,4 \times 10^3$	$3,2 \times 10^2$	$3,2 \times 10^2$
Koliformní bakterie	$5,9 \times 10^1$	4,0	0,0	0,0
<i>Enterobacteriaceae</i>	$1,3 \times 10^3$	6,0	0,0	8,0
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,0	0,0	0,0	0,0

Odběry zima

Výsledné hodnoty rozborů mléka z pojízdné prodejny v zimním období jsou zapsány v tab. č. 12.

Při stanovení CPM vyhověly všechny odběry limitu 10^5 KTJ/ml. Nejvyšší hodnota $4,6 \times 10^2$ byla zjištěn u odběru č. 3, který však byl stále hluboko pod maximální povolenou hodnotou.

Jak tomu bylo i v podzimním období, limit pro počet koliformních bakterií byl překročen u odběru č. 1, kde bylo stanoveno $2,0 \times 10^2$ KTJ/ml. Následující tři odběry vyhověly.

Také u stanovení počtu bakterií čeledi *Enterobacteriaceae* bylo u odběru č. 1 zjištěno překročení limitu 10 KTJ/ml hodnotou mnohonásobně vyšší $1,7 \times 10^4$ KTJ/ml. Ostatní zimní odběry vyhověly.

Stanovení počtu bakterie *Staphylococcus aureus* bylo opět 0 KTJ/ml.

Tab. č. 12 Pojízdna prodejna – odběry zima

Odběr→	1	2	3	4
Stanovení↓				
CPM	$3,6 \times 10^1$	$1,6 \times 10^1$	$4,6 \times 10^2$	$7,3 \times 10^1$
Koliformní bakterie	$2,0 \times 10^2$	0,0	0,0	0,0
Enterobacteriaceae	$1,7 \times 10^4$	6,0	0,0	0,0
Staphylococcus aureus	0,0	0,0	0,0	0,0

KAMENNÝ OBCHOD – PASTEROVANÉ MLÉKO

Z kamenného obchodu bylo odebíráno pasterované mléko, kde byl očekáván nižší počet mikroorganismů, než u mléka syrového.

Odběry ve všech obdobích

Z tab. č. 13, č. 14, č. 15 a č. 16 je patrné, že všechny odběry po celou dobu roku byly mikrobiálně čisté a počty stanovovaných mikroorganismů byly konstantně 0 KTJ/ml.

Tab. č. 13 Kamenný obchod – jarní období

Období →	1	2	3	4
Stanovení ↓				
CPM	0,0	0,0	0,0	0,0
Koliformní bakterie	0,0	0,0	0,0	0,0
Enterobacteriaceae	0,0	0,0	0,0	0,0

Tab. č. 14 Kamenný obchod – letní období

Období →				
Stanovení ↓	1	2	3	4
CPM	0,0	0,0	0,0	0,0
Koliformní bakterie	0,0	0,0	0,0	0,0
Enterobacteriaceae	0,0	0,0	0,0	0,0

Tab. č. 15 Kamenný obchod – podzimní období

Období →				
Stanovení ↓	1	2	3	4
CPM	0,0	0,0	0,0	0,0
Koliformní bakterie	0,0	0,0	0,0	0,0
Enterobacteriaceae	0,0	0,0	0,0	0,0

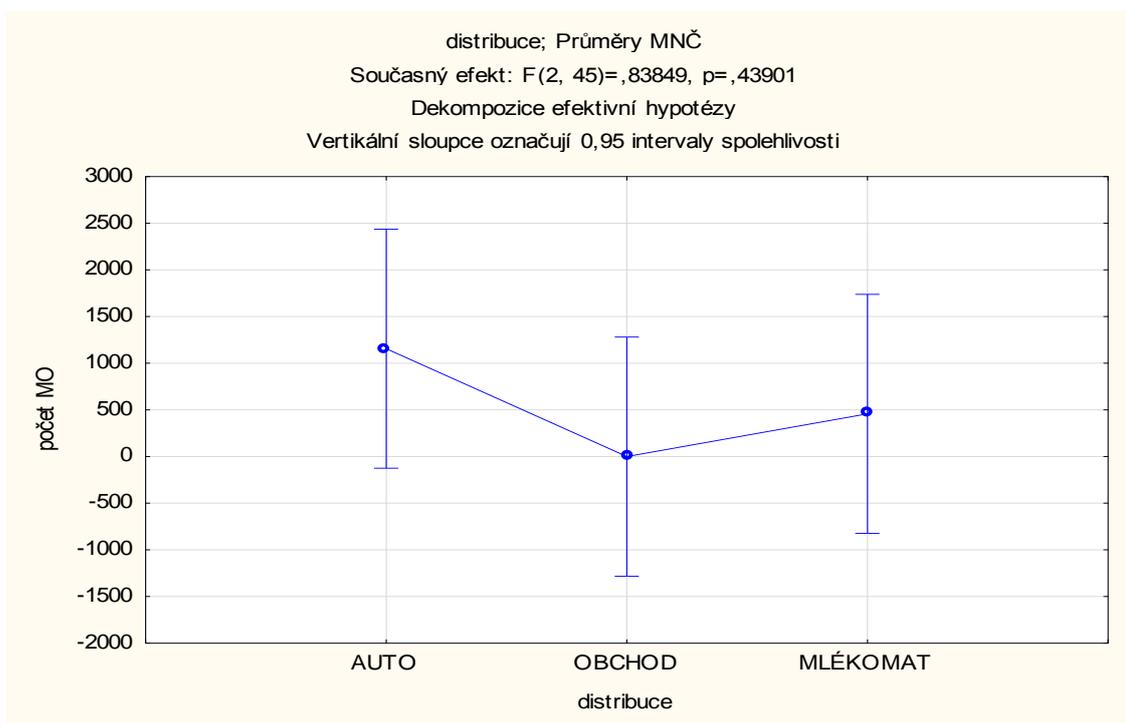
Tab. č. 16 Kamenný obchod – zimní období

Období →				
Stanovení ↓	1	2	3	4
CPM	0,0	0,0	0,0	0,0
Koliformní bakterie	0,0	0,0	0,0	0,0
Enterobacteriaceae	0,0	0,0	0,0	0,0

Na grafech č. 1, č. 2 a č. 3 můžeme vidět, vždy pro konkrétní skupinu bakterií, průměrnou hodnotu.

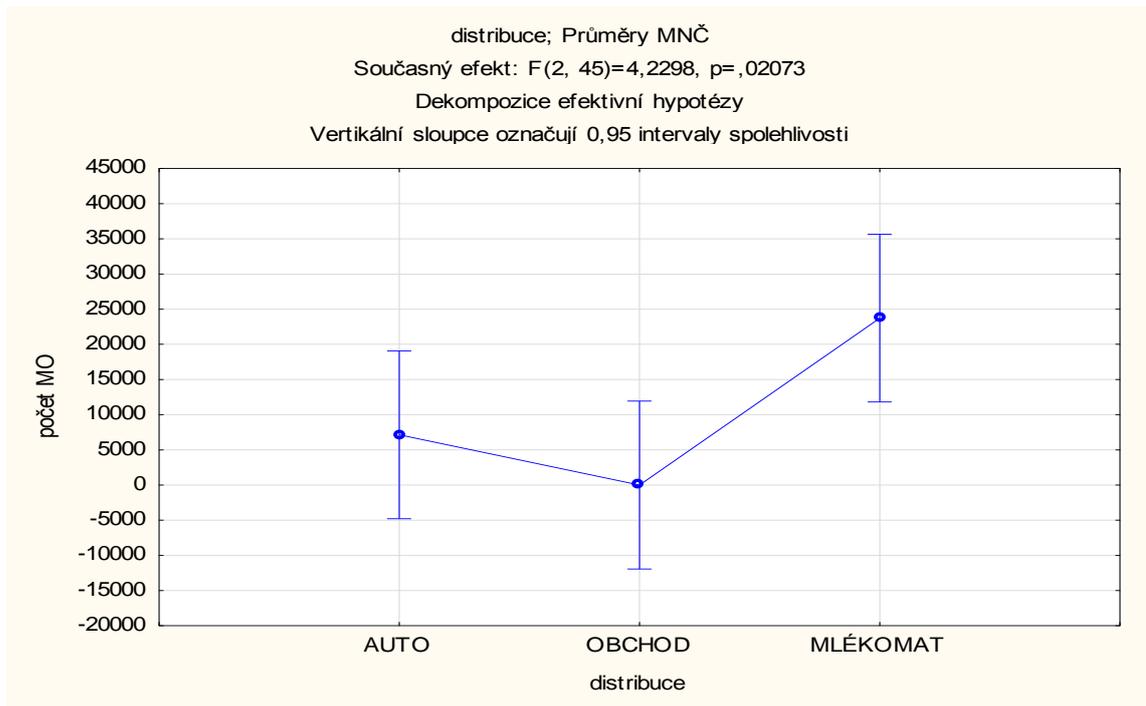
Z grafu č. 1 je patrné, že průměrné hodnoty bakterií čeledi *Enterobacteriaceae* jsou nejvyšší u mléka z „auta“, tedy u mléka distribuovaného pojízdnou prodejnou. Nejnižší průměrnou hodnotu vykazuje mléko distribuované klasickou kamennou prodejnou.

Graf č. 1 *Enterobacteriaceae*



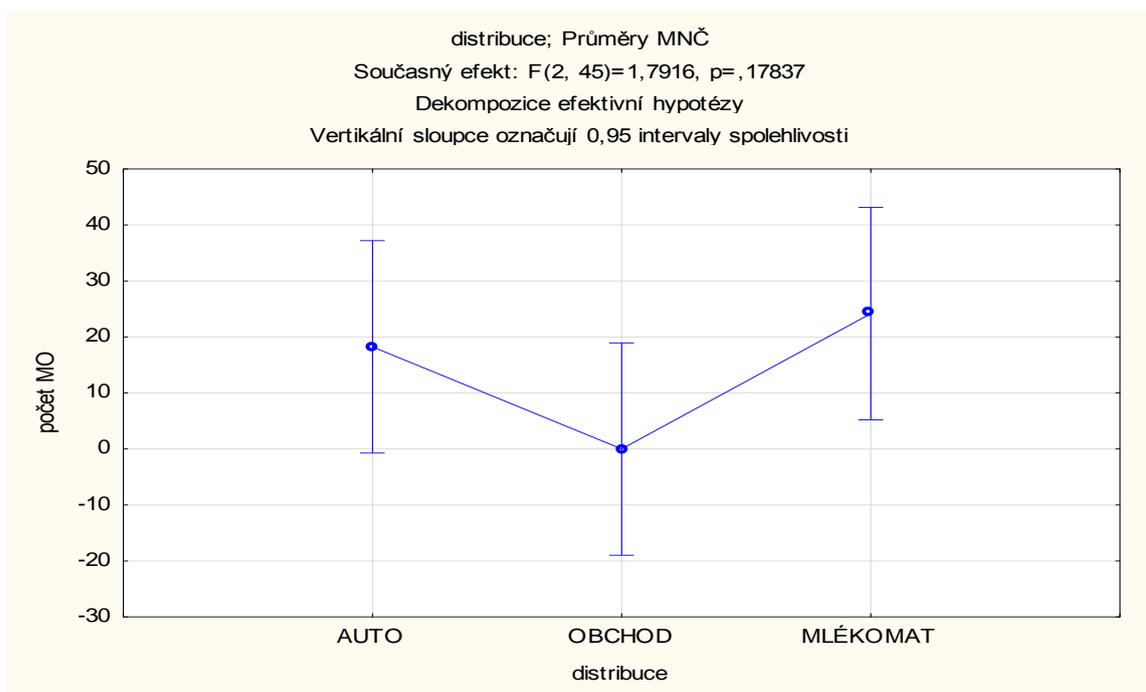
Graf č. 2 znázorňuje průměrné hodnoty u rozborů CPM. V tomto případě vykazuje nejvyšší hodnoty mléko distribuované automaty na mléko. Nejnižší hodnoty jsou opět u mléka z kamenné prodejny.

Graf č. 2 CPM



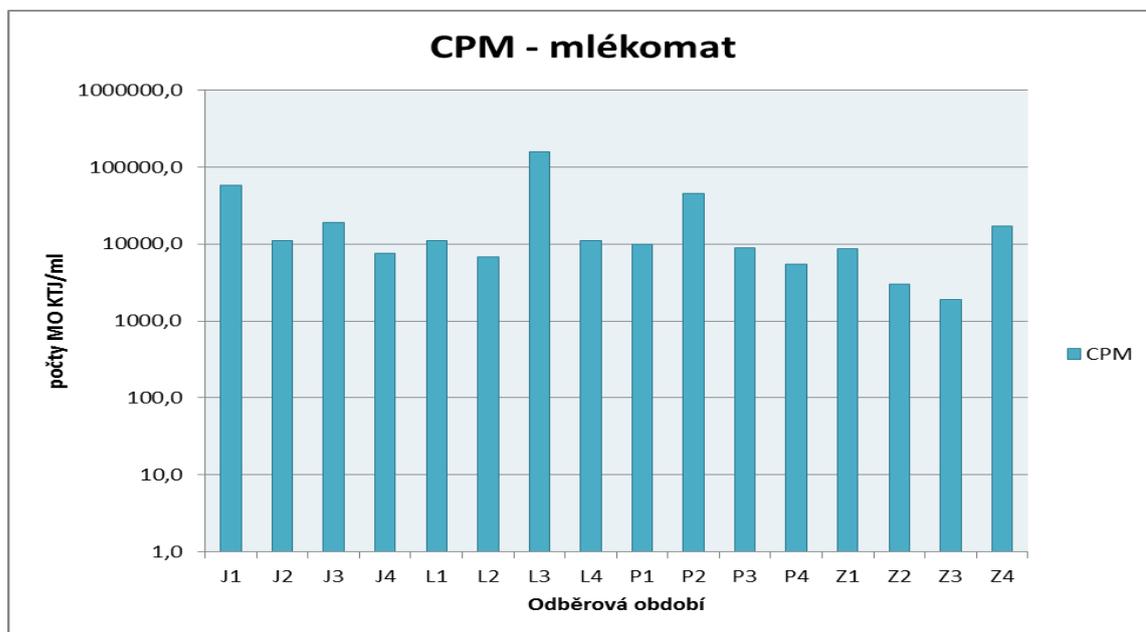
Průměrné počty koliformních bakterií lze vidět na grafu č. 3. Nejvyšších hodnot dosahovalo mléko z mlékomatu, které se od průměrné hodnoty mléka z pojízdné prodejny lišilo vcelku málo. Nejnižší hodnoty byly opět u mléka z kamenné prodejny.

Graf č. 3 Koliformní bakterie



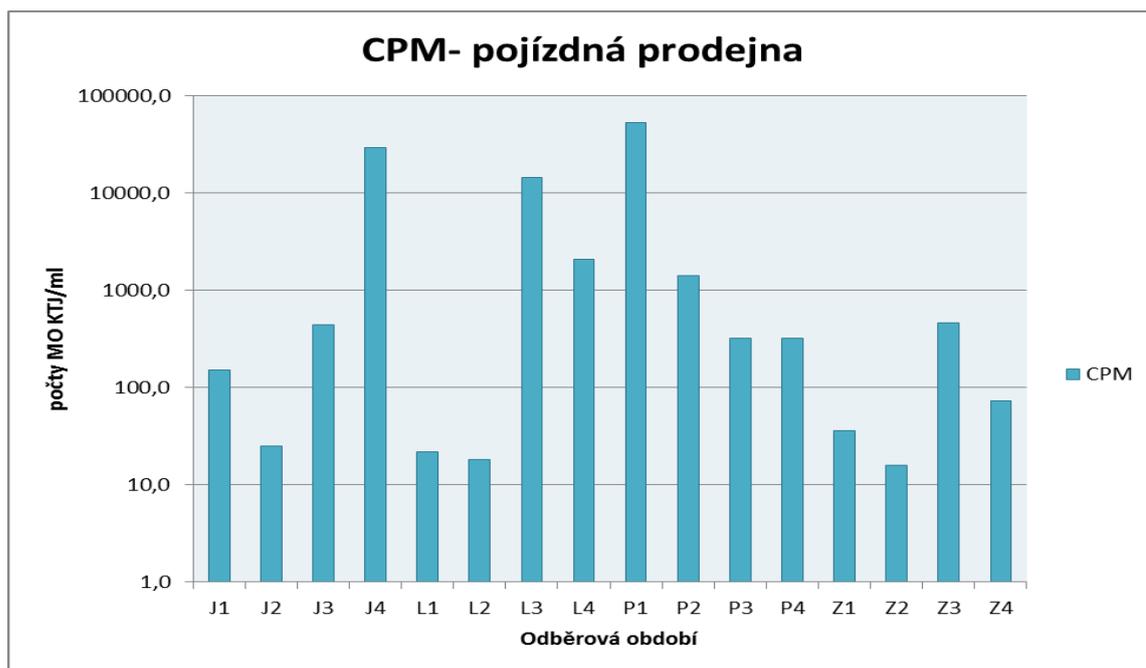
Průběh stanovení CPM v syrovém mléce z mléčného automatu po celé odběrové období je znázorněno v grafu č. 4. Mezi těmito hodnotami získanými v průběhu roku není statisticky významný rozdíl.

Graf č. 4 CPM v syrovém mléce z mléčného automatu



Graf č. 5 znázorňuje průběh hodnot CPM po celé odběrové období u mléka z pojízdné prodejny. Hodnoty získané v průběhu jednoho roku nevykazují statisticky významný rozdíl.

Graf č. 5 CPM v pasterovaném mléce z pojízdné prodejny



6 Diskuze

Studie *Bacteriological Quality and Safety of Raw Cow's Milk and Fresh Cream* (Meshref, 2013) zabývající se mikrobiologickou kvalitou a bezpečností syrového kravského mléka a čerstvé smetany, uvádí výsledky stanovení CPM, koliformních bakterií a počtu bakterií *Staphylococcus aureus*.

Studie uvádí výsledky rozborů celkem 38 vzorků syrového mléka. Při stanovení CPM se hodnoty mikroorganismů pohybovaly v rozmezí $2,1 \times 10^4 - 4 \times 10^8$ KTJ/ml. Oproti tomu, hodnoty stanovení CPM této diplomové práce byly celkově nižší, pohybovaly se v rozmezí $1,9 \times 10^3 - 1,6 \times 10^5$ KTJ/ml.

Také u stanovení koliformních bakterií uvádí studie vyšší hodnoty, konkrétně rozmezí hodnot $< 3 - 1,5 \times 10^7$ KTJ/ml, přičemž hodnoty této diplomové práce se pohybovaly v rozmezí počtu $0 - 1,5 \times 10^2$ KTJ/ml.

Jinak tomu nebylo ani u stanovení bakterie *Staphylococcus aureus*, kdy studie uvádí hodnoty $< 10 - 7 \times 10^4$ KTJ/ml, zatímco rozborů vzorků syrového mléka v rámci diplomové práce neprokázaly výskyt této bakterie.

Nižší hodnoty mohou být dány např. skutečností, že syrové mléko pro tuto diplomovou práci je určené k přímému prodeji spotřebiteli a musí tedy splňovat přísnější kritéria, než mléko určené k dalšímu průmyslovému zpracování.

Také studie Veterinární a farmaceutické univerzity Brno (Bogdanovičová *et* Chmelař, 2014) se zabývala mikrobiologickou kvalitou syrového mléka. Zaměřila se konkrétně na automaty na území Jihomoravského kraje. Tato studie poukázala na rozdíly kvality mléka v závislosti na farmě, odkud je mléko dováženo. Z celkového počtu vzorků 30 (z deseti automatů) prokázala studie výskyt bakterie *Staphylococcus aureus* v 16 ti vzorcích. V jednom případě bylo naměřeno překročení povoleného množství CPM a na jedné z farem bylo opakovaně zjištěno vysoké množství bakterií čeledi *Enterobacteriaceae*.

Kvalitou syrového mléka z automatů se zabývala také studie Karpíškové *et al* (2010), která rovněž poukázala na rozdíly kvality mléka z automatů v závislosti na farmě, ze které pocházelo. Také v detekci bakterie *Staphylococcus aureus* byly naměřeny podobné hodnoty, kdy byla tato bakterie detekována v 56,6 % případů.

Studiem syrového mléka z mléčných automatů se zabývali také Karpíškové et al. (2011). Tato studie sledoval mikrobiologickou kvalitu mléka ve dvou mléčných automatech, kam bylo dodáváno mléko z farmy ZD Jeseník. V tomto případě byly zjištěny průměrné hodnoty CPM $8,0 \times 10^3$ a $9,0 \times 10^3$ KTJ/ml, počty koliformních bakterií se pohybovaly v rozmezí $1,0 \times 10^1 - 2,5 \times 10^2$ KTJ/ml a počet bakterií *Staphylococcus aureus* byl max. $1,0 \times 10^1$ KTJ/ml. V rámci této diplomové práce byly hodnoty CPM naměřené o něco vyšší $1,9 \times 10^3 - 1,6 \times 10^5$ KTJ/ml. Oproti tomu počty koliformních bakterií byly v rámci diplomové práce naměřené velmi podobné, ale přeci jen o něco nižší $0 - 1,5 \times 10^2$ KTJ/ml. Také u počtu bakterií *Staphylococcus aureus* byly oproti studii naměřené nižší hodnoty, konkrétně nulové.

Studie Mikrobiologická rizika v mlékárenských výrobcích – detekce patogenních bakterií (Pazlarová et al, 2011) zahrnuje rozbor, jak mléka syrového, tak i pasterovaného. Jednalo se o studii, jež byla součástí několikaletého projektu. V roce 2007 byly provedeny rozbor v prvovýrobě mléka, součástí těchto rozborů bylo i stanovení bakterií čeledi *Enterobacteriaceae*. Hodnoty získané z těchto rozborů se pohybovaly v rozmezí $60 - 1 \times 10^6$ KTJ/ml. V rámci této diplomové práce byly zjištěny hodnoty $1 - 6,9 \times 10^2$ KTJ/ml.

V roce 2009 – 2010 byl v rámci zmíněného projektu stanovován počet bakterií čeledi *Enterobacteriaceae* v syrovém mléce z tanku a v syrovém mléce před a po pasteraci. Hodnoty u syrového mléka se pohybovaly v rozmezí $7,5 \times 10^3 - 2,5 \times 10^5$ KTJ/ml. Po pasteračním ošetření klesly hodnoty bakterií čeledi *Enterobacteriaceae* na hladinu < 1 KTJ/ml. V rámci diplomové práce nebyl u vzorků pasterovaného mléka odebíraného z kamenné prodejny zjištěn výskyt bakterií této čeledě, u vzorků odebraných z rozvozového auta hodnoty značně kolísaly a pohybovaly se v celkovém rozpětí $0 - 1,7 \times 10^4$ KTJ/ml.

V období průběhu projektu došlo v České republice k značnému rozšíření automatů na syrové mléko, proto byla do projektu zařazena i studie na mikrobiologickou kvalitu syrového mléka z automatů. Odběry byly provedeny v roce 2010 celkem ze čtyř automatů, zjištěné hodnoty bakterií čeledi *Enterobacteriaceae* se pohybovaly v počtech $2 - 2,5 \times 10^3$ KTJ/ml, což je více než zjištěné hodnoty v rámci této diplomové práce $1 - 6,9 \times 10^2$ KTJ/ml.

Rozdílné hodnoty zjištěné v rámci studií z let 2007 – 2010 a této diplomové práce mohou být způsobené rozdílnou úrovní hygieny dodržované v rámci výroby mléka. Dalším důvodem může být i zvýšené zaměření kontrol na prodej syrového mléka a s tím spojené nutné dodržování limitů pro výskyt bakterií.

V rámci studie Metabolická aktivita vybraných mikroorganismů v kravském a kozím mléce (Němcová et al., 2011) byly stanovovány CPM a počty koliformních bakterií. V syrovém kravském mléce bylo naměřeno u stanovení CPM $6,4 \times 10^3$ KTJ/ml, což je méně než průměrná hodnota získaná v rámci diplomové práce $2,3 \times 10^4$ KTJ/ml. Hodnota CPM u pasterovaného kravského mléka ze studie byla $2,1 \times 10^2$ KTJ/ml, průměrná hodnota CPM pasterovaného mléka z pojízdné prodejny byla $6,4 \times 10^3$ KTJ/ml. U pasterovaného mléka z kamenné prodejny byl zjištěn CPM 0 KTJ/ml.

Počet koliformních bakterií v syrovém kravském mléce uvádí studie $2,6 \times 10^2$ KTJ/ml, v diplomové práci je průměrný obsah koliformních bakterií v syrovém mléce $2,5 \times 10^1$ KTJ/ml, tedy o řád nižší, než ve studii. Počet koliformních bakterií v pasterovaném kravském mléce, který uvádí studie, byl 14 KTJ/ml. U vzorků pasterovaného mléka z pojízdné prodejny byl průměrný obsah 7 KTJ/ml a u pasterovaného mléka nebyl výskyt koliformních bakterií prokázán.

Výsledné hodnoty stanovení provedených u syrového mléka odebraného z mlékomatu byly oproti vzorkům pasterovaného mléka vyšší. Zde bylo důvodem právě tepelné ošetření, které u syrového mléka není provedeno. Tepelným ošetřením, v tomto případě pasterací, dochází k významnému snížení počtu bakterií.

Rozdíly mezi výsledky vzorků pasterovaného mléka z kamenného obchodu, kde po celou dobu odběrů nebyl prokázán výskyt koliformních bakterií, bakterií z čeledi *Enterobacteriaceae* a ani výskyt bakterií při stanovení CPM, a pasterovaného mléka z pojízdné prodejny, kde hodnoty stanovovaných bakterií výrazně kolísaly a v několika případech přesáhly povolené limity, mohou být způsobeny více faktory.

Jedním z faktorů může být rozdílná úroveň vybavení provozů, kde k manipulaci s mlékem dochází. Dalším z faktorů může být rozdílná kvalita syrového mléka sváženého do mlékáren k tepelnému ošetření. Může zde také hrát významnou roli lidský faktor a dodržování přísných hygienických předpisů. Vzhledem k vyšším hodnotám všech stanovení provedených u mléka distribuovaného pojízdnou prodejnu, oproti pasterovanému mléku z kamenné prodejny, lze uvažovat i o možnosti nedostatečného chlazení či poruše chladicího zařízení umístěných v autech, která mléko rozvázejí.

Mléko distribuované pojízdnou prodejnu prochází pouze šetrnou pasterací, zatímco mléko z kamenné prodejny bylo ošetřeno vysokou pasterací. Při ošetření mléka pasterací dochází k redukci mikroorganismů z 95 – 99,9 %, ale v závislosti na čase a použité teplotě má

být dosaženo stejného účinku. U vyššího výskytu mikroorganismů by mohl být dalším z důvodů např. nedostatečná teplota či délka trvání tepelného ošetření.

Nulové hodnoty u pasterovaného mléka z kamenné prodejny můžou značit velmi vysokou kvalitu syrového mléka použitého k výrobě mléka pasterovaného. Také lze usuzovat na, vysoký hygienický standart, při mlékárenském zpracování.

Důvodem rozdílu ve výsledných hodnotách mezi pasterovaným mlékem může být i podíl automatizace linky. Mléko z pojízdné prodejny pochází z menší farmy, kde je vyšší podíl lidské práce, zatímco mléko z kamenné prodejny pochází z velké firmy, kde je výroba automatizována.

7 Závěr

V rámci této diplomové práce byla sledována mikrobiologická kvalita mléka distribuovaného pojízdou prodejnou, kamennou prodejnou a automatem na mléko. Sledovanými parametry byl celkový počet mikroorganismů, počet bakterií z čeledi *Enterobacteriaceae*, počet koliformních bakterií a mléka z kamenné prodejny a pojízdne prodejny byl sledován také počet bakterií *Staphylococcus aureus*. Z kamenné prodejny a z pojízdne prodejny bylo odebíráno mléko pasterované, pro porovnání mikroflóry pasterovaného mléka a syrového mléka bylo z automatu na mléko odebíráno mléko syrové.

U mléka u pojízdne prodejny bylo zaznamenáno nejvíce hodnot, které překročily povolené limity. Ze 16-ti odběrů nevyhovělo 6 odběrů na počet bakterií čeledi *Enterobacteriaceae*. Nařízení Komise (ES) č. 2073/2005 stanovuje maximální počet 10 KTJ/ml, v případě mléka z pojízdne prodejny byl stanoven i počet až $1,7 \times 10^4$ KTJ/ml. Toto mléko také překročilo limit počtu koliformních bakterií, ze 16-ti odběrů nevyhověly 4 vzorky. Zde stanovuje vyhláška 203/2003 Sb. hodnotu max. 5 KTJ/ml. V případě vzorků byl maximální zjištěný počet až $2,0 \times 10^2$ KTJ/ml. Mléko z pojízdne prodejny vyhovělo při stanovení celkového počtu mikroorganismů, maximální zjištěná hodnota $5,3 \times 10^4$ KTJ/ml byla pod limitem 10^5 KTJ/ml, který stanovuje vyhláška 132/2004 Sb. Při stanovení počtu bakterie *Staphylococcus aureus* mléko také vyhovělo, výskyt bakterie nebyl prokázán.

Vzorek pasterovaného mléka z kamenné prodejny vyhověl dle všech požadavků. Nebyl prokázán výskyt koliformních bakterií, ani bakterií z čeledi *Enterobacteriaceae*, rovněž byl stanoven nulový počet bakterií při stanovení celkového počtu mikroorganismů, také nebyl prokázán výskyt bakterie *Staphylococcus aureus*.

Syrové mléko z mlékomatu pouze v jednom případě ze 16-ti rozborů nevyhovělo. Jednalo se o stanovení celkového počtu mikroorganismů, kde byl zjištěn počet $1,6 \times 10^5$ KTJ/ml, přičemž povolený limit dle Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004 je 10^5 KTJ/ml.

Mléko prodávané v kamenné prodejně bylo mikrobiálně kvalitnější než mléko prodávané z pojízdne prodejny.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

Bogdanovičová, K., Chmelař, P. 2014. Mléko v jihomoravských automatech je bezpečné, ale až po převaření. *Via Universitatis*. 7 (6). 17.

Forsythe, S. J. 2010. *The mikrobiology of Safe Food*. Wiley-Blackwell. p 496. ISBN: 9781405140058

Freeman-Cook, L., Freeman-Cook, K., Alcamo, E. I. 2006. *Staphylococcus Aureus Infection*. Infobase Publishing. p. 182. ISBN: 9781438101682.

Göpfertová, D., Pazdiora, P., Daňová, J. 2006. *Epidemiologie, obecná a speciální epidemiologie infekčních nemocí*. Karolinum. Praha. 300 s. ISBN: 8024612321.

Karpíšková, R., Koláčková, I., Vyletřlová, M., Janštová, B. 2011. Studie „Mléčné automaty“ – nálezy původců alimentárních onemocnění v syrovém mléce. *Zprávy centra epidemiologie a mikrobiologie*. 20 (6). 212-214.

Klaban, V. 1999. *Svět mikrobů. Malý mikrobiologický slovník*. Gaudeamus. Hradec Králové. 303 s. ISBN: 8070416394.

Meshref, A. M. S. 2013. Bacteriological quality and safety of raw cow's milk and fresh cream. *Slovenian Veterinary Research*. 50 (1). 21-33.

Montville, T. J., Matthews, K. R. 2008. *Food Microbiology An Introduction*. 2nd ed. ASM Press. United States of America. p. 428. ISBN: 9781555813963.

Němcová, M., Kalhotka, L., Fišerová, H. 2011. Metabolická aktivita vybraných mikroorganismů v kravském a kozím mléce. *Mlékařské listy* 125. 10-14.

Pazlarová, J., Demnerová, K., Růžičková, H., Roubal, P., Němečková, I., Karpíšková, R. 2011. Mikrobiologická rizika v mlékárenských výrobcích – detekce patogenních bakterií. *Mlékařské listy* 128. 7-10.

- Robinson, R. K. 1993. *Modern Dairy Technology*. Springer. p. 516. ISBN: 9780751403091.
- Silva, F. V. M., Gibbs, P. A. 2012. Thermal pasteurization requirements for the inactivation of *Salmonella* in foods. *Food Research International* 45. 695–699.
- Swaminathan, B., Gerner-Smidt, P. 2007. The epidemiology of human listeriosis. *Microbes and Infection*. 9 (10). 1236-1243.
- Šilhánková, L. 2008. *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*. 3. vydání. Academia. Praha. 363 s. ISBN: 8020010246.
- Tamime, A. Y. 2009. *Milk Processing and Quality Management*. BlackwellPublishing. p. 344 ISBN: 978-1-4051-4530-5.
- Varnam, A. H., Sutherland, J. P. 2001. *Milk and Milk Products: Technology, Chemistry and Microbiology*. Aspen Publishers. United States of America. p. 453. ISBN: 0834219557.
- Vázquez-Boland, J. A., Kuhn, M., Berche, P., Chakraborty, T., Dominguez-Bernal, G., Goebel, W., González-Zorn, B., Wehland, J., Kreft, J. 2001. *Listeria* Pathogenesis and Molecular Virulence Determinants. *Clinical Microbiology Reviews*. 14 (3). 584-526.
- Vyletělová, M., Roubal, P., Karpíšková, R., Vlková, H., Hanuš, O., Bubíková, M. 2011. Mikrobiologická kvalita mléka z jesenických mléčných automatů. *Mlékařské listy* 126. 18-21.
- Walstra, P. 2013. *Dairy Technology: Principles of Milk Properties and Processes*. CRC Press. p. 752. ISBN: 9780824746414.
- Weeks, B. S., Alcamo, I. E. 2008. *Microbes and society*. 2nd ed. Jones And Bertlett Publishers. United States of America. p. 462. ISBN: 139780763746490.
- Weigelt, J. A. 2007. *MRSA*. CRC Press. p. 240. ISBN: 9781420045505.
- ČSN EN ISO 7218 (560103). *Mikrobiologie potravin a krmiv – Všeobecné požadavky a doporučení pro mikrobiologické zkoušení*. Český normalizační institut. Praha. 68 s.

Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004 kterým se stanoví zvláštní hygienická pravidla pro potraviny živočišného původu. 2004. Evropský parlament a Rada.

Nařízení Komise (EU) č. 2073/2005 o mikrobiologických kritériích pro potraviny. Evropská Komise.

Směrnice Rady 92/46/EHS o hygienických předpisech pro produkci syrového mléka, tepelně ošetřeného mléka a mléčných výrobků a jejich uvedení na trh. 1992. Evropská Rada.

Vyhláška č. 203/2003 Sb. o veterinárních požadavcích na mléko a mléčné výrobky. In: Sbíрка zákonů České republiky. 2003

Vyhláška č. 77/2003 Sb. kterou se stanoví požadavky pro mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje In: Sbíрка zákonů České republiky. 2003.

Vyhláška č. 132/2004 Sb. o mikrobiologických požadavcích na potraviny, způsobu jejich kontroly a hodnocení. In: Sbíрка zákonů České republiky. 2003

Agrární komora ČR. Priori, s. r. o. Bílé plus. [online]. [cit. 2015-01-24]. Dostupné z <<http://bileplus.cz/o-projektu#.VSDoSauYdKq>>

Český statistický úřad. 2014. Spotřeba konzumního mléka a sýrů (na obyvatele za rok). [online]. [cit. 2015-01-24]. Dostupné z <<https://www.czso.cz/csu/czso/statistiky>>

Informační centrum Ministerstva zemědělství. A-Z Slovník pro spotřebitele. Označování mléka. [online]. [cit. 2015-02-3]. Dostupné z <<http://www.bezpecnostpotravin.cz/az/termin/92074.aspx>>

Klasa. 2014. Značka klasa nabídne další kvalitní potraviny. [online]. [cit. 2015-02-08]. Dostupné z <<http://www.eklasa.cz/tiskove-zpravy/clanek/:znacka-klasa-nabidne-dalsi-kvalitni-potraviny>>

Ministerstvo zemědělství ČR. 2006. Výzkumný ústav potravinářský Praha. Nejlepší dostupné techniky v průmyslu potravin, nápojů a mléka. Upravený referenční dokument. [online]. [cit. 2014-12-17]. Dostupné z <<http://eagri.cz/public/web/file/32314/PriruckaBREFmleko.doc>>

Mléko z farmy. 2015. Rozvozové trasy. [online]. [cit. 2015-01-10]. Dostupné z <<http://www.mlekozfarmy.cz/rozvozove-trasy/>>

Mléko z farmy. 2011. Mléčné listy 1. [online]. [cit. 2014-12-27]. Dostupné z <<http://www.mlekozfarmy.cz/pro-zakazniky/sekce/mlecn-listy/>>

OLMA a.s. Mléko čerstvé selské. [online]. [cit. 2015-01-02]. Dostupné z <http://www.olma.cz/mleko-mleko-cerstve-selske-3-5---d_6_10.html>

Polášek, O., Automaty na mléko. [online]. [cit. 2015-01-21]. Dostupné z <<http://www.oldrichpolacek.cz/automaty-na-mleko>>

TetraPak. Je čerstvé mléko zdravější než trvanlivé? [online]. 3. Června 2014 [cit. 2014-10-02]. Dostupné z <<http://www.tetrapak.com/cz/about-tetra-pak/press-room/news/milk-myths>>

Toko Agri a.s. Jak zacházet s čerstvým mlékem? [online]. [cit. 2015-01-21]. Dostupné z <<http://www.tMLEKO.cz/cerstve-mleko/2.117.o-mlece/2.118.jak-zachazet-s-cerstvym-mlekiem/>>