

OBSAH

1.	KULTIVAČNÍ METODY (MVDr. Šárka Bursová, Ph.D.)	7
1.1.	Vybrané komerční kultivační soupravy	8
1.2.	Systém TEMPO	8
1.2.1.	Základní principy	9
1.2.2.	Provedení a vyhodnocení testu	9
1.2.3.	Výhody, nevýhody a využití metody TEMPO v praxi	10
2.	AUTOMATIZOVANÉ SYSTÉMY VYUŽÍVANÉ PŘI IDENTIFIKACI MIKROORGANISMŮ (Mgr. Marta Dušková, Ph.D.)	11
2.1.	Systém VITEK[®] (MVDr. Šárka Bursová, Ph.D.)	11
2.1.1.	Základní principy	11
2.1.2.	Výhody, nevýhody a využití systému VITEK [®] v praxi	12
2.2.	Systém Biolog	12
2.2.1.	Základní principy	12
2.2.2.	Výhody, nevýhody a využití systému Biolog v praxi	12
2.3.	Hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF	13
2.3.1.	Základní principy	13
2.3.1.1.	Příprava izolátů	14
2.3.2.	Výhody a nevýhody metody MALDI-TOF MS	15
2.3.3.	Využití metody MALDI-TOF MS v praxi	15
2.4.	Biosenzory	15
2.4.1.	Základní principy	15
2.4.1.1.	Biorekogniční část	16
2.4.1.2.	Fyzikálně-chemický převodník	16
2.4.2.	Výhody a nevýhody biosenzorů	17
2.4.3.	Využití biosenzorů v praxi	17
3.	MIKROSKOPICKÉ METODY (MVDr. Šárka Bursová, Ph.D.)	18
3.1.	Fluorochromy a sondy používané v mikroskopii	18
3.1.1.	Fluorochromy	18
3.1.1.1.	Využití fluorochromů při vitálním barvení	18
3.1.2.	Molekulární sondy	19
3.2.	Základní druhy mikroskopie	19
3.2.1.	Světelná (optická) mikroskopie	19
3.2.2.	Fluorescenční mikroskopie	20
3.2.2.1.	Epifluorescenční mikroskopie	20
3.2.3.	Elektronová mikroskopie	20
3.3.	Přímá epifluorescenční filtrační technika – DEFT	21
3.3.1.	Základní principy	21
3.3.2.	Stanovení celkového počtu mikroorganismů v syrovém mléce	21
3.3.3.	Modifikace metody DEFT	21
3.3.4.	Automatizace metody DEFT – systém BactoScan 8000	22
3.3.5.	Výhody, nevýhody a využití metody DEFT v praxi	22
3.4.	Průtoková cytometrie	22
3.4.1.	Základní principy, složení průtokového cytometru	22
3.4.2.	Výhody a nevýhody průtokové cytometrie	23
3.4.3.	Využití průtokové cytometrie v praxi	24
3.4.3.1.	Využití průtokové cytometrie při hodnocení kvality syrového mléka	24

4.	IMUNOLOGICKÉ METODY (MVDr. Šárka Bursová, Ph.D.)	25
4.1.	Aglutinační testy	25
4.2.	Imunochromatografická metoda	26
4.2.1.	Základní principy	26
4.2.2.	Výhody, nevýhody a využití imunochromatografie v praxi	27
4.3.	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay – ELISA	28
4.3.1.	Základní principy	28
4.3.2.	Konfigurace ELISA metod používaných v mikrobiologii potravin	28
4.3.2.1.	Sendvičová ELISA	28
4.3.2.2.	Nepřímá sendvičová ELISA	29
4.3.2.3.	Kompetitivní ELISA	29
4.3.3.	Komerčně dostupné ELISA soupravy	30
4.3.4.	Výhody, nevýhody a využití ELISA metod v praxi	31
4.4.	Enzyme-Linked Fluorescent Assay – ELFA (MVDr. Lenka Necidová, Ph.D.)	32
4.4.1.	Základní principy	32
4.4.2.	Provedení metody a vyhodnocení výsledků	33
4.4.3.	Výhody, nevýhody a využití metody ELFA v praxi	34
5.	METODY MOLEKULÁRNÍ BIOLOGIE (Mgr. Marta Dušková, Ph.D.)	35
5.1.	Způsoby izolace nukleových kyselin	35
5.1.1.	Izolace nukleové kyseliny prokaryot	35
5.1.2.	Izolace nukleové kyseliny virů	35
5.2.	Polymerázová řetězová reakce (PCR)	36
5.2.1.	Základní principy	36
5.2.2.	Detekce PCR produktů	37
5.2.3.	Modifikace PCR	37
5.2.3.1.	Real-time PCR (qPCR)	39
5.2.4.	Inhibitory polymerázové řetězové reakce	40
5.2.5.	Výhody, nevýhody a využití metody PCR v praxi	40
5.3.	Hybridizační techniky	41
5.3.1.	Základní principy	41
5.3.2.	Hybridizace na pevném podkladu	42
5.3.3.	Mikročipy („microarrays“)	43
5.3.4.	Výhody, nevýhody a využití hybridizačních technik v praxi	43
6.	NEPŘÍMÉ METODY (MVDr. Šárka Bursová, Ph.D.)	44
6.1.	Elektrické metody	44
6.1.1.	Teorie impedance	44
6.1.2.	Základní principy	44
6.1.2.1.	Přímá metoda měření impedance	44
6.1.2.2.	Nepřímá metoda měření impedance	45
6.1.2.3.	Faktory ovlivňující impedanční stanovení	45
6.1.3.	Měřicí systémy	46
6.1.4.	Výhody a nevýhody elektrických metod	46
6.1.5.	Využití elektrických metod v praxi	47
6.2.	Radiometrické stanovení ¹⁴CO₂	47
6.3.	<i>Limulus</i> Amebocyte Lysate test – LAL test	48
6.3.1.	Detekce pozitivní reakce	48
6.3.2.	Zkumavkový LAL test	48
6.3.3.	Využití LAL testu v praxi	48

6.4.	ATP bioluminiscenční test	49
6.4.1.	Základní principy	49
6.4.2.	Stanovení počtu mikroorganismů v potravinách	50
6.4.2.1.	Využití v praxi	50
6.4.2.2.	Výhody a nevýhody	51
6.4.3.	Monitoring hygieny a sanitace v potravinářských provozech	51
6.4.3.1.	Výhody a nevýhody	52
6.4.4.	Využití ATP bioluminiscence při detekci vybraných patogenů	52
6.4.5.	Měřicí přístroje	52
7.	STANOVENÍ CITLIVOSTI MIKROORGANISMŮ K AML	
	(MVDr. Šárka Bursová, Ph.D.)	53
7.1.	Rezistence mikroorganismů k AML	53
7.1.1.	Antimikrobiální látky a jejich účinek na mikroorganismy	53
7.1.2.	Rezistence mikroorganismů k antimikrobiálním látkám	53
7.1.2.1.	Mechanismy rezistence mikroorganismů k AML	54
7.1.2.2.	Vznik a šíření rezistence mikroorganismů k AML	54
7.2.	Semikvantitativní metody	55
7.2.1.	Disková difúzní metoda	55
7.3.	Kvantitativní – diluční metody	56
7.3.1.	Agarová diluční metoda	56
7.3.1.1.	Provedení a vyhodnocení testu	56
7.3.1.2.	Výhody a nevýhody agarové diluční metody	57
7.3.2.	Diluční mikrometoda (mikrodiluční metoda)	57
7.3.2.1.	Provedení a vyhodnocení testu	57
7.3.2.2.	Výhody a nevýhody diluční mikrometody	58
7.3.3.	Etest	58
7.3.3.1.	Provedení a vyhodnocení testu	58
7.3.3.2.	Výhody, nevýhody a využití Etestu v praxi	59
7.4.	Genotypové metody stanovení rezistence	59
7.4.1.	Odhalování mutací spojených s rezistencí k AML	59
7.4.2.	Výhody a nevýhody použití genotypových metod	60
8.	STANOVENÍ BAKTERIÁLNÍCH TOXINŮ (MVDr. Lenka Necedová, Ph.D.)	61
8.1.	Toxiny <i>Staphylococcus aureus</i>	61
8.1.1.	Stafylokokové enterotoxiny	61
8.1.2.	Přímé metody detekce stafylokokových enterotoxinů	62
8.1.2.1.	Imunologické metody	62
8.1.2.2.	Fyzikálně-chemické metody	64
8.1.3.	Nepřímé metody detekce stafylokokových enterotoxinů	64
8.1.4.	Využití v praxi	65
8.2.	Toxiny <i>Bacillus cereus</i>	66
8.2.1.	Emetický toxin a diarhogenní enterotoxiny	66
8.2.2.	Přímé metody detekce toxinů <i>B. cereus</i>	67
8.2.2.1.	Imunologické metody	67
8.2.2.2.	Fyzikálně-chemické metody	67
8.2.2.3.	Další přímé metody	68
8.2.3.	Nepřímé metody detekce toxinů <i>B. cereus</i>	68
8.2.4.	Využití v praxi	68

8.3.	Toxiny <i>Clostridium botulinum</i>	69
8.3.1.	Botulotoxiny	69
8.3.2.	Metody detekce toxinů <i>C. botulinum</i>	70
8.3.2.1.	Průkaz botulotoxinu	70
8.3.2.2.	Identifikace typu botulotoxinu	70
8.3.2.3.	Další metody	70
8.3.3.	Využití v praxi	70
9.	TYPIZAČNÍ METODY A JEJICH VYUŽITÍ PŘI EPIDEMIOLOGICKÉM ŠETŘENÍ ALIMENTÁRNÍCH ONEMOCNĚNÍ	
	(doc. MVDr. Renáta Karpíšková, Ph.D., Mgr. Petra Myšková)	71
9.1.	Alimentární onemocnění	71
9.2.	Typizační metody	71
9.2.1.	Sérotypizace	72
9.2.1.1.	Antigenní struktura	72
9.2.2.	Fágová typizace	73
9.2.3.	Rezistence k antimikrobiálním látkám	73
9.2.4.	Makrorestrikční analýza a pulsní gelová elektroforéza (PFGE)	74
9.2.5.	Sekvenční metody	75
9.3.	Případové studie	75
9.3.1.	Případová studie 1	75
9.3.2.	Případová studie 2	76
9.3.3.	Případová studie 3	76
9.3.4.	Případová studie 4	76
	Použitá literatura	77