

Poděkování

Príspevek vznikl za podpory projektů MZe RO1417 a NAZV KUS QJ1510339. Autoři děkují pracovníkům LRM Buštěhrad (ČMSCH) panu Ing. J. Zlatníčkovi, paní Ing. Z. Klímové, panu Z. Motyčkoví, panu Ing. P. Kopunczovi, paní E. Holejšovské, paní J. Vosátkové, panu P. Vaňkovi a panu R. Hlavničkovi za konstruktivní technickou spolupráci.

Literární reference

- BUCEK, P.- HERING, P.- HŘEBEN, F. (2015 a): Kontrola užitkovosti na farmách s dojícími roboty a elektronickými mlékoměry. Možnosti využití dojitosti z více než jednoho dne v kontrole užitkovosti (verze 0.2). ČMSCH, a.s., *Metodický list* - review, 30.
- BUCEK, P.- ZÖTTL, K.- KYNTÁJÁ, J.- MIGLIOR, F.- LECLERC, H.- VAN DER WESTHUIZEN, J.- KUWAN, K.- LAVON, Y.- HAASE, K.- TREJO, C.- RADZIO, D.- ELSAID OUDAH, Z. M. (2015 b): World-Wide trends in milk-recording in cattle. ICAR, Krakow
- ČMSCH: Souborné zásady KU 2014. Interní, veřejně dostupný materiál, Českomoravská společnost chovatelů, a.s., Hradištko, 2013, 19. <http://www.cmsch.cz/ke-stazeni/?&print=1/>
- DE KONING, K. (2011): Automatic milking - Common practice on over 10,000 dairy farms worldwide. Faculty of veterinary science, University of Sydney, Symposium: *Current topics in dairy production*, 16, 14-31.
- DOLEŽAL, O.- HLÁSNÝ, J.- JÍLEK, F.- HANUŠ, O.- VEGRICHT, J.- PYTLOUN, J.- MATOUŠ, E.- KVAPILÍK, J. (2000): Složení a kvalita mléka. Odborná publikace "Mléko, dojení, dojírny", kap. 4 Agrospoj Praha, 239.
- ECKSCHLAGER, K.- HORSÁK, I.- KODEŠ, Z. (1980): Vyhodnocování analytických výsledků a metod. Praha, SNTL.
- GANTNER, V.- JOVANOVAC, S.- KLOPČIČ, M.- CASSANDRO, M.- RAGUŽ, N.- KUTEROVAC, K. (2009): Methods for estimation of daily and lactation milk yields from alternative milk recording scheme in Holstein and Simmental cattle breeds. *Ital. J. Anim. Sci.*, 8, 4, 519-530.
- HANUŠ, O.- FRELICH, J.- JANŮ, L.- MACEK, A.- ZAJIČKOVÁ, I.- GENČUROVÁ, V.- JEDELSKÁ, R. (2007): Impact of different milk yields of cows on milk quality in Bohemian spotted cattle. *Acta Vet.* Brno, 76, 4, 563-571.
- HERING, P.- BUCEK, P.- HŘEBEN, F.- PYTLOUN, P.- PYTLOUN, J.- MATOUŠ, E. (2005): 100 let kontroly mléčné užitkovosti skotu v Čechách, na Moravě a ve Slezsku. ISBN 80-239-5481-4, 105.
- HERING, P.- HANUŠ, O.- DUFEK, A.- SAMKOVÁ, E.- JEDELSKÁ, R.- KRÁLÍČEK, T.- KOPECKÝ, J. (2010): Odhad složení mléka v celodenním vzorku kontroly užitkovosti z dílčího výsledku ranního a večerního dojení u trojího dojení denně s variabilním intervalem. Výzkum v chovu skotu / *Cattle Research*, LII, 191, 3, ISSN 0139-7265, 12-21.
- HERING, P.- HANUŠ, O.- JEDELSKÁ, R.- KRÁLÍČEK, T.- KOPECKÝ, J. (2008 a): Vývoj nové součásti systému kontroly mléčné užitkovosti, tzv. superkontroly. Výzkum v chovu skotu / *Cattle Research*, L, 183, 3, a, ISSN 0139-7265, 54-65.
- HERING, P.- HANUŠ, O.- JEDELSKÁ, R.- REJLEK, V.- KOPECKÝ, J. (2007): Validace spolehlivosti vybraných metod odběru vzorků mléka pro zajištění věrohodnosti výsledků analýz mléka v kontrole užitkovosti dojníc v České republice. Výzkum v chovu skotu / *Cattle Research*, XLIX, 179, ISSN 0139-7265, 3, 40-49.
- HERING, P.- HANUŠ, O.- KRÁLÍČEK, T.- JEDELSKÁ, R. (2008 b): Superkontrola - nová součást systému kontroly mléčné užitkovosti. *Zemědělský týdeník*, 32, 7.8., 12-13.
- CHLÁDEK, G.- HANUŠ, O.- FALTA, D.- JEDELSKÁ, R.- DUFEK, A.- ZEJDOVÁ, P.- HERING, P. (2011): Asymmetric time interval between evening and morning milking and its effect on the total daily milk yield. *Acta univ. agric. et silvic.* Mendel. Brun., ISSN 1211-8516, LIX, 3, 73-80.
- ICAR: Guidelines, Kuopio, 2006.
- ICAR: International agreement of recording practices. Approved by the general assembly held in Riga, Latvia, on June 2010, 479.
- ICAR: International agreement of recording practices. Approved by the general assembly held in Cork, Ireland, on June 2012, 580.
- ICAR: Technical Series No. 13. Proceedings of the 36 ICAR Biennial Session held in Niagara Falls, USA, 16 - 20 June 2008, January 2009, 458.
- JANŮ, L.- HANUŠ, O.- FRELICH, J.- MACEK, A.- ZAJIČKOVÁ, I.- GENČUROVÁ, V.- JEDELSKÁ, R. (2007): Influences of different milk yields of Holstein cows on milk quality indicators in the Czech Republic. *Acta Vet.* Brno, 76, 4, 553-561.

- KATZ, G. (2007): Milk Analyzer. Real Time Measuring of Milk Components. 2. Patented in Europe and pending in USA. June 2nd, - Afilab™. 2007 http://www.icar.org/Documents/Verona_Presentations/SAE_Afikim_Katz.pdf
- KLOPČIČ, M.- MALOVRH, Š.- GORJANC, G.- KOVAČ, M.- OŠTERC, J. (2003): Prediction of daily milk fat and protein content using alternating (AT) recording scheme. *Czech J. Anim. Sci.*, 48, 11, 449-458.
- KVAPILÍK, J.- KUČERA, J.- BUCEK, P. et al. (2017): Chov skotu v České republice. Ročenka 2016. ČMSCH a.s. Praha, červenec, 106.
- LAURITSEN, U. (2006): Report of ICAR Sub-Committee on recording devices. EAAP publication No. 121, Proceedings of the 35th Biennial Session of ICAR, Kuopio, Finland, June, Breeding, production recording, health and the evaluation of farm animals, ISBN 978-90-8686-030-2, 2007, 183-184.
- LIU, Z.- REENTS, R.- REINHARDT, F. T.- KUWAN, K. (2000): Approaches to estimating daily yield from single milk testing schemes and use of a.m.-p.m. records in test-day model genetic evaluation in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 83, 2672-2682.
- PALMER, R. W.- JENSEN, E. L.- HARDIE, A. R. (1994): Removal of within-cow differences between morning and evening milk yields. *J. Dairy Sci.*, 77, 2663-2670.
- REMOND, B.- POMIES, B.- JULIEN, C.- GUINARD-FLAMENT, J. (2009): Performance of dairy cows milked twice daily at contrasting intervals. *Animal*, 3, 10, 1463-1471.
- ROELOFS, R. M. G.- JONG, G.- DE ROOS, A. P. W. (2007): Renewed estimation method for 24-hour fat percentage in AM/PM milk recording scheme. EAAP publication No. 121, Proceedings of the 35th Biennial Session of ICAR, Kuopio, Finland, June 2006, Breeding, production recording, health and the evaluation of farm animals, ISBN 978-90-8686-030-2, 31-36.
- WIRTZ, N.- BÜNGER, A.- KUWAN, K.- REINHARDT, F.- REENTS, R. (2007): Calculation of the lactation performance from daily milk recording data. EAAP publication No. 121, Proceedings of the 35th Biennial Session of ICAR, Kuopio, Finland, June 2006, Breeding, production recording, health and the evaluation of farm animals, ISBN 978-90-8686-030-2, 49-53.

Korespondující autor: Oto Hanuš

Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o. Praha
Ke Dvoru 12 a, 160 00 Praha 6, Vokovice
hanus.oto@seznam.cz

Přijato do tisku: 11. 9. 2017

Lektorováno: 2. 10. 2017

KULTIVAČNÍ METODY STANOVENÍ STAFYLOKOKŮ V SYROVÉM MLÉCE A JEJICH POROVNÁNÍ

Irena Němečková¹, Jana Chramostová¹,
Marcela Klimešová¹, Petr Roubal¹, Tereza Gelbíčová²,
Renata Karpíšková²

¹ - Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o.

² - Výzkumný ústav veterinárního lékařství v.v.i.

Cultivation methods for the determination of staphylococci in raw milk and their comparison

Abstrakt

Koaguláza-pozitivní a koaguláza-negativní stafylokoky patří k významným ukazatelům kvality syrového mléka a hygieny výrobního procesu, částečně i s dopadem na bezpečnost finálních mléčných výrobků. Pro jejich

stanovení byly porovnány vybrané kultivační metody, a to s využitím analýzy 26 vzorků syrového mléka a testování růstu a identifikace z nich získaných izolátů. Nejhůře se osvědčily HiCrome Aureus agar s teluricitanem a žloutkovou emulzí a Vogel-Johnson agar s teluricitanem. Pro stanovení koaguláza-pozitivních stafylokoků byl nejvhodnější referenční Baird-Parker agar s fibrinogenem z králičí plasmy. *Staphylococcus* agar bez azidu sodného se ukázal být užitečný k izolaci bakterií rodu *Staphylococcus* jako celku, za předpokladu že bude následovat konfirmace. Mannitol salt phenol red agar se spíše než ke stanovení stafylokoků osvědčil ke stanovení Gram-pozitivních halotolerantních bakterií. Může tedy nalézt uplatnění nejen při analýze syrového mléka, ale i solných lázní a nálevů, apod.

Klíčová slova: *Staphylococcus aureus*, koaguláza-pozitivní stafylokoky, koaguláza-negativní stafylokoky, selektivní kultivační média, mikrobiologická kvalita syrového kravského mléka

Abstract

Both coagulase-positive and coagulase-negative staphylococci are important indicators of raw milk quality and production process hygiene with partial impact on the safety of final dairy products, as well. Selected cultivation methods for their determination were compared using analysis of 26 raw milk samples as well as growth tests and identification of isolated strains. HiCrome Aureus agar with tellurite and yolk emulsion and Vogel-Johnson agar with tellurite performed the worst. For the determination of coagulase-positive staphylococci, the reference Baird-Parker agar with rabbit plasma fibrinogen was the most suitable. *Staphylococcus* agar without sodium azide revealed to be a useful tool for the isolation of genus *Staphylococcus* as a whole providing that the confirmation follows. Instead of the determination of staphylococci, Mannitol salt phenol red agar performed well in the determination of Gram-positive halotolerant bacteria. Thus, it could be applied not only in the analysis of raw milk but also brines and pickles, etc.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, coagulase-positive staphylococci, coagulase-negative staphylococci, selective cultivation media, microbiological quality of raw cow milk

Tab. 1 Specifikace testovaných půd

Vlastnost	Projev	Baird-Parker agar + supl.	HiCrome Aureus agar + supl.	<i>Staphylococcus</i> agar bez supl. ¹	Vogel-Johnson agar + supl.	Mannitol salt phenol red agar
Koagulázová aktivita	zóna precipitátu fibrinu	ano	ne	ne	ne	ne
Lecitinázová aktivita	projasněná zóna	ne	ano	ne	ne	ne
Redukce teluricitanu	šedo-černé kolonie	ano	ano	ne	ano	ne
Fermentace mannitolu	žluté kolonie a zóny	ne	ne	ano/ne ²	ano	ano
Růst v přítomnosti 7,5 % NaCl	nárůst kolonií	ne	ne	ano	ne	ano
Růst v přítomnosti 0,5 % LiCl	nárůst kolonií	ano	ano	ne	ano	ne
Fosfatidylinositol fosfolipáza	modré kolonie ³	ne	ano	ne	ne	ne

¹ - přídavek azidu sodného lze použít pro selektivní stanovení koaguláza-pozitivních stafylokoků

² - půda sice obsahuje mannitol, avšak acidobazický indikátor nikoliv - fermentaci mannitolu tedy nelze prokázat

³ - modré kolonie v důsledku štěpení chromogenního substrátu tvoří např. *L. monocytogenes*, zatímco *S. aureus* tvoří kolonie zbarvené šedo-černě v důsledku redukce teluricitanu

Úvod

Koaguláza-pozitivní stafylokoky patří mezi mikrobiologická kritéria pro potraviny podle Nařízení Komise (ES) č. 2073/2005 ve znění pozdějších předpisů. Pro mléčné výrobky toto nařízení udává povinnost stanovovat koaguláza-pozitivní stafylokoky, jakožto kritéria hygieny výrobního procesu, v sušeném mléce, sušené syrovátce a v některých typech sýrů (sýry vyrobené ze syrového mléka, sýry vyrobené z mléka, které bylo podrobena nižšímu tepelnému ošetření než pasterizaci, zrající sýry, nezrající měkké sýry). Stafylokokové enterotoxiny jsou pro tytéž typy mléčných výrobků kritériem bezpečnosti potravin.

Rod *Staphylococcus* zahrnuje téměř padesát druhů, které mohou být na základě tvorby vázané plazma-koagulázy (clumping factoru) rozděleny do dvou skupin - koaguláza-pozitivní a koaguláza-negativní stafylokoky. V mléce a mléčných výrobcích se nejčastěji vyskytují koaguláza-pozitivní *S. aureus*, a dále např. *S. intermedius*, *S. hyicus*, *S. schleiferi* či *S. lugdunensis* a koaguláza-negativní *S. epidermidis*, *S. warneri*, *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. simulans*, *S. carnosus*, *S. saprophyticus*, *S. cohnii*, *S. xylosus* a další. Zatímco koaguláza-pozitivní stafylokoky je možné označit za patogeny člověka a/nebo zvířat, koaguláza-negativní stafylokoky byly po dlouhou dobu považovány za nepatogenní. Nicméně v současnosti jsou považovány za podmíněné patogeny, které mohou u oslabených jedinců vyvolat onemocnění. Závažné jsou především infekce krevního řečiště. Navíc některé z nich mohou být také producenty enterotoxinů (Sedláček, 2007).

Kromě toho koaguláza-pozitivní i koaguláza-negativní stafylokoky patří mezi významné původce mastitid dojného skotu. Zatímco *S. aureus* může způsobovat jak subklinické, tak závažné klinické formy mastitidy, infekce koaguláza-negativními stafylokoky mívá méně dramatické projevy. Nicméně z hlediska četnosti výskytu jsou koaguláza-negativní stafylokoky významnější než *S. aureus* (Taponen a Pyörälä, 2009). Syrové mléko od dojnic se subklinickou mastitidou tak může být významným zdrojem obou skupin stafylokoků v mlékárenských provozech. Riziko kontaminace mléčných výrobků stafylokoky navíc zhoršuje jejich střední až vysoká schopnost tvořit biofilmy a ulpívat na površích technologických zařízení (Felipe a kol., 2017, Snel a kol., 2014, Martins a kol., 2017).

Tab. II Kmeny stafylokoků z pracovní sbírky VÚM

Druh	Původ	Označení kmenů
<i>S. aureus</i>	kravské mléko	446, 448, 529
	kozí mléko	568, 569
	nozdry ovce	64
	filtr na kravské mléko	601
	výtěry z nosu	9, 22, 23, 34, 35
<i>S. haemolyticus</i>	kravské mléko	284, 376, 528, 524
<i>S. warneri</i>	kravské mléko	482, 589
<i>S. chromogenes</i>	kravské mléko	203, 502

Z výše uvedeného vyplývá význam obou skupin stafylokoků pro mlékárenství a nutnost mít k dispozici vhodné metody jejich detekce a stanovení. I přes prudký rozvoj molekulárně-biologických a instrumentálních mikrobiologických metod mlékárenské podniky stále využívají převážně klasické kultivační postupy.

Pro stanovení koaguláza-pozitivních stafylokoků těmito postupy jsou k dispozici normy ČSN EN ISO 6888-1 (1999) a ČSN EN ISO 6888-2 (1999), přičemž podle změny A1 z roku 2004 je druhá jmenovaná norma pro mlékárenské vzorky vhodnější. Pro stanovení koaguláza-negativních stafylokoků speciální kultivační postup neexistuje. Komerčně však jsou dostupné různé půdy pro stanovení stafylokoků, ať už umožňující odlišit koaguláza-pozitivní stafylokoky, či niko-

liv. Cílem této práce tedy je porovnat kultivační metody stanovení stafylokoků v mlékárenských vzorcích, přičemž jako vzorky postihující pestrost pro mlékárenství významných mikroorganismů bylo zvoleno syrové mléko.

Materiál a metody

Analýza syrového mléka

Analýzováno bylo 26 cisternových vzorků syrového kravského mléka. Stanovení probíhalo za níže uvedených podmínek, přičemž jednotlivé půdy jsou blíže specifikovány v Tab. I:

- celkový počet mikroorganismů (CPM) na GTK agaru (MILCOM a.s.) po kultivaci při 30 °C/72 h,
- koaguláza-pozitivní stafylokoky podle ČSN EN ISO 6888-2 (1999) na Baird-Parker agaru s RPF suplementem obsahujícím králičí plasmu a fibrinogen (MILCOM a.s.) po kultivaci při 37 °C/24-48 h,
- koaguláza-pozitivní stafylokoky na HiCrome Aureus agaru se suplementem obsahujícím teluricitan draselný a žlutkovou emulzi (Sigma-Aldrich) po kultivaci při 37 °C/24-48 h,
- stafylokoky na *Staphylococcus agaru* (Sigma-Aldrich) bez přídavku azidu sodného po kultivaci při 37 °C/24-48 h,

Tab. III Výsledky rozborů syrového mléka (KTJ/ml)

Vzorek	CPM	Baird-Parker agar + supl.		HiCrome Aureus agar + supl.		Staphy. agar bez supl.	Vogel-Johnson agar + supl.		Mannitol salt phenol red agar	
		Σ	CPS	Σ	CPS		Σ	CPS	Σ	CPS
1	1,1 x 10 ⁶	6,7 x 10 ²	<10	4,5 x 10 ⁴	<10	7,9 x 10 ³	5,6 x 10 ⁴	<10	7,9 x 10 ³	<10
2	3,4 x 10 ⁷	4,3 x 10 ²	<10	4,1 x 10 ³	<10	4,3 x 10 ³	2,1 x 10 ⁵	<10	5,0 x 10 ²	<10
3	2,0 x 10 ⁴	1,3 x 10 ³	<10	4,2 x 10 ³	<10	3,0 x 10 ³	3,0 x 10 ³	<10	1,8 x 10 ³	<10
4	1,9 x 10 ⁷	6,7 x 10 ³	<10	1,4 x 10 ⁴	<10	1,5 x 10 ⁴	3,6 x 10 ⁴	<10	4,3 x 10 ²	<10
5	1,0 x 10 ⁶	2,0 x 10 ³	<10	1,4 x 10 ⁴	<10	ND	9,0 x 10 ⁴	<10	3,6 x 10 ³	1,5 x 10 ²
6	8,4 x 10 ⁵	2,5 x 10 ³	<10	2,0 x 10 ⁴	<10	ND	1,2 x 10 ⁴	<10	2,4 x 10 ⁴	<10
7	5,9 x 10 ⁵	2,4 x 10 ³	<10	2,2 x 10 ⁴	<10	5,7 x 10 ³	9,5 x 10 ³	<10	3,1 x 10 ³	<10
8	1,4 x 10 ⁶	1,3 x 10 ³	<10	7,0 x 10 ³	<10	4,7 x 10 ³	1,2 x 10 ⁴	<10	1,1 x 10 ³	1,9 x 10 ²
9	2,1 x 10 ⁵	1,5 x 10 ³	<10	8,5 x 10 ³	<10	ND	6,5 x 10 ³	<10	1,5 x 10 ³	1,5 x 10 ³
10	2,4 x 10 ⁵	5,9 x 10 ²	<10	4,4 x 10 ³	<10	2,9 x 10 ³	5,5 x 10 ³	<10	6,0 x 10 ²	<10
11	3,5 x 10 ⁵	8,7 x 10 ²	<10	2,5 x 10 ⁴	<10	ND	2,4 x 10 ⁴	<10	4,1 x 10 ³	4,1 x 10 ³
12	7,2 x 10 ⁵	1,9 x 10 ³	<10	2,5 x 10 ⁴	<10	1,3 x 10 ⁴	6,8 x 10 ⁴	<10	3,1 x 10 ⁴	<10
13	7,0 x 10 ⁵	2,1 x 10 ³	<10	1,0 x 10 ⁴	<10	6,0 x 10 ²	3,0 x 10 ³	<10	5,3 x 10 ²	3,0 x 10 ¹
14	4,9 x 10 ⁵	3,7 x 10 ²	<10	1,6 x 10 ⁴	<10	1,4 x 10 ⁴	3,4 x 10 ⁴	<10	6,0 x 10 ²	<10
15	4,0 x 10 ⁵	2,2 x 10 ³	<10	7,6 x 10 ³	<10	8,0 x 10 ²	2,2 x 10 ⁴	<10	4,2 x 10 ³	<10
16	6,4 x 10 ⁶	2,7 x 10 ²	<10	6,2 x 10 ³	<10	5,0 x 10 ²	5,4 x 10 ⁴	<10	<10	<10
17	1,2 x 10 ⁵	7,3 x 10 ²	<10	3,2 x 10 ⁴	<10	4,3 x 10 ³	7,5 x 10 ³	<10	1,0 x 10 ³	<10
18	1,2 x 10 ⁵	9,8 x 10 ²	<10	3,4 x 10 ³	<10	8,0 x 10 ²	2,0 x 10 ³	<10	7,0 x 10 ²	<10
19	4,0 x 10 ⁴	3,5 x 10 ²	3,0 x 10 ¹	3,5 x 10 ²	<10	6,0 x 10 ²	8,0 x 10 ³	<10	1,4 x 10 ²	<10
20	1,1 x 10 ⁵	1,6 x 10 ³	<10	1,9 x 10 ³	<10	1,2 x 10 ³	4,6 x 10 ⁴	<10	4,0 x 10 ²	<10
21	1,2 x 10 ⁶	3,4 x 10 ³	<10	2,8 x 10 ³	1,0 x 10 ²	1,9 x 10 ³	2,2 x 10 ⁵	<10	1,0 x 10 ³	<10
22	4,3 x 10 ⁶	2,6 x 10 ³	<10	1,6 x 10 ³	<10	1,1 x 10 ³	5,2 x 10 ⁴	<10	8,1 x 10 ²	7,0 x 10 ¹
23	1,2 x 10 ⁵	1,6 x 10 ³	<10	2,6 x 10 ³	5,5 x 10 ²	6,7 x 10 ²	3,4 x 10 ⁴	<10	4,1 x 10 ²	<10
24	1,4 x 10 ⁶	9,6 x 10 ³	9,9 x 10 ²	1,3 x 10 ⁴	4,0 x 10 ³	6,2 x 10 ³	5,3 x 10 ⁴	<10	4,7 x 10 ⁵	4,7 x 10 ⁵
25	1,0 x 10 ⁶	7,3 x 10 ³	5,2 x 10 ²	9,4 x 10 ³	6,2 x 10 ³	4,7 x 10 ³	2,4 x 10 ⁴	<10	2,6 x 10 ⁴	1,6 x 10 ⁴
26	1,4 x 10 ⁵	9,0 x 10 ³	4,7 x 10 ²	8,7 x 10 ³	1,4 x 10 ³	4,2 x 10 ⁴	7,6 x 10 ⁴	<10	2,9 x 10 ⁴	1,7 x 10 ⁴

Σ - suma všech mikroorganismů vykultivovaných za podmínek metody

CPS - koaguláza-pozitivní stafylokoky, popř. obdobná skupina mikroorganismů stanovených za podmínek metody

ND - nestanoveno

- koaguláza-pozitivní a mannitol-utilizující stafylokoky na Vogel-Johnson agaru se suplementem teluričitanu draselného (Sigma-Aldrich) po kultivaci při 37 °C/24-48 h,
- patogenní stafylokoky na Mannitol salt phenol red agaru (Sigma-Aldrich) po kultivaci při 37 °C/24-48 h.

Testování izolovaných kmenů

Z rozborů syrového mléka na testovaných půdách byly izolovány vybrané kolonie, a to jak kolonie typické pro stafylokoky či koaguláza-pozitivní stafylokoky, tak ostatní kolonie rostoucí za podmínek metody. Takto izolované kmeny byly přečištěny rozočkováním na BHI agar po kultivaci při 37 °C/24-48 h. Označeny byly kódem "SA + číslo vzorku mléka + číslo kmene z daného vzorku". Kmeny byly zaslány na identifikaci metodou MALDI-TOF MS do akreditované laboratoře SVÚ Jihlava. Dále s nimi byly provedeny tyto testy:

- růst a vzhled kolonií na všech testovaných půdách po rozočkování inokulační kličkou a kultivaci při 37 °C/24-48 h,
- hemolýza na krevním agaru (Oxoid) po inokulaci rozřezem a kultivaci při 37 °C/24 h,
- přítomnost vázané koagulázy (clumping factor) pomocí kitu Coagulase test slides (Sigma-Aldrich),
- tvorba katalázy, kdy byla kultura nakultivovaná na povrchu GTK agaru přelita 3% peroxidem vodíku a pozorována byla tvorba bublinek plynu.

Kromě toho byly kmeny *S. aureus* podrobeny těmto dalším testům:

- přítomnost vázané koagulázy (clumping factor) pomocí kitu STAPHYLO LA SEIKEN (Denka Seiken),
- PCR detekce druhově specifického fragmentu SA442 metodikou podle Martineau a kol. (1998),
- PCR detekce genů *sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see*, *seg*, *seh*, *sei* pro tvorbu příslušných enterotoxinů metodikou popsanou autory Monday a Bohach (1999) a Løveseth a kol. (2004),
- PCR detekce genu *mecA* kódujícího rezistenci k meticilinu metodikou popsanou autory Boşgelmez-Tmaz a kol. (2006),
- posouzení rezistence vůči panelu 13 antimikrobiálních látek za použití diskové difuzní metody s antibiotickými disky (Oxoid) na půdě Mueller-Hinton (Biokar). Použity byly tyto disky: oxacilin 1 µg, tetracyklin 30 µg, erytromycin 15 µg, sulfometoxazol s trimetoprimem 25 µg, gentamicin 10 µg, vankomycin 30 µg, klindamycin 2 µg, chloramfenikol 30 µg, cefotaxim

30 µg, ciprofloxacin 5 µg, cefoxitin 30 µg, rifampicin 5 µg a teikoplanin 30 µg. Jako kontrolní kmen byl použit *S. aureus* ATCC 25923, přičemž výsledky byly interpretovány podle standardu CLSI M02-A10 (2008).

Další testované kmeny

Aby byl počet otestovaných kmenů co nejvyšší, byly rovněž zařazeny kmeny stafylokoků z pracovní sbírky VÚM. Jejich přehled je uveden v Tab. II.

Výsledky a diskuze

Na všech půdách obsahujících teluričitan rostly šedo-černé a popř. khaki kolonie. Na Baird-Parker agaru s RPF suplementem měly prakticky všechny kolonie tuto barvu a kolem některých kolonií byla zóna precipitátu fibrinu. Podobně na Vogel-Johnson agaru měly prakticky všechny kolonie šedo-černou či khaki barvu a kolem některých kolonií byla zóna žlutě zbarveného agaru. Naproti tomu na HiCrome Aureus agaru rostly jak šedo-černé a khaki kolonie (některé z nich s vyjasněnou zónou), tak kolonie

Tab. IV Vlastnosti a růst mikroorganismů jiných než stafylokoky na testovaných půdách

Označení kmene	Identifikace MALDI-TOF MS	Krevní agar	Mannitol salt phenol red agar	Staphylococcus agar bez supl.	HiCrome Aureus agar + supl.	Vogel-Johnson agar + supl.	Baird-Parker agar + supl.	Kataláza
SA 1-5	<i>Aerococcus viridans</i>	R-H	N	N	M	N	N	-
SA 2-5	<i>Viridibacillus</i> sp.	N	N	N	Š	N	Š	+
SA 9-1	<i>Viridibacillus</i> sp.	R	N	N	Š	N	Š	+
SA 8-1	<i>Arthrobacter roseus</i>	R	N	R	K	N	K	+
SA 1-2	<i>Cellulosimicrobium cellulans</i>	R	N	N	M	N	K	+
SA 7-5	<i>Enterococcus faecalis</i>	N	N	N	M	Š-Ž	K	-
SA 1-3	<i>Enterococcus faecalis</i>	R	N	R	M	Š-Ž	N	-
SA 5-1	<i>Enterococcus faecalis</i>	R	N	N	M	Š-Ž	Š	-
SA 2-4	<i>Enterococcus casseliflavus</i>	R	N	N	N	Š-Ž	N	-
SA 3-1	<i>Enterococcus mundtii</i>	R	N	R	M	N	K	+
SA 4-2	<i>Bacillus licheniformis</i>	R	Č	R	M	Š	Š	+
SA 7-4	<i>Bacillus licheniformis</i>	R	Č	R	M	Š	Š	+
SA 5-3	<i>Bacillus pumilus</i>	R-H	Č	R	M	Š	N	+
SA 2-7	<i>Kocuria rhizophila</i>	R	Ž	R	K	N	N	+
SA 7-3	<i>Micrococcus luteus</i>	R	N	R	K	Š-Ž	N	+
SA 6-4	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	N	N	N	N	Š-Ž	N	-
SA 19-3	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	N	N	N	N	Š-Ž	N	-
SA 2-3	<i>Lactococcus garvieae</i>	N	Ž	N	N	Š-Ž	N	-
SA 4-3	<i>Macrocooccus caseolyticus</i>	N	N	R	N	N	Š	+
SA 4-3	<i>Macrocooccus caseolyticus</i>	R	N	R	K	Š	Š	+
SA 2-6	<i>Microbacterium arborescens</i>	N	N	R	M	Š	N	+
SA 19-1	<i>Microbacterium arborescens</i>	R	N	N	M	Š	N	+
SA 4-4	<i>Microbacterium</i> sp.	N	N	R	M	Š	Š	+

Č - červené kolonie; H - hemolýza; K - khaki kolonie; M - tyrkysové modré kolonie; N - neroste
R - roste; Š - šedo-černé kolonie; Ž - žluté kolonie, žluté zóny

Tab. V Vlastnosti a růst stafylokoků na testovaných půdách

Označení kmene	Identifikace MALDI-TOF MS	Krevní agar	Mannitol salt phenol red agar	Staphylococcus agar bez suppl.	HiCrome Aureus agar + suppl.	Vogel-Johnson agar + suppl.	Baird-Parker agar + suppl.	Koaguláza (Coagulase test slides)	Kataláza
9	<i>Staphylococcus aureus</i>	R-H	Ž	R	Š	Š-Ž	Š	+	+
22	<i>Staphylococcus aureus</i>	R	Č	N	Š	Š-Ž	K	+	+
601	<i>Staphylococcus aureus</i>	R	N	R	Š	Š-Ž	Š	+	+
64	<i>Staphylococcus aureus</i>	R	Č	R	Š	Š-Ž	Š	+	+
35	<i>Staphylococcus aureus</i>	R	N	R	Š	Š-Ž	Š	+	+
529	<i>Staphylococcus aureus</i>	R	N	R	Š	Š-Ž	K	+	-
23	<i>Staphylococcus aureus</i>	R	Č	R	Š	Š-Ž	Š	+	+
34	<i>Staphylococcus aureus</i>	R	Ž	R	Š	Š-Ž	Š	+	+
448	<i>Staphylococcus aureus</i>	R	Ž	R	Š	Š-Ž	K	+	-
446	<i>Staphylococcus aureus</i>	R	Ž	R	Š	Š-Ž	K	+	-
569	<i>Staphylococcus aureus</i>	R	Ž	R	M	Š-Ž	Š	+	+
568	<i>Staphylococcus aureus</i>	R	Ž	R	M	Š-Ž	Š	+	+
SA 21-1	<i>Staphylococcus aureus</i>	R	Ž	R	Š	Š-Ž	Š	+	+
SA 19-2	<i>Staphylococcus aureus</i>	R-H	Ž	R	Š	Š-Ž	Š	+	+
SA 4-1	<i>Staphylococcus succinus</i>	R	Č	R	M	Š	Š	-	+
284	<i>Staphylococcus heamolyticus</i>	R-H	Ž	R	Š	Š-Ž	Š	-	+
528	<i>Staphylococcus heamolyticus</i>	R	Ž	R	Š	Š-Ž	Š	-	+
SA 2-2	<i>Staphylococcus heamolyticus</i>	R	Č	R	Š	Š	Š	-	+
524	<i>Staphylococcus heamolyticus</i>	R	Č	R	Š	Š	Š	-	-
376	<i>Staphylococcus heamolyticus</i>	R	Ž	R	M	Š-Ž	Š	-	+
SA 7-1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	R	Č	R	Š	N	Š	-	+
SA 1-4	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	R	N	R	Š	N	N	-	+
SA 9-3	<i>Staphylococcus sciuri</i>	R	N	R	M	Š-Ž	Š	-	+
SA 9-2	<i>Staphylococcus sciuri</i>	R	Ž	R	M	Š-Ž	Š	-	+
SA 2-1	<i>Staphylococcus sciuri</i>	R	Č	R	M	Š	Š	-	+
SA 11-1	<i>Staphylococcus sciuri</i>	R	Ž	R	M	Š-Ž	Š	-	+
SA 6-1	<i>Staphylococcus sciuri</i>	R	N	R	M	N	N	-	+
589	<i>Staphylococcus warneri</i>	R-H	N	R	Š	Š	Š	-	+
482	<i>Staphylococcus warneri</i>	R	Č	R	Š	Š	Š	-	+
502	<i>Staphylococcus chromogenes</i>	R	N	R	Š	Š-Ž	Š	-	+
203	<i>Staphylococcus chromogenes</i>	R-H	Č	R	Š	Š	K	-	+
SA 3-2	<i>Staphylococcus chromogenes</i>	N	Č	R	Š	Š	Š	-	+
SA 7-2	<i>Staphylococcus chromogenes</i>	R	N	R	Š	Š-Ž	Š	-	+

Č - červené kolonie; H - hemolýza; K - khaki kolonie; M - tyrkysově modré kolonie; N - neroste
R - roste; Š - šedo-černé kolonie; Ž - žluté kolonie, žluté zóny

zbarvené tyrkysově modře díky štěpení chromogenního substrátu nebo kolonie špinavě smetanové. Na Mannitol salt phenol red agaru rostly převážně červené kolonie v barvě agaru, pouze některé kolonie byly žluté se žlutou zónou. Na *Staphylococcus* agaru bez suplementu s azidem sodným rostly pouze barevně neodlišené bílé až smetanové kolonie.

Výsledky získané na těchto půdách při analýze syrového mléka jsou shrnuty v Tab. III. Patrný z ní je relativně nízký záchyt koaguláza-pozitivních stafylokoků ve vzorcích. Aby stanovení koaguláza-pozitivních stafylokoků nebylo

rušeno, vhodné je, aby použitá půda byla co nejselektivnější pro rod *Staphylococcus* a mikroorganismy jiných rodů na ní prorůstaly co nejméně.

Rozdíly v sumě mikroorganismů vykultivovaných za podmínek metody na testovaných půdách byly 0-3 řády. Na Baird-Parker agaru s RPF suplementem, jakožto na referenční půdě, byly celkové záchyty spíše nižší. Naopak na HiCrome Aureus agaru se suplementem byly celkové záchyty spíše vyšší. Pro většinu vzorků byly na této půdě vykultivovány šedo-černé, tyrkysově modré i khaki kolonie, což sice určité rozlišení mikroorganismů umožnilo, avšak nebránilo to tomu, aby byly koaguláza-pozitivní stafylokoky zachytávány spíše jen na přerostlých plotnách. Na Vogel-Johnson agaru se suplementem byly celkové záchyty rovněž vyšší, a navíc si byly vykultivované kolonie velmi podobné, s obtížným odlišením koaguláza-pozitivních stafylokoků. Proto se tato půda jevila jako méně vhodná. Kolonie si byly navzájem velmi podobné i na *Staphylococcus agaru* bez suplementů, což naznačuje, že tato půda má praktický význam jen za předpokladu dostatečné selektivity a specificity pro rod *Staphylococcus*. Jako nejvíce odlišná se jevila půda Mannitol salt phenol red agar, na které byly celkové záchyty spíše nižší a záchyty mannitol-fermentujících mikroorganismů neodpovídaly záchytům koaguláza-pozitivních stafylokoků v ostatních vzorcích.

Bližší vzhled na selektivitu a specificitu testovaných půd poskytují Tab. IV a V. Kromě koaguláza-pozitivních a koaguláza-negativních stafylokoků na těchto půdách rostly i jiné Gram-pozitivní bakterie.

Nejméně se osvědčily půdy výše diskutované vzhledem k relativně vyšším celkovým záchytům. Na Vogel-Johnson agaru se suplementem tvořily vzhledově nerozlišitelné kolonie všechny testované kmény *S. aureus* a některé kmény koaguláza-negativních stafylokoků, mikrokoků, enterokoků a laktokoků. HiCrome Aureus agar se suplementem sice umožňuje detailnější rozlišení kolonií na základě detekce lecitinázy, avšak jak mezi testovanými kmény *S. aureus*, tak mezi koaguláza-negativními stafylokoky a mezi ostatními mikroorganismy byly zjištěny kolonie šedo-černé i kolonie tyrkysově modré, což spolehlivé rozlišení jednotlivých skupin mikroorganismů znemožnilo. Praktická využitelnost těchto půd v mlékárenství je tedy diskutabilní.

Pro zbývající tři testované půdy se možné aplikace nabízejí. Baird-Parker agar s RPF suplementem se jeví jako

Tab. VI Doplnující charakteristika testovaných kmenů *S. aureus*

Označení kmene	Druhově-specifický fragment SA442	Koaguláza (STAPHYLO LA SEIKEN)	Geny pro enterotoxiny	Rezistence k antibiotikům	Gen <i>mecA</i> pro rezistenci k meticilinu
9	+	+	-	erytromycin	-
22	+	+	H	-	-
601	+	+	-	-	-
64	+	+	-	-	-
35	+	+	G, I	-	-
529	+	-	G	-	-
23	+	+	G, I	-	-
34	+	+	G, I	-	-
448	+	-	G	-	-
446	+	-	G	-	-
569	+	+	-	tetracyklin	-
568	+	+	-	tetracyklin	-
SA 21-1	+	+	-	-	-
SA 19-2	+	+	-	-	-

nejvhodnější metoda pro stanovení koaguláza-pozitivních stafylokoků. Přestože je v souladu s ČSN EN ISO 6888-2 (1999) nutné počítat s možným záchytem *S. aureus* tvořícím světleji zbarvené (khaki) kolonie či netvořícím precipitát fibrinu, jedná se spíše o výjimky. Pro co nejspolehlivější záchyt všech přítomných bakterií rodu *Staphylococcus*, a jejich využití pro další experimenty, se nabízí *Staphylococcus* agar bez azidového suplementu. Následovat by však měly další konfirmační kroky. Na této půdě rostlo 32 z 33 testovaných kmenů stafylokoků a 12 z 23 kmenů jiných mikroorganismů. Půda Mannitol salt phenol red agar se jeví jako vhodnější pro stanovení Gram-pozitivních halotolerantních bakterií. Rostlo na ní 24 z 33 testovaných kmenů stafylokoků a 5 z 23 kmenů jiných mikroorganismů - tedy jen některé kmeny, zřejmě odolnější vůči přítomnosti 7,5 % NaCl a složení půdy nutričně chudšímu než *Staphylococcus* agar. Rozlišování *S. aureus* a ostatních mikroorganismů na základě fermentace mannitolu se neosvědčilo.

Pro potvrzení identifikace a posouzení vlastností testovaných kmenů *S. aureus* byly zařazeny doplňkové analýzy, jejichž výsledky jsou uvedeny v Tab. VI. S využitím druhově-specifické PCR bylo v souladu s metodou MALDI-TOF MS potvrzeno, že dokonce i kmeny 446, 448 a 529, u kterých nebyla prokázána přítomnost vázané koagulázy, patří k druhu *S. aureus*. Tyto kmeny byly koaguláza-negativní při použití obou testů (Coagulase test slides, STAPHYLO LA SEIKEN) i na Baird-Parker agaru s RPF suplementem, na kterém tvořily khaki kolonie bez precipitátu. Kromě toho byly v testovaném souboru přítomny kmeny nesoucí geny pro tvorbu enterotoxinů i kmeny bez těchto genů, stejně tak jako kmeny vykazující i nevykazující fenotypovou rezistenci k testovanému panelu antibiotik. Žádný z kmenů nenesl gen *mecA* pro rezistenci k meticilinu.

Závěr

Porovnány byly různé kultivační metody pro stanovení stafylokoků v syrovém mléce. Pro koaguláza-pozitivní stafylokoky se, i s vědomím známých úskalí, nejlépe osvědčila referenční metoda podle ČSN EN ISO 6888-2

(1999). Pro koaguláza-negativní stafylokoky žádná z testovaných metod nebyla dostatečně selektivní, nicméně pro záchyt bakterií rodu *Staphylococcus* jako celku lze doporučit *Staphylococcus* agar bez azidového suplementu v kombinaci s následnou konfirmací pomocí vhodných metod. Mannitol salt phenol red agar výrobcem doporučený pro stanovení patogenních stafylokoků v mléce se ukázal jako vhodný pro stanovení Gram-pozitivních halotolerantních bakterií. Toto stanovení může být užitečné nejen při analýze syrového mléka, ale i solných lázní, solných nálevů, apod.

Poděkování

Tato práce vznikla s finanční podporou Národní agentury pro zemědělský výzkum, a to v rámci projektu QJ1210300 v programu KUS a s využitím institucionální podpory na dlouhodobý koncepční rozvoj výzkumné organizace dle rozhodnutí RO1417.

Literatura

- BOŞGELMEZ-TMAZ G., ULUSOY S., ARIDO?AN B., COŞKUN-ARI F. (2006): Evaluation of different methods to detect oxacillin resistance in *Staphylococcus aureus* and their clinical laboratory utility. *Eur. J. Clinical Microbiol. & Inf. Diseases*, 25/6, s. 410-412.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI) M02-A10 (2008): *Performance standards for antimicrobial disc susceptibility tests*.
- ČSN EN ISO 6888-1 (1999): *Mikrobiologie potravin a krmiv - Horizontální metoda stanovení počtu koagulázopozitivních stafylokoků (Staphylococcus aureus a další druhy) - Část 1: Technika s použitím agarové půdy podle Baird-Parkera*. Změna A1 (2004): *Doplnění údajů o shodnosti*.
- ČSN EN ISO 6888-2 (1999): *Mikrobiologie potravin a krmiv - Horizontální metoda stanovení počtu koagulázopozitivních stafylokoků (Staphylococcus aureus a další druhy) - Část 2: Technika s použitím agarové půdy s králičí plasmou a fibrinogenem*. Změna A1 (2004): *Doplnění údajů o shodnosti*.
- FELIPE V., MORGANTE C.A., SOMALE P.S., VARRONI F., ZINGARETTI M.L., BACHETTI R.A., CORREA S.G., PORPORATTO C. (2017): Evaluation of the biofilm forming ability and its associated genes in *Staphylococcus* species isolates from bovine mastitis in Argentinean dairy farms. *Microbial Pathogenesis*, 104, s. 278-286.
- LØVSETH A., LONGAREVIC S., BERDAL K.G. (2004): Modified multiplex PCR method for detection of pyrogenic exotoxin genes in staphylococcal isolates. *J. Clinical Microbiol.*, 42, s. 3872-3969.

- MARTINEAU F., PICARD J.F., ROY H.P., OUELLETTE M., BERGERON M.G. (1998): Species-specific and ubiquitous DNA-based assay for rapid identification of *Staphylococcus aureus*. *J. Clinical Microbiol.*, 36, s. 618-623.
- MARTINS K.B., FACCIOLI P.Y., BONESSO M.F., FERNANDES S., OLIVEIRA A.A., DANTAS A., ZAFALON L.F., CUNHA M.R.S. (2017): Characteristics of resistance and virulence factors in different species of coagulase-negative staphylococci isolated from milk of healthy sheep and animals with subclinical mastitis. *J. Dairy Sci.*, 100/3, s. 2184-2195.
- MONDAY S.R., BOHACH G.A. (1999): Use of multiplex PCR to detect classical and newly described pyrogenic toxin genes in staphylococcal isolates. *J. Clinical Microbiol.*, 37, s. 3411-3414.
- NAŘÍZENÍ KOMISE (ES) č. 2073/2005 o mikrobiologických kritériích pro potraviny.
- SEDLÁČEK O. (2007): *Taxonomie prokaryot*, Masarykova univerzita Brno, s. 241-242, ISBN 80-210-4207-9.
- SNEL G.G.M., MALVISI M., PILLA R. (2014): Evaluation of biofilm formation using milk in a flow cell model and microarray characterization of *Staphylococcus aureus* strains from bovine milk. *Vet. Microbiol.*, 174, s. 489-495.
- TAPONEN S., PYÖRÄLÄ S. (2009): Coagulase-negative staphylococci as cause of bovine mastitis - Not so different from *Staphylococcus aureus*? *Vet. Microbiol.*, 134, s. 29-36.

Korespondující autor: Ing. Irena Němečková, Ph.D., Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o., Ke Dvoru 12a, 160 00 Praha 6, nemeckova@milcom-as.cz

Přijato do tisku: 11. 9. 2017

Lektorováno: 1. 10. 2017

VLIV SUPLEMENTACE SACHARIDY A DUSÍKATÝMI LÁTKAMI NA PRODUKCI NISINU V SYROVÁTKOVÝCH MÉDIÍCH

Marie Marková¹, Alexandra Šalaková¹, Michael Binder¹, Antonín Nehyba¹, Jitka Peroutková¹, Vladimír Sedlařík², Jan Drbohlav¹

¹ - Výzkumný ústav mlékárenský, s.r.o.

² - Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Centrum polymerních systémů

Effect of Carbohydrate and Nitrogen Supplementation on Nisin Production in Whey Films

Abstrakt

Nisin je polypeptid významný pro svoji antibakteriální aktivitu. U vybraného kmene *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* CCDM 731 produkujícího nisin byl testován přísávek různých zdrojů dusíku a uhlíku na produkci nisinu. Byly odzkoušeny přísádky peptonu, sojového peptonu a kyselého kaseinového hydrolyzátu v dávkách 2 % a laktóza a maltodextrin v dávkách 5 % a 10 %. Produkce nisinu byla sledována agarovou difúzní metodou. Jako indikátor inhibice růstu byl použit kmen *Micrococcus luteus* ATCC

10240. Současně byly provedeny paralelní pokusy se všemi kombinacemi ve sladké a sladké demineralizované syrovátce. Nejlepších výsledků bylo dosaženo u varianty kyselý kaseinový hydrolyzáte 2 % a maltodextrin 10 %. Vyšší výtěžnost nisinu byla stanovena u sladké demineralizované syrovátky.

Klíčová slova: syrovátka, demineralizovaná syrovátka, nisin

Abstract

Nisin is a polypeptide important for its antibacterial activity. *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* CCDM 731 was selected as nisin-producing strain. It was tested by the addition of various sources of carbon and nitrogen for the production of nisin. It was selected addition of peptone, soya peptone and acid hydrolysate of casein at 2 %, and lactose and maltodextrin at 5 % and 10 %. Production of nisin was monitored by agar diffusion method. *Micrococcus luteus* ATCC 10240 strain was used as an indicator of growth inhibition. Parallel experiments were performed with all combinations in sweet whey and sweet demineralized whey at the same time. The best results were obtained with the acid hydrolysate of casein 2 % and 10 % maltodextrin. Higher yield of nisin was determined for sweet demineralized whey.

Keywords: whey, demineralized whey, nisin

Úvod

Syrovátka vzniká jako vedlejší produkt při výrobě sýrů, tvarohu a kaseinu. Je snaha co nejvíce syrovátku využívat, a tím zajistit lepší ekonomickou bilanci výroby. K prodloužení trvanlivosti syrovátky se používá sušení, které sníží náklady na přepravu. Možnosti výroby i využití do krmiv a do potravin negativně ovlivňuje poměrně vysoký obsah solí v syrovátce, proto se používá demineralizace použitím gelové filtrace, ionexů, elektrodialýzy nebo nanofiltrace. Míra odstranění solí závisí na další aplikaci produktu (pro zkrmování stačí 60% odsolení, pro lidskou výživu se používá vyšší stupeň odsolení). Demineralizovaná syrovátka se buď zahušťuje, příp. suší, nebo se z ní separují významné složky (Suková, 2006). Syrovátka se přidává do mnoha potravinářských výrobků (nápojů, sýrů, mléčných výrobků a mražených krémů, do chleba a pečiva, do cereálních snacků, do masných výrobků, vyrábějí se z ní analogy masa, fortifikují se s ní potraviny a doplňky stravy a vyrábějí se z ní fólie na bázi syrovátky). V poslední době se zvyšuje i využití syrovátky jako růstového média mikroorganismů za účelem produkce průmyslově využitelných látek. Drbohlav a kol. (2009) sledoval schopnost tvorby kyseliny mléčné u vybraných kmenů laktobacilů ve sladké syrovátce za účelem dalšího studia zpracování syrovátky na biologicky odbouratelné polymery pro obalové materiály. Kavková a kol. (2017) sledovala antifugální vliv přípravku s obsahem propionátu na bázi fermentované syrovátky na trvanlivost toustových chlebů.