

Obsah

1	Úvod.....	6
2	Organizace laboratorních cvičení.....	7
2.1	Poznámky a protokoly.....	7
2.2	Bezpečnost a hygiena práce v mikrobiologické laboratoři.....	8
2.3	Zásady bezpečné práce v mikrobiologické laboratoři.....	9
2.4	První pomoc při mimořádnostech a úrazech.....	10
2.5	Další zásady práce v mikrobiologické laboratoři.....	10
3	Principy sterilního prostředí a aseptické práce.....	11
3.1	Sterilizační metody.....	11
3.1.1	Sterilizace povrchů.....	12
3.1.2	Sterilizace médií a laboratorního nádobí.....	12
4	Kultivační techniky.....	14
4.1	Média.....	14
4.2	Kultivace mikroorganismů.....	15
4.3	Příprava misek s pevným agarovým médiem.....	16
4.4	Techniky a způsoby očkování.....	17
4.4.1	Očkování na pevné půdy kličkou.....	17
4.4.2	Očkování na pevné půdy roztěrem.....	18
4.4.3	Přímý výsev do půdy.....	19
4.4.4	Kultivace mikroorganismů zachycených na membránových filtrech.....	19
4.4.5	Kontrola jakosti živných půd – práce s referenčními kmeny bakterií.....	20
4.5	Odběr, úprava a ředění vzorků vody.....	21
5	Vybrané mikroskopické techniky.....	23
5.1	Mikroskop – popis a zásady práce.....	23
5.1.1	Optický mikroskop a jeho základní součásti.....	23
5.1.2	Obecné zásady při práci s mikroskopem.....	26
5.2	Měření rozměrů objektů v mikroskopu.....	29
5.3	Práce s počítačí komůrkou.....	30
5.3.1	Práce s počítačí komůrkou typu Bürker.....	31
5.3.2	Práce s počítačí komůrkou typu Cyrus I.....	32
5.4	Stanovení mikroskopického obrazu (biosestonu a abiosestonu).....	34
	Počet org. v 1 ml.....	38
5.5	Stanovení objemové biomasy.....	41
5.6	Stanovení saprobního indexu.....	43
6	Barvicí metody.....	46
6.1	Barvení dle Grama.....	46
6.1.1	Provedení barvení dle Grama.....	47
6.2	Barvení mikromycet.....	48
6.3	Neisserovo barvení.....	49
7	Vliv vnějších faktorů na mikroorganismy.....	50
7.1	Stanovení citlivosti mikroorganismů k antibiotikům.....	50

7.2	Vliv ultrafialového záření na růst mikroorganismů.....	52
8	Mikrobiologické rozборы vod.....	54
8.1	Stanovení kultivovatelných mikroorganismů při 22 °C a 36 °C	54
8.2	Stanovení psychofilních a mezofilních bakterií	56
8.3	Stanovení koliformních bakterií	58
8.4	Stanovení termotolerantních koliformních bakterií a <i>Escherichia coli</i>	61
8.5	Stanovení intestinálních enterokoků.....	63
9	Vybrané metody půdní mikrobiologie	66
9.1	Stanovení fosfolipidových mastných kyselin v půdě	66
9.2	Stanovení respirace půdy.....	71
9.3	Stanovení enzymových aktivit v půdě.....	73
9.3.1	Vyjadřování enzymových aktivit	73
9.3.2	Stanovení enzymových aktivit v půdě pomocí substrátů uvolňujících p-nitrofenol	74
9.3.3	Stanovení aktivity dehydrogenáz v půdě	76
10	Stanovení mikroorganismů přítomných ve vzduchu.....	78
10.1	Stanovení mikroorganismů ve vzduchu spadem.....	78
11	Bakteriální růstový test toxicity	79
12	Biochemické metody.....	86
12.1	Mikrobiální identifikace pomocí MikroLA-testu	86
12.1.1	Stanovení enterobakterií pomocí ENTEROtestu 16	86
12.2	Stanovení koncentrace chlorofylu-a	90
13	Výpočty a vyhodnocování výsledků	92
13.1	Kultivační stanovení - výpočty	92
13.2	Mikroskopická stanovení - výpočty.....	94
13.3	Výpočty z růstových křivek	98
13.1	Vyhodnocení bakteriálního růstového testu toxicity - výpočet hodnoty IC50	99
14	Přehled médií a roztoků.....	102
14.1	Kultivační média.....	102
14.1.1	LB (Luria Broth)	102
14.1.2	Plate Count Agar (PCA).....	102
14.1.3	Malt extract	102
14.1.4	Škrobový agar	102
14.1.5	Müller-Hintonův agar.....	103
14.1.6	Selektivní médium na stanovení mikromycet.....	103
14.1.7	Sabouraudův glukózový agar	103
14.1.8	Agar s kvasničným extraktem	104
14.1.9	Masopeptonový agar	104
14.1.10	Endo agar.....	104
14.1.11	m-FC agar	105
14.1.12	Médium dle Slanetz – Bartley (m-enterokokový agar)	105
14.1.13	Žluč-aeskulin-azidový agar	105
14.1.14	Médium pro kultivaci sladkovodních řas	106
14.2	Roztoky	107

14.2.1	Fyziologický roztok.....	107
14.2.2	Fosfátový pufr 0,066 M pH 7.....	107
14.2.3	Ringerův roztok.....	107
14.2.4	Roztok bazického fuchsinu.....	108
14.2.5	Roztok pro cytochromoxidázový test.....	108
14.2.6	Alkalický roztok kyseliny rosolové.....	108
14.3	Barviva.....	109
14.3.1	Krystalová violet'.....	109
14.3.2	Safranin.....	109
14.3.3	Methylenová modř.....	109
14.3.4	Lugolův roztok.....	109
14.3.5	Roztok 0,5 % TTC.....	109
14.3.6	Neisserovo činidlo.....	109
14.3.7	Laktofenol dle Amanna.....	110
15	Seznam literatury.....	111
15.1	Použité literární zdroje.....	111
15.2	Přehled použitých norem.....	111

Průběh by měl obsahovat tyto prvky:

- Jména studentů, identifikaci skupiny, datum práce.
- Stručný princip práce (několik vět).
- Stručný metodiku (nemí třeba opírat se o postup z návodu, stačí se na něj odkázat, je to třeba v případě všech výše uvedených údajů a údaje potřebné pro další vyhodnocování, např. rovnice, objemy či teploty).
- Primární neupravené výsledky v podobě tabulek či grafů (např. počty mikroorganismů v jednotlivých polích počítací komůrky, počty namalovaných kolonií apod.).
- Výsledky kultivačních stanovení se uvádějí v jednotkách KTI (tj. kolonie tvořící jednotky (anglický ekvivalent CFU, Colony Forming Units)). Tato jednotka vyjadřuje počty živých mikroorganismů schopných se na v daném médium rozmnožit. Výsledky se ještě vztahují na jednotku objemu vzorku (např. KTI/100 ml nebo KTI/ml).
- Přepočty primárních výsledků na porovnatelné množství (např. rozdíly ze vzorku vody v počtech KTI/ml apod.). Je nutné napsat jen vzorec, ale i číselné dosazení, pak je možné lépe odhalit chybu.