

OBSAH

1 Úvod (J. Páca, P. Hodek)	6
1.1 Pravidla práce v mikrobiologické laboratoři	6
1.2 Protokoly	7
1.3 Principy a zásady mikrobiologické práce	8
1.4 Hlavní zásady aseptické práce	8
2 Pracovní pomůcky (J. Páca, P. Hodek)	9
2.1 Laboratorní sklo	9
2.1.1 Mikrobiologické zkumavky	9
2.1.2 Baňky	9
2.1.3 Misky	10
2.1.4 Plynovky	10
2.1.5 Mikroskopická sklíčka	10
2.1.6 Skleněné pipety	10
2.1.7 Očkovací a preparační pomůcky	10
2.1.8 Očkovací klička a „hokejka“	11
2.1.9 Pipety	11
2.2 Kultivační zařízení	12
2.2.1 Termostaty	12
2.2.2 Třepačky	12
2.3 Mikroskop	12
2.3.1 Popis mikroskopu	12
2.3.2 Postup při mikroskopování	12
2.3.3 Zobrazování mikroskopovaných objektů	14
3 Sterilizace laboratorního nádobí a pracovních pomůcek (J. Páca)	14
4 Kultivace mikroorganismů (J. Páca)	16
4.1 Živná media a jejich rozdělení	17
4.2 Příprava živných půd	18
4.2.1 Sterilizace půd	18
4.2.2 Rozlévání živných medií	19
4.2.3 Uchovávání živných půd	19
4.3 Očkování mikroorganismů	19
4.3.1 Práce s očkovací kličkou	20
4.3.2 Očkování skleněnou pipetou a automatickou pipetou	20
4.4 Inkubace	21
4.4.1 Kultivace na agarových plotnách a šikmých agarech	21
4.4.2 Submersní aerobní kultivace	22
4.4.3 Aerobní kultivace v bioreaktorech	23
4.4.4 Anaerobní kultivace	23
4.5 Uchovávání mikrobiálních kultur	23
4.6 Práce s bakteriofágem	23
5 Morfologie a cytologie mikroorganismů (J. Páca, P. Hodek)	24
5.1 Makroskopické znaky	24
5.1.1 Charakter růstu v tekutém kultivačním mediu	24
5.1.2 Charakter růstu na šikmém agaru	25
5.1.3 Charakter kolonií vyrostlých na agarové plotně	25
5.1.4 Růst mikroorganismů podél vpichu do agarové půdy	26
5.2 Mikroskopické morfologické a cytologické znaky	26
5.2.1 Mikroskopické preparáty	27

6	Vliv vnějších podmínek na mikroorganismy (J. Páca, P. Hodek)	28
6.1	Vliv teploty na růst mikroorganismů	29
6.2	Vliv pH prostředí na růst mikroorganismů	29
6.3	Vliv osmotického tlaku na růst mikroorganismů	29
6.4	Vliv UV záření na mikroorganismy	29
6.5	Citlivost mikroorganismů k antimikrobním látkám	30
7	Izolace mikroorganismů (J. Páca)	31
7.1	Zdroje mikroorganismů pro izolaci	31
7.2	Základní techniky izolace mikroorganismů	32
7.2.1	Izolace litím agarových ploten	32
7.2.2	Izolace roztěrem („hokejkováním“)	32
7.2.3	Izolace čárkováním	32
8	Určení počtu mikroorganismů v prostředí (J. Páca)	34
8.1	Metody určování počtu mikroorganismů	34
8.1.1	Metody počítání buněk	34
8.1.2	Stanovení buněčné hmoty	35
9	Dynamika růstu a množení mikroorganismů (J. Páca)	36
9.1	Růstová křivka	36
9.2	Kinetika růstu mikroorganismů	39
9.3	Kinetika hynutí mikroorganismů	40
9.4	Kontinuální kultivace	40
10	Identifikace mikroorganismů (J. Páca, P. Hodek)	41
11	Indukce syntézy enzymu u rostoucích bakterií, katabolická represe a reprimovatelné enzymy (J. Páca, M. Šulc)	42
12	Praktická laboratorní část	43
12.1	Mikroskopování (P. Hodek)	43
12.1.1	Jednoduché barvení bakterií po fixaci	43
12.1.2	Barvení bakterií dle Grama	44
12.2	Základní očkovací techniky a kultivace bakterií na ztužených kultivačních mediích (J. Páca)	45
12.2.1	Kultivace na plotnách MPA a na šikmých MPA ve zkumavkách	45
12.3	Vliv teploty na bakterie (J. Páca, P. Hodek)	47
12.3.1	Vliv teploty na růst bakterií	47
12.3.2	Přibližné určení letální teploty	48
12.4	Citlivost bakterií na antibiotika (P. Hodek)	48
12.5	Izolace bakterií čárkováním na agarové plotny a jejich identifikace (J. Páca, P. Hodek)	49
12.6	Izolace bakterií z půdy (J. Páca)	50
12.7	Stanovení počtu mikroorganismů (J. Páca)	50
12.7.1	Stanovení počtu mikroorganismů na povrchu předmětů tamponovou metodou	50
12.7.2	Stanovení počtu mikroorganismů na povrchu předmětů smývací metodou	52
12.7.3	Stanovení počtu mikroorganismů v sušeném ovoci	52
12.7.4	Stanovení počtu živých bakterií v říční vodě	53
12.8	Stanovení buněčné sušiny vázkovou metodou (J. Páca)	53
12.9	Stanovení růstové křivky bakterií (J. Páca)	54
12.10	Výroba kysaných produktů z mléka a izolace a charakterizace příslušných bakteriálních kultur (P. Hodek, M. Šulc)	55
12.10.1	Příprava kysaných produktů z mléka	56

12.10.2	Izolace a charakterizace bakterií příslušných kysaných produktů z mléka	57
12.11	Identifikace bakterií pomocí komerční sady biochemických testů (M. Šulc, P. Hodek)	58
12.11.1	Identifikace bakterií metabolickým testem ENTEROtest16	58
12.11.2	Identifikace metabolické aktivity bakterií přídatným testem ONPtest	62
12.11.3	Identifikace metabolické aktivity bakterií přídatným testem VPtest	63
12.11.4	Identifikace metabolické aktivity bakterií přídatným testem COLitest	64
12.12	Vnesení plazmidové DNA do bakteriálních buněk (M. Šulc)	65
12.12.1	Příprava kompetentních buněk pomocí CaCl ₂	66
12.12.2	Příprava LB-agarových ploten s antibiotikem	67
12.12.3	Transformace kompetentních buněk plazmidem	67