

Obsah

	strana
1. Laboratorní sklo, příprava základních živných prostředí a jejich sterilizace . . . . .	5
1. 1. Laboratorní sklo . . . . .	5
1. 2. Živná prostředí a jejich složky . . . . .	9
1. 3. Příprava základních živných prostředí . . . . .	13
1. 4. Sterilizace . . . . .	16
1. 4. 1. Sterilizace při zvýšené teplotě . . . . .	16
1. 4. 1. 1. Sterilizace teplem . . . . .	16
1. 4. 1. 2. Sterilizace vlhkým teplem . . . . .	17
1. 4. 2. Filtrace . . . . .	20
1. 4. 3. Záření . . . . .	23
1. 4. 4. Chemické prostředky . . . . .	23
1. 4. 4. 1. Netěkavé látky . . . . .	23
1. 4. 4. 2. Těkavé látky . . . . .	24
1. 4. 5. Sterilizace laboratorního skla a různých púd . . . . .	25
1. 4. 5. 1. Příprava pipet . . . . .	25
1. 4. 5. 2. Příprava baněk a zkumavek . . . . .	26
1. 4. 5. 3. Příprava provzdušňovacích lahví . . . . .	26
1. 4. 5. 4. Sterilizace živných prostředí . . . . .	27
2. Očkování mikroorganismů . . . . .	28
2. 1. Izolace čisté kultury bakterií . . . . .	28
2. 2. Očkování bakteriologickou kličkou . . . . .	29
2. 2. 1. Očkování bakteriologickou kličkou z polotuhého do tekutého média . . . . .	29
2. 2. 2. Očkování bakteriologickou kličkou z polotuhého na polotuhé živné prostředí . . . . .	31
2. 3. Očkování pipetou . . . . .	33
3. Stanovení počtu bakterií a bakteriální hmoty . . . . .	35
3. 1. Počet a hmota mikroorganismů . . . . .	35
3. 2. Heterogenita bakteriálních kultur . . . . .	35

3. 3. Přímé stanovení počtu buněk . . . . .	36
3. 4. Stanovení celkového počtu životaschopných buněk . . . . .	37
3. 4. 1. Řešení bakteriální kultury . . . . .	38
3. 4. 2. Očkování na Petriho misky . . . . .	39
3. 4. 3. Počítání kolonií a stanovení počtu buněk . . . . .	41
3. 5. Nefelometrické stanovení počtu buněk . . . . .	42
3. 6. Stanovení biomasy . . . . .	43
3. 6. 1. Stanovení sušiny . . . . .	43
3. 6. 2. Stanovení rozpustných bílkovin . . . . .	44
3. 6. 3. Stanovení dusíku v bakteriálních buňkách . . . . .	45
3. 6. 4. Stanovení nukleových kyselin . . . . .	46
4. Kultivační technika . . . . .	48
4. 1. Izolace mikroorganismů rozkládajících tuky . . . . .	48
4. 1. 1. Orientační izolace lipolytických bakterií . . . . .	49
4. 1. 2. Kvalitativní izolace lipolytických bakterií . . . . .	50
4. 2. Důkaz celulolytických bakterií a jejich izolace . . . . .	51
4. 2. 1. Důkaz celulolytických bakterií . . . . .	52
4. 2. 2. Izolace celulolytických bakterií . . . . .	53
4. 3. Nahromadění azotobaktera . . . . .	55
4. 4. Izolace azotobaktera . . . . .	56
4. 5. Izolace hlízkových bakterií . . . . .	58
4. 6. Stanovení specifity rhizobií . . . . .	60
4. 7. Nahromadění denitrifikačních bakterií . . . . .	62
4. 8. Přenos viróz . . . . .	65
4. 9. Stanovení viróz na tramborách . . . . .	66
4. 10. Stanovení viróz na dřevinách . . . . .	69
4. 11. Kvantitativní stanovení alkoholového kvašení . . . . .	70
4. 12. Důkaz zkvašování cukrů . . . . .	72
4. 13. Bezbuněčné kvašení . . . . .	74
4. 14. Izolace bakterií mléčného kvašení . . . . .	76
4. 15. Octové kvašení . . . . .	77
4. 16. Stanovení aktivity dehydrogenáz . . . . .	79
4. 17. Důkaz sacharázy . . . . .	82
4. 18. Důkaz rozkladu močoviny . . . . .	84
4. 19. Vliv vnějších faktorů na buňky . . . . .	86
4. 19. 1. Příprava čerstvé kultury kvasinek . . . . .	88
4. 19. 2. Vliv barviv a dezinfekčních látek na růst kvasinek . . . . .	88
4. 19. 3. Vliv barviv a dezinfekčních látek na rychlost kvašení . . . . .	89

4. 20. Izolace <i>Bacillus cereus</i> . . . . .	90
4. 21. Mikroskopický rozbor vody . . . . .	91
4. 21. 1. Mikroskopický rozbor pitné vody . . . . .	92
5. Mikroskopie . . . . .	97
5. 1. Mikroskopie v procházejícím světle . . . . .	97
5. 1. 1. Několik základních pojmů . . . . .	100
5. 1. 2. Imerzní směsi . . . . .	101
5. 2. Fluorescenční mikroskopie . . . . .	102
5. 3. Pozorování mikroorganismů v zástině . . . . .	103
5. 4. Metoda fázového kontrastu . . . . .	104
5. 5. Elektronový mikroskop . . . . .	105
5. 6. Měření velikosti mikroorganismů . . . . .	106
5. 7. Příprava mikroskopického preparátu . . . . .	107
5. 7. 1. Příprava podložních a krycích skl . . . . .	108
5. 7. 2. Příprava nativního preparátu . . . . .	109
5. 7. 3. Příprava preparátu pro barvení . . . . .	110
5. 7. 4. Fixace preparátu . . . . .	111
5. 7. 5. Barvení preparátu . . . . .	112
5. 7. 6. Zásady pro používání mikroskopu . . . . .	113
6. Mikroskopická technika . . . . .	115
6. 1. Vitální test . . . . .	115
6. 2. Negativní barvení . . . . .	117
6. 3. Pučení kvasinek . . . . .	117
6. 4. Barvení podle Grama . . . . .	120
6. 5. Barvení pouzder . . . . .	122
6. 6. Spóry . . . . .	123
6. 6. 1. Barvení spór u <i>Bacillus cereus</i> . . . . .	124
6. 6. 2. Barvení spór u kvasinek . . . . .	125
6. 7. Důkaz volutinu . . . . .	126
6. 8. Důkaz glykogénu . . . . .	127
6. 8. 1. Makroskopický průkaz . . . . .	127
6. 8. 2. Mikroskopický důkaz . . . . .	128
6. 9. Důkaz bílkovin . . . . .	128
6. 10. Důkaz tuků . . . . .	130
6. 11. Barvení bakterií mléčného kvašení . . . . .	131
6. 12. Mikroskopování celulólytických bakterií . . . . .	132
6. 13. Padlí dubové . . . . .	133
6. 14. Rez . . . . .	134
6. 14. 1. <i>Phragmaetidium mucromatum</i> . . . . .	134
6. 14. 2. <i>Puccinia graminis</i> . . . . .	135

6. 15. Pozorování <i>Penicillium</i> . . . . .	137
6. 16. Fliseň hlavičková . . . . .	139
6. 17. Pozorování <i>Aspergillus</i> . . . . .	140
6. 18. Pozorování plísně <i>Rhizopus</i> . . . . .	142
6. 19. Barvení půdních bakterií pro přímé vyšetřování . . . . .	145
7. Diagnostika bakterií . . . . .	148
7. 1. Abecední seznam uvedených testů . . . . .	149
7. 2. Metody provádění jednotlivých testů . . . . .	150
7. 2. 1. Acetoin a metylčervenový test . . . . .	150
7. 2. 2. Důkaz dekarboxylace lyzinu a ornitinu a důkaz hydrolýzy argininu . . . . .	152
7. 2. 3. Důkaz deaminace fenylalaninu (mikrotest) . . . . .	152
7. 2. 4. Důkaz produkce $\beta$ -galaktosidázy (ONPG test) . . . . .	153
7. 2. 5. Standardní glukózový test . . . . .	153
7. 2. 6. Důkaz využívání citrátů - Simmonsova citrátová půda . . . . .	154
7. 2. 7. Důkaz produkce deoxyribonukleázy . . . . .	155
7. 2. 8. Egg-yolk reakce . . . . .	155
7. 2. 9. Endova půda . . . . .	156
7. 2. 10. Důkaz hydrolýzy eskulinu . . . . .	157
7. 2. 11. Důkaz produkce fosfatázy . . . . .	157
7. 2. 12. Gramovo barvení . . . . .	158
7. 2. 13. Důkaz produkce indolu . . . . .	158
7. 2. 14. Důkaz produkce katalázy . . . . .	159
7. 2. 15. Medium King B . . . . .	159
7. 2. 16. Důkaz produkce koagulázy . . . . .	160
7. 2. 17. Krevní agar . . . . .	161
7. 2. 18. Mac Conkey agar . . . . .	161
7. 2. 19. Masopeptonový agar (MPA) . . . . .	162
7. 2. 20. MPA s různým obsahem NaCl (6,5 - 15 %) . . . . .	162
7. 2. 21. Důkaz redukce nitrátů . . . . .	162
7. 2. 22. Medium s octanem sodným . . . . .	164
7. 2. 23. Důkaz produkce oxidázy . . . . .	164
7. 2. 24. Důkaz hydrolýzy škrobu . . . . .	165
7. 2. 25. Tioglykolátové medium . . . . .	166
7. 2. 26. TSI (Triple sugar iron) agar = agar podle Hajna . . . . .	166
7. 2. 27. Důkaz hydrolýzy Tweenu 80 lipázami, důkaz hydrolýzy želatiny . . . . .	168
7. 2. 28. Důkaz produkce ureázy . . . . .	169

	strana
7. 3. Diferenciační tabulky . . . . .	170
8. Bakteriofág . . . . .	188
8. 1. Příprava fágového lyzátu . . . . .	188
8. 2. Stanovení titru fágového lyzátu . . . . .	189
8. 3. Jednostupňová růstová křivka fága . . . . .	192
9. Mikrobiologická laboratoř na škole . . . . .	194
Obsah . . . . .	197