

1	BEZPEČNOST PŘI PRÁCI V MIKROBIOLOGICKÉ LABORATOŘI	
	A PRAVIDLA ASEPTICKÉ PRÁCE	3
1.1	Pravidla aseptické práce	4
1.2	Příprava vatových zátek	4
1.3	Písemný záznam – protokol	5
2	LABORATORNÍ SKLO	5
2.1	Příprava a mytí laboratorního skla	7
2.2	Dekontaminace použitého laboratorního nádobí s pomnoženými kulturami	7
3	PŘÍSTROJOVÉ VYBAVENÍ MIKROBIOLOGICKÉ LABORATOŘE	7
3.1	Sterilizační zařízení	8
3.2	Laboratorní pomůcky	9
4	ŽIVNÁ MÉDIA	11
4.1	Příprava kultivačních médií	12
4.2	Úprava hodnoty pH kultivačních médií	12
4.3	Nutriční požadavky mikroorganismů	12
4.3.1	Zdroj uhlíku	12
4.3.2	Zdroj dusíku	13
4.3.3	Zdroj růstových faktorů	13
4.3.4	Zdroje minerálních látek	13
4.3.5	Voda	13
4.3.6	Peptony	13
4.3.7	Hydrolyzáty	14
4.3.8	Extrakty	14
4.4	Ztužující komponenty	14
4.4.1	Agar	14
4.4.2	Želatina	15
4.4.3	Gel kyseliny křemičité	15
4.5	Sterilizace živných médií	15
4.6	Příprava agarových ploten	15
4.7	Příprava šikmých agarů	16
4.7.1	Příprava základních živných médií	16
5	STERILIZACE	17
5.1	Sterilizace plamenem	17
5.2	Sterilizace horkým vzduchem	17
5.3	Sterilizace vlhkým teplem	18
5.4	Sterilizace filtrací	18
5.5	Sterilizace UV zářením	19
5.6	Sterilizace chemickými prostředky	19
6	OČKOVÁNÍ A KULTIVACE MIKROORGANISMŮ	19
6.1	Způsoby očkování	20
6.1.1	Ze zkumavky na šikmý agar	20
6.1.2	Ze šikmého agaru do kapalné půdy	20
6.1.3	Očkování vpichem	20
6.1.4	Z Petriho misky do zkumavky a naopak	20
6.1.5	Způsoby očkování Petriho misek	20
6.1.6	Očkování z Petriho misky na Petriho misku	21
6.1.7	Očkování pipetou	21
6.2	Kultivace mikroorganismů	21
6.2.1	Způsoby kultivace	21
7	IZOLACE MIKROORGANISMŮ	22
7.1	Křížový roztěr	23
7.2	Izolace roztěrem	24

8	MIKROSKOPICKÉ POZOROVÁNÍ MIKROORGANISMŮ	25
8.1	Mikroskop a druhy mikroskopie	25
8.2	Druhy mikroskopie	26
8.3	Obecné zásady při mikroskopování	29
8.4	Kreslení mikroskopických preparátů	29
8.5	Příprava mikroskopických preparátů	29
8.5.1	Příprava nativního preparátu	30
8.6	Barvení mikroorganismů	31
8.6.1	Příprava fixovaného preparátu	32
8.6.2	Základní diagnostické barvení podle Grama	33
8.6.3	Rozlišení grampozitivních a gramnegativních bakterií pomocí hydroxidu draselného	33
8.6.4	Příprava trvalého preparátu	34
8.6.5	Vitální barvení	34
8.6.6	Negativní barvení	35
8.6.7	Barvení pouzder	35
8.6.8	Barvení spor	36
8.6.9	Proteolytická aktivita bakterií	37
9	STANOVENÍ POČTU BUNĚK: METODA PŘÍMÁ A NEPŘÍMÁ	38
9.1	Přímá metoda stanovení počtu buněk	38
9.2	Nepřímá metoda stanovení počtu buněk – kultivační	40
9.2.1	Ředění bakteriální kultury	41
9.2.2	Očkování a kultivace	42
9.2.3	Počítání vyrostlých kolonií a stanovení počtu buněk	42
9.3	Nefelometrické a turbidimetrické stanovení počtu buněk	43
10	KVASINKY A KVASINKOVITÉ MIKROORGANISMY	45
10.1	Mikroskopie kvasinek a kvasinkovitých mikroorganismů	47
10.2	Morfologie buněk a způsob pučení kvasinek	48
10.3	Myceliové útvary a prvky vegetativní fruktifikace	48
10.4	Proteolytická aktivita kvasinek	49
10.5	Zkvašování sacharidů	49
10.6	Užitečné kvasinky v kvasném průmyslu	50
10.6.1	Pivovarské kvasinky	50
10.6.2	Lihovarské kvasinky	51
10.6.3	Drožděrenské kvasinky	51
10.6.4	Vinařské kvasinky	51
10.7	Škodlivé kvasinky v kvasném průmyslu	51
10.7.1	Rod <i>Saccharomyces</i>	52
10.7.2	Podrod <i>Pichia</i>	52
10.7.3	Podrod <i>Hansenula</i>	55
10.7.4	Rod <i>Saccharomycodes</i>	55
10.7.5	Rod <i>Candida</i>	55
10.7.6	Rod <i>Rhodotorula</i>	55
11	BAKTERIE MLÉČNĚHO KVAŠENÍ	56
11.1	Homofermentativní bakterie	57
11.1.1	<i>Lactobacillus acidophilus</i> (Orla-Jensen) HOLLAND, syn. <i>Thermobacterium intestinale</i>	57
11.1.2	<i>Lactobacillus plantarum</i> (Orla-Jensen) HOLLAND	57
11.1.3	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	58
11.2	Heterofermentativní bakterie	58
11.2.1	<i>Lactobacillus fermentum</i>	58
11.2.2	<i>Lactobacillus brevis</i>	58
11.2.3	<i>Lactobacillus buchneri</i>	58
11.3	Bifidobakterie	58
11.3.1	<i>Bifidobacterium bifidum</i> (<i>Lactobacillus bifidus</i>)	59
11.4	Mikroskopie bakterií mléčného kvašení	59

12	MIKROSKOPICKÉ HOUBY (PLÍSNĚ)	59
12.1	Zygomycotina	61
12.1.1	Řád Mucorales	61
12.2	Deuteromycotina	63
12.2.1	Řád Moniliales	63
12.3	Mikroskopie mikromycet (vláknitých hub)	67
12.4	Příprava mikroskopického preparátu mikromycet	68
13	MIKROBIOLOGICKÝ ROZBOR VZDUCHU	68
13.1.1	Aktivní nasávání vzduchu	69
13.1.2	Sedimentační metoda	69
14	BAKTERIE VE VODĚ – MIKROBIOLOGICKÝ ROZBOR VODY	70
14.1	Všeobecné zásady při odběru vzorků vody	71
14.2	Stanovení počtu psychrofilních bakterií	71
14.3	Stanovení počtu mezofilních bakterií	73
14.4	Stanovení indikátorů fekálního znečištění	73
14.4.1	Stanovení <i>Escherichia coli</i> a koliformních bakterií	74
15	MIKROBIOLOGICKÝ ROZBOR PŮDY	75
15.1	Odběr vzorku	75
15.1.1	Obecné zásady	75
15.1.2	Postup při odběru vzorků	76
15.2	Lipolytické bakterie	76
15.3	Celulolytické bakterie	76
15.3.1	Důkaz celulolytických bakterií v půdních vzorcích	77
15.3.2	Izolace celulolytických bakterií z půdních vzorků	78
15.3.3	Izolace celulolytických bakterií z půdního extraktu na miskách s křemičitým gelem a filtračním papírem	78
15.3.4	Důkaz přítomnosti <i>Azotobacteria sp.</i> v půdních vzorcích	78
15.4	Nitrifikace	79
15.4.1	Kultivace nitrifikačních bakterií a kvalitativní stanovení produktů jejich činnosti	80
15.5	Denitrifikace	81
15.5.1	Kultivace denitrifikačních bakterií a kvalitativní stanovení produktů jejich činnosti	81
16	MIKROBIOLOGICKÉ STANOVENÍ RŮSTOVÝCH FAKTORŮ A INHIBITORŮ	82
16.1	Stanovení koncentrace kyseliny nikotinové difúzní jamkovou metodou	83
16.2	Stanovení koncentrace oxacylinu difúzní jamkovou metodou	84
17	MIKROBIOLOGICKÝ ROZBOR POTRAVIN	84
17.1	Obecný postup při mikrobiologické kontrole potravin	85
17.1.1	Aseptické odebrání průměrného vzorku	85
17.1.2	Makroskopické (smyslové) hodnocení	85
17.1.3	Orientační chemický rozbor na účely mikrobiologického vyšetření	85
17.1.4	Mikroskopické vyšetření	86
17.1.5	Kultivační vyšetření	86
17.1.6	Výpracování zprávy	86
17.2	Zpracování vzorku a stanovení počtu kontaminantů	86
18	REAGENCE A KULTIVAČNÍ MÉDIA	88
18.1	Reagence	88
18.2	Kultivační média	89
19	LITERATURA	95