



# OBSAH

<b>1. BEZPEČNOST PŘI PRÁCI V MIKROBIOLOGICKÉ LABORATOŘI A PRAVIDLA ASEPTICKÉ PRÁCE</b>	<b>3</b>
1.1 Pravidla aseptické práce	4
1.2 Příprava vatových zátek	4
1.3 Písemný záznam - protokol	5
<b>2. LABORATORNÍ SKLO</b>	<b>5</b>
2.1 Příprava a mytí laboratorního skla	6
2.2 Dekontaminace použitého laboratorního nádobí s pomnoženými kulturami	6
<b>3. PŘÍSTROJOVÉ VYBAVENÍ MIKROBIOLOGICKÉ LABORATOŘE</b>	<b>7</b>
3.1 Sterilizační zařízení	8
3.2 Laboratorní pomůcky	9
<b>4. ŽIVNÁ MÉDIA</b>	<b>10</b>
4.1 Příprava kultivačních médií	11
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	12
4.3.3 Zdroj růstových faktorů	12
4.3.4 Zdroje minerálních látek	12
4.3.5 Voda	13
4.3.6 Peptony	13
4.3.7 Hydrolyzáty	13
4.3.8 Extrakty	13
4.4 Ztuzující komponenty	14
4.4.1 Agar	14
4.4.2 Želatina	14
4.4.3 Gel kyseliny křemičité	14
4.5 Sterilizace živných médií	14
4.6 Příprava agarových ploten	15
4.7 Příprava šikmých agarů	15
4.7.1 Příprava základních živných médií	15
<b>5. STERILIZACE</b>	<b>16</b>
5.1 Sterilizace plamenem	16
5.2 Sterilizace horkým vzduchem	17
5.3 Sterilizace vlhkým teplem	17
5.4 Sterilizace filtrací	17
5.5 Sterilizace UV zářením	18
5.6 Sterilizace chemickými prostředky	18
<b>6. OČKOVÁNÍ A KULTIVACE MIKROORGANISMŮ</b>	<b>18</b>
6.1 Způsoby očkování	19
6.1.1 Ze zkumavky na šikmý agar	19
6.1.2 Ze šikmého agaru do kapalné půdy	19
6.1.3 Očkování vpichem	19
6.1.4 Z Petriho misky do zkumavky a naopak	19
6.1.5 Způsoby očkování Petriho misek	19
6.1.6 Očkování z Petriho misky na Petriho misku	20
6.1.7 Očkování pipetou	20
6.2 Kultivace mikroorganismů	20
6.2.1 Způsoby kultivace	20

<b>7. IZOLACE MIKROORGANISMŮ</b>	<b>21</b>
7.1 Křížový roztěr	21
7.2 Izolace roztěrem	22
<b>8. MIKROSKOPICKÉ POZOROVÁNÍ MIKROORGANISMŮ</b>	<b>23</b>
8.1 Mikroskop a druhy mikroskopie	23
8.2 Druhy mikroskopie	25
8.3 Obecné zásady při mikroskopování	26
8.4 Kreslení mikroskopických preparátů	26
8.5 Příprava mikroskopických preparátů	26
8.5.1 Příprava nativního preparátu	27
8.6 Barvení mikroorganismů	28
8.6.1 Příprava fixovaného preparátu	29
8.6.2 Základní diagnostické barvení podle Grama	29
8.6.3 Rozlišení grampozitivních a gramnegativních bakterií pomocí KOH	30
8.6.4 Příprava trvalého preparátu	30
8.6.5 Vitální barvení	31
8.6.6 Negativní barvení	31
8.6.7 Barvení pouzder	32
8.6.8 Barvení spor	32
8.6.9 Proteolytická aktivita bakterií	33
<b>9. STANOVENÍ POČTU BUNĚK: METODA PŘÍMÁ A NEPŘÍMÁ</b>	<b>34</b>
9.1 Přímá metoda stanovení počtu buněk	34
9.1 Nepřímá metoda stanovení počtu buněk - kulturační	36
9.3 Nefelometrické a turbidimetrické stanovení počtu buněk	38
<b>10. KVASINKY A KVASINKOVITÉ MIKROORGANISMY</b>	<b>40</b>
10.1 Mikroskopie kvasinek a kvasinkovitých mikroorganismů	42
10.2 Morfologie buněk a způsob pučení kvasinek	43
10.3 Myceliové útvary a prvky vegetativní fruktifikace	43
10.4 Proteolytická aktivita kvasinek	44
10.5 Zkvašování sacharidů	44
10.6 Užitečné kvasinky v kvasném průmyslu	45
10.6.1 Pivovarské kvasinky	45
10.6.2 Lihovarské kvasinky	46
10.6.3 Drožděnské kvasinky	46
10.6.4 Vinařské kvasinky	47
10.7 Škodlivé kvasinky v kvasném průmyslu	46
10.7.1 Rod <i>Saccharomyces</i>	47
10.7.2 Podrod <i>Pichia</i>	48
10.7.3 Podrod <i>Hansenula</i>	48
10.7.4 Rod <i>Saccharomycodes</i>	48
10.7.5 Rod <i>Candida</i>	48
10.7.6 Rod <i>Rhodotorula</i>	50
<b>11. BAKTERIE MLÉČNÉHO KVAŠENÍ</b>	<b>50</b>
11.1 Homofermentativní bakterie	51
11.1.1 <i>Lactobacillus acidophilus</i> (Orla-Jensen) HOLLAND, syn. <i>Thermobacterium intestinale</i>	51
11.1.2 <i>Lactobacillus plantarum</i> (Orla-Jensen) HOLLAND	51
11.1.3 <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	52
11.2 Heterofermentativní bakterie	52
11.2.1 <i>Lactobacillus fermentum</i>	52
11.2.2 <i>Lactobacillus brevis</i>	52
11.2.3 <i>Lactobacillus buchneri</i>	52
11.3 Bifidobakterie	52
11.3.1 <i>Bifidobacterium bifidum</i> ( <i>Lactobacillus bifidus</i> )	52
11.4 Mikroskopie bakterií mléčného kvašení	53

<b>12. MIKROSKOPICKÉ HOUBY (PLÍSNĚ)</b>	<b>53</b>
12.1 Zygomycetes	54
12.1.1 Řád <i>Mucorales</i>	54
12.2 Deuteromycetes	56
12.2.1 Řád <i>Moniliales</i>	56
12.3 Mikroskopie mikromycet (vláknitých hub)	60
12.4 Příprava mikroskopického preparátu mikromycet	61
<b>13. MIKROBIOLOGICKÝ ROZBOR VZDUCHU</b>	<b>61</b>
13.1 Metoda sedimentační	62
13.2 Metoda založená na principu nasávání vzdušného proudu	62
13.3 Metoda filtrační	62
<b>14. BAKTERIE VE VODĚ – MIKROBIOLOGICKÝ ROZBOR VODY</b>	<b>62</b>
14.1 Všeobecné zásady při odběru vzorků vody	63
14.2 Stanovení počtu psychrofilních bakterií	64
14.3 Stanovení počtu mezofilních bakterií	65
14.4 Stanovení indikátorů fekálního znečištění	65
14.4.1 Stanovení koliformních, fekálních bakterií	66
14.4.2 Stanovení fekálních streptokoků (dříve označovány jako „enterokoky“)	67
<b>15. MIKROBIOLOGICKÝ ROZBOR PŮDY</b>	<b>67</b>
15.1 Odběr vzorku	67
15.2.1 Obecné zásady	67
15.1.2 Postup při odběru vzorků	68
15.2 Mikrobiologický rozbor půdy	68
15.2.1 Lipolytické bakterie	68
15.2.2 Celulolytické bakterie	69
15.2.3 Dřikaz celulolytických bakterií	70
15.2.4 Izolace <i>Azotobacteria sp.</i>	71
15.2.5 Nahromadění denitrifikačních bakterií	71
<b>16. MIKROBIOLOGICKÉ STANOVENÍ RŮSTOVÝCH FAKTORŮ A INHIBITORŮ</b>	<b>73</b>
16.1 Stanovení koncentrace kyseliny nikotinové difúzní jamkovou metodou	74
16.2 Stanovení koncentrace oxacylinu difúzní jamkovou metodou	75
<b>17. MIKROBIOLOGICKÝ ROZBOR POTRAVIN</b>	<b>75</b>
17.1 Obecný postup při mikrobiologické kontrole potravin	75
17.1.1 Aseptické odebrání průměrného vzorku	76
17.1.2 Makroskopické (smyslové) hodnocení	76
17.1.3 Orientační chemický rozbor na účely mikrobiologického vyšetření	76
17.1.4 Mikroskopické vyšetření	76
17.1.5 Kultivační vyšetření	76
17.1.6 Vypracování zprávy	76
17.2 Zpracování vzorku a stanovení počtu kontaminantů	77
<b>18. REAGENCE A KULTIVAČNÍ MÉDIA</b>	<b>78</b>
18.1 Reagence	78
18.2 Kultivační média	79
<b>19. LITERATURA</b>	<b>84</b>