

## OBSAH

<b>1 VYBAVENIE MIKROBIOLOGICKÉHO LABORATÓRIA</b>	<b>1</b>
1.1 ZÁSADY PRÁCE V MIKROBIOLOGICKOM LABORATÓRIU	1
1.2 ZÁKLADNÉ LABORATÓRNE PRÍSTROJE A POMÔCKY POUŽÍVANÉ V MIKROBIOLOGICKOM LABORATÓRIU	2
1.2.1 Prístroje	2
1.2.2 Laboratórne sklo	6
1.2.3 Preparačné a očkovacie pomôcky	7
1.3 VYBAVENIE LABORATÓRIA POTREBNÉ NA PCR DETEKCIU MIKROORGANIZMOV	8
<b>2 PROSTRIEDKY STERILIZÁCIE POUŽÍVANÉ V MIKROBIOLOGICKOM LABORATÓRIU</b>	<b>10</b>
2.1 FYZIKÁLNE PROSTRIEDKY STERILIZÁCIE	10
2.2 CHEMICKÉ PROSTRIEDKY STERILIZÁCIE	13
2.3 MECHANICKÉ PROSTRIEDKY STERILIZÁCIE	14
<b>3 KULTIVÁCIA MIKROORGANIZMOV V MIKROBIOLOGICKOM LABORATÓRIU</b>	<b>15</b>
3.1 ŽIVNÉ PÔDY (ŽIVNÉ MÉDIÁ, KULTIVAČNÉ MÉDIÁ)	15
3.1.1 Zloženie a rozdelenie živných pôd podľa rôznych kritérií	15
3.1.2 Príprava živných pôd, ich rozlievanie a uchovávanie	17
3.1.3 Spôsoby sterilizácie živných pôd	20
3.2 SPÔSOBY OČKOVANIA MIKROORGANIZMOV NA ŽIVNÉ PÔDY	21
3.2.1 Zásady aseptického práce pri očkovaní mikroorganizmov	21
3.2.2 Očkovanie mikroorganizmov do živných pôd na Petriho miskách	22
3.2.3 Očkovanie mikroorganizmov do živných pôd v skúmavkách	25
3.2.4 Očkovanie mikroorganizmov do kvapalnej živnej pôdy	26
3.2.5 Očkovanie mikroorganizmov z Petriho misiek do skúmaviek a naopak	27
3.3 KULTIVÁCIA MIKROORGANIZMOV	27
3.3.1 Druhy kultivácie	27
3.3.1.1 Aeróbná a anaeróbná kultivácia, spôsoby tvorby anoxického prostredia	28
3.3.2 Možnosti uchovávania kultúr v laboratórnych podmienkach a oživovanie kultúr mikroorganizmov	29
3.3.2.1 Pasážovanie na živných pôdach	29
3.3.2.2 Sušenie	30
3.3.2.3 Uchovávanie pri ultranízkej teplote	30
3.3.2.4 Lyofilizácia	30
3.3.2.5 Odporúčané spôsoby uchovávaní a oživovania kultúr mikroorganizmov	31
<b>4 IZOLÁCIA MIKROORGANIZMOV</b>	<b>33</b>
4.1 ZÁKLADNÉ IZOLAČNÉ TECHNIKY	33
4.1.1 Makroskopicky kontrolovateľné metódy	33
4.1.2 Mikroskopicky kontrolovateľné metódy	34
<b>5 ZÁSADY IDENTIFIKÁCIE MIKROORGANIZMOV DÔLEŽITÝCH V POTRAVINÁRSKOM PRIEMYSLE</b>	<b>35</b>
5.1 IDENTIFIKÁCIA BAKTÉRIÍ	35

5.1.1 Zjednodušená rodová identifikácia baktérií dôležitých v potravinárstve	46
5.2 IDENTIFIKÁCIA KVASINIEK A VLÁKNITÝCH MIKROSKOPICKÝCH HÚB	52
5.2.1 Identifikácia kvasiniek	52
5.2.2 Identifikácia vláknitých mikroskopických húb	56
5.3 IDENTIFIKÁCIA MIKROORGANIZMOV ZALOŽENÁ NA HODNOTENÍ GENOTYPOVÝCH ZNAKOV POMOCOU MOLEKULÁRNYCH METÓD	57
<b>6 ODBER VZORIEK NA MIKROBIOLOGICKÉ VYŠETRENIE VÝROBKOV</b>	<b>59</b>
6.1 SPÔSOB ODBERU VZORIEK NA MIKROBIOLOGICKÉ VYŠETRENIE	59
6.2 TRANSPORT VZORIEK DO LABORATÓRIA A SPRACOVANIE VZORIEK V LABORATÓRIU	61
6.3 DOKUMENTÁCIA V LABORATÓRIU A PROTOKOL O VYKONANÍ SKÚŠKY V LABORATÓRIU	61
<b>7 METÓDY DETEKČIE MIKROORGANIZMOV V POTRAVINÁCH</b>	<b>63</b>
7.1 METÓDY STANOVENIA POČTU BUNIEK MIKROORGANIZMOV	63
7.1.1 Mikroskopické metódy	63
7.1.1.1 Klasické mikroskopické metódy	63
7.1.1.2 Moderné mikroskopické metódy	65
7.1.2 Prietoková cytometria	66
7.1.3 Elektronické počítanie buniek mikroorganizmov	67
7.1.4 Nefelometrické stanovenie počtu mikroorganizmov	67
7.1.5 Kultivačné metódy	68
7.1.5.1 Platňová metóda	68
7.1.5.2 Varianty klasickej platňovej metódy	77
7.1.5.3 Špecifiká pri rozbere vzoriek s nízkym obsahom mikroorganizmov	79
7.1.5.4 Metóda dôkazu mikroorganizmov	81
7.2 METÓDY STANOVENIA BUNKOVEJ HMOTY MIKROORGANIZMOV	85
7.2.1 Priame metódy stanovenia bunkovej hmoty	85
7.2.1.1 Vážkové stanovenie bunkovej sušiny	85
7.2.1.2 Stanovenie obsahu zložiek protoplazmy	85
7.2.2 Nepriame metódy stanovenia bunkovej hmoty	86
7.2 METÓDY ZALOŽENÉ NA SLEDOVANÍ INTENZITY BIOCHEMICKEJ ČINNOSTI MIKROORGANIZMOV	86
7.3.1 Meranie impedancie (zdanlivého odporu), konduktancie (vodivosti) a kapacitancie (kapacitného odporu)	86
7.3.2 Limulus test	87
7.3.3 Stanovenie ATP pomocou bioluminiscencie	88
7.3.4 Metódy redukcie farbív	89
7.3.5 Rádiometrická metóda	90
7.3 MOLEKULÁRNE METÓDY	90
7.4.1 Využitie PCR pri mikrobiologickom skúšaní potravín	90
7.4.1.1 Izolácia DNA	90
7.4.1.2 Príprava PCR reakcie	92
7.4.1.3 Priebeh PCR cyklu	93
7.4.1.4 Separácia a vizualizácia DNA	94
7.4.1.5 Potvrdenie pravosti PCR produktu	96
7.4.1.6 Markery používané pre detekciu a kvantifikáciu mikroorganizmov	96
7.4.1.7 PCR detekcia a kvantifikácia mikroorganizmov	97

7.4.1.8 Kontrola PCR reakcie	99
7.4.2 Organizácia práce v laboratóriu molekulárnej biológie	100
7.5 IMUNOLOGICKÉ METÓDY	101
7.6 METÓDY SLEDUJÚCE ÚROVEŇ MIKROBIOLOGICKEJ HYGIENY PRI VÝROBE POTRAVÍN	102
7.6.1 Metódy sledujúce mikrobiologickú čistotu výrobného zariadenia a pracovných pomôcok	102
7.6.2 Metódy sledujúce hygienu pracovníkov	105
7.6.3 Metódy sledujúce čistotu vzduchu v pracovných priestoroch potravinárskych podnikov	106
<b>8 MIKROBIOLOGICKÉ LABORATÓRIÁ NA KONTROLU POTRAVÍN</b>	<b>111</b>
8.1 ORGANIZÁCIA ÚRADNEJ A PODNIKOVEJ KONTROLY POTRAVÍN V LABORATÓRIÁCH KONTROLY POTRAVÍN	111
8.2 CHARAKTERISTIKA A ÚLOHY MIKROBIOLOGICKÉHO LABORATÓRIA V RÁMCI ÚRADNEJ A PODNIKOVEJ KONTROLY POTRAVÍN	113
8.3 POŽIADAVKY NA PRACOVNÍKOV VYKONÁVAJÚCICH MIKROBIOLOGICKÉ SKÚŠANIE POTRAVÍN	113
8.4 POŽIADAVKY NA PROSTREDIE (PRIESTORY, SLEDOVANIE PODMIENOK PROSTREDIA A HYGIENY V LABORATÓRIÁCH)	114
8.5 POŽIADAVKY NA ZARIADENIE MIKROBIOLOGICKÉHO LABORATÓRIA	116
8.6 POŽIADAVKY NA ČINIDLÁ A KULTIVAČNÉ MÉDIÁ V MIKROBIOLOGICKOM LABORATÓRIU	117
8.7 POUŽÍVANIE REFERENČNÝCH MATERIÁLOV A REFERENČNÝCH KULTÚR V MIKROBIOLOGICKOM LABORATÓRIU	118
8.8 VALIDÁCIA (POTVRDENIE PLATNOSTI) SKÚŠOBNÝCH METÓD	118
8.9 NEISTOTY MERANÍ	119
8.10 VZORKOVANIE	120
8.11 MANIPULÁCIA S PREDMETMI SKÚŠANIA A IDENTIFIKÁCIA	120
8.12 ODSTRANOVANIE KONTAMINOVANÉHO MATERIÁLU	120
8.13 ZABEZPEČENIE KVALITY VÝSLEDKOV SKÚŠOK V LABORATÓRIU	120
8.14 OZNAMOVANIE VÝSLEDKOV	121
<b>9 NAJČASTEJŠIE POUŽÍVANÉ RIEDIACE ROZTOKY A KULTIVAČNÉ MÉDIÁ</b>	<b>122</b>
<b>POUŽITÁ LITERATÚRA</b>	<b>126</b>
<b>ZOZNAM CITOVANÝCH NORIEM POUŽÍVANÝCH V MIKROBIOLOGICKÝCH LABORATÓRIÁCH</b>	<b>128</b>