

OBSAH

| | | |
|----------|---|-----------|
| 1 | Vybavenie mikrobiologického laboratória (Javoreková) | 1 |
| 1.1 | Základné laboratórne prístroje, pomôcky a sklo | 1 |
| 2 | Bezpečnosť pri práci v mikrobiologickom laboratóriu (Javoreková) | 5 |
| 2.1 | Bezpečnostné predpisy v mikrobiologickom laboratóriu | 5 |
| 2.1.1 | Pravidlá aseptickej práce s mikroorganizmami | 6 |
| 2.1.2 | Práca s mikrobiologickým očkom | 6 |
| 2.2 | Chemické riziká v mikrobiologickom laboratóriu | 7 |
| 3 | Mikroskop a mikroskopické metódy (Javoreková) | 9 |
| 3.1 | Druhy mikroskopie | 9 |
| 3.2 | Mikroskop a jeho optické vlastnosti | 10 |
| 3.3 | Práca s mikroskopom | 12 |
| 3.4 | Mikroskopické preparáty a ich príprava | 12 |
| 3.4.1 | Príprava nefixovaných preparátov | 12 |
| 3.4.1.1 | Jednoduchý natívny preparát | 13 |
| 3.4.1.2 | Visiaca kvapka | 14 |
| 3.4.1.3 | Vitálne sfarbený preparát | 14 |
| 3.4.1.4 | Negatívne sfarbený preparát | 14 |
| 3.4.1.5 | Sklíčkový preparát | 15 |
| 3.4.2 | Príprava fixovaných preparátov | 15 |
| 3.4.2.1 | Jednoduchý preparát | 15 |
| 3.4.2.2 | Gramovo farbenie | 15 |
| 3.4.2.3 | Acidorezistentné farbenie podľa Ziehla – Neelsena | 17 |
| 3.4.2.4 | Farbenie spór | 18 |
| 3.4.2.5 | Farbenie puzzdier | 18 |
| 3.4.2.6 | Trvalé preparáty | 19 |
| 3.4.3 | Zakresľovanie preparátov | 19 |
| 3.5. | Meranie veľkosti mikroorganizmov | 19 |
| 3.5.1 | Meranie dĺžky a šírky buniek mikroorganizmov | 20 |
| 4 | Živné pôdy a laboratórne metódy v mikrobiológii (Javoreková, Medo) | 22 |
| 4.1 | Živné pôdy (Javoreková) | 22 |
| 4.1.1 | Rozdelenie živných pôd | 23 |
| 4.1.2 | Príprava živných pôd | 23 |
| 4.2 | Sterilizácia (Javoreková) | 24 |
| 4.2.1 | Sterilizácia fyzikálnymi prostriedkami | 24 |
| 4.2.2 | Sterilizácia chemickými prostriedkami | 26 |
| 4.2.3 | Sterilizácia mechanickými prostriedkami | 27 |
| 4.3 | Očkovanie (Javoreková) | 27 |
| 4.3.1 | Očkovanie tekutých a rôsolovitých živných pôd | 28 |
| 4.4 | Kultivácia mikroorganizmov (Javoreková) | 30 |
| 4.5 | Izolácia mikroorganizmov (Javoreková) | 31 |
| 4.6 | Identifikácia mikroorganizmov (Javoreková) | 32 |
| 4.6.1 | Kultivačné znaky | 32 |
| 4.6.2 | Morfologické znaky | 33 |
| 4.6.3 | Fyziologické znaky | 33 |
| 4.6.4 | Biochemické znaky | 34 |
| 4.6.5 | Sérologické znaky | 35 |

| | | |
|----------|--|-----------|
| 4.6.6 | Genetická analýza mikroorganizmov (Medo) | 35 |
| 4.6.6.1 | Lýza buniek | 36 |
| 4.6.6.2 | Odstránenie proteínov | 36 |
| 4.6.6.3 | Purifikácia | 37 |
| 4.6.6.4 | Analýza izolovaných nukleových kyselín | 37 |
| 4.6.6.5 | Vizualizácia a separácia DNA | 39 |
| 4.6.6.6 | Modifikácie PCR | 40 |
| 4.6.6.7 | Sekvenovanie podľa Sangera | 41 |
| 4.6.6.8 | Markery využívané pri analýze mikroorganizmov | 41 |
| 4.6.6.9 | Nešpecifické metódy na hodnotenie príbuznosti mikroorganizmov | 42 |
| 4.6.6.10 | Získavanie a analýza genomickej informácie mikroorganizmov | 43 |
| 4.7 | Uchovávanie kultúr (Javoreková) | 43 |
| 4.7.1 | Subkultivácia – pasážovanie na živných pôdach | 44 |
| 4.7.2 | Sušenie | 44 |
| 4.7.3 | Uchovávanie pri ultranízkej teplote | 44 |
| 4.7.4 | Lyofilizácia | 44 |
| 4.7.5 | Odporúčané spôsoby uchovávania rozličných mikroorganizmov | 45 |
| 4.7.6 | Zbierky mikroorganizmov | 45 |
| 5 | Pozorovanie základných skupín mikroorganizmov (Javoreková) | 47 |
| 5.1 | Baktérie | 47 |
| 5.1.1 | Pozorovanie základných tvarov eubaktérií | 47 |
| 5.1.2 | Pozorovanie základných tvarov myxobaktérií | 49 |
| 5.1.3 | Pozorovanie základných tvarov aktinomycét | 50 |
| 5.1.4 | Pozorovanie siníc (cyanobaktérií) | 51 |
| 5.2 | Riasy | 52 |
| 5.2.1 | Mikroskopické pozorovanie rias | 52 |
| 5.3 | Prvoky | 53 |
| 5.4 | Mikroskopické huby | 54 |
| 5.4.1 | Pozorovanie vláknitých mikroskopických húb | 57 |
| 5.4.2 | Pozorovanie kvasiniek | 58 |
| 6 | Rast mikroorganizmy (Javoreková) | 60 |
| 6.1 | Hodnotenie priebehu rastu mikroorganizmov | 60 |
| 6.1.1 | Rastová krivka | 60 |
| 6.1.2 | Matematická analýza rastu | 61 |
| 6.2 | Metódy počítania mikroorganizmov | 63 |
| 6.2.1 | Priame mikroskopické metódy | 63 |
| 6.2.1.1 | Stanovenie počtu mikroorganizmov v počítacích komôrkach (Thomova, Bürkerova komôrka) | 63 |
| 6.2.1.2 | Stanovenie počtu mikroorganizmov vo fixovaných sfarbených preparátoch | 64 |
| 6.2.1.3 | Stanovenie počtu mikroorganizmov pomocou fluorescenčného mikroskopu | 65 |
| 6.2.2 | Nepriame kultivačné metódy počítania mikroorganizmov | 66 |
| 6.2.2.1 | Platňová zriedovacia metóda | 66 |
| 6.2.2.2 | Metóda maximálneho zriedenia | 67 |
| 6.2.3 | Nefelometrické a turbidimetrické stanovenia počtu buniek | 69 |
| 6.3 | Inhibícia rastu mikroorganizmov | 70 |
| 6.3.1 | Sledovanie citlivosti mikroorganizmov na antimikrobiálne látky | 70 |
| 6.3.1.1 | Stanovenie účinnosti antibiotík difúznou metódou | 70 |
| 6.3.1.2 | Rýchla metóda na určovanie citlivosti mikroorganizmov | 71 |

| | | |
|-------------------------|---|-----------|
| 7 | Hodnotenie metabolickej aktivity mikroorganizmov (Javoreková) | 72 |
| 7.1 | Kvasenie | 72 |
| 7.1.1 | Etanolové kvasenie | 72 |
| 7.1.2 | Mliečne kvasenie | 73 |
| 7.1.2.1 | Hodnotenie priebehu mliečneho kvasenia v mlieku | 74 |
| 7.1.2.2 | Hodnotenie priebehu mliečneho kvasenia v siláži | 75 |
| 7.1.3 | Hodnotenie priebehu kvasenia v siláži | 76 |
| 7.1.4 | Maslové kvasenie | 77 |
| 7.2 | Dýchanie | 78 |
| 7.3 | Neúplná oxidácia organických látok | 80 |
| 7.4 | Amonizácia | 81 |
| 7.4.1 | Hodnotenie amonizácie bielkovín a močoviny | 81 |
| 7.5 | Biologické viazanie molekulového dusíka | 83 |
| 7.6 | Identifikačné biochemické testy v mikrobiológii | 84 |
| 7.6.1 | Katalázová aktivita | 84 |
| 7.6.2 | Ureázová aktivita | 84 |
| 7.6.3 | Oxidázová aktivita | 85 |
| 7.6.4 | Oxidačno-fermentačný test | 85 |
| 7.6.5 | Hydrolýza škrobu | 86 |
| 7.6.6 | Proteolýza | 86 |
| 7.6.7 | Tvorba indolu | 86 |
| 7.6.8 | Tvorba sulfánu | 87 |
| 7.6.9 | Lipolytická aktivita | 87 |
| 7.6.10 | Hemolytická aktivita | 87 |
| 8 | Zoznam a zloženie odporúčaných živných pôd a roztokov (Javoreková) | 89 |
| 9 | Zoznam použitej literatúry | 98 |
| Protokoly (Medo) | | 99 |