

MIKROBIOLOGIE, PŘÍPRAVA KULTIVAČNÍCH MÉDIÍ

Mgr. Veronika Vymětalová, Ph.D.

FBMI ČVUT, 2023

Inovace výuky přírodovědných
předmětů na ČVUT FBMI



MIKROBIOLOGIE

Studium mikroorganismů – viry, bakterie a archaea, kvasinky, řasy, prvoci.

Obecná mikrobiologie - morfologie, cytologie, taxonomie, fyziologie, genetika a další.

Aplikovaná mikrobiologie -

Lékařská mikrobiologie – infekce, onemocnění, epidemie - člověk

Veterinární mikrobiologie – infekce, onemocnění, epidemie - zvířata

Technická mikrobiologie - Potravinářská mikrobiologie – příprava, kontaminace potravin

Speciální mikrobiologie - výzkum

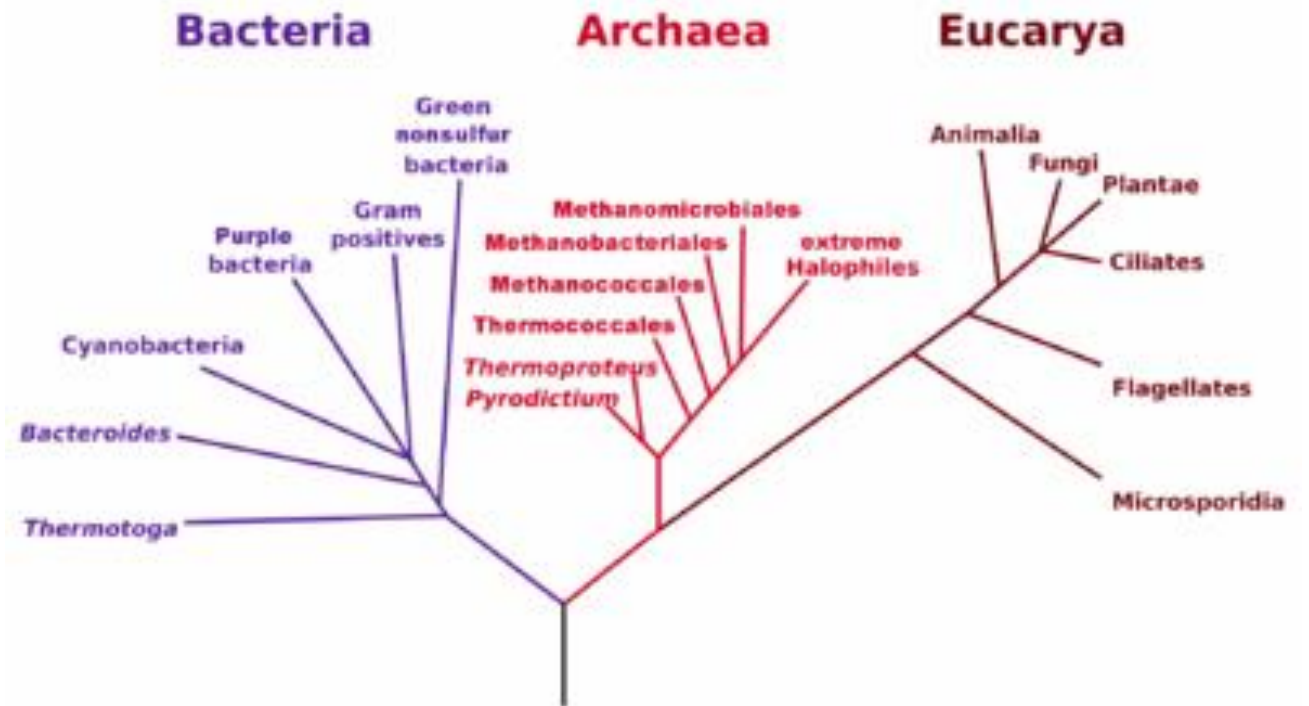
FYLOGENETICKÝ STROM ŽIVOTA

Fylogenetický strom založený na datech rRNA , ukazující separaci bakterií, archeí a eukaryot, podle C. Woese et al. (1990)

Systém tří domén –Bacteria, Archaea, Eucarya.

Diskutované díky doméně Archaea, společné znaky s oběma dalšími doménami.

Phylogenetic Tree of Life



TAXONOMIE MIKROORGANISMŮ

Názvosloví mikroorganismů je podobně jako v botanice a zoologii **binomické** – Carl Linné.

Základní taxonomickou jednotkou je **druh**.

Druhy jsou seskupeny do rodů.

Rod je obvykle dobře definovaná skupina taxonů, která je jasně odlišitelná od jiných rodů; skládá se z jednoho či více druhů, případně i poddruhů.

Kmen (lat. typus, angl. strain), generace pocházející z jedné buňky, která je udržovaná v laboratorních podmínkách. Má specifické vlastnosti odlišující je od jiných kmenů stejného druhu.

TAXONOMIE MIKROORGANISMŮ

Dále můžeme pokračovat

Biotyp (biovar) má specifické fyziologické vlastnosti.

Serotyp (serovar) má charakteristické antigenní vlastnosti.

Pathotyp (pathovar) má patogenní vlastnosti pro určitého hostitele.

Morfotyp (morfovar) má specifické morfologické vlastnosti.

Fagotyp (fagovar) má schopnost být hostitelem určitého viru (fága)

MIKROBIOLOGICKÝ VÝZKUM A PRACOVISTĚ

1) **Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i.** - největší pracoviště v ČR, které komplexně studuje vlastnosti mikroorganismů (bakterií, kvasinek, hub a řas), mimopražská pracoviště, v Třeboni Centrum **ALGATECH**, ve Vestci Centrum **BIOCEV**.

<https://mbucas.cz/o-ustavu/>

2) **Československá mikrobiologická společnost (ČSSM)** – spolčování mikrobiologů s cílem výměny informací a zkušeností, založena r. 1928, jedna z nejstarších organizací svého druhu.

<https://cssm.info>

3) **Státní zdravotní ústav, Centrum epidemiologie a mikrobiologie** – instituce pod Ministerstvem zdravotnictví ČR, infekční onemocnění

<https://szu.cz/odborna-centra-a-pracoviste/centrum-epidemiologie-a-mikrobiologie/>

4) **VŠ – přírodovědecké a lékařské fakulty** – mikrobiologické ústavy (UK, MU, JČU, UPOL atd.), **fakultní a okresní nemocnice** – odd. klinické mikrobiologie, a další....

SBÍRKA MIKROORGANISMŮ

Česká sbírka mikroorganismů (CCM), založena v roce 1963 na PřF MU v Brně deponováním, uchováváním a distribucí kultur bakterií, archaea, vláknitých hub, kvasinek a bakteriofágů.

Kultury jsou určeny pro potřeby základního a aplikovaného výzkumu, průmyslové využití, biotechnologie a výuku.

(3 400 kmenů bakterií a archaea (přibližně 1 700 druhů), 800 kmenů vláknitých hub a kvasinek (přibližně 550 druhů) a sbírku stafylokokových bakteriofágů a jejich hostitelských kmenů)

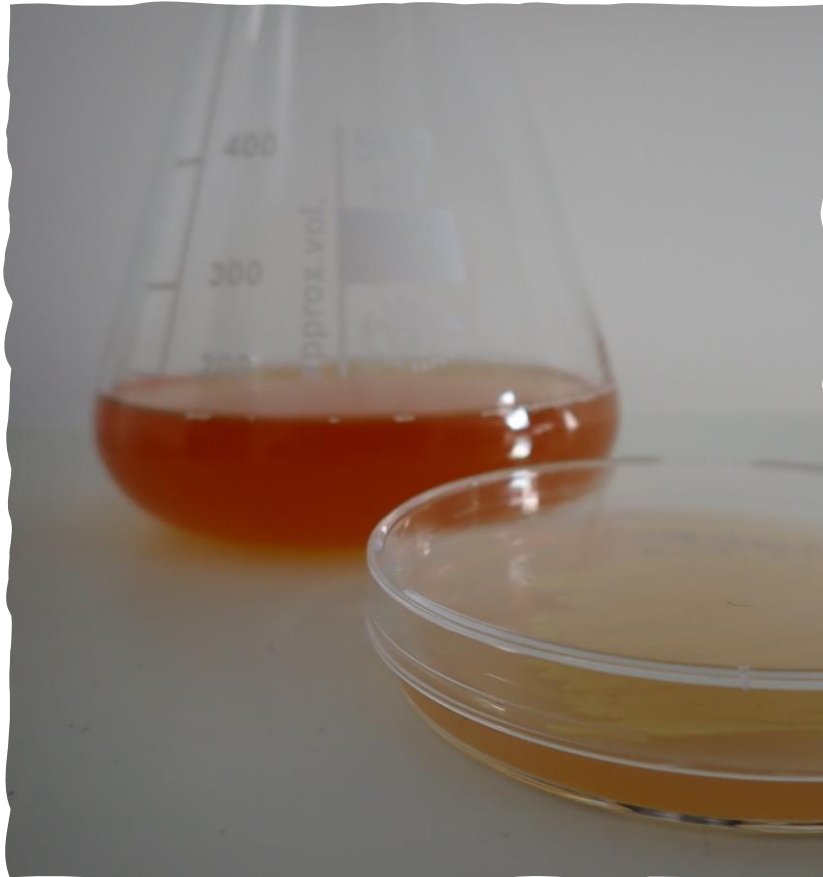
<https://ccm.sci.muni.cz>

PŘÍPRAVA KULTIVAČNÍCH PŮD

- Kultivační nádoby – sklo – Erlenmayerovy baňky, bakteriologické zkumavky – sklo, plast – Petriho misky.
- Do čisté kultivační baňky provedeme navážku jednotlivých složek média (zdroj C, N, P.... soli,) nebo použijeme hotovou směs.
- Přilijeme odpovídající objem destilované vody a důkladně promícháme (cca 15 minut u médií s agarem).
- Kontrola pH půd – úprava pomocí 0,1 M HCl nebo 0,1 M NaOH.
- Vatové zátky při kultivaci – buničitá vata, ručně připravené, přikryté alobalem.
- Sterilizace v autoklávu při 121°C, 15 - 30 minut v závislosti na objemu.



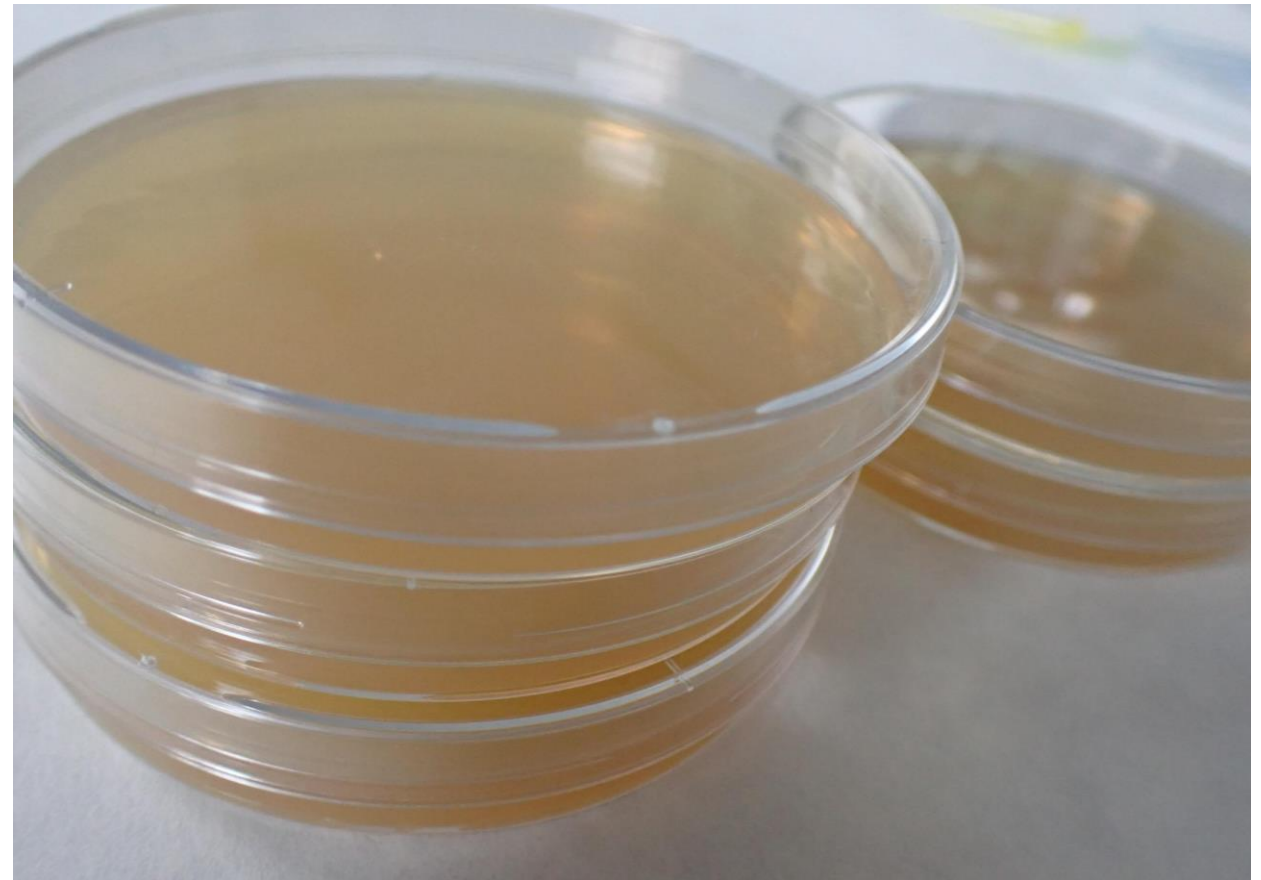
KULTIVAČNÍ PŮDY



- **Kultivační půdy** dělíme často na tekuté/kapalné, polotekuté a pevné.
- **Tekuté půdy, bujóny** – Erlenmayerova baňka, vatová zátka (buničitá vata), krytá kovovou fólií – alobalem, kvůli vlhkosti, slouží k množení mikroorganismů
- Polotekuté (sledování pohybu mikroorganismů)
- **Pevné půdy** – agary – **Petriho misky s kultivačním půdou s přidáním agaru (agarové plotny)** nebo bakteriologické zkumavky s pevným médiem – tzv. **šikmé agary**.

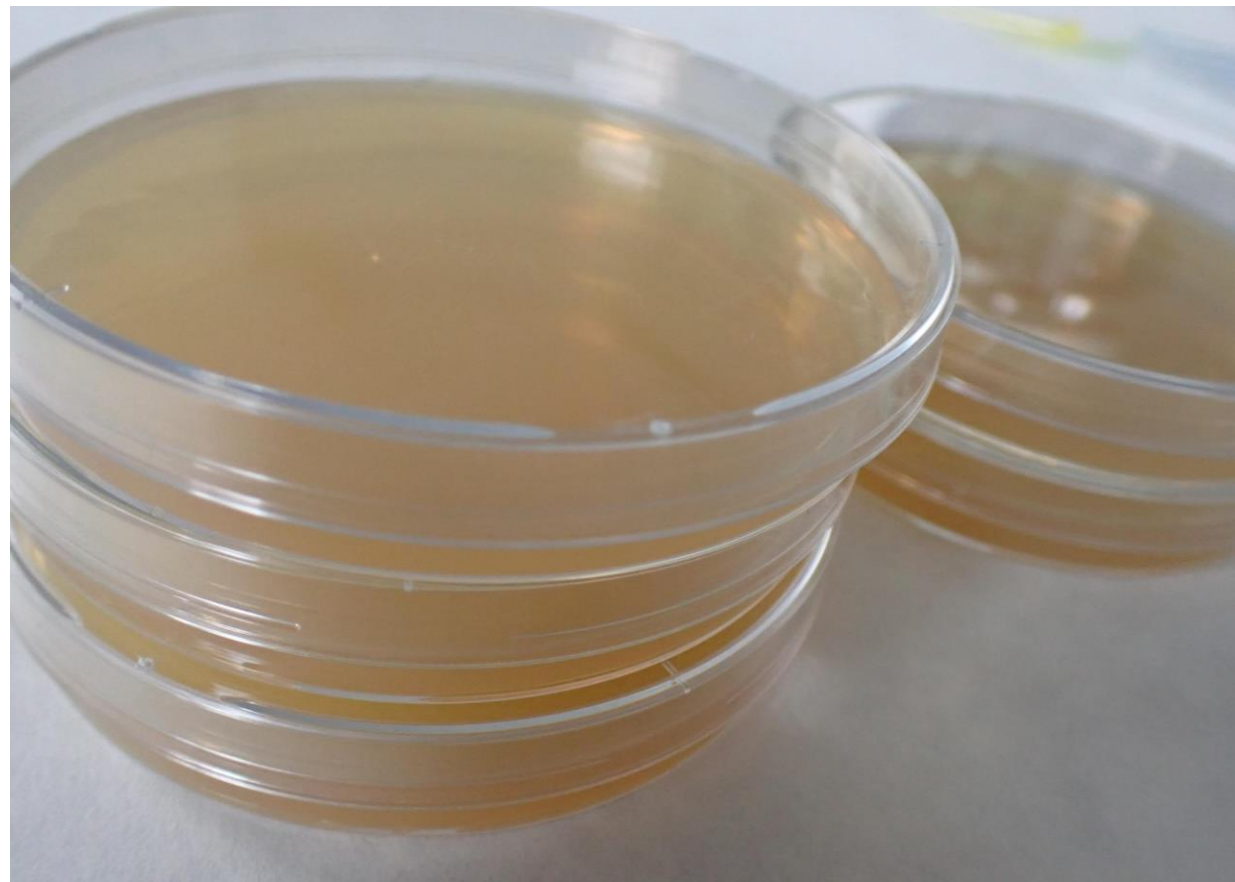
KULTIVAČNÍ PŮDY

- **Základní** (MPA, krevní agar)
- **Selektivní** (obsahují látky, které potlačují růst bakterií)
- **Diagnostické** (obsahují látky, které se mění vlivem metabolismu bakterií)
- **Selektivně-diagnostické** spojení předchozích 2 kategorií
- **Transportní** (umožňují transport bakterií)
- **Pomnožovací** (k pomnožení bakterií)



KULTIVAČNÍ PŮDY/AGARY

- **MASOPEPTONOVÝ AGAR/MPA**,
základní médium i pro další
použití, nenáročné bakterie
- **KREVNÍ AGAR/KA** s přidáním
beraní krve – G+ bakterie
- **ČOKOLÁDOVÝ AGAR/ČA** –
náročnější bakterie Neisserie a
Hemofily
- **ENDOVA PŮDA**
- **MCCONKEYHO AGAR** –
diagnostická půda pro
enterobakterie
- **SABOURAUDŮV AGAR/SA** –
kvasinky a plísně





PODMÍNKY KULTIVACE

- **Dostatek živin** (zdroj C, N a dalších látek dle metabolismu bakterií)
- **Optimální pH** (běžné pH 7 - 7.2)
- **Optimální atmosféra** (záleží na vztahu mikroorganismu ke kyslíku - aerobní, anaerobní, striktně či fakultativně...)
- **Vlhkost** (pro příjem živin)
- **Kultivační teplota pro většinu 35° - 37°C** (ale záleží na pěstované kultuře bakterií, může být nižší i vyšší)



STERILNÍ PRÁCE V LAMINÁRNÍM BOXU

Mikrobiologicky bezpečnostní box třídy II. je určen pro aplikace vyžadující **laminární proudění vzduchu** pro ochranu před částicovou a bakteriální kontaminací vzorků a současně požadující ochranu mikrobiologa před vlivem vzorků s nimiž pracuje.

Filtrace vzduchu je zajištěna kvalitními, **vysoce účinnými filtry HEPA.**

V pracovním prostoru je instalována účinná **germicidní lampa.**

BIOLOGICKÁ ZDRAVOTNÍ RIZIKA (BSL 1 – BSL 4)

- **Biologická zdravotní rizika** vznikají v důsledku kontaktu člověka s viry, bakteriemi, houbami, prvoky a s toxiny, které tyto mikroorganismy produkují.
- Všechny mikroorganismy jsou v přírodě rozšířené a představují potenciální nebezpečí pro lidské zdraví.
- Rozeznáváme 4 stupně biologického zdravotního rizika.
- Podle patogenity, ohrožení zdravotnického personálu a možností léčby a profylaxe se biologická činidla klasifikují do 4 skupin: **BSL 1 až 4 (Biological Safety Level)**, jež vyžadují jistý stupeň zabezpečení proti nákaze jimi a jejich šíření.

ÚROVEŇ BIOLOGICKÉ BEZPEČNOSTI

BSL 1

BSL 1 je vhodná pro práci s několika druhy mikroorganismů - **nepatogenních kmenů** *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae* a dalších organismů, u kterých **není podezření, že by mohly vést k onemocnění člověka.**

V laboratorních prostorách **je obecně zakázáno jíst, pít a kouřit.**

Laboratorní personál **si musí při vstupu do laboratoře a při odchodu z ní umýt ruce.**

Výzkum lze provádět na standardních otevřených laboratorních stolech **bez použití speciálního ochranného vybavení.**

Ochranné pracovní prostředky – pracovní plášť, rukavice - dle potřeby.

Likvidace mikroorganismů – dezinfekce pracovních ploch

Laboratoře s úrovní BSL 1 jsou používány jako výukové prostory pro střední a vysoké školy (FBMI ČVUT).

ÚROVEŇ BIOLOGICKÉ BEZPEČNOSTI

BSL 2

BSL 2 je vhodná pro práci s druhy, které způsobují **mírné onemocnění člověka** nebo je obtížné se jimi v laboratorním prostředí nakazit prostřednictvím aerosolu (nešíří se vzduchem, existuje léčba).

Mikroorganismy – **virus chřipky, E.coli, Bacillus cereus, Salmonella**

Laboratorní personál **musí být proškolený pro práci s patogenními mikroorganismy, omezený přístup do laboratoře.**

Dodržují se všechna pravidla pro BSL 1 a další (např. samozavírací dveře...)

Práce při riziku v mikrobiologických bezpečnostních boxech – laminární boxy.

Ochranné pracovní prostředky – pracovní plášť, rukavice, dle potřeby brýle.

Pracovní postupy likvidace mikroorganismů a použitého nádobí a plastu.

ÚROVEŇ BIOLOGICKÉ BEZPEČNOSTI

BSL 3

BSL 3 je vhodná pro práci s mikroorganismy, které mohou způsobit **vážné a potenciálně smrtelné onemocnění** inhalační cestou (existuje léčba).

Mikroorganismy – příklady - **viry: SARS-CoV-1, MERS-CoV, virus žluté zimnice, virus západonilské horečky, bakterie: Mycobacterium tuberculosis, Yersinia pestis.**

Dodržují se pravidla pro BSL 1 a BSL 2 a další, musí být **vypracována specifická příručka biologické bezpečnosti laboratoře**. Pracovníci laboratoře mají zajištěn lékařský dohled.

Veškeré práce s infekčním materiálem musí být prováděny v biologickém bezpečnostním boxu třídy II.

Laboratorní personál musí nosit ochranné oděvy s pevnou přední částí, obličejový štít, respirátor, pevnou obuv.

Laboratoř musí mít utěsněna okna a **instalován ventilační systém**, Vzduch z laboratoře musí být filtrován.

Vchod do laboratoře musí být oddělen od částí budovy s neomezeným pohybem osob, navíc se laboratoř musí nacházet **za dvěma sadami samozavíracích dveří.**

ÚROVEŇ BIOLOGICKÉ BEZPEČNOSTI

BSL 4

BSL 4 je vhodná pro práci s mikroorganismy, které mohou způsobit **vážné a potenciálně smrtelné onemocnění** inhalační cestou (neexistuje léčba).

Mikroorganismy – příklady – **virus Variola, původce pravých neštovic, virus Marburg, virus Ebola, virus Lassa a krymsko-konžská hemoragická horečka.**

Vstup do laboratoře BSL-4 je vyhrazen pouze vyškoleným a oprávněným osobám a všechny osoby vstupující do laboratoře a vystupující z ní musí být zaznamenány.

Věškerá práce je prováděna v boxu biologické bezpečnosti třídy III. Materiály opouštějící box musí být dekontaminovány průchodem autoklávem nebo nádrží s dezinfekčním prostředkem.

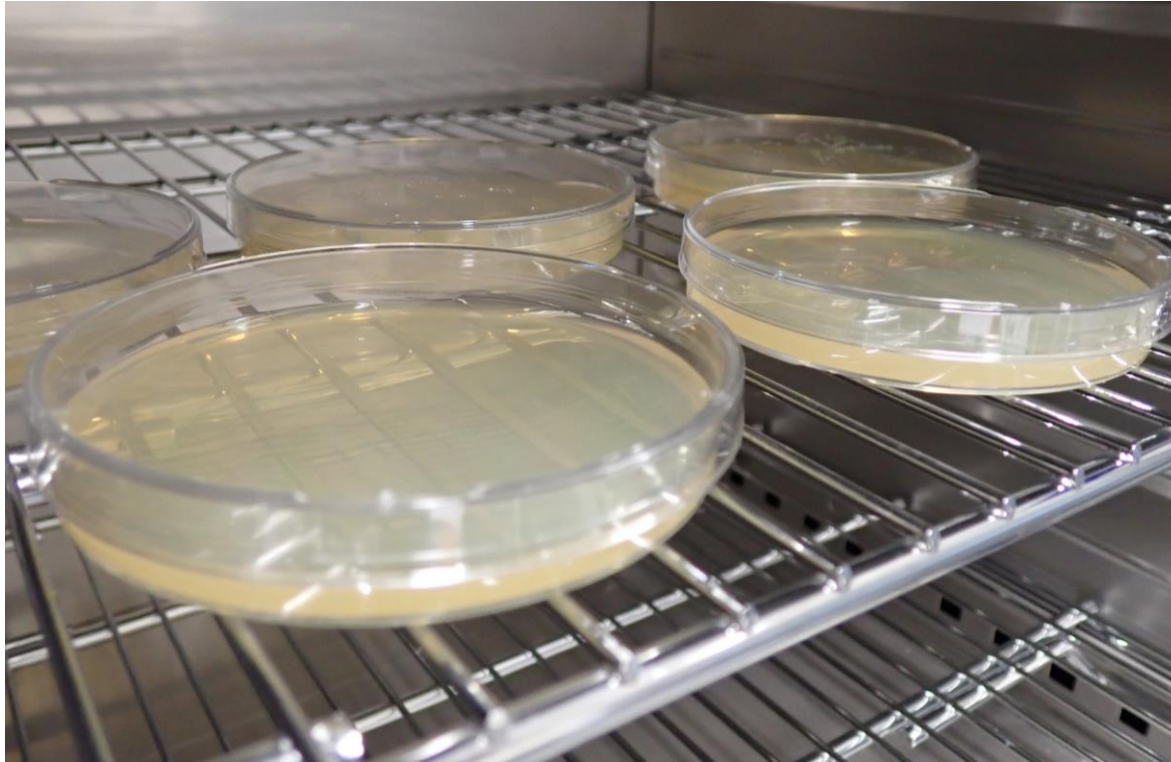
Pracovníci laboratoře pracují **v přetlakovém obleku, 2 osoby.**

Při odchodu z laboratoře BSL-4 musí pracovníci projít chemickou sprchou pro dekontaminaci, poté místností pro svléknutí přetlakového obleku a následně osobní sprchou.

Laboratoř musí mít přísnou kontrolu proudění vzduchu, **z čistých částí do míst práce s infekčním agens**, Vzduch z laboratoře musí být filtrován a dekontaminován.

Laboratoř musí být oddělena od dalších prostor jako BSL 3, vstup a výstup přes další prostory s dekontaminací.

PŘÍPRAVA KULTIVAČNÍCH PŮD, INKUBACE KULTUR



OČKOVÁNÍ BAKTERIÍ, PŘENOS BAKTERIÁLNÍ KULTURY



Inokulační klička – sterilní, plastová

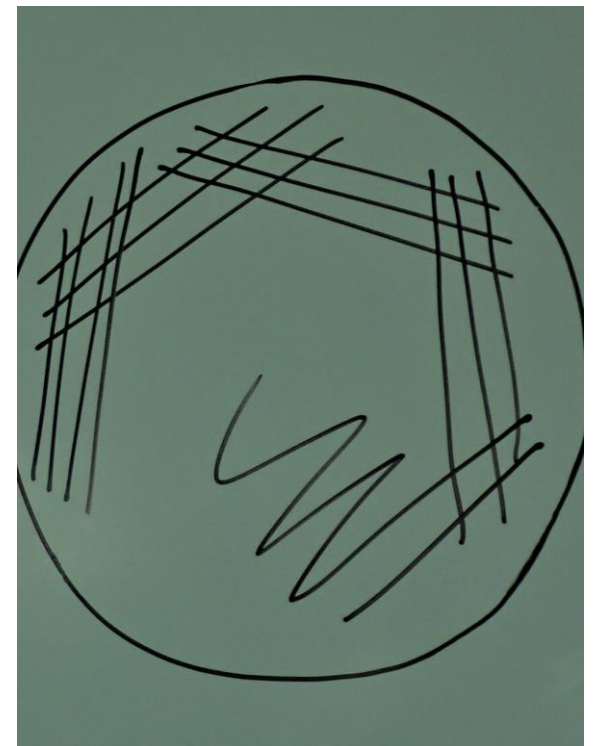
IZOLACE ČISTÉ KULTURY

Základní podmínka pro identifikaci mikroorganismů.

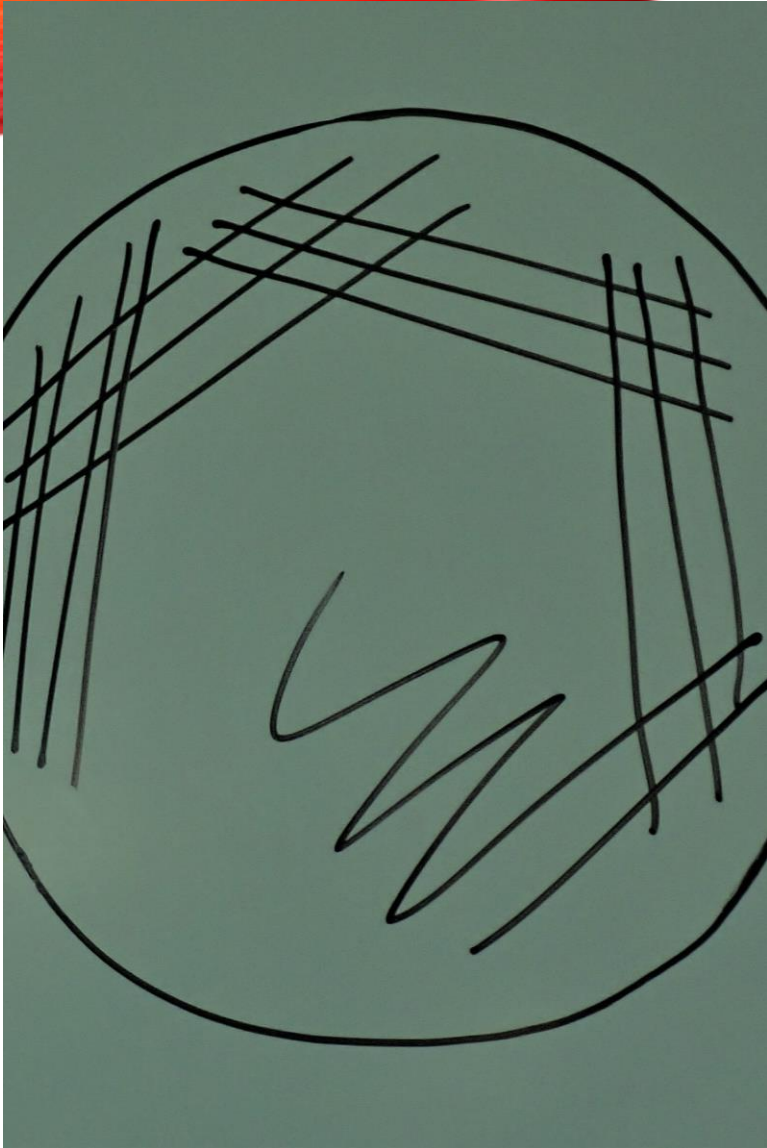
Izolovaná kultura je složena z buněk morfologicky, geneticky a fyziologicky stejných.

Velmi často se provádí **metodou křížového rozštěru na pevném agaru** (viz obrázek a fotografie).

Na izolaci čisté kultury můžeme použít i vyřadění v tekuté kultivační půdě pomocí ředící řady.



METODA KŘÍŽOVÉHO ROZTĚRU



- Metoda slouží **k izolaci čisté kultury**, tj. postupnému vyředování kultury, kterou roztíráme z **očkovací kličky** na agar na Petriho misce.
- Roztírá se podle určitého postupu viz obrázek, po každém roztěru očkovací kličku vyžítáme v plameni, abychom stále vyředovali bakterie.
- V poslední části (můžeme použít např. spirálu jako na obrázku) vyrůstají jednotlivé kolonie.
- **Kolonie bakterií – klon jedné buňky.**



PIPETOVÁNÍ

Automatické pipety -
pipetmany – fixní
objem nebo
nastavitelný.

Vyměnitelné plastové
jednorázové špičky
dle objemu a výrobce
pipetmana.

Před prací v
mikrobiologické
laboratoři nutná
sterilizace špiček!

PIPETOVÁNÍ

Automatická pipeta
slouží k pipetování
mikromilitrových objemů.

Barva na pístu odpovídá
objemu a použité
jednorázové špičce dle
výrobce.

**Ke kontaktu s roztokem
slouží pouze
jednorázové špičky, ne
pipeta!!!**

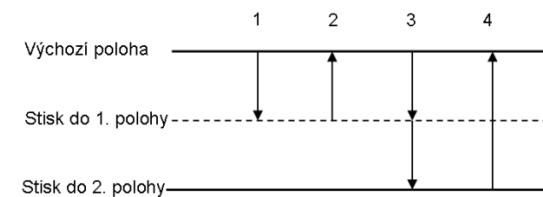
**NIKDY NEOTÁČEJTE
PIPETU ŠPIČKOU
VZHURU!!!**

**NEPOKLÁDEJTE PIPETU SE
ŠPIČKOU S KAPALINOU!!**



PIPETOVÁNÍ

- Postup při přímém pipetování, pracujte pomalu:
- 1) stiskněte píst do polohy č. 1, první zarážky
- 2) ponořte do roztoku cca 3 mm pod hladinu a pomalu povolujte a napipetujte kapalinu
- 3) vytáhněte špičku z kapaliny, udržujte svislou polohu pipetmana
- 4) při vytlačování kapaliny stiskněte nejdříve do polohy 1, počkejte a následně stiskněte do polohy 2
- 5) povolte píst do výchozí polohy.



<https://www.wikiskripta.eu/w/Pipetování>



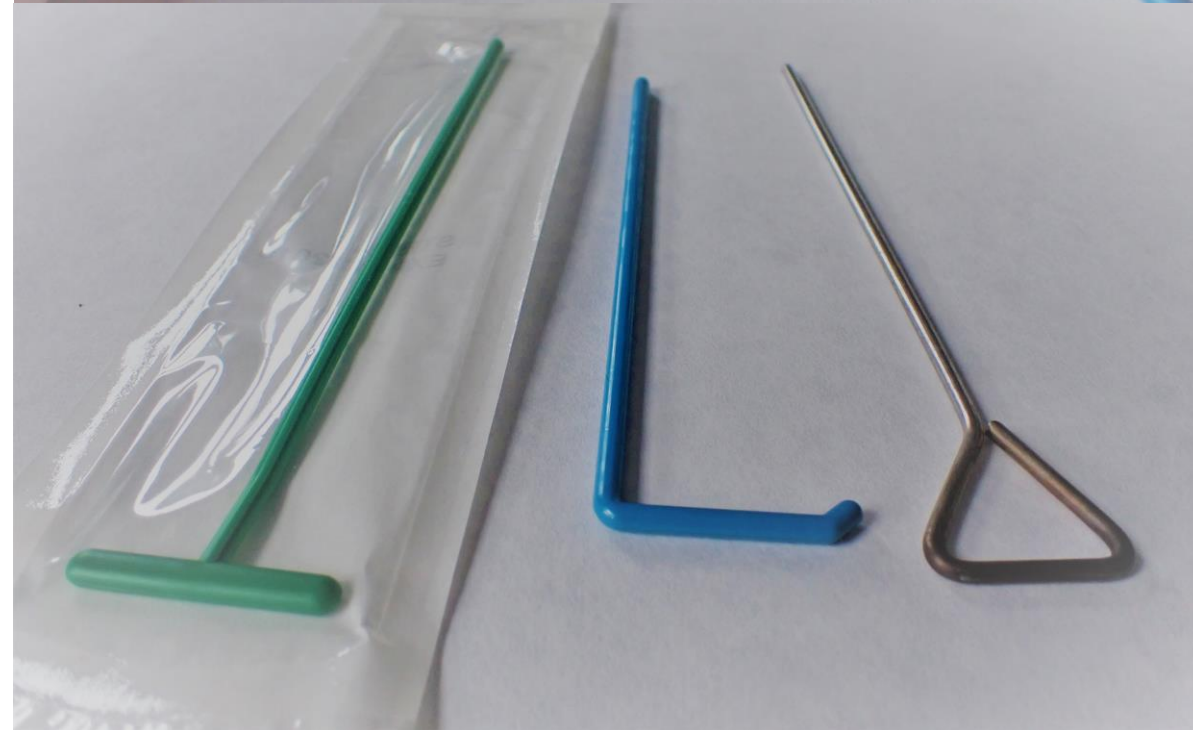
HOKEJKY NA AGAROVÉ PLOTNY

Nepřímá metoda na stanovení počtu životaschopných bakterií plotnovou metodou

Při tomto stanovení pomocí pipetmana napipetujeme odpovídající objem (0,1 ml) narostlé mikrobiální kultury z příslušného vyředění a **rozetřeme hokejkou** po povrchu pevného média v Petriho misce, viz fotografie.

Následně necháme inkubovat v inkubátoru dle kultivovaného mikroorganismu.

Vyhodnotíme počet narostlých kolonií (CFU – colony forming unit/počet bakterií schopných vytvořit kolonii v ml).



UCHOVÁNÍ MIKROORGANISMŮ

Krátkodobé – dny, týdny

- Petriho misky – v lednici – nutnost přeočkování

Střednědobé – týdny, měsíce

- Šikmé agary – v lednici – nutnost přeočkování

Dlouhodobé

- lyofilizované kultury – nejde u všech kultur
- hlubokomrazicí boxy – alikvoty kultivační médium s glycerolem - (-70 °C)
- kryoprezervace, v tekutém dusíku (cca -196°C)



OTÁZKY PRO PROCVIČOVÁNÍ

1. Kde seženete kultury mikroorganismů pro kultivaci?
2. Jaké typy půd pro kultivaci bakterií znáte?
3. Jak připravíte půdy pro kultivaci mikroorganismů/bakterií?
4. Jak probíhá izolace čisté kultury?
5. Jakou teplotu zvolíte pro kultivaci běžných nenáročných bakterií?
6. Jaké je teplota a doba při sterilizaci půd v autoklávu?
7. K čemu slouží inokulační klička a k čemu hokejka?
8. Jaká pravidla dodržujeme při práci mikrobiologické laboratoři BSL 2?
9. Jak skladujeme mikrobiální kultury?

POUŽITÁ LITERATURA, FOTOGRAFIE

Literatura a internetové zdroje:

- 1) JULÁK, Jaroslav. *Praktická cvičení a semináře z lékařské mikrobiologie*. Praha, Karolinum, 2009, ISBN 978-80-246-1141-9
- 2) RYŠKOVÁ, Olga, et al. *Návody k praktickým cvičením z lékařské mikrobiologie*, Praha, Karolinum, 1997, ISBN 80-7184-307-5
- 3) ŘÍHOVÁ-AMBROŽOVÁ, Jana: *Technická mikrobiologie a hydrobiologie*, Praha, VŠCHT, 2017, ISBN 978-80-7080-986-0
- 4) Portál: *Praktická cvičení z mikrobiologie (1. LF UK, VL)*, dostupné z [https://www.wikiskripta.eu/w/Portál:Praktická cvičení z mikrobiologie \(1. LF UK, VL\)](https://www.wikiskripta.eu/w/Portál:Praktická_cvičení_z_mikrobiologie_(1._LF_UK,_VL))
 - <https://mbucas.cz/o-ustavu/>
 - <https://cssm.info>
 - <https://szu.cz/odborna-centra-a-pracoviste/centrum-epidemiologie-a-mikrobiologie/>
 - <https://ccm.sci.muni.cz>
 - [https://cs.wiki34.com/wiki/Sistema de tres dominios](https://cs.wiki34.com/wiki/Sistema_de_tres_dominios)
 - <https://www.wikiskripta.eu/w/Pipetování>

Fotografie použité v prezentaci – autor V. Vymětalová, 2 fotografie z BP K. Ševčíkové, kterou autorka vedla.

LABORATORNÍ CVIČENÍ

Příprava protokolu:

- 1) **Název experimentu** – např. Příprava kultivačních médií
- 2) **Cíl, teorie** – seznámit se s přípravou.....
- 3) Metodika – může být jen odkaz na použitou pracovní metodiku
- 4) **Materiál, přístrojové vybavení, laboratorní sklo a plast, použité chemikálie** (může být i jednotlivě) – kultura bakterií.....Erlenmayerova baňka 500 ml.....
- 5) **Vlastní pracovní postup** – pečlivě popsat odchylky (např. časové) od metodiky
- 6) **Získané výsledky a vyhodnocení**
- 7) **Diskuse a závěr**

LABORATORNÍ CVIČENÍ I

1) Kultivace mikroorganismů

2) Cíl, teorie:

- a) seznámit se laboratorní prací v mikrobiologické laboratoři, sterilní práce
- b) seznámit se přípravou sterilních roztoků, pomůcek a kultivačních půd (živných médií)

Teorie viz prezentace výše

4) Materiál, laboratorní sklo a plast, použité chemikálie, přístroje –

Erlenmayerovy baňky k přípravě kultivačních tekutých půd – objem 500 ml, odměrné válce 100, 200 ml, sterilní Petriho misky, pipety, alobal, buničitá vata, komerčně vyrobené kultivační médium např. LB médium, agar-agar, pepton, masový extrakt, kvasničný extrakt, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, NaCl, destilovaná voda, 0,1 M HCl, 0,1 M NaOH, pH metr či papírky, popisovač, váhy, kahan, autokláv

PŘÍKLADY POUŽITÝCH KULTIVAČNÍCH MÉDIÍ

Kultivační médium MPB:

Masový extrakt 10 g, pepton 5 g, NaCl 5 g, destilovaná voda 1000 ml pH 7.2

Kultivační médium MPA:

Masový extrakt 10 g, pepton 5 g, NaCl 5 g, agar 20g, destilovaná voda 1000 ml pH 7.2

Kultivační médium pro rod Bacillus:

Pepton 5 g masový extrakt 3 g $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.01 g agar 20 g destilovaná voda 1000 ml pH 7.0

LABORATORNÍ CVIČENÍ I

5) **Vlastní pracovní postup**

- a) Připravíme destilovanou vodu a fyziologický roztok k sterilizaci v autoklávu.
- b) Navážíme jednotlivé složky kultivačního tekutého média (pepton, masový extrakt, NaCl – MPB, médium pro rod *Bacillus*, atd.) dle metodiky, pokud nepracujeme s již komerčně zpracovaným, tam provedeme navážku dle doporučení výrobce. Stejně postupujeme při přípravě agarových ploten tak, že do média přidáme agar, výsledné koncentrace 2-2,5% w/v.
- c) Pečlivě rozmícháme, až se všechny složky půdy dokonale rozpustí.
- d) Připravené půdy připravíme ke sterilizaci v autoklávu.

LABORATORNÍ CVIČENÍ I

5) **Vlastní pracovní postup**

- e) Po sterilizaci a vychladnutí agarů na cca 45°C si připravíme sterilní Petriho misky na pracovní plochu.
- f) Zapálíme kahan, po odkrytí uzávěru Erlenmayerovy baňky s agarovou půdou opálíme hrdlo baňky, nadzvedneme víčko Petriho misky a rychle nalijeme vrstvu cca 5 mm do spodní části misky. Po nalití přiklopíme víčko Petriho misky. Postupně tímto způsobem nalijeme všechny připravené Petriho misky.
- g) Petriho misky i připravené bujóny necháme vychladnout. Petriho misky můžeme vysušit v inkubátoru.
- h) Petriho misky i Erlenmayerovy baňky popíšeme datumem a podle typu média.

LABORATORNÍ CVIČENÍ I

6) **Získané výsledky a vyhodnocení**

Do protokolu popíšeme, jaké množství kultivačních půd tekutých a pevných jsme připravili pro jaké kultivace. Popíšeme případné časové odchylky, váhové či jiné odchylky, ke kterým došlo v průběhu vlastní práce.

7) **Diskuse a závěr**

Zjistíme, jak proběhla příprava u dalších dvojic ve skupině, provedeme diskusi.

LABORATORNÍ CVIČENÍ II

1) Aseptická práce, očkování kultivačních médií

2) Cíl, teorie:

- a) seznámit s aseptickou prací v mikrobiologické laboratoři
- b) seznámit s očkovaním tekutých a pevných půd

Teorie viz prezentace výše

4) Materiál a přístrojové vybavení:

Připravená kultivační média viz laboratorní cvičení I – tekutá média masopeptonový bujon, komerční médium dle dostupnosti, stejné v podobě agarových ploten, mikroorganismy ze skupiny BSL 1 – *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, apod., kahan, očkovací kličky, pipety, sterilní špičky, popisovač, laminární box, inkubátor

LABORATORNÍ CVIČENÍ II

5) **Vlastní pracovní postup**

- a) Do laminárního boxu si připravíme sterilní kultivační půdy a bakteriální kultury, určené pro očkování.
- b) Přenos a inokulaci provádíme pomocí sterilní očkovací kličky z bakteriální kultury do tekutého média. Při otevření a uzavření média provedeme opálení hrdla baňky.
- c) Naočkovanou kultivační tekutou půdu dáme na třepačku. Nárůst pozorujeme pomocí zákalu, můžeme měřit spektrofotometricky OD (optickou denzitu).
- d) U sterilních agarových ploten odklopíme víčko a očkovací kličkou naneseeme bakteriální kulturu.

LABORATORNÍ CVIČENÍ II

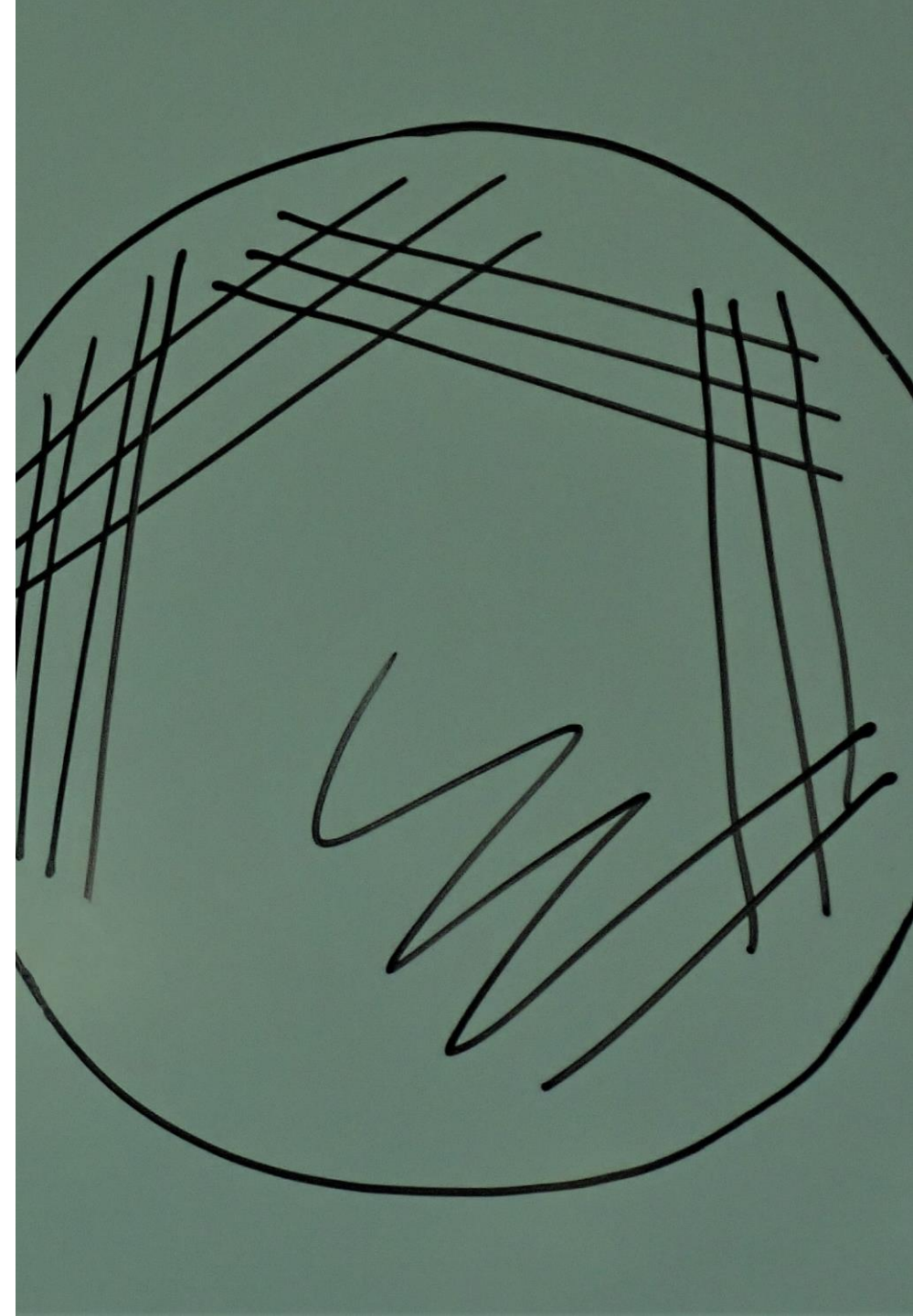
5) **Vlastní pracovní postup**

e) Při očkování agarových ploten používáme metodu křížového roztěru viz prezentace výše.

f) Všechny nádoby se zaočkovanými mikroorganismy označíme bakteriální kulturou a datumem zaočkování.

g) Zaočkované agarové plotny uložíme do inkubátoru, kultivujeme dle typu mikroorganismu po doporučenou dobu.

h) Provedeme vyhodnocení nárůstu bakterií v kultivačních médiích.



LABORATORNÍ CVIČENÍ II

6) **Získané výsledky a vyhodnocení**

Do protokolu popíšeme jaké množství kultivačních půd jsme zaočkovali a s jakým výsledkem. Popíšeme jestli se nám podařilo vyizolovat čistou kulturu, tzn., jestli jsme na naočkovaných agarových plotnách získali jednotlivé kolonie nanesených bakteriálních kultur.

Popíšeme případné odchylky, ke kterým došlo v průběhu vlastní práce.

7) **Diskuse a závěr**

Zjistíme, s jakými výsledky se setkali další studenti ve skupině, provedeme diskusi.