

# Plotnová metoda

**Cíl:** získá řady ředění a vyšetí na misky → nezkráslené  
info o počtu životaschopných MO

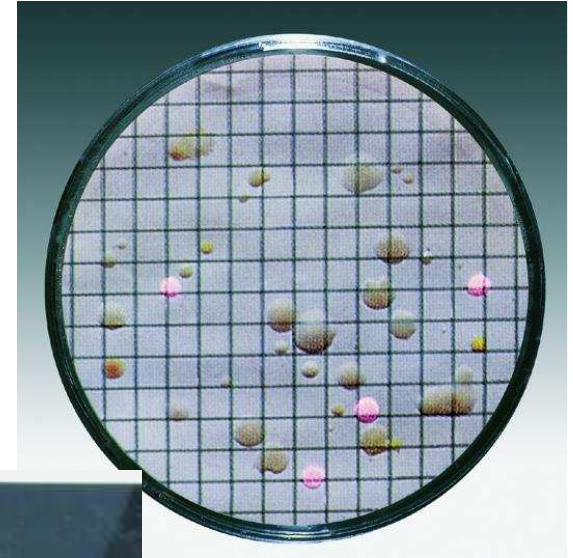
Přímé stanovení (preparát, komůrka)

X

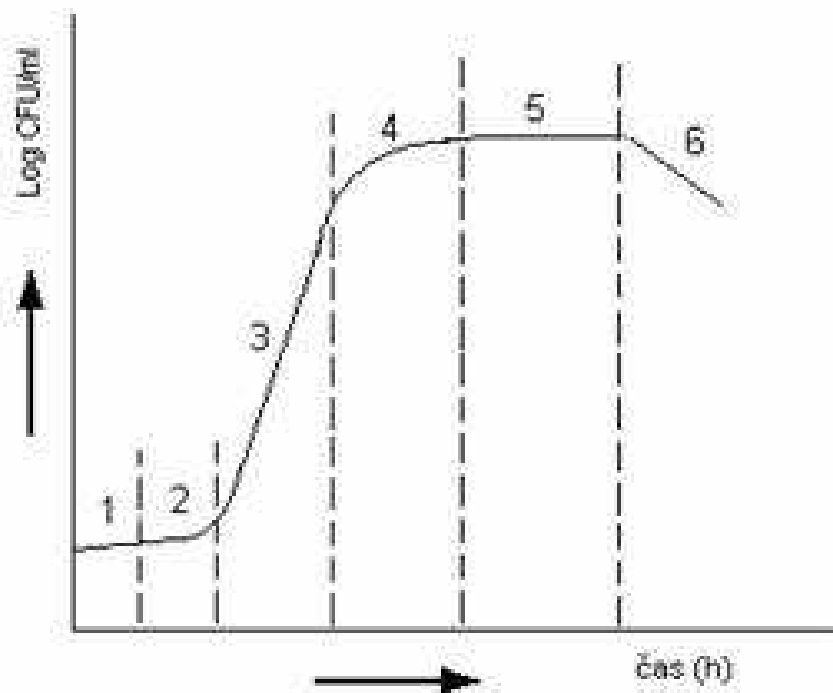
nepřímé stanovení (kultivace)

- Počet buněk je důležitý pro srovnání, pro opakování experimentu atd., nefelometrické stanovení.
- CFU / ml = počet buněk tvořících kolonii = ŽIVÝCH, KULTIVOVATELNÝCH není to celkový počet buněk v 1 ml  
→ kolonie rozizolovat, aby šly spočítat (rozetření)
- rozlišení mrtvých a živých buněk - vitální test

- Kultivace – 1 médium – známý vzorek, selektivní médium – zajímá nás jen něco
- Více médií – neznámý vzorek
- Lze i smíšená kultura (vzorek vody)



- Odběry po cca 20-40 min → **růstová křivka**
- Grafickým vynesemím logaritmu počtu živých buněk stanovených ve vzorcích odebraných v časových intervalech vzniká růstová křivka.

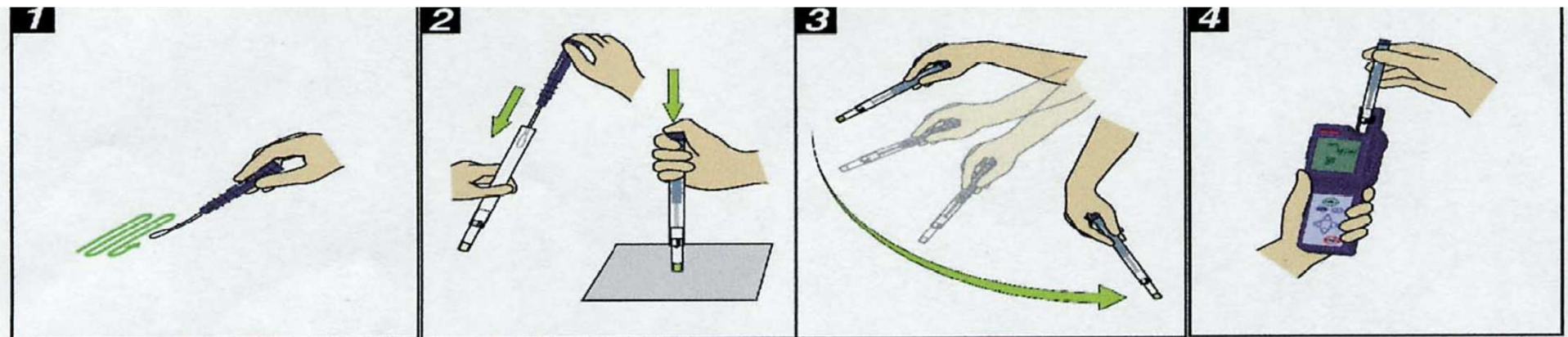


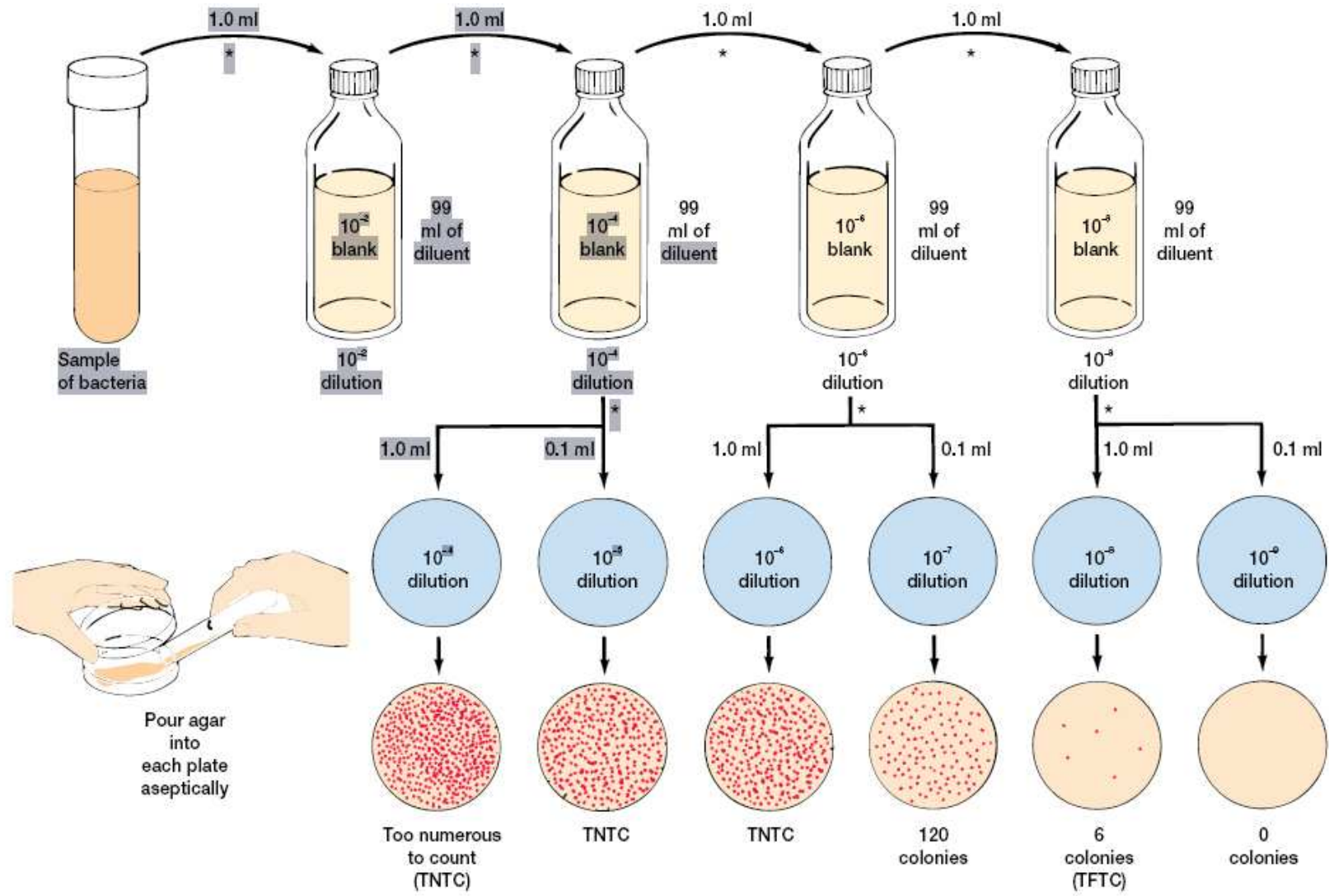
- 1 – lag fáze; 2 – fáze zrychlujícího se růstu; 3 – exponenciální fáze růstu; 4 – fáze zpomaleného růstu; 5 – stacionární fáze růstu; 6 – fáze odumírání

- Automatické počítání kolonií:



- **Stěrová a výplachová metoda**
- Rychlé určení kontaminace - luminiscenční měření pomocí přístroje Lumitester PD 10 (jednotky RLU)
- Celkový stupeň kontaminace bez rozlišení druhů MO





## Postup

### PRACUJEME ASEPTICKY, POPSAT SKLO NA VÍČKO

- Kontrola sterility – vyšetí 100  $\mu$ l fyziologického roztoku
- Do zkumavek pipetovat 0,9 ml fosfátového pufru
- Z narostlé a promíchané kultury odebrat 100  $\mu$ l, dát do zkumavky, **promíchat** → až na konec ředící řady
- Ze tří nejnižších ředění vyšet na misky 100  $\mu$ l, na misce rozetřit hokejkou
  
- Hodnocení – příští týden (kultivace v termostatu cca 2 dny, do cvičení misky zůstanou při pokojové teplotě)