

Ukázky: CCM katalog  
Anaerostat  
+ generátor anaerobní atmosféry  
Plastové kličky  
Termostat se třepačkou

# Očkování a kultivace

## **Bakteriální druh**

- = jasně vymezená skupina navzájem příbuzných kmenů, zahrnujících typový kmen
- = sdílí 70% a vyšší DNA-DNA homologii komplementárních párů bazí (DNA reasociace)
- = vykazuje, až na výjimky, shodné fenotypové znaky a současně má některé odlišné znaky od jiných skupin

**Kultura** = MO kultivované za laboratorních podmínek

**Přeočkování** = přenos inokula do čerstvého média za účelem pomnožení, izolace, oživení, přečištění, ...

**Izolace** – pomocí křížového roztěru, selektivních médií

**Bakteriální kolonie** = klon jedné buňky

**Kultivace** – různé podmínky (izolát, sbírkový či průmyslový kmen)

- Statická x kontinuální (ubývání živin, přibývání metabolitů,..) x submerzní=třepaná, vzdušněná
- Anaerobní



- Kultura – čistá x smíchaná x technická či průmyslová
- Zisk čisté kultury → selektivní médium, křížový roztěr
- **Křížový roztěr** = postupné zředování původní kultury za účelem zisku jednotlivých kolonií

(<http://old.lf3.cuni.cz/mikrobiologie/bak/uceb/obsah/ockovani/ockovani.htm>)

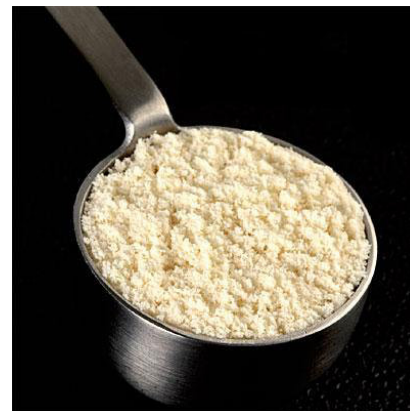
- Kultivace – co nejrychlejší (zejména klinické izoláty, epidemiologie) či za účelem zisku biomasy
  - odběr vzorků (sterilita x půda x vody) – záleží i na zpracování vzorku
- 
- CFU – colony forming units = KTJ – kolonie tvořící jednotky

- Názvosloví – stafylokok x *Staphylococcus*
- Izolace – Proč? Jak?



- Pivovarské kvasinky

- Mlékárenské kultury





**Očkování** – čerstvé médium → pomnožení, přečištění, izolace, oživení kultury

• **STERILITA!!!!** Vzduch, ruce, dech, pracovní plocha

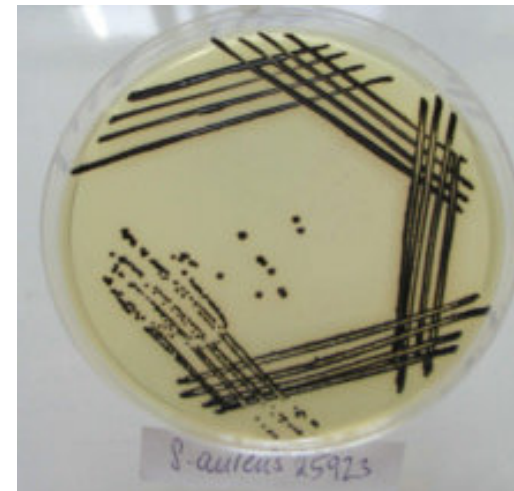


**Křížový roztěr → získání jednotlivých kolonií**

- *Oenococcus oeni* - laktobacily



- *Staphylococcus aureus*  
na agaru Baird-Parker

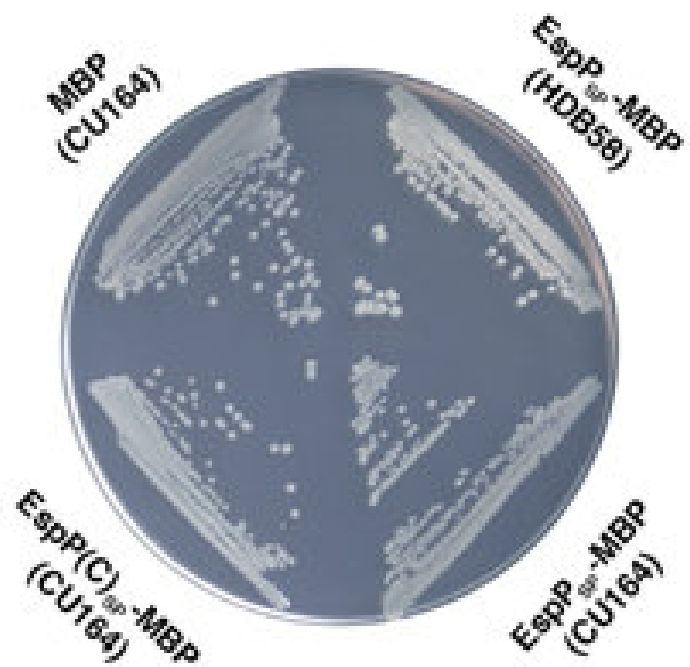


- „Mikrobiologický perník“ z Tvrdého 14

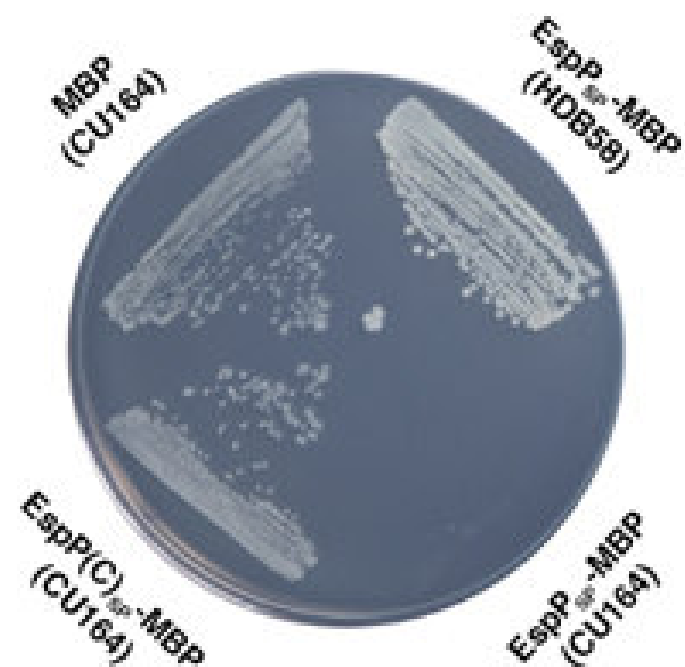


a z internetu





**-IPTG**



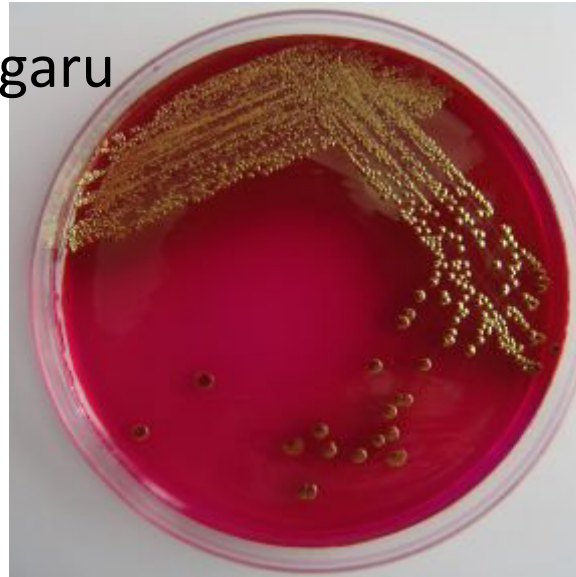
**+100µM IPTG**



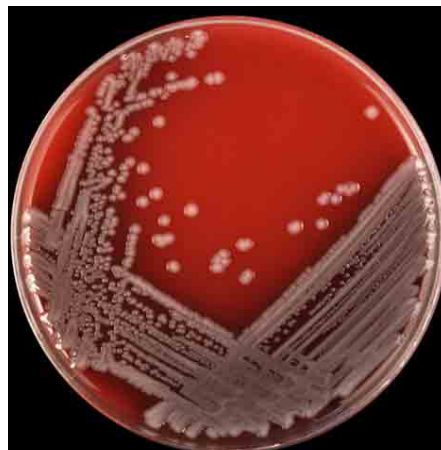
**Kultivace** – získání kolonie MO = klony jedné buňky

→ vzhled je závislý **na typu média, kultivaci, stáří kultury**

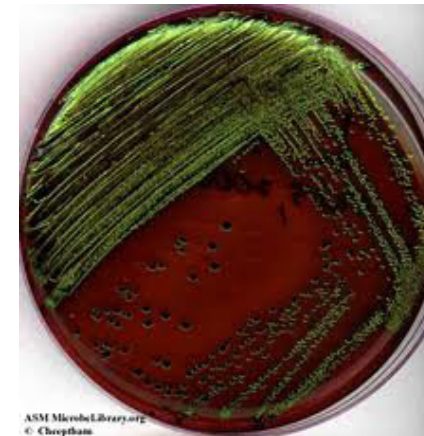
• *E.coli* na ENDO agaru



• *E. coli* na krevním agaru

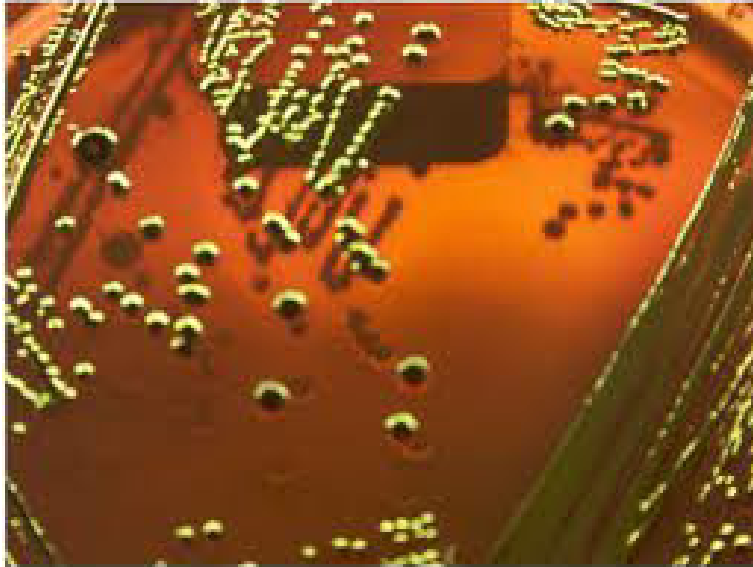


*E.coli* na EMB agaru

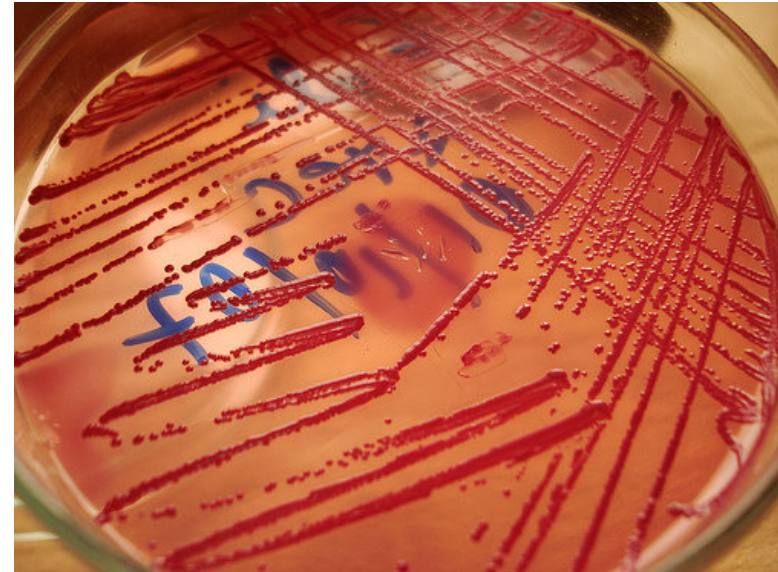




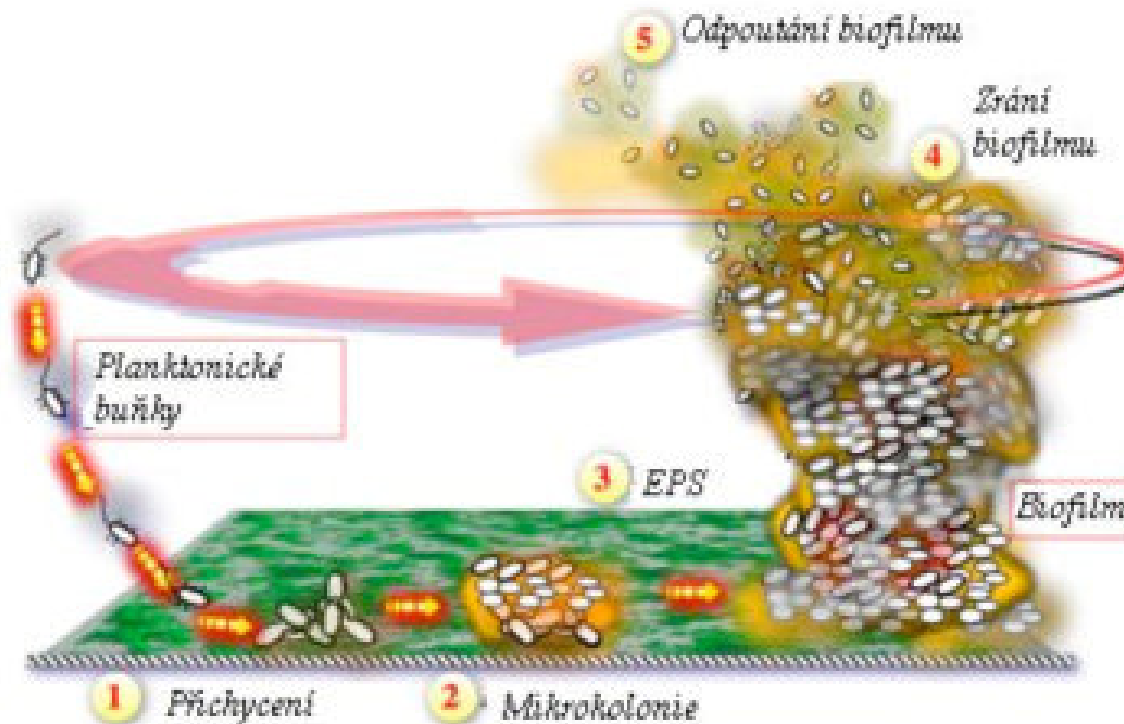
- *E.coli* na L-EMB



na McConkey agaru

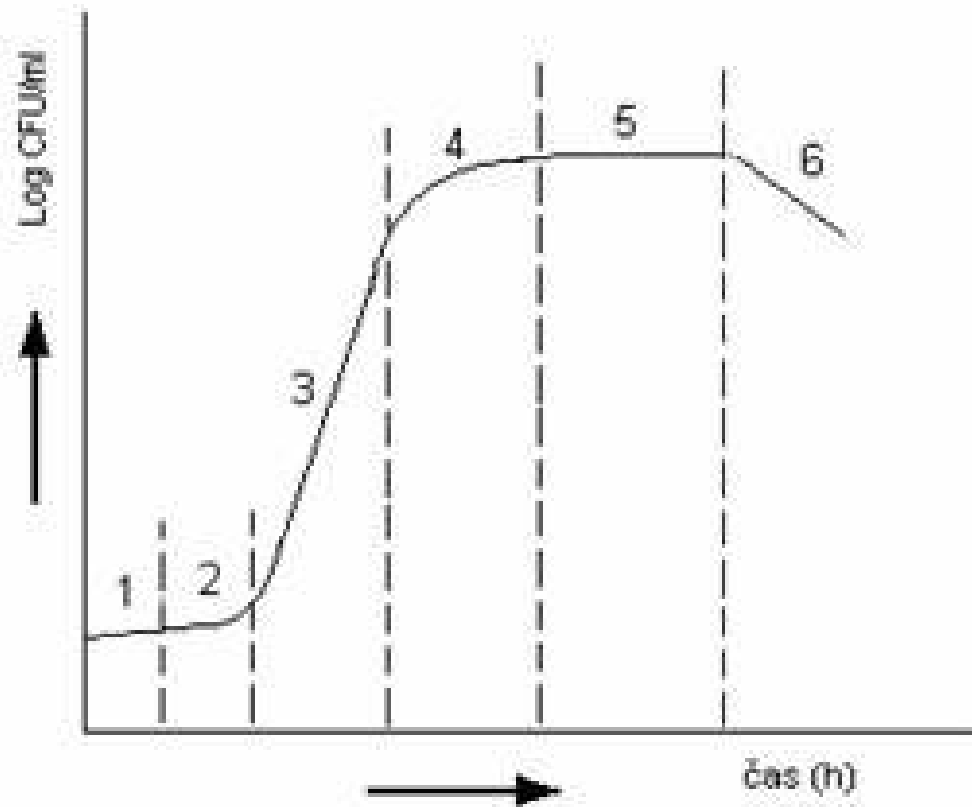


- Kultivace - je předstupěň izolace, identifikace, stanovení citlivosti na ATB, atd.
- většina vzorků je nekultivovatelných
- CCM – z katalogu; izolát – odvodit podmínky pro růst – **LIŠÍ SE** od přirozeného výskytu (charakter růstu i vzhled)



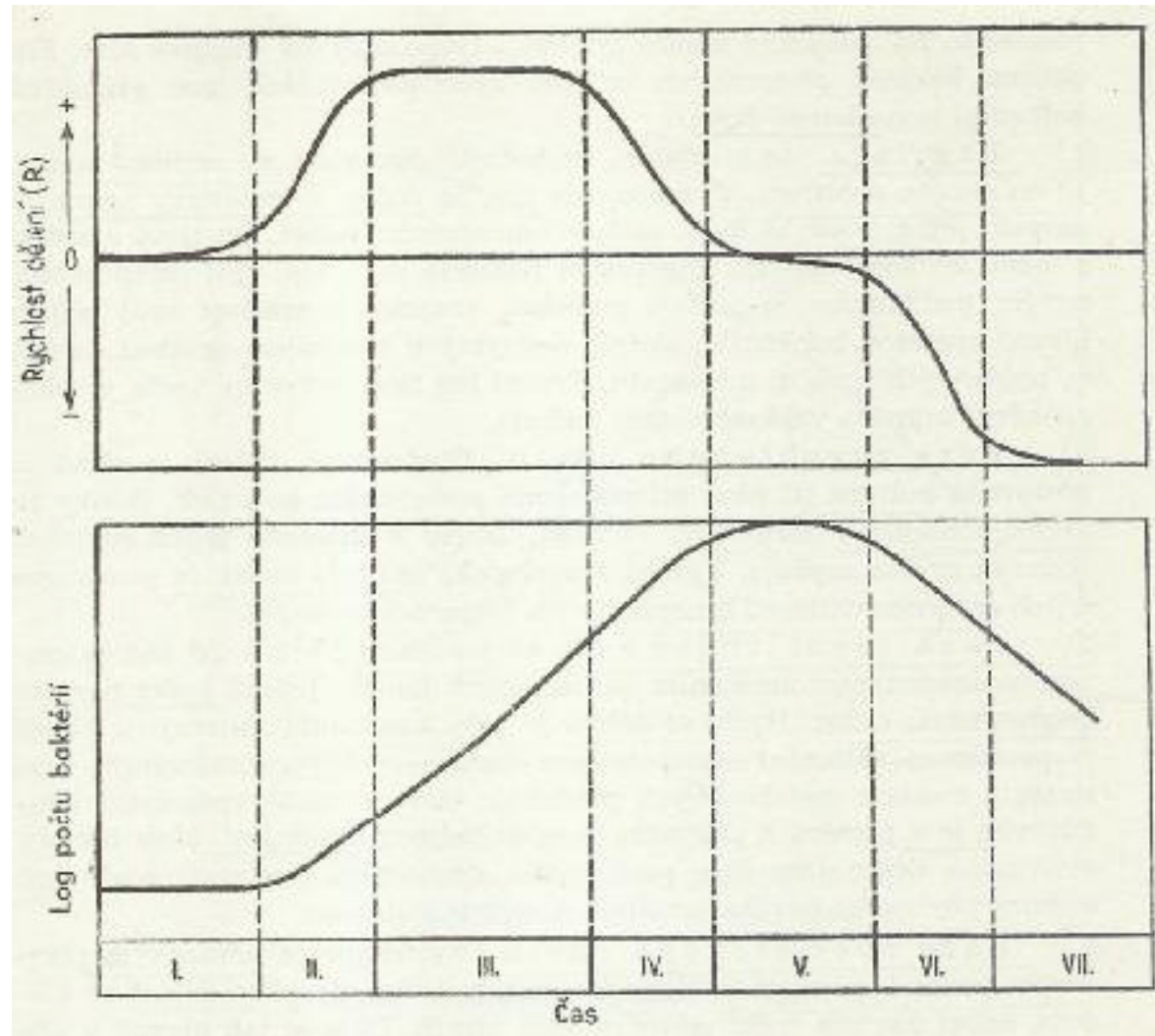
- na misce/ v médiu – buňky v různé fázi růstu  
→ **růstová křivka** (i DIAUXIE)

### Počet buněk/délka růstu



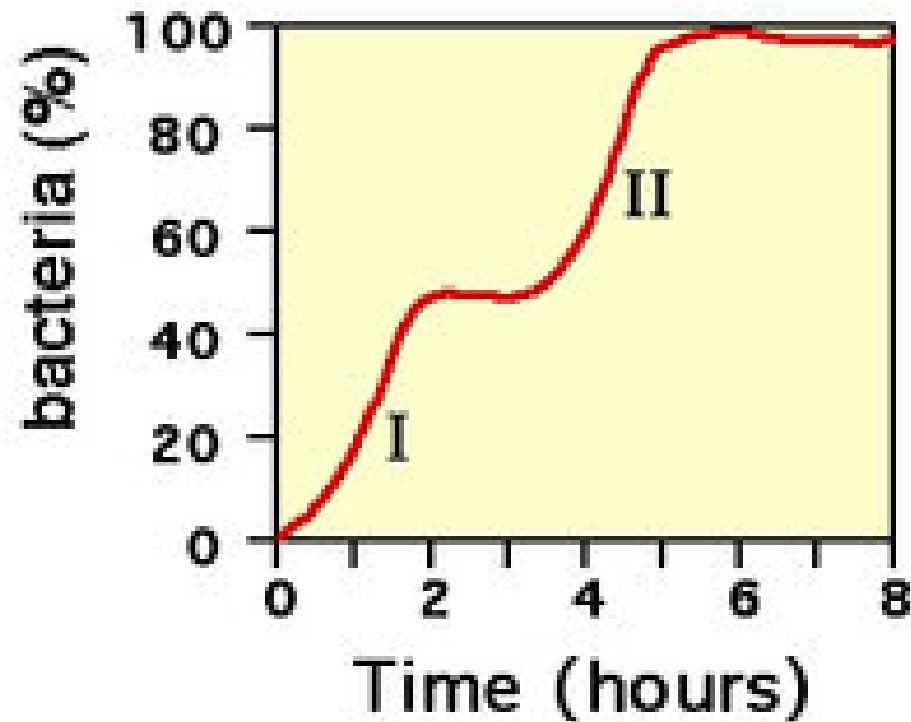
- 1 – lag fáze; 2 – fáze zrychlujícího se růstu; 3 – exponenciální fáze růstu;  
4 – fáze zpomaleného růstu; 5 – stacionární fáze růstu; 6 – fáze odumírání

- Srovnání růstové křivky a rychlosti dělení.

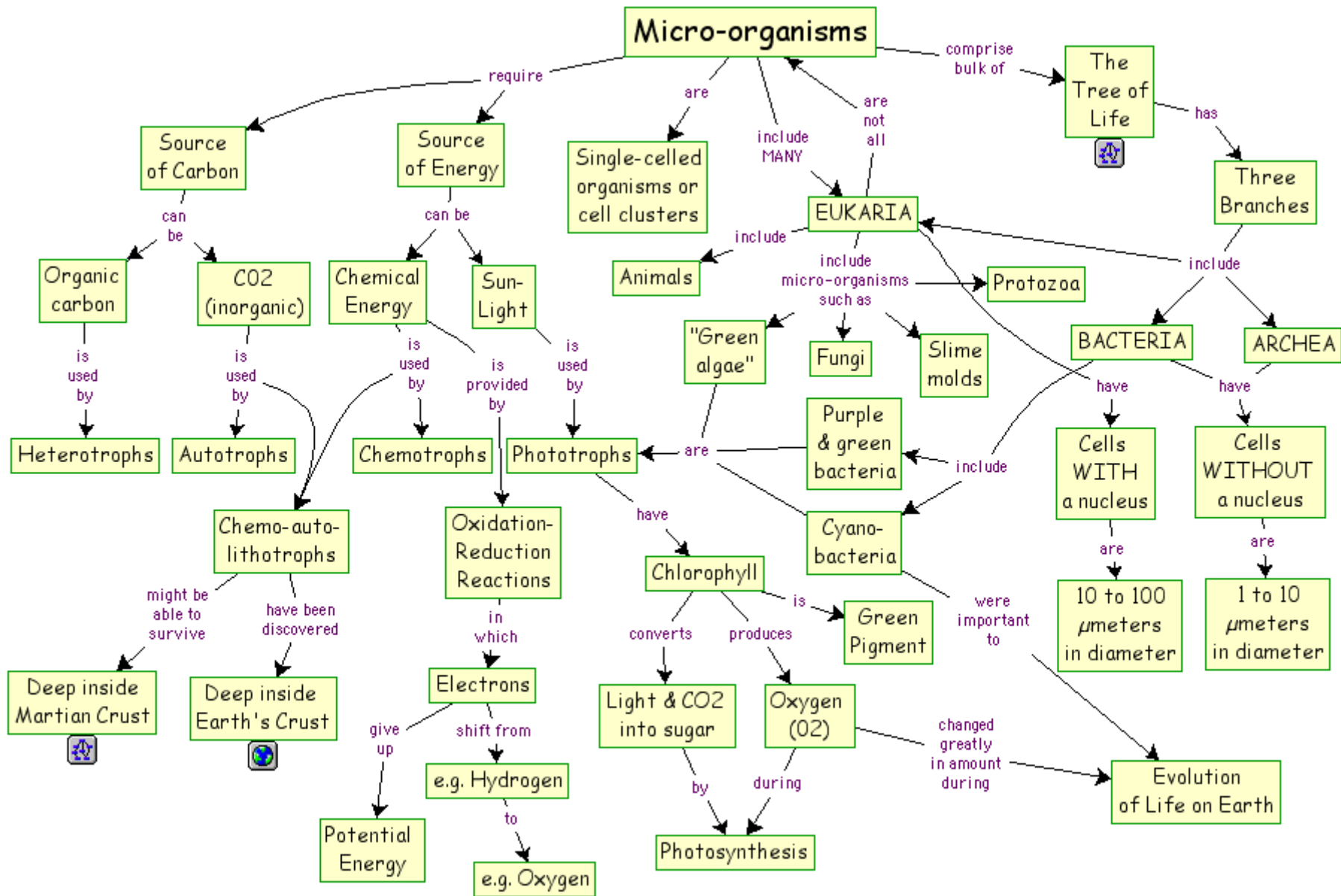




- **Diauxie** – postupné využití substrátu (např. nejdříve využije jednoduchý zdroj - glukóza → první vrchol; potom teprve nastartuje metabolismus k využití složitějšího substrátu – laktóza → druhý vrchol)



- **!!!! STRIKTNÍ X TOLERANTNÍ !!!!**
- nároky na **O<sub>2</sub>** aerofilní
  - mikroaerofilní
  - fakultativně anaerobní
  - anaerobní (anaerostat, vrstva parafínu, svíčka,..)
  - kapnofilní
  - aerotolerantní
- nároky na **teplotu**
  - psychrofilní (pod 20°C)
  - mezofilní (20 – 40°C)
  - termofilní (nad 40°C, optimum cca 50°C, extrém až 100°C)
- nároky na **tlak** – barofilní, barotolerantní
- nároky na **redoxpotenciál, pH**
- nároky na **živiny**
  - zdroj uhlíku
    - heterotrof – organické látky
    - autotrof – CO<sub>2</sub>
  - zdroj energie
    - fototrof – světelná energie
    - organotrof – organické látky

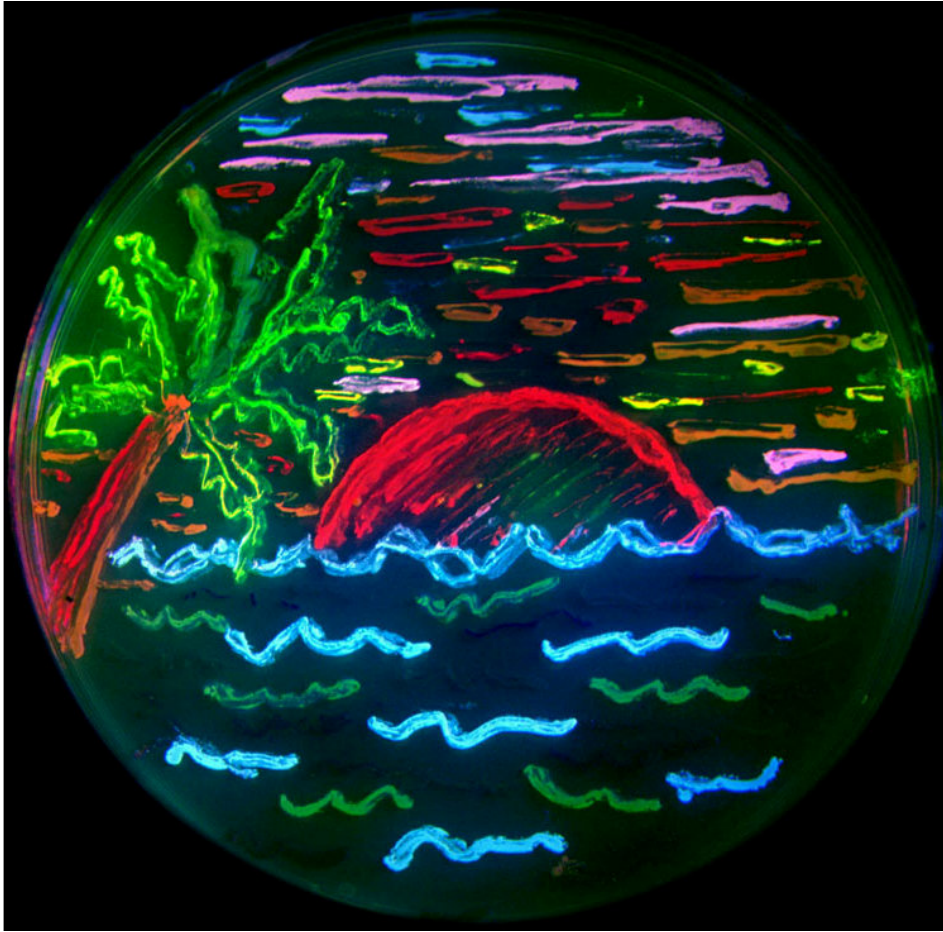


Uchování – šikmé agary, misky (4°C)– vysychání,  
kondenzující voda – kultivace dnem vzhůru!

- glycerol, lyofilizáty (prášek vzniklý mražením  
kultury ve vakuu), zamražené v glycerolu



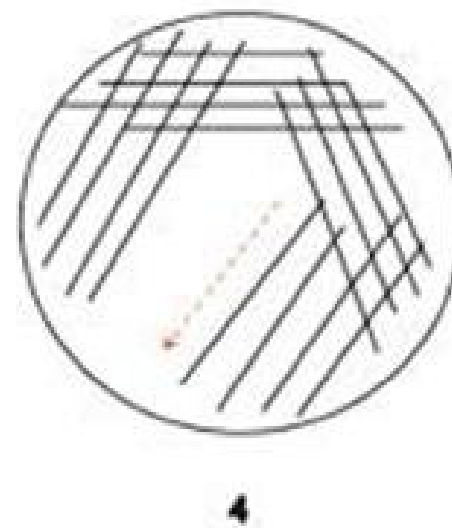
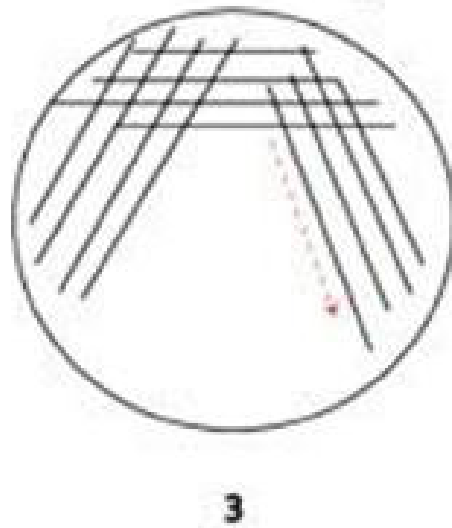
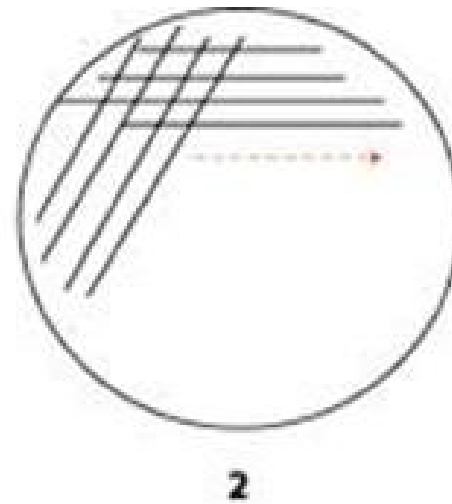
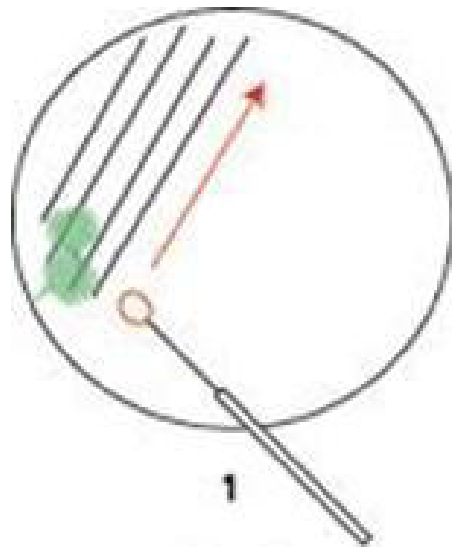




## Postup

- !!Vyhodnocení z minulého cvičení (kontaminace ano x ne??)!!
- Aseptická práce!! Žíhat hrdla a kličky!!! Misky otvírat co nejméně!!!**
- POPSAT SI SKLO (datum,jméno,kultura)**
- Vyžíhat kličku a nechat zchladnout
- „hádek“ na šikmý agar odspodu
- Tekuté půdy – těsně nad okraj hladiny, na stěnu zkumavky, postupně vmíchat do média (osmotický šok)
- Petriho miska – křížový roztěr  
(1x čistá + 1x směsná kultura G+ a G-)
- Petriho miska – rozdělit na čtvrtiny → „hádkem“ od okraje ke středu
- Kultivace v termostatu 30°C po dobu 24-48 hod (do příštího cvičení se nechají při pokojové teplotě)

# Křížový roztěr (Streak Plate)



# Kultury ve cvičení

## G-

- *Escherichia coli* CCM 3954
- *Pseudomonas putida*
- *Serratia marcescens* CCM 303

## G+

- *Kocuria rosea* CCM 839
- *Micrococcus luteus* CCM 169
- *Bacillus cereus* CCM 2010
- *Staphylococcus aureus* SA 812

## kvasinky

- *Saccharomyces cerevisiae*