

Plotnová metoda

Cíl: získá řady ředění a vyšetí na misky
→ nezíská informace o počtu životaschopných MO

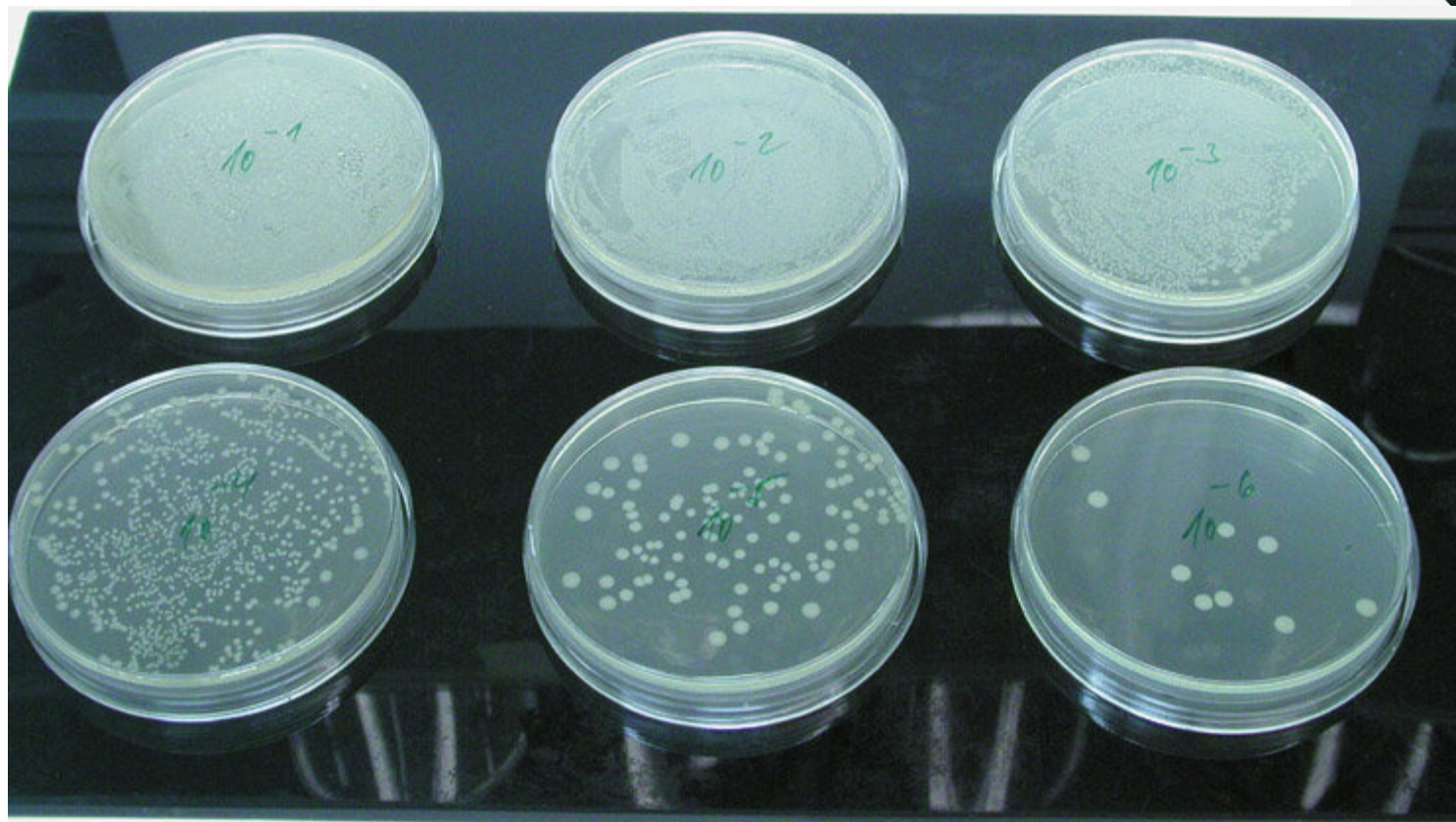
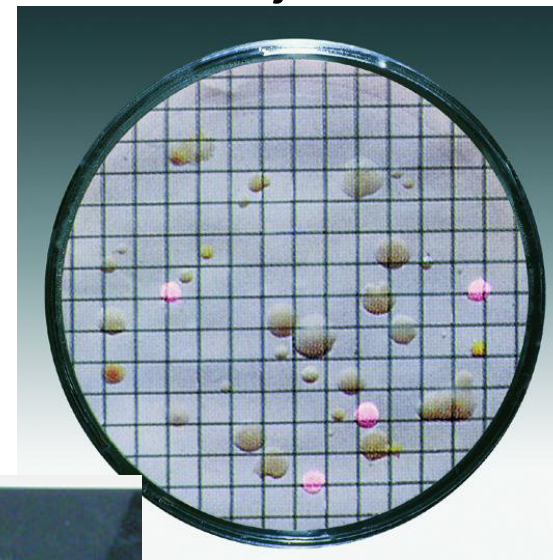
Přímé stanovení (preparát, komůrka)

X

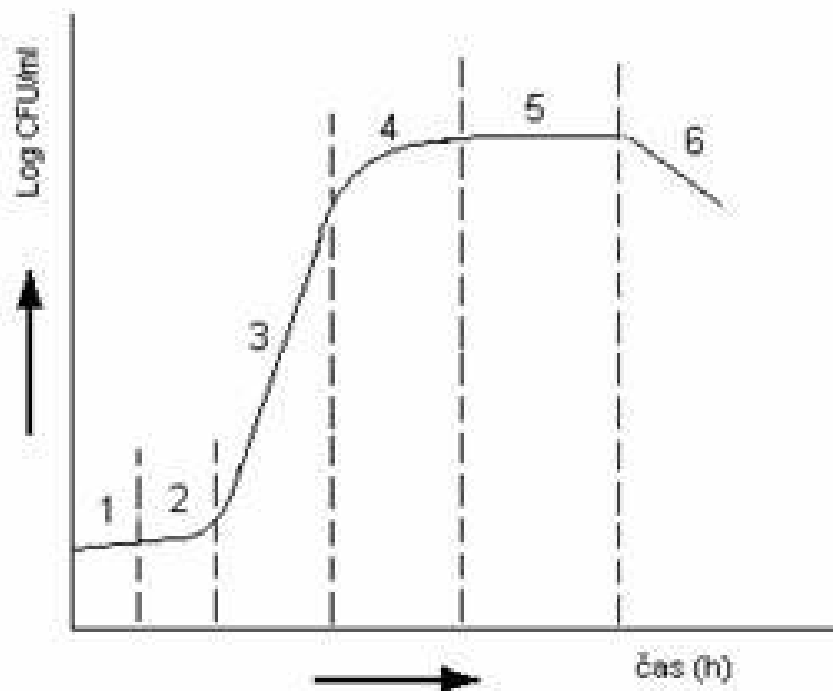
nepřímé stanovení (kultivace)

- 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.

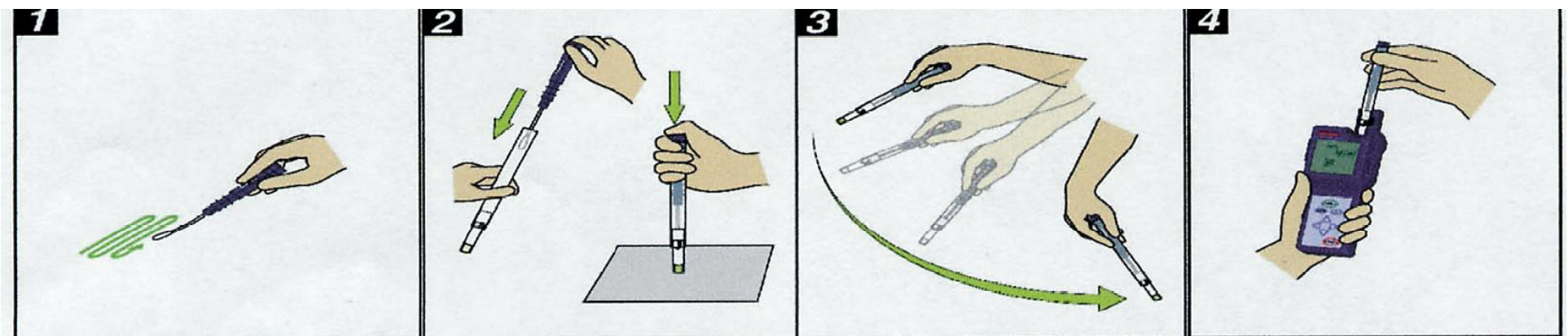


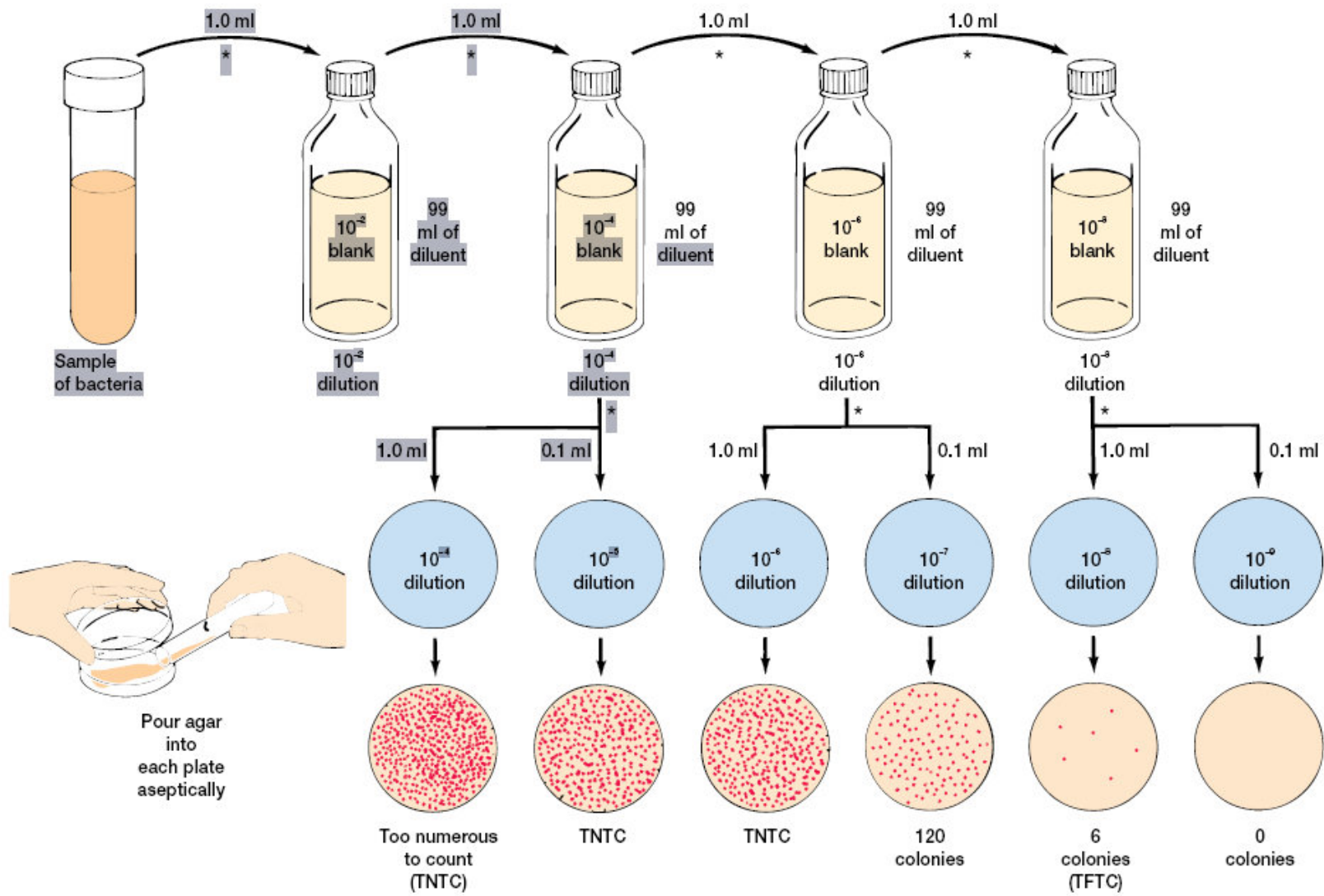
- 1 – lag fáze; 2 – fáze zrychlujícího se růstu; 3 – exponenciální fáze růstu; 4 – fáze zpomaleného růstu; 5 – stacionární fáze růstu; 6 – fáze odumírání

- 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





Sample of bacteria

1.0 ml

1.0 ml

1.0 ml

1.0 ml

99 ml of diluent

99 ml of diluent

99 ml of diluent

99 ml of diluent

10^{-2} dilution

10^{-3} dilution

10^{-4} dilution

10^{-5} dilution

1.0 ml

0.1 ml

1.0 ml

0.1 ml

1.0 ml

0.1 ml

10^{-2} dilution

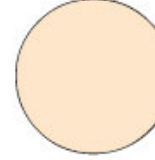
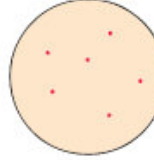
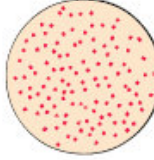
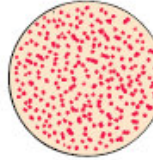
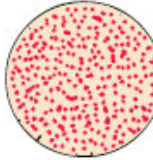
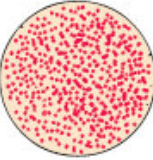
10^{-3} dilution

10^{-4} dilution

10^{-5} dilution

10^{-6} dilution

10^{-7} dilution



Too numerous to count (TNTC)

TNTC

TNTC

120 colonies

6 colonies (TFTC)

0 colonies

Pour agar into each plate aseptically

Postup

PRACUJEME ASEPTICKY, POPSAT SKLO NA VÍČKO

- Kontrola sterility – vyšetí 100 μ l fyziologického roztoku
- Do zkumavek pipetovat 0,9 ml fosfátového pufru
- Z narostlé a promíchané kultury odebrat 100 μ l, dát do zkumavky, **promíchat** → až na konec ředící řady
- Ze tří nejnižších ředění vyšet na misky 100 μ l, na misce rozetřít hokejkou

- Hodnocení – příští týden (kultivace v termostatu cca 2 dny, do cvičení misky zůstanou při pokojové teplotě)