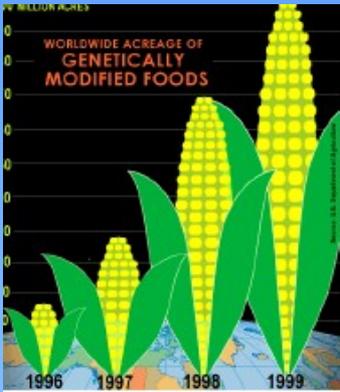


Úvod ke cvičením z mikrobiologie



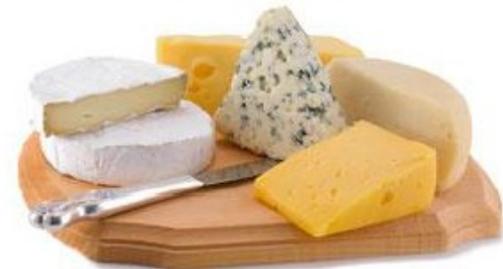
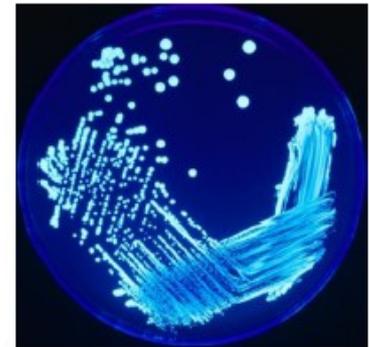
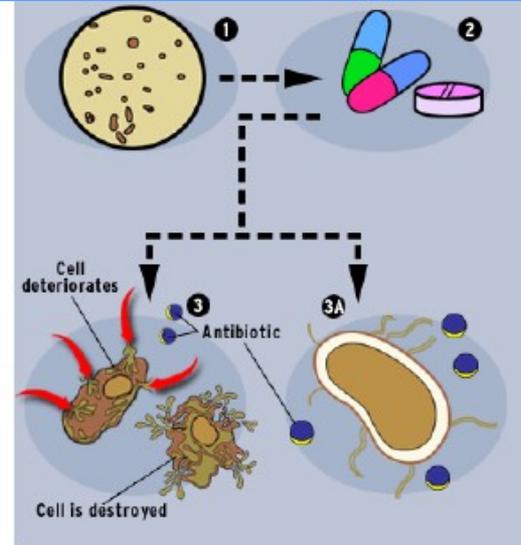
"The role of the infinitely small in nature is infinitely large"
Louis Pasteur



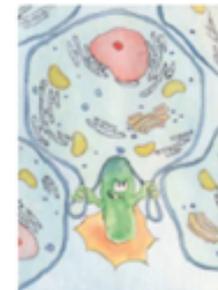
FOOD for THOUGHT



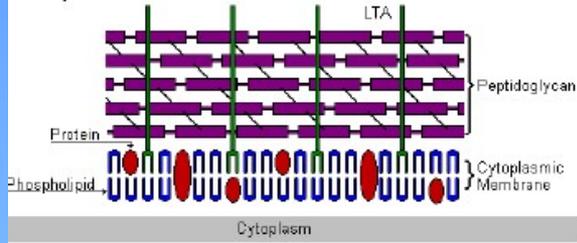
It's perfectly natural



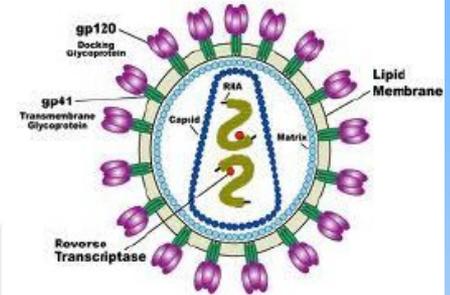
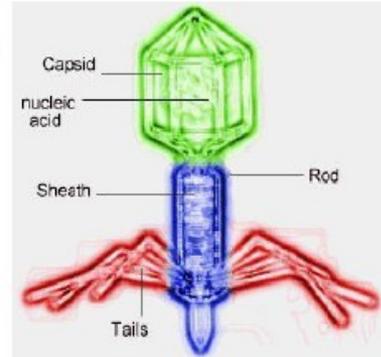
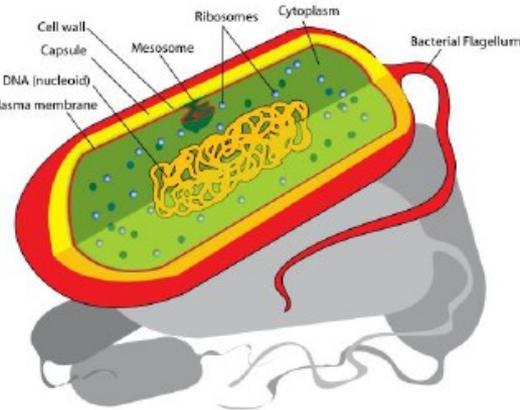
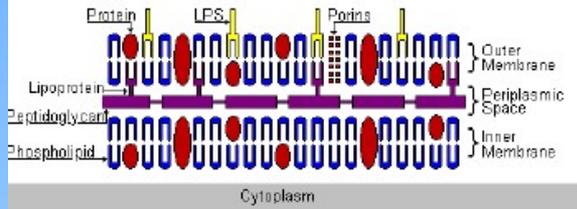
- Genové inženýrství – inzulin, ATB
- *E. coli* – přirozená mikroflóra x patogenní kmeny
- Quorum sensing, biofilm, sociální chování MO
- Technologie – pivo, víno, destiláty, SCP, pečivo, kyseliny, odpadní vody, bioremediace
- Komposty, degradace materiálu, bioplynové stanice
- Koloběh prvků (de- a sulfurikace, fixace dusíku,...)
- Symbióza – člověk, rostliny, zvířata (trávicí trakt, dodávání živin,...)
- Patogeni (epidemie, ATB, léčba, prevence, infekční dávky, očkování,...)
- Atd.



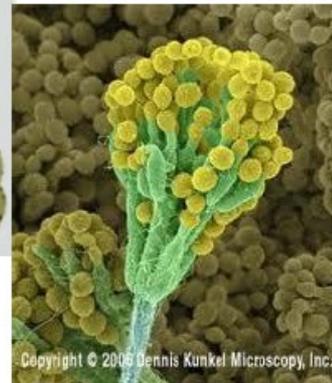
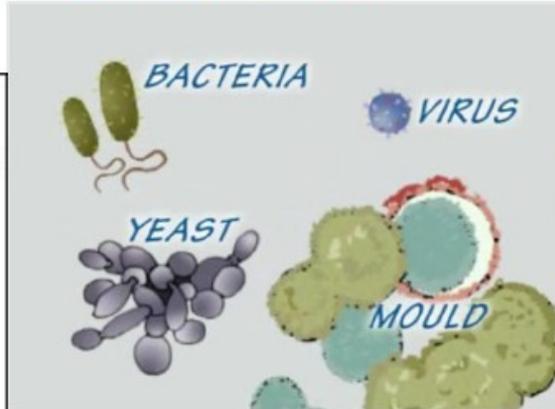
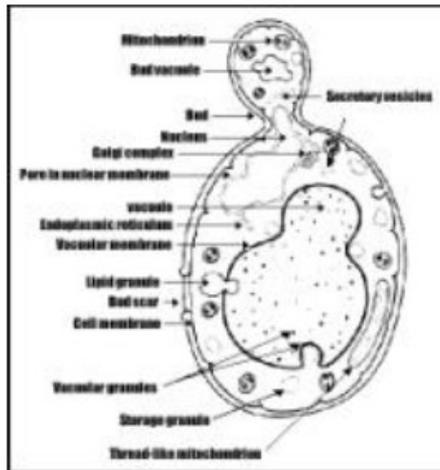
Gram-positive Cell Wall

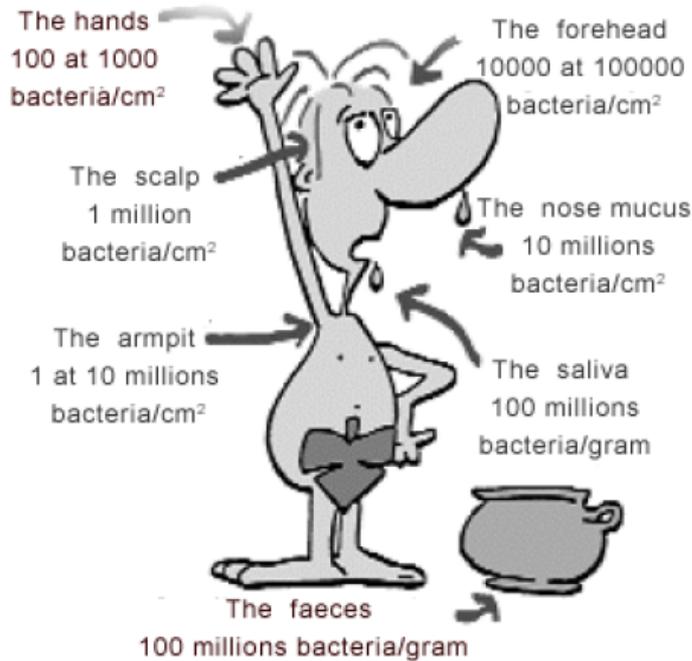


Gram-negative Cell Wall

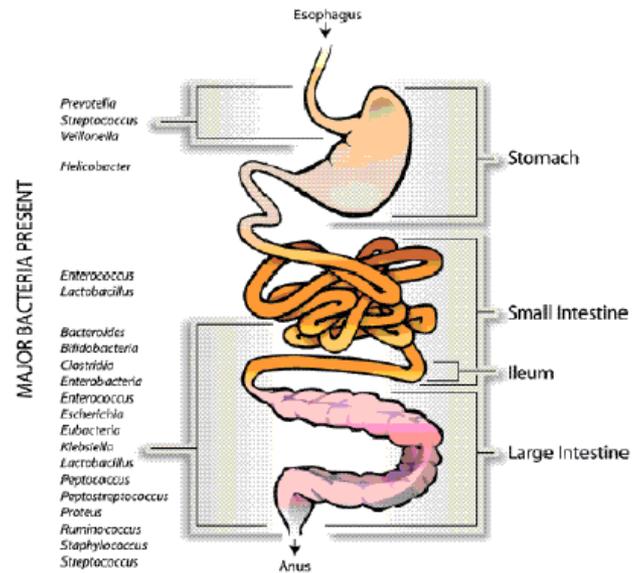


Eukaryota, prokaryota, viry





Distribution of Nonpathogenic Microorganisms in Healthy Humans.
Many of These Bacteria Possess Enzymes That Can Cleave β -glycosidic Linkages



* Microbial Interactions with Humans, Chapter 21: 700-725. In: Madigan MT, Martinko JM, Brock Biology of Microorganisms, Pearson Prentice Hall, 2005.

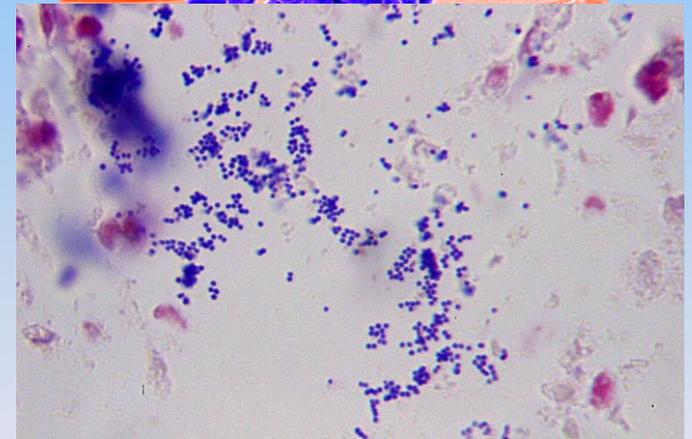
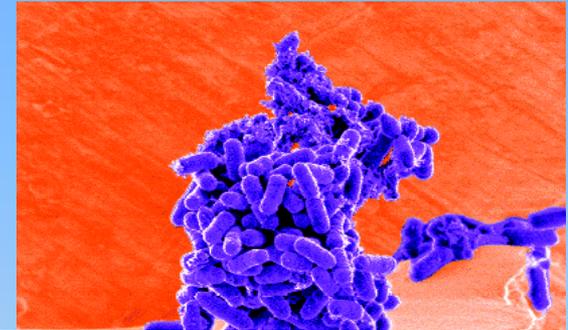
Reprinted with permission of Jane Rimborg, GlycoScience & Nutrition, Vol 6, No 6, 2005.

Bakterie v laboratoři – jak je uvidíme?

KULTIVAČNÍ MEDIUM



PREPARÁT



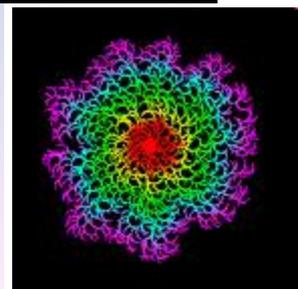
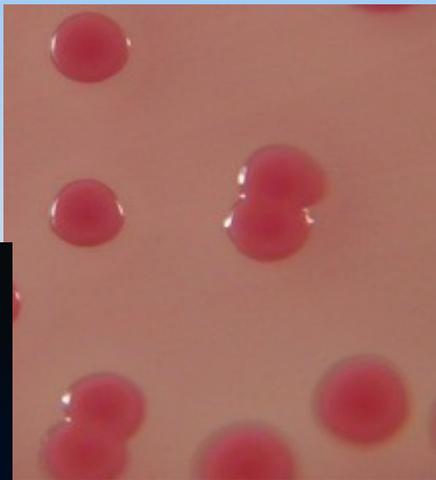
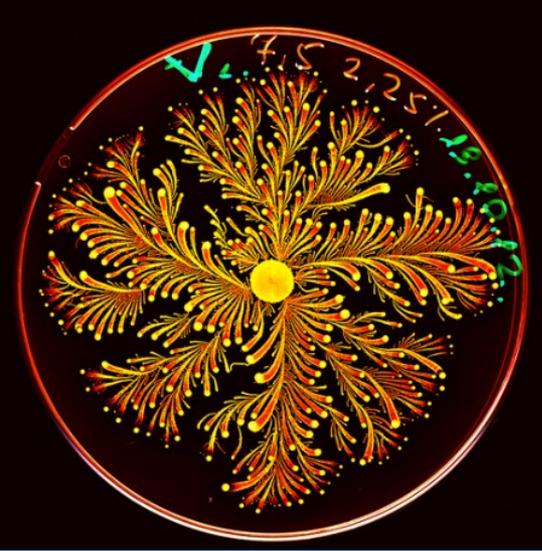
Laboratorní kultura

= Společenství buněk jednoho kmene
= izolátu
přenesené do kultivačního media
a kultivované v laboratoři

Bakteriální kolonie

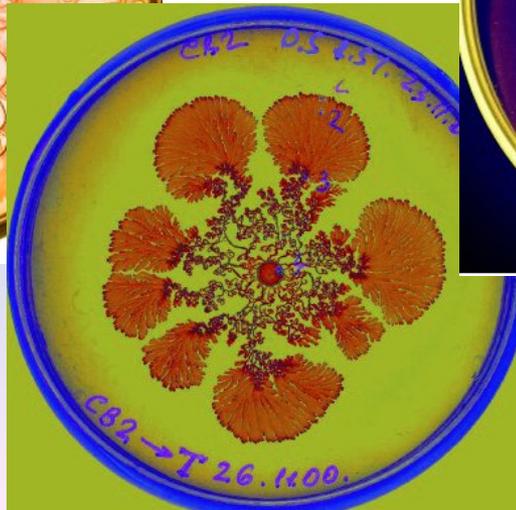
na kultivačním mediu

= Klon jedné buňky (vzniklý jejím dělením)
a zároveň organizované společenství buněk....

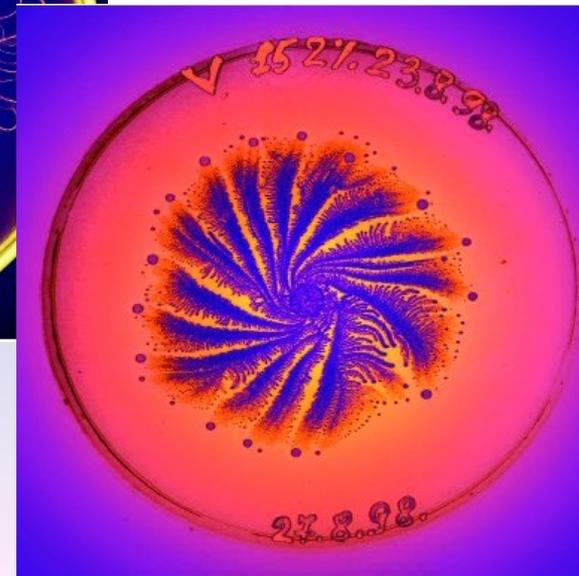


Impuls vedoucí ke tvaru kolonie není znám

- Bizarní růst některých druhů rodu *Bacillus*
- *Bacillus* vhodným studijním modelem dynamiky růstu a morfologie kolonie a komunikace buněk



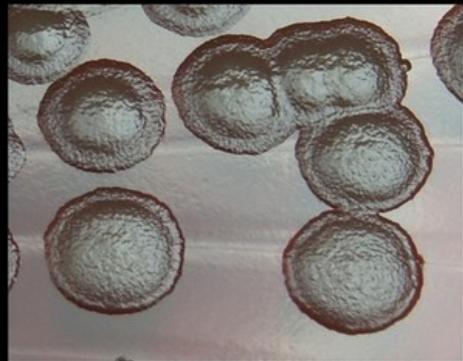
Ben-Jacob's bacteria
(*Paenibacillus*)



MORFOTYP bakteriálních kolonií

- kompaktní nebo strukturovaný (vějířovitý, stromkový)
- závisí na druhu a stáří kultury a kultivačních podmínkách
- větš. pravidelné nebo sektorový, rozvětvený růst

www.bacteriaiphotos.com



Bacillus cereus (blood agar)



Streptococcus pneumoniae (blood agar)

www.bacteriaiphotos.com



Staphylococcus aureus yellow staphyloxanthin



Chryseobacterium indologenes yellow flexirubin



Bacillus sp. (Mueller-Hinton agar)



Mycobacterium fortuitum (blood agar)



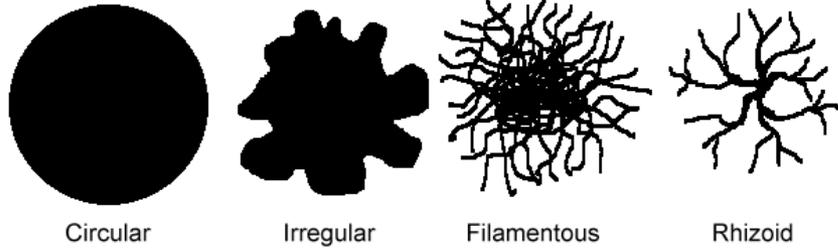
Streptomyces coelicolor A3(2) blue actinorhodin (under alkaline pH conditions)



Streptomyces sp. red rubromycin

• MORFOLOGICKÝ TYP bakteriálních kolonií

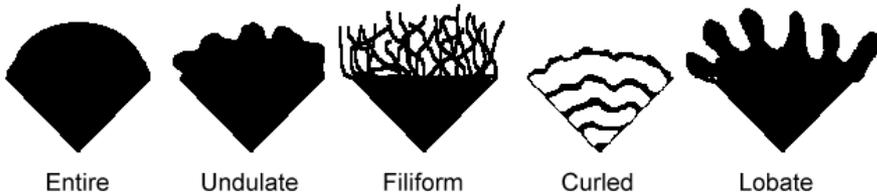
Form



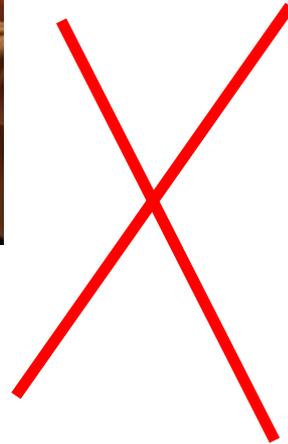
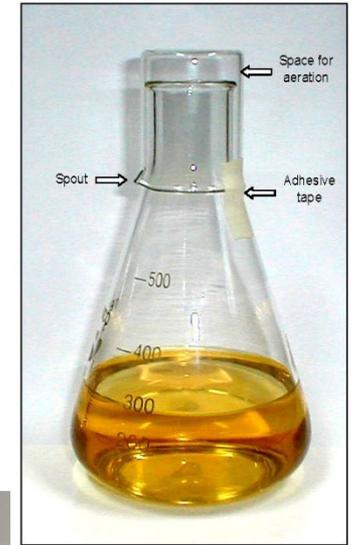
Elevation



Margin

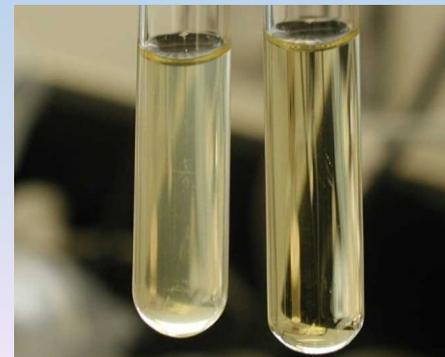
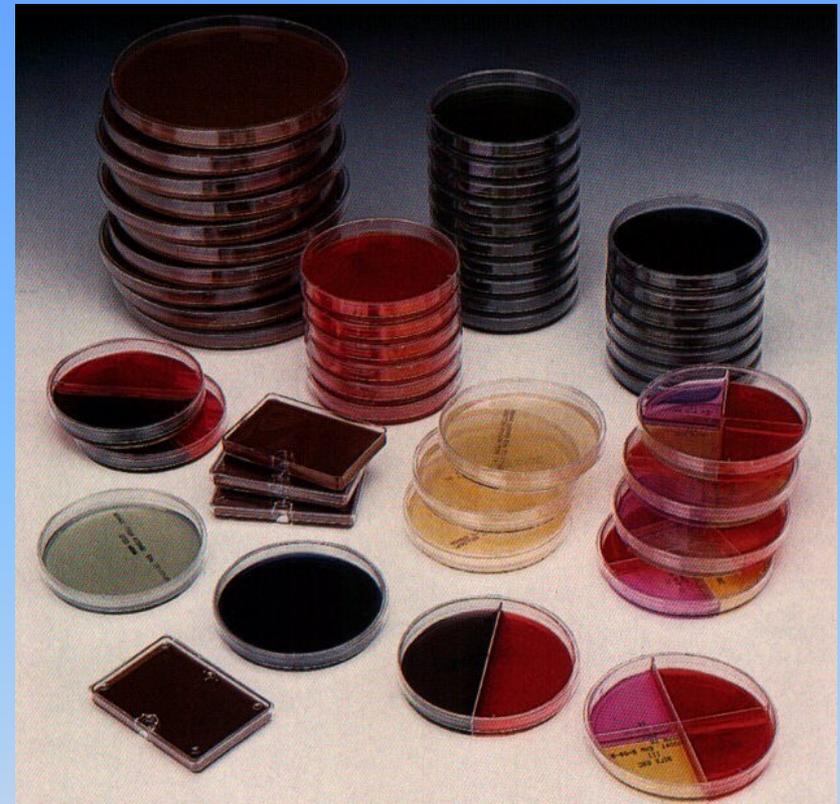
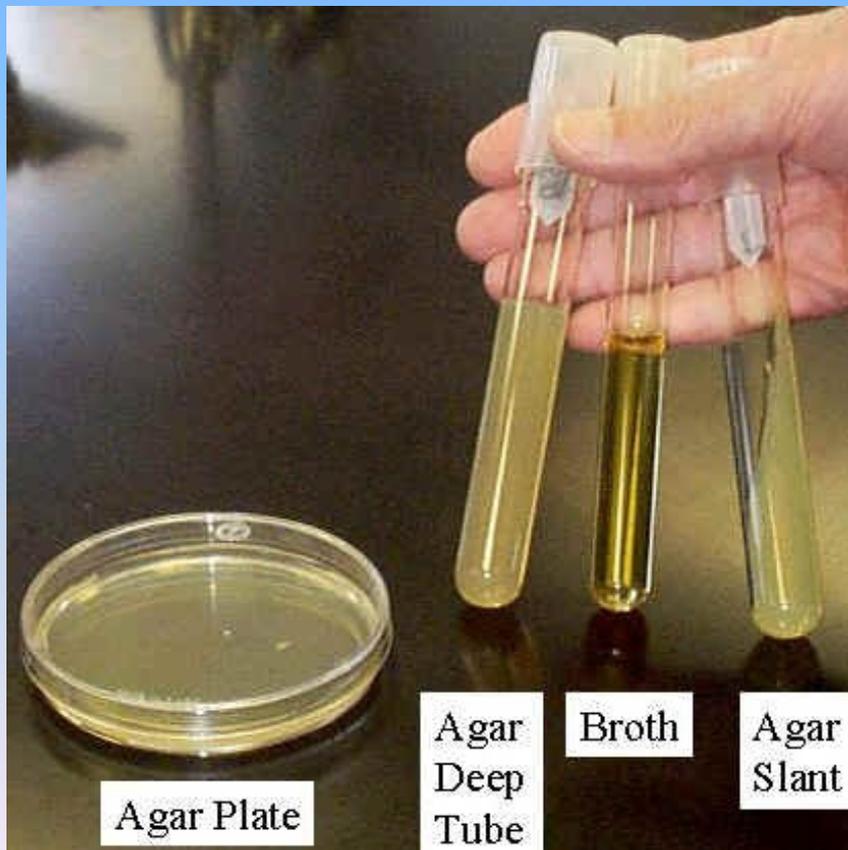


- **Pokud čistá kultura**
= tvar kolonie je charakteristický znak
na agarové půdě, NIKOLI V BUJONU!



Kultivační podmínky:

- Typ media
- Konzistence media



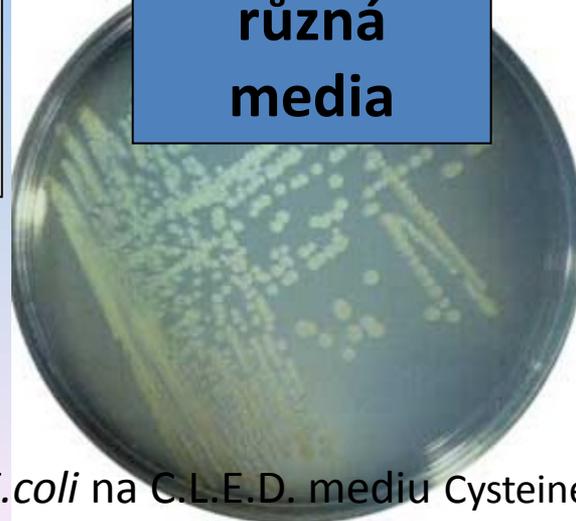
E.coli na agaru EMB (Eosin Methylene Blue Agar)



Jeden druh
Bakterie,
různá
media



E.coli na MacConkey agaru



E.coli na C.L.E.D. mediu Cysteine Lactose Electrolyte Deficient Agar

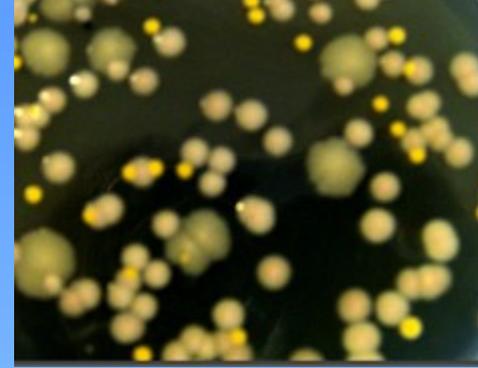
Bakteriální kolonie na diagnostických půdách



E.coli na krevním agaru

Smíšená kultura

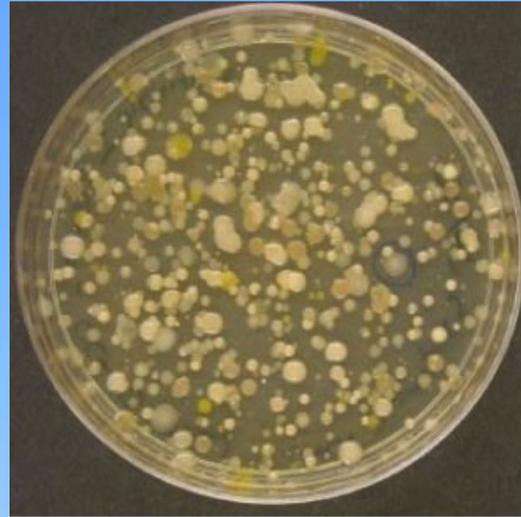
– několik morfologických typů kolonií



Smíšená kultura – více bakteriálních druhů – = různé morfolotypy kolonií na 1 misce



Klinická mikrobiologie – krevní agar
(hemolýza; pigment; morfologie)

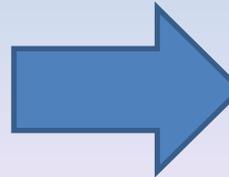


Neselektivní medium:
většina nenáročných
kultivovatelných MO



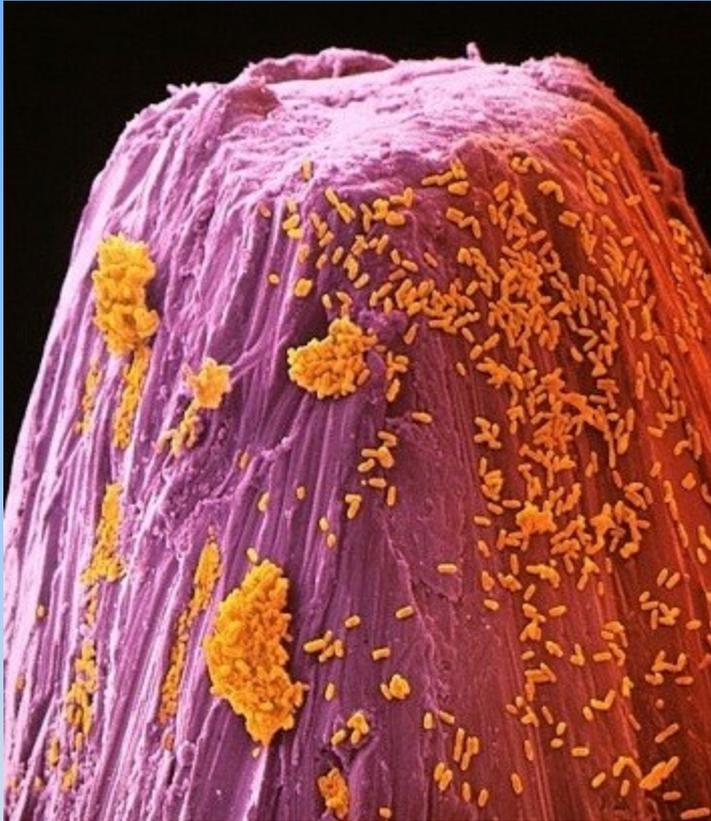
**Selektivně diagnostické
medium**

Smíšená kultura v preparátu
– rovněž různé různé morfortypy buněk



Mikroskopie bakteriální buňky

Typ mikroskopické techniky, typ preparátu



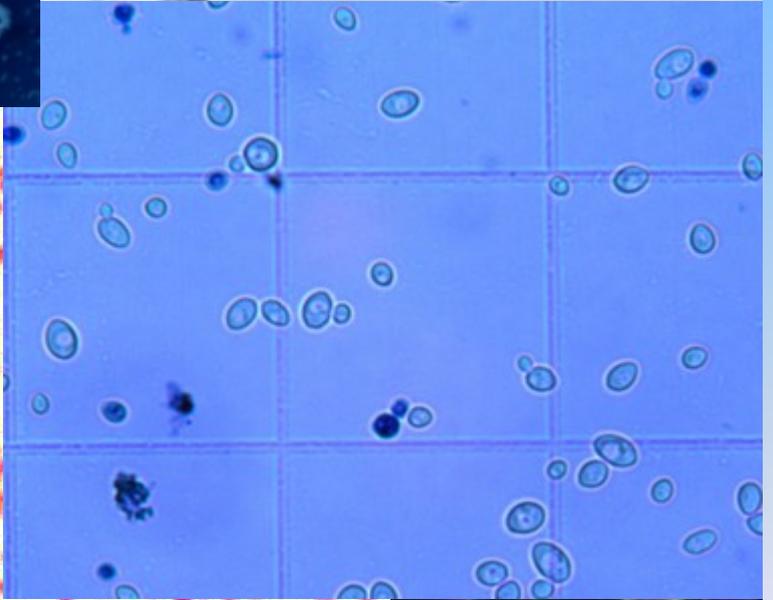
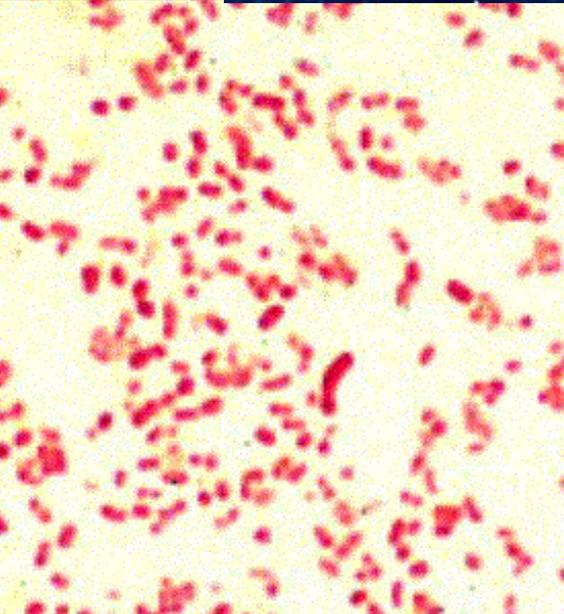
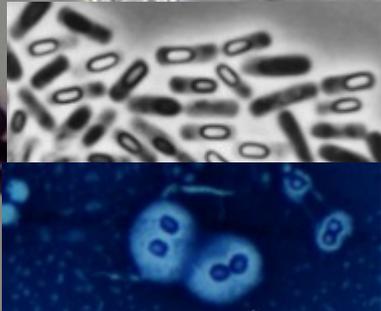
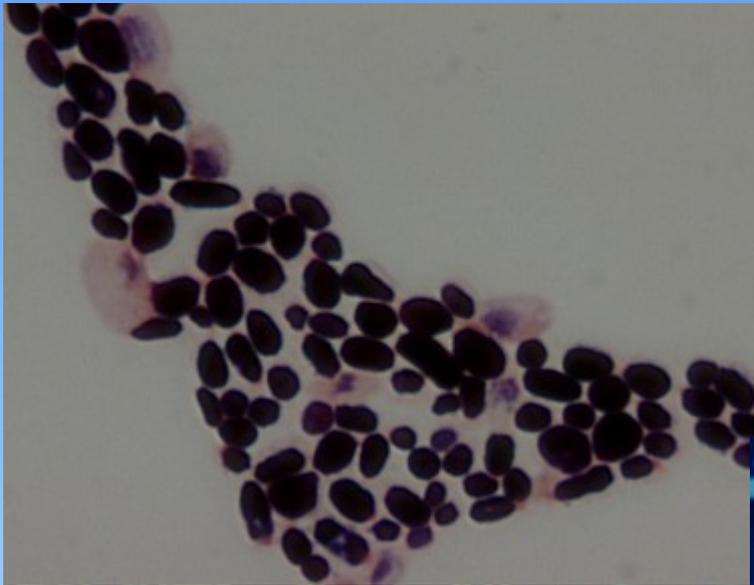
Bakterie na špičce jehly



E.coli v klku střeva

Bakterie pokožky
– součást imunitní bariéry





Bakteriální buňky v preparátu:

Bacterial shapes

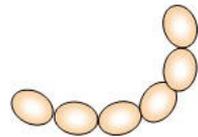
1. Cocci



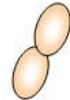
e.g. *Staphylococcus aureus*



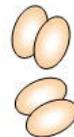
e.g. *Sarcina ventriculi*



e.g. *Streptococcus pyogenes*

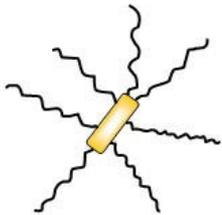


e.g. *Streptococcus pneumoniae*

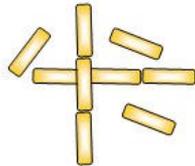


e.g. *Neisseria gonorrhoeae*

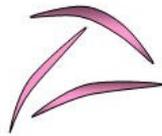
2. Rods (bacilli)



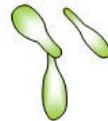
e.g. *E. coli*



e.g. *Bacillus anthracis*

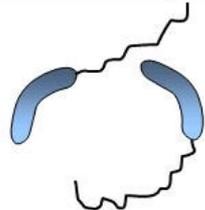


e.g. *Fusobacterium nucleatum*



e.g. *Corynebacterium diphtheriae*

3. Curved bacilli (vibrios)



e.g. *Vibrio cholerae*

(spirillum)



e.g. *Spirillum volutans*

(spirochaete)



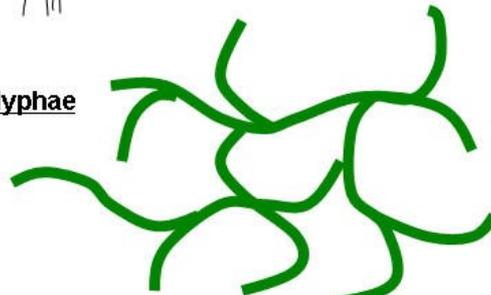
e.g. *Treponema pallidum*

4. Cyanobacteria



e.g. *Oscillatoria limnetica*

5. Hyphae

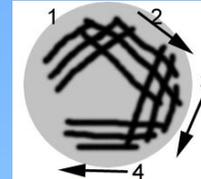


e.g. *Streptomyces albus*

- Jednotlivé
- Typické shluky
- Tvar

Cíle laboratorních cvičení mikrobiologie

Naučit se očkovat bakterie na kultivační media



Provedení tzv. „plotnové metody“ pro počítání živých buněk ve vzorku

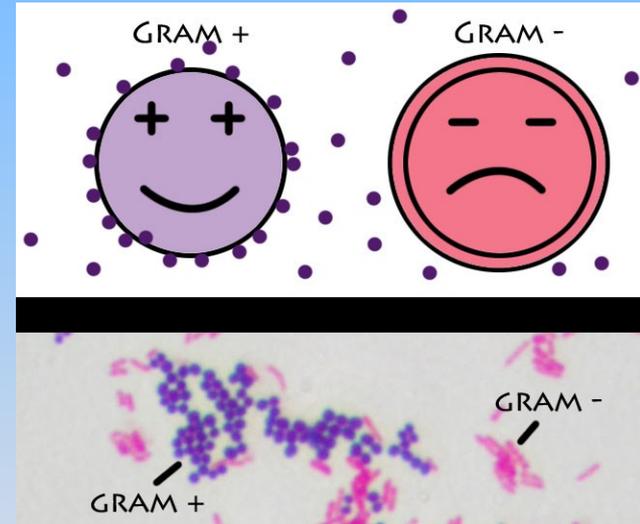
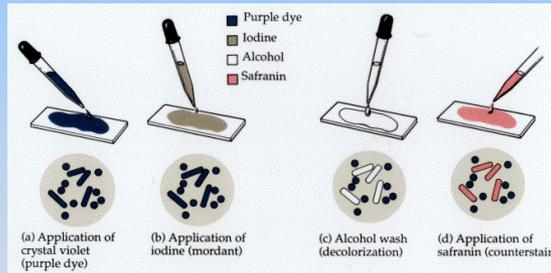
Základní mikrobiologický rozbor pitné a povrchové vody

Založení kultivace bakterií vlastní mikroflory



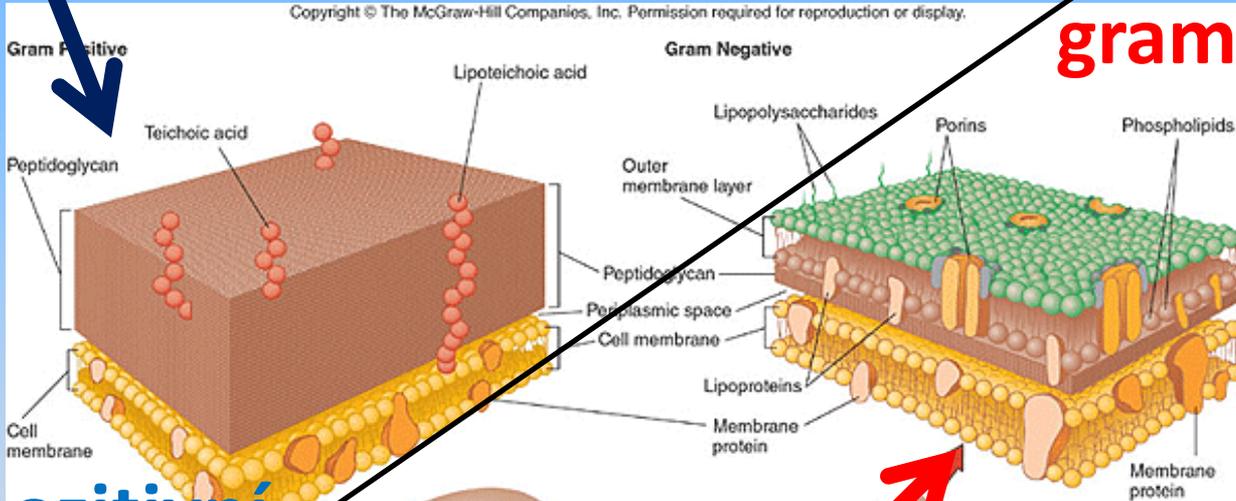
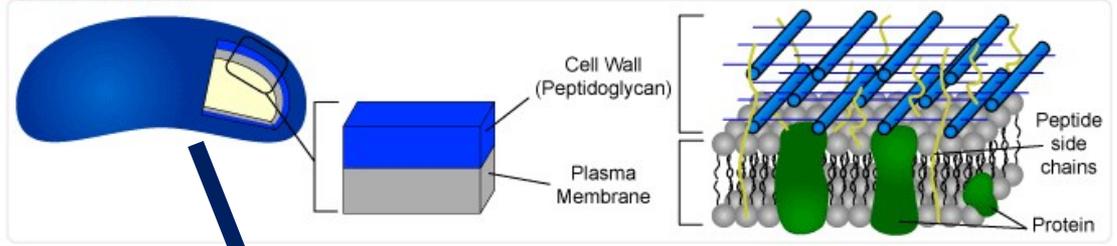
Poznat čistotu bakteriální kultury – na misce a v preparátu

Umět připravit preparát bakteriálních buněk



Grampozitivní a gramnegativní bakteriální buňky

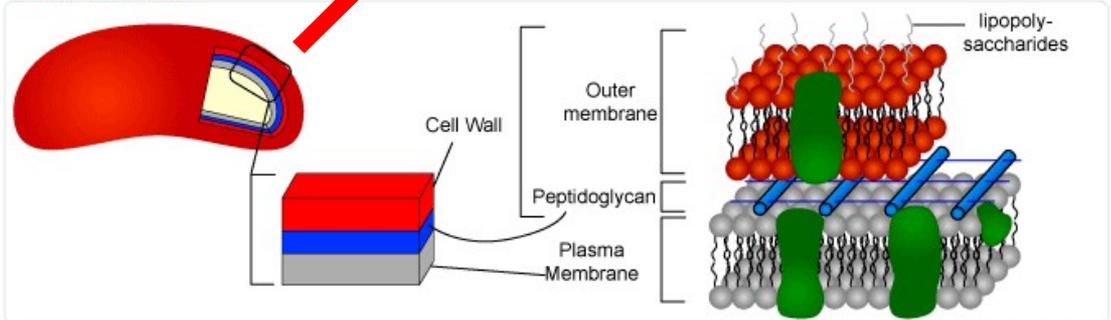
Gram⁺ Bacteria



gramnegativní

grampozitivní

Gram⁻ Bacteria



Izolace vybraných skupin půdních mikroorganismů

Antibiotika – posouzení citlivosti a výpočet koncentrace

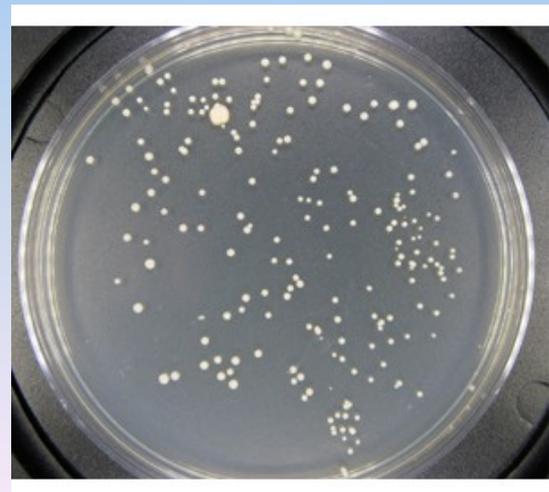
Základy identifikace mikroorganismů

Posouzení účinnosti fyzikálních a chemických faktorů na růst bakteriální kultury



Nejdůležitější pravidla pro správné výsledky 😊

- Aseptická práce
- Promíchávání vzorku
- Správně rozetřený vzorek po celé misce
- Správně popsané kultivační zkumavky/misky
- Zapsat si očekávaný výsledek pokusu a porovnat jej se skutečným výsledkem



Misky s bakteriálními kmeny otevírat co nejméně
a po práci správně zavřít

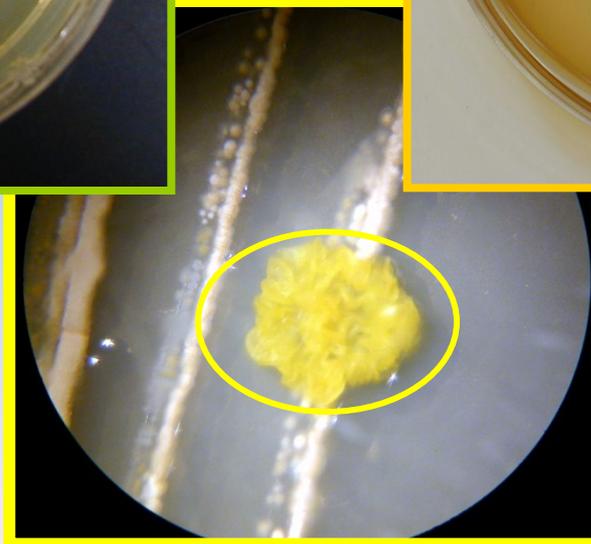
Nemluvit při očkování mikroorganismů

Sterilní práce – žíhání kličky v plameni kahanu..



Kahan zapnutý jen po dobu práce s ním

Kontaminace na misce!



Bezpečnost a zásady práce

Plášť, přezůvky, skříňky, jídlo, pití

MO – Biohazard group 1

Stoly – před a po práci **Incidur**



Po vstupu do laboratoře či před zahájením práce prosím o mytí rukou;
test účinnosti mytí rukou



Mytí rukou před návštěvou toalety!!!

Zásady bezpečné práce v mikrobiologické laboratoři

1. Vstup do laboratoře je povolen pouze osobám vykonávajícím cvičení.
2. V laboratoři vykonávejte pouze práci stanovenou obsahem cvičení.
3. V laboratoři je zakázáno jíst, pít a kouřit.
4. V laboratoři je nutné používat laboratorní plášť a přezůvky.
5. V laboratoři je zakázáno otevírat okna. Větrání je zajištěno pomocí přísavného větracího zařízení.
6. Před příchodem do laboratorního cvičení se seznamte s jeho obsahem.
7. Před započítím a po ukončení práce je třeba desinfikovat pracovní plochu (Incidur).
8. Na pracovní plochu pokládejte co nejméně osobních věcí. Na pracovní ploše může snadno dojít k jejich kontaminaci. Oblečení, batohy a tašky odkládejte v šatně.
9. Pracujte pečlivě a opatrně. Zabráňte tím kontaminaci materiálu a náhodnému potřísnění pracovní plochy a sebe bakteriálními kulturami.
10. Nedotýkejte se zbytečně rukama obličeje, nenanášejte v laboratoři kosmetiku, nemanipulujte s kontaktními čočkami.
11. Při barvení mikroorganismů používejte jednorázové ochranné rukavice a pracujte v digestoři. Při fixaci preparátů používejte ochranné brýle. Ochranné rukavice není nutné používat při manipulaci s mikroorganismy, pokud se však budete cítit bezpečněji, použijte je. Výjimkou je příprava nativního preparátu pro mikroskopii, v tomto případě určitě použijte rukavice.
12. Lihové kahany nechávejte hořet pouze po dobu, kdy je užíváte.
13. Použité sklo a zbytky bakteriálních kultur odkládejte na určená místa. V žádném případě nevylévejte kultury do odpadu! Veškerý kontaminovaný materiál je před likvidací a mytím nutno desinfikovat nebo sterilizovat (týká se i rozbitého skla), případně vyhodit do koše na nebezpečný odpad (např. buničitá vata použitá k likvidaci rozlité kultury).

14. Dojde-li k náhodnému potřísnění pokožky bakteriální kulturou či poranění pokožky, oznamte tuto skutečnost ihned školiteli. Pokožku je nutno ošetřit vhodným desinfekčním prostředkem (ajatin, Spitaderm), aby nedošlo k infekci.
15. Stejně zásady jako v bodě 14 platí i v případě znečištění pracovní plochy nebo pracovního oděvu.
16. V případě jakékoli nejistoty se informujte o správném postupu u svého školitele.
17. Označte všechna média a kultury ve zkumavkách, baňkách a Petriho miskách názvem média a kultury, svým jménem a pracovní skupinou. Misky popisujte na dno! K označení používejte fixy na sklo.
18. Všechny pracovní postupy, obzvláště pak použité bakteriální kultury, množství pipetovaných roztoků a postupy při ředění si pečlivě zaznamenávejte.
19. Po ukončení práce odnese použité pomůcky na určené místo, uklidíte pracovní plochu a vydesinfikujte ji desinfekčním roztokem (Incidur ve spreji).
20. Před odchodem ze cvičení si dobře umyjte ruce a vydesinfikujte desinfekčním prostředkem (Spitaderm). V případě, že potřebujete krátkou přestávku v průběhu cvičení, umyjte a vydesinfikujte si ruce před opuštěním laboratoře.
21. Práce v mikrobiologické laboratoři je zakázána těhotným ženám a matkám do konce 9. měsíce po porodu. Posluchačka je povinna vedoucímu cvičení oznámit graviditu.
22. Připojování přístrojů do elektrické sítě je nutno provádět pod dohledem asistenta. Provádění jakýchkoliv změn na elektrickém zařízení není dovoleno. Opravovat elektrické instalace smějí jen osoby tím zvláště pověřené, s příslušnou kvalifikací. Závady v instalaci (voda, plyn, elektřina) ihned hlase.

PRVNÍ POMOC PŘI MIMOŘÁDNOSTECH A ÚRAZECH

Stane-li se Vám úraz či jiná mimořádnost, zanechte práce (vyjma odvrácení bezprostředního ohrožení dalších lidí) a zavolejte pedagogický dozor, který poskytne první pomoc.

Dostane-li se mikrobiální kultura do úst, je třeba ústa vypláchnout a vykloktat desinfekčním roztokem, např. 1% KMnO_4 či zředěným Lugolovým roztokem.

Kontaminovanou pokožku je třeba otřít desinfekčním činidlem, např. 0,1% Ajatinem.

Při zasažení oka mikrobiologickým materiálem je třeba vypláchnout oko borovou vodou. V případě zasažení chemikálií, je třeba oko důkladně vypláchnout proudem vody a poté borovou vodou.

Každou otevřenou ránu je třeba vydesinfikovat.

Protokoly:

tisknout doma, vyplňovat v průběhu cvičení

odevzdávat průběžně!!!

Závěr = stručné shrnutí, úvaha nad výsledky pokusu

Docházka – 1 povolená absence s omluvenkou

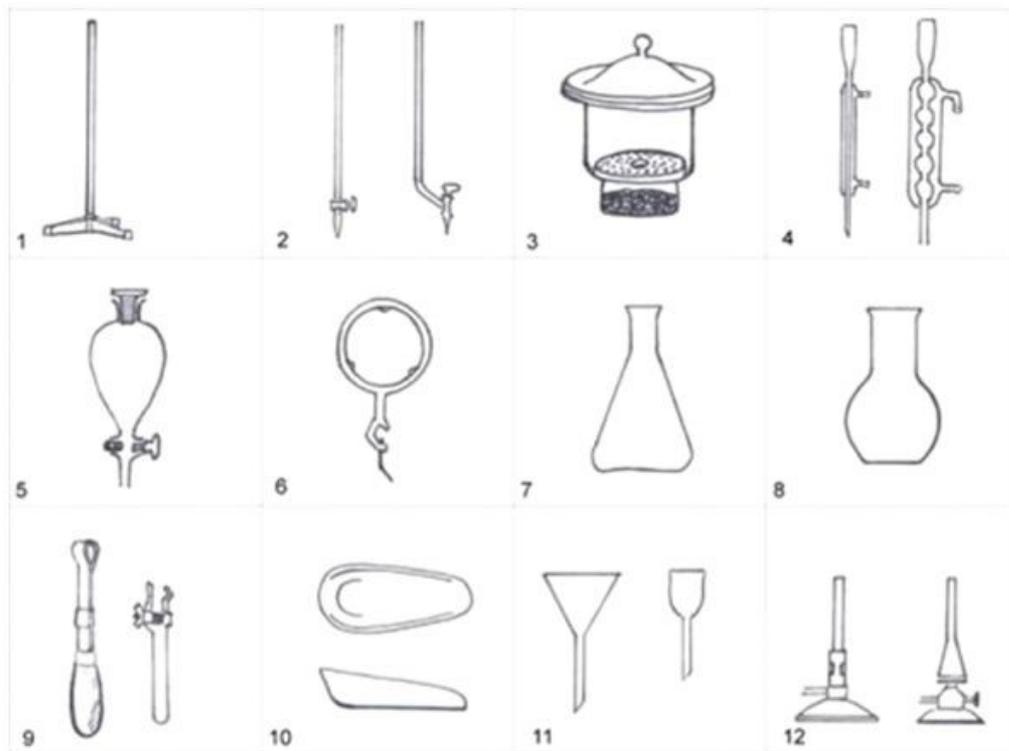
(vypracovat protokol – jen teorii)

Zápočet – docházka, protokoly, 2 testy (75% správných odpovědí)

zápočtový preparát

Sebou vždy PLÁŠŤ, PŘEZŮVKY, FIX NA SKLO!!!

Laboratorní sklo I



- 1) Stojan
- 2) Byreta
- 3) Exikátor
- 4) Chladič
- 5) Dělicí baňka
- 6) Kruh
- 7) Erlenmayerova baňka
- 8) Titrační baňka
- 9) Držák na zkumavky
- 10) Lodička (váženka)
- 11) Filtrační nálevka
- 12) Kahan

Cvičení z Obecné mikrobiologie BI5710c - podzim 2017

| Cvičení | Týden | Úloha |
|----------------|--------------|--|
| 1 | 18.-22.9. | Úvod, bezpečnost práce, organizace cvičení; laboratorní sklo v mikrobiologii; živná média pro růst mikroorganismů |
| 2 | 25.-29.9. | Cvičení odpadá z důvodu státního svátku ve čtvrtek 28.9. |
| 3 | 2.-6.10. | Metody sterilní práce, očkování a uchovávání mikroorganismů (MO), technika křížového roztěru, očkování do tekutého media a na pevné medium, úvod k mikroskopování a přípravě mikroskopického preparátu |
| 4 | 9.-13.10. | Makroskop. a mikroskop. pozorování mikroorganismů (kultury z minulého cvičení) Gramovo a negativní barvení, demonstrační pokus nativního preparátu <i>Na příště: PŘINĚST VZOREK VODY (do skupiny 3 vz. povrchové + 1 vz. pitné)</i> |
| 5 | 16.-20.10. | Bakterie ve vodě - Základní mikrobiologický rozbor vody <i>Na příště: PŘINĚST VZOREK PŮDY</i> |
| 6 | 23.-27.10. | Průkaz a izolace některých půdních mikroorganismů |
| 7 | 30.10.-3.11. | Hodnocení zastoupení některých mikroorganismů v půdě Pozorování bakteriálních spor bacila - fázový kontrast - nativní preparát, negativní barvení rodu Bacillus, negativní barvení pouzder azotobaktera |
| 8 | 6.-10.11. | Přímé stanovení počtu buněk v Bürkerově komůrce, vitální test, kvasinky |
| 9 | 13.-17.11. | Nepřímé stanovení počtu životaschopných bakterií plotnovou metodou |
| 10 | 20.-24.11. | Fyzikální a chemické prostředky kontroly růstu (UV, SAVO,...) |
| 11 | 27.11.-1.12. | Stanovení citlivosti bakterií k antibiotikům, stanovení koncentrace Antibiotik |
| 12 | 4.-8.12. | Úvod do identifikace bakterií - biochemické testy a standardizované identifikační systémy (zkumavkové testy, papírkové testy a mikrotesty) |
| 13 | 11.-15.12. | Zápočtový preparát, odevzdání protokolů |

Zajímavé odkazy:

<http://www.sci.muni.cz/mik/wp-content/uploads/mikrobiologiecv.pdf>

- Mikrobiologie Brno:
 - PrF: www.sci.muni.cz/mikrob - atlas, výukové materiály
 - LF: <http://www.medmicro.info/>
 - <http://atlas.medmicro.info/index.php>
 -
- **Ústavy mikrobiologie ČR**
 -
- **AVČR:** <http://www.biomed.cas.cz/mbu/cz/>
- **3LF Praha:** <http://old.lf3.cuni.cz/mikrobiologie/>
- Ústav biochemie a mikrobiologie VŠCHT: <http://biomikro.vscht.cz/>
- **Státní zdravotní ústav:** <http://www.szu.cz/o-szu/centrum-mikrobiologie>
- **Fakulta veterinárního lékařství:**
http://fvl.vfu.cz/sekce_ustavy/mikrobiologie/klinicka_mikrobiologie/
- **Ústav mikrobiologie UPOL:** <http://www.upol.cz/fakulty/lf/struktura/pracoviste/ustav-mikrobiologie-dept-of-microbiology/>
- Společnost pro lékařskou mikrobiologii: <http://www.splm.cz>

Instituce v oboru mikrobiologie:

[Akademie věd ČR](#)

[Centrum epidemiologie a mikrobiologie SZÚ](#)

[Česko-slovenské fórum pro sepsi](#)

[Česká lékařská komora](#)

[Česká lékařská společnost](#)

[Společnost pro epidemiologii a mikrobiologii](#)

[Československá společnost mikrobiologická](#)

[GRANTOVÁ AGENTURA](#)

[IPVZ](#)

[Katedra MIKROBIOLOGIE IPVZ](#)

[2. lékařská fakulta University Karlovy v Praze](#)

[Fakultní nemocnice Motol](#)

[Fakultní nemocnice Hradec Králové](#)

[Komora vysokoškolsky vzdělaných odborných pracovníků ve zdravotnictví ČR](#)

[Lékařská fakulta Hradec Králové University Karlovy v Praze](#)

[Lékařská fakulta Plzeň University Karlovy v Praze](#)

[Lékařská fakulta Univerzity Palackého v Olomouci](#)

[Masarykova universita Brno](#)

[Mikrobiologický ústav ČSAV](#)

Národní referenční laboratoře

Národní autorizační středisko klinických laboratoří

Ministerstvo Zdravotnictví

Registry

Společnost infekčního lékařství

Společnost mikrobiologických laborantek

Státní zdravotní ústav

Ústav klinické mikrobiologie Lékařská fakulta Hradec Králové

Ústav mikrobiologie Lékařská fakulta Plzeň

UNIVERSITA KARLOVA

Sbírky mikroorganismů CCM BRNO

CNCTC SZÚ PRAHA

DBM VŠCHT

VÚVL BRNO

Vyukove portaly lekarskych fakult:

<http://portal.med.muni.cz/clanek-313-mikrobiologie-on-line.html>

<http://portal.lf1.cuni.cz/clanky.php?aid=831>

Zahranicni vyukove portaly

<http://serc.carleton.edu/microbelife/index.html>

<http://www.microbes.info/>

Časopisy v češtině

<http://www.clsjep.cz/>

http://www.clsjep.cz/nts/casop/epidemiologie/epidemiologie_rada.asp

<http://kmil.trios.cz/>

<http://www.szu.cz/publikace>

<http://www1.lf1.cuni.cz/~hrozs/index.htm>

Časopisy v angličtině a databáze (v mnohých je možno nalézt fulltextové publikace)

<http://www.biomed.cas.cz/mbu/fovia/index.html>

<http://www.isiwebofknowledge.com/>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez/>

<http://www.journals.asm.org/>

<http://www.sciencedirect.com/>

<http://ijs.sgmjournals.org/>

<http://www.biomedcentral.com/home>

<http://www.fems-microbiology.org/website/nl/default.asp>

<http://jmm.sgmjournals.org/>

http://www.elsevier.com/wps/find/journaldescription.cws_home/506034/description#description

<http://www.sciencedirect.com/science/journal/01677012>

<http://cmr.asm.org/current.dtl>

Atlasy:

<http://www.microbiologyatlas.kvl.dk/biologi/english/> - **po výběru kategorie rolovat lištu vpravo**

<http://www.cdc.gov/az/a.html>

<http://www.pf.chiba-u.ac.jp/english/egallery-index.htm>

<http://www.mycology.adelaide.edu.au/>

<http://commtechlab.msu.edu/sites/dlc-me/zoo/zdmain.html>

Fyziologie bakterií

focosi.immunesig.org/physiobacteria.html

Taxonomie

<http://www.bacterio.cict.fr/>

BACTERIAL VIDEOS

<http://shapiro.bsd.uchicago.edu/bacterialvideos.html>

Rezistence na

antibiotika <http://cmr.asm.org/cgi/content/full/18/4/657?maxtoshow=&HITS=10&hits=10&RESULTFORMAT=&fulltext=Psseudomonas+%2B+MALDI&searchid=1&FIRSTINDEX=20&resourcetype=HWCIT#R417>

Surveillance a zprávy antibiotické rezistence ČR:

<http://www1.szu.cz/cem/earss/earssvcr.html>

Vademecum (roztoky, pH...)

<http://www2.biomed.cas.cz/d331/vade/cele.html>

Technologie:

<http://www.gate2biotech.com/>

<http://www.pivovarska-skola.cz/>

Výslovnost v angličtině:

<http://www.kcom.edu/faculty/chamberlain/website/studio.htm>

Ostatní:

<http://klinickafarmakologie.cz/pdfs/far/2004/03/03.pdf>

<http://www.urologiepropraxi.cz/pdfs/uro/2005/05/04.pdf>

<http://www.veda.cz/>

Mikroskopie:

<http://web.natur.cuni.cz/~parazit/parpages/mikroskopickatechnika/svetelnamikroskopie.htm>

Virtuální mikroskopování [<http://www.olympusmicro.com/primer/virtual/virtual.html>]

Optical microscopy primer introduction [<http://micro.magnet.fsu.edu/primer/>]

Vlnová optika [<http://www.sweb.cz/radek.jandora/f11.htm>, <http://www.aldebaran.cz/studium/fyzika/vlny.html>]

Mikroskopie na Hamburgské univerzitě [<http://www.biologie.uni-hamburg.de/b-online/e03/03.htm>]

Souhrnný článek v anglickém jazyce [[Optical microscopy.pdf](#)]

Science cartoons

<http://www.firstscience.com/home/cartoons.html>

Nabídky práce:

<http://www.gate2biotech.cz/zamestnani/>

<http://www.biomed.cas.cz/mbu/cz/jobs.php>