



Miroslava Kačániová, Natália Čmíková

Mikrobiologické laboratórne metódy

Nitra 2025



Názov: **Mikrobiologické laboratórne metódy**

Autori: prof. Ing. Miroslava Kačániová, PhD. (1,76 AH)
Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre
Fakulta záhradníctva a krajinného inžinierstva
Ústav záhradníctva

Ing. Natália Čmíková (1,75 AH)
Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre
Fakulta záhradníctva a krajinného inžinierstva
Ústav záhradníctva

Recenzenti: prof. RNDr. Leona Buňková, Ph.D.
Univerzita Tomáša Baťu v Zlíne
Technologická fakulta
Ústav inžinierstva ochrany životného prostredia

doc. Ing. Simona Kunová, PhD.
Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre
Fakulta biotechnológie a potravinárstva
Ústav potravinárstva

Metodická príručka bola vydaná s finančnou podporou projektu KEGA 023SPU-4/2024.

Schválila rektorka Slovenskej poľnohospodárskej univerzity v Nitre dňa 20. 2. 2025
ako návody na cvičenia pre študentov SPU v Nitre.

ISBN 978-80-552-2840-2



Obsah

Zoznam obrázkov	4
Úvod	5
1. Bezpečnostné pokyny pre mikrobiologické laboratórium.....	7
2. Príprava kultivačných médií na kultiváciu mikroorganizmov	15
3. Príprava vzoriek na testovanie mikrobiologickej kvality	23
4. Príprava riedení na mikrobiologickú analýzu.....	30
5. Inokulácia kultivačných médií s mikroorganizmami	36
6. Príprava mikroorganizmov na meranie antimikrobiálnej aktivity a meranie optickej hustoty mikrobiálneho inokula	43
7. Disková difúzna metóda na testovanie antimikrobiálnej aktivity	50
8. Testovanie minimálnej inhibičnej koncentrácie (MIK).....	57
9. Príprava vzoriek na antimikrobiálnu aktivitu <i>in situ</i>	64
10. Príprava kolónií na analýzu s použitím hmotnostnej spektrometrie.....	69
11. MALDI-TOF MS Biotyper analýza na identifikáciu mikroorganizmov.....	76
Záver	84
Záverečné myšlienky	85
Zoznam literatúry	86
Zdroje obrázkov	88



Zoznam obrázkov

Obrázok 1. Zobrazenie niektorých zásad pri práci v mikrobiologickom laboratóriu (URL 1, upravené).	12
Obrázok 2. Postup pri príprave kultivačného média (URL 2, upravené).	19
Obrázok 3. Príprava vzoriek na mikrobiologickú analýzu (URL 3, upravené).	26
Obrázok 4. Riedenie vzoriek (URL 4, upravené).	32
Obrázok 5. Postup očkovania (URL 5, upravené).	39
Obrázok 6. Petriho misky znázorňujúce rôzne úrovne optickej hustoty mikroorganizmov (URL 6, upravené).	46
Obrázok 7. Disková difúzna metóda (URL 7, upravené).	53
Obrázok 8. Minimálna inhibičná koncentrácia (URL 8, upravené).	61
Obrázok 9. <i>In situ</i> testovanie v parnej fáze.	67
Obrázok 10. Príprava vzoriek na identifikáciu pomocou hmotnostnej spektrometrie (URL 9, upravené).	72
Obrázok 11. Identifikácia mikroorganizmov pomocou MALDI-TOF MS Biotyper (URL 10, upravené).	80



Úvod

Mikrobiologické laboratórne techniky sú nevyhnutné na pochopenie procesov a analýz, súvisiace s mikroorganizmami, ktoré zohrávajú dôležitú úlohu v rôznych odvetviach. Táto metodická príručka bude slúžiť ako komplexný zdroj informácií pre študentov a ponúka štruktúrovaný prístup k zvládnutiu základných a pokročilých laboratórnych metód. Každá časť obsahuje pokyny krok za krokom, rôzne situácie, ktoré môžu nastať pri laboratórnych mikrobiologických analýzach, ktoré študentom pomôžu vybudovať si manuálne a technické zručnosti, zatiaľ čo sprievodné videá zlepšujú pochopenie danej problematiky prostredníctvom vizuálnych ukážok.

Prečo je táto metodická príručka dôležitá?

Mikroorganizmy ovplyvňujú rôzne aspekty života, od podpory vybraných ekosystémov, rôznych procesov až po vplyv na ľudské zdravie či už v pozitívnom alebo negatívnom zmysle. Pochopenie ich správania, interakcií a vlastností je nevyhnutné pre riešenie globálnych výziev, ako je antimikrobiálna rezistencia, ochorenia prenášané rôznymi komoditami a vývoj biotechnologických riešení, ako aj spolunažívanie mikroorganizmov s rastlinami alebo kontamináciou rôznych komodít.

Táto metodická príručka poukazuje nielen na manuálne technické zručnosti potrebné na prácu s mikroorganizmami, ale aj dôležitosť kritického myslenia a presnosti jednotlivých krokov pri práci v mikrobiologickom laboratóriu. Zvládnutím vybraných metodických postupov uvedených v tejto príručke si študenti zabezpečia presnosť a spoľahlivosť svojich experimentov. Získané skúsenosti im umožnia lepšie porozumieť metodikám používaným pri mikrobiologických analýzach. Tieto zručnosti môžu využiť aj pri laboratórnych cvičeniach z iných predmetov. Okrem toho študentov pripraví na prácu v podobných laboratóriách, ktoré budú môcť využiť v budúcnosti.

Táto metodická príručka je rozdelená do vybraných 11 častí, z ktorých sa každá zameriava na konkrétny aspekt mikrobiologickej analýzy a jej kroky, ktoré budú študenti potrebovať pre prácu v mikrobiologickom laboratóriu, počas výučby predmetov Bakteriálne ochorenia rastlín a Mikrobiálne biotechnológie v záhradníctve. Tieto metódy spoločne poskytujú kompletný pracovný postup, od zaistenia bezpečnosti pri práci v laboratóriu, manipulácii



s mikroorganizmami ako aj pri použití pokročilej laboratórnej techniky potrebnej pri identifikácii mikroorganizmov.

Vďaka tejto metodickej príručke študenti získajú nielen manuálne a technické zručnosti, ale aj pochopenie širších súvislostí vo vybraných mikrobiologických metódach v súvislosti s analýzou, ako aj vyhodnotením výsledkov. Prostredníctvom tejto metodickej príručky pri praktických cvičeniach si študenti osvoja precíznosť, kritické myslenie a zručnosti pri riešení rôznych problémov, ktoré môžu nastať pri manipulácii s mikroorganizmami a inými materiálmi a sú potrebné na to, aby prispeli k vedeckému pokroku a riešili reálne problémy spojené s použitím rôznych techník ako aj následne vyhodnotenie výsledkov spojených s jednotlivými analýzami. Či už študenti uprednostňujú zbežné zvládnutie jednotlivých techník, ktoré by mohli zabezpečiť ich kariérny rast so zreteľom na vybrané techniky vo výskume, diagnostikovanie napr. pri identifikácii rastlinných patogénov alebo v záhradníckom priestore, táto metodická príručka im poslúži ako neoceniteľný zdroj informácií na ich akademickej, ako aj profesionálnej ceste, či už v bežnom živote pri vyhodnotení rizika spôsobeného vybranými mikroorganizmami.



Autorky:

prof. Ing. Miroslava Kačániová, PhD.

Ing. Natália Čmíková

Názov:

Mikrobiologické laboratórne metódy

Vydavateľ: Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

Vydanie: prvé

Náklad: 50 ks

Rok vydania: 2025

Počet strán: 90

AH – VH: 3,51 – 3,67

Neprešlo redakčnou úpravou vo Vydavateľstve SPU v Nitre.

ISBN 978-80-552-2840-2

Táto publikácia bola vytlačená na ekologickom papieri.

