

MIKROSKOPICKÉ HOUBY – CVIČENÍ I.

1. Stanovení celkového počtu směsné populace plísní v ovzduší vnitřního prostředí sedimentační metodou

Princip: Sedimentační (gravitační) metoda využívá schopnost mikroorganismů sedimentovat na pevné povrchy. Tato metoda by neměla být používána při hodnocení prostor, které využívají oběhový vzduch. Jedná se o všechny typy klimatizačních zařízení s turbulentním či laminárním prouděním vzduchu.

Pomůcky: Petriho misky s médiem (DRBC – Chloramfenikolový agar s dichloranem a bengálskou červení) o průměru 84 - 90 mm.

Pracovní postup:

1. Ve středu místnosti, v inhalační zóně ve výšce 160 cm nad zemí se umístí dvě uzavřené Petriho misky s médiem. Vzdálenost mezi miskami je nejméně 10, maximálně 30 cm.
2. Poté se misky otevřou a osoba, která provádí odběr, opustí interiér. Přítomnost a pohyb dalších osob ve sledovaném interiéru je vyloučen.
3. Po 1 hodině se Petriho misky uzavřou.
4. Inkubace se provádí při teplotě 25 ± 1 °C po dobu 3-5 dnů.
5. Po inkubaci se spočítají vyrostlé kolonie mikroskopických vláknitých hub.

Výpočet, vyjádření výsledků a hodnocení při sedimentační metodě: Vypočte se aritmetický průměr počtu kolonií z obou Petriho misek. Tento počet se přepočítá na dobu expozice 1 hodina. Výsledek je tedy vyjádřen jako celkový počet plísní, které sedimentovaly na misku za jednu hodinu.

Hodnocení: Pro pobytové místnosti se považují hodnoty 50 KTJ plísní / Petriho misku / hod. za hodnoty, které přibližně odpovídají kategorii znečištění střední dle EUR 14988.

Poznámka: Pokud se využívá pro mikrobiologicko-hygienické hodnocení prostředí tato metoda, mělo by vždy být vyjádřeno i relativní znečištění, tj. provést i stanovení mikroorganismů ve venkovním ovzduší.

Odhad doby expozice otevřených agarových misek při sedimentační metodě

Odběrové místo	Doba expozice (hodiny)
Prostory se zvýšeným požadavkem na čistotu	4
Prostory s běžnými nároky na kvalitu prostředí	1
Prostory s předpokládaným znečištěním ovzduší bioaerosolem	0,3 - 0,5

Literatura:

1. EUR 14988 (Report No. 12: Biological Particles in Indoor Environments, Commission of the European Communities, Report No. 12, Luxembourg, 1994)
2. Standardní operační postupy pro vyšetřování mikroorganismů v ovzduší a pro hodnocení mikrobiologického znečištění ovzduší ve vnitřním prostředí. Acta hygienica, epidemiologica et microbiologica. Příloha č. 1/2002

2. Izolace mikroskopických hub z osiva (seed born fungi)

Materiál: obilky pšenice

Pomůcky: 2% roztok dezinfekčního přípravku SAVO, minutky, sterilní destilovaná voda, sterilní pinzeta, kultivační médium (PDA – potato dextrose agar)

Pracovní postup:

1. Provedeme povrchovou dezinfekci vložением 5 obilek do 2% roztoku dezinfekčního přípravku SAVO (tj. 0,1 % NaClO) na dobu 10 minut.
2. Poté osivo třikrát opláchneme sterilní destilovanou vodou.
3. Sterilní pinzetou rozmístíme obilky na povrch PDA (obr. 3).
4. Kultivujeme ve tmě, při teplotě 25 °C po dobu deseti dnů.
5. Příprava čisté kultury
6. Identifikace

3. Izolace mikroskopických hub – metoda přímého výsevu

Materiál: sýr (Niva, Hermelín, aj.)

Pomůcky: preparační jehla, kultivační médium (MEA – malt extrakt agar), termostat na 25 °C

Pracovní postup:

1. Vyžíhanou preparační jehlou přeneseme kousky ušlechtilé plísně z povrchu nebo vnitřního řezu sýrů na povrch kultivačního média.
2. Kultivujeme ve tmě, při teplotě 25 °C po dobu 7 dnů.
3. Mikroskopování

4. Izolace mikroskopických hub – metoda přímého výsevu

Materiál: koření, bylinné čaje

Pomůcky: pinzeta, kultivační médium (MA2% – Malt Extrakt Agar s chloramfenikolem), termostat na 25 °C

Pracovní postup:

1. Vyžíhanou (ne horkou) pinzetou přeneseme kousky vzorku na povrch kultivačního média.
2. Kultivujeme ve tmě, při teplotě 25 °C po dobu 7 dnů.
3. Mikroskopování, identifikace