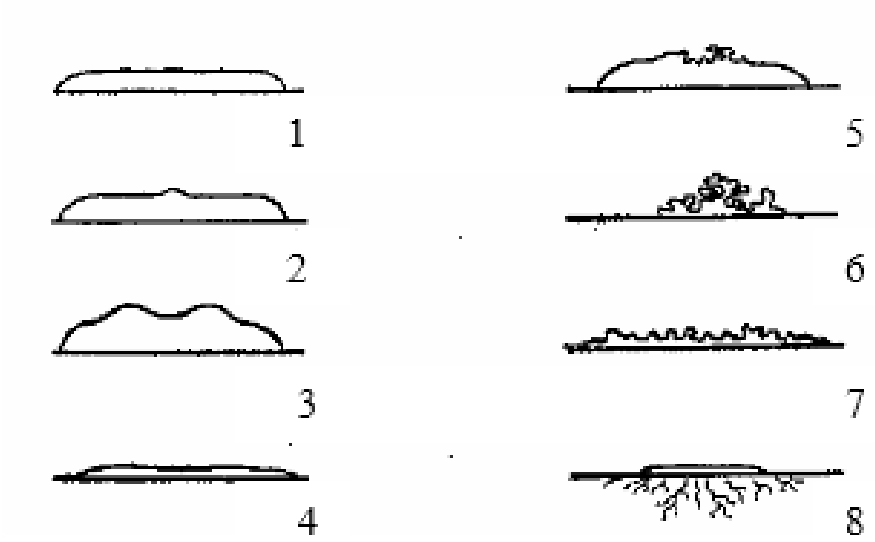
Mikroskopické houby - cvičení

1. Izolace kvasinek stěrem z dutiny ústní - hodnocení

Hodnocení makromorfologie:

Barva - bílá, krémová, lososová
Textura – hladká, drsná
Vzhled – lesklé, matné
Povrch a okraje kolonie - 1. centrálně pruhovaný (v koncetrických kruzích); 2. radiálně pruhovaný (radiálně zvrásněný); 3. ucelený okraj; 4. lalokovitý okraj; 5. pilovitý okraj; 6.cípovitý okraj; 7. rhizoidní okraj

Profil kolonie - 1. hladká, vypouklá kolonie; 2. hladká kolonie s vyvýšeným středem; 3. hladká kolonie, kráterovitá; 4. plochá kolonie; 5. kráterovitá kolonie ve středu zvlněná; 6. vyvýšená, zvlněná kolonie; 7. plochá, zvlněná kolonie; 8. rhiziodní kolonie s pseudomyceliem



(Kocková-Kratochvílová, 1982, upraveno)

Hodnocení mikromorfologie:

Materiál: kultura kvasinky

I. Preparát barvený podle Grama:
Umožňuje podrobné pozorování mykotických organizmů při velkých zvětšeních a odlišení bakteriální kontaminace.

Pomůcky: podložní skla, kahan, barvící roztoky, očkovací klička

Pracovní postup:

1. Na podložní sklo naneseme kapku sterilní destilované vody.
2. Sterilní kličkou nabereme kulturu a rozmícháme v kapce vody.
3. Preparát usušíme na vzduchu a fixujeme teplem, opakovaným protažením plamenem kahanu.
4. Fixovaný preparát přelijeme krystalovou violetí a necháme působit 30 sec.
5. Opláchneme vodou (zbytek vody důkladně setřepat).
6. Převrstvíme Lugolovým roztokem na 30 sec.
7. Opláchneme vodou (zbytek vody důkladně setřepat).
8. Odbarvujeme 95% etanolem, dokud odchází modrá barva (cca 20 – 30 sec.).
9. Opláchneme vodou (zbytek vody důkladně setřepat).
10. Dobarvíme zředěným roztokem safraninu 1 – 2 sec.
11. Opláchneme vodou (zbytek vody důkladně setřepat) a necháme oschnout na vzduchu.
12. Preparát prohlížíme imerzním objektivem při zvětšení 1000x a více.

II. Mikromorfologie na agaru s rýžovým extraktem:

Pomůcky: kultura kvasinky**,** Petriho miska s rýžovým agarem, sterilní krycí skla, preparační jehla, pinzeta sterilizovaná vypálením, termostat, světelný mikroskop

Pracovní postup:

1. Kulturu kvasinky naočkujeme krátkým řezem do středu tenké vrstvy agaru.
2. Přikryjeme sterilním krycím sklem.
3. Kultivujeme 24 – 48 hodin v termostatu při teplotě 30°C.
4. Poté kulturu prohlížíme pod mikroskopem.

Kvasinky mají makroskopicky většinou uniformní vzhled. V kultivaci na agaru s rýžovým extraktem lze identifikovat druh ***Candida albicans*** podle kulovitých **chlamydospor** na koncích vláken (obr. 1).

Obr. 1 *Candida albicans*