

# Ćwiczenie 1 z mikrobiologii lekarskiej - 04.11.2019

## Grzyby chorobotwórcze

### 1. Test filamentacji dla *Candida albicans*

Do probówki zawierającej surowicę ludzką należy posiać szczep *C. albicans* i inkubować 1 godz. w 37°C. Po inkubacji przygotować preparat przyżyciowy – pobrać eżą kroplę surowicy i nanieść na szkiełko podstawowe, przykryć szkiełkiem nakrywkowym i oglądać w powiększeniu 100X lub 400X.

### 2. Barwienie metodą Grama: *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. x*.

### 3. Posiew redukcyjny na podłoże Sabouraud: *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. x*.

### 4. Posiew na podłoże Columbia z krwią:

GRUPA:

Iza 1 – *C. albicans*

Iza 2 – *C. tropicalis*

Iwona 1 – *C. glabrata*

Iwona 2 – *C.x2*

Ania 1 - *C.x1*

### 5. Posiew na sektorki na podłoże chromogenne **CHROMagar Candida**: *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C.x*.

### 6. **API 20C AUX** dla szczepu *C. x*.

### 7. **Mikrohodowla *C. albicans* i *C. x* na podłożu Nickersona**

Mikrohodowlę zakładamy na jałowych szkiełkach podstawowych, które znajdują się w specjalnie przygotowanych komorach – szalkach Petriego.

- Bibułę na dnie komory zwilżyć jałową wodą destylowaną
- Uplynnione podłoże Nickersona (2 probówki na grupę) znajduje się w łaźni wodnej o temp. 60°C. Podłoże należy nanieść na jałowe szkiełka podstawowe.
- Po zestaleniu się podłoża posiać eżą przez środek pierwszego podłoża szczep *C. albicans*, a następnie przykryć 2-3 jałowymi szkiełkami nakrywkowymi. Przez środek drugiego podłoża posiać szczep *C. x* i następnie przykryć 2-3 jałowymi szkiełkami nakrywkowymi.

### 8. **Zymogram** – test fermentacji cukrów w podłożach płynnych. Inkubacja w 30°C.

Do jednego szeregu 7 probówek zawierających podłoże z odpowiednimi cukrami należy posiać szczep *C. albicans*, do drugiego szeregu *C. x*.

9. **Auksonogram cukrowy** – badanie zdolności asymilacji węglowodanów.

Inkubacja w 30°C.

a. Dla *C. albicans*

- 2 kolbki upłynnionego podłoża znajdują się w łaźni wodnej o temp. 65°C
- W eppendorfówce znajduje się specjalnie przygotowana zawiesina badanego szczepu *C. albicans* (podpisana C.a.)
- Do 1 kolbki z ostudzonym do temp. 50°C podłożem dodać 60 µl wymieszanej zawiesiny grzyba. Delikatnie wymieszać i wylać cienką warstwą na dużą szalkę Petriego.
- Czynność powtórzyć dla średniej szalki
- Po zestaleniu się podłoży nałożyć jałowe krążki (4 na dużą płytkę i 3 na średnią)
- Na krążki nakropić po 30 µl 20% roztworów cukrów (znajdują się w eppendorfówkach)

b. Dla szczepu *C. x.* → powtórzyć procedurę według instrukcji dla *C. albicans*

10. **Fungitest** – oznaczenie wrażliwości *C. albicans* na leki przeciwgrzybicze