

# Histologický průkaz mikroorganismů

## METODA GRAMM-TWORTH

Barvení umožňuje rozdělit bakterie na grampozitivní (G+) a gramnegativní (G-) a spolu s morfologií (koky, tyčinky apod.) umožňuje jejich základní identifikaci. G+ a G- bakterie se liší stavbou buněčné stěny a její permeabilitou pro barviva.

- G+ i G- se barví krystalovou violetí, která vytváří modrý komplex s roztokem jódu. V dalším kroku se aplikuje aceton.
- Stěna G+ bakterií zůstává po aplikaci acetonu obarvená, zatímco stěna G- bakterií se odbarví. Následuje barvení red/fast green (směs neutrální červeně a fast green v etanolu), který obarví stěnu G- bakterií.
- Výsledkem barvení jsou tedy modré G+ bakterie, červené G- bakterie, jádra buněk okolních tkání jsou červená, kolagen, erytrocyty a cytoplazma buněk jsou obarvené různými odstíny zelené.

## GIEMSOVO BARVENÍ

Umožňuje morfologickou identifikaci prvoků a bakterií.

- Využívá se neutrálního barviva vytvořeného smícháním bazického barviva (např. azure B, metylenové modře) s barvivem kyselým (např. eosinem).
- Mikroorganismy, houby, paraziti jsou modrofialové, jádra jsou modrá, erytrocyty růžové, cytoplazma světle modrá, kolagen, svaly, kosti jsou světle růžové.

## ACIDOREZISTENTNÍ BARVENÍ

Mykobakterie (*Mycobacterium tuberculosis*, *M. leprae*) nelze prokázat pomocí Gramova barvení. Jejich buněčná stěna obsahuje velké množství voskovitých látek (dlouhé řetězce mykolové kyseliny) způsobujících hydrofobicitu. Mykobakterie jsou acidorezistentní, čili jsou schopné podřet jednou přijaté barvivo a tím odolat odbarvení.

- K barvení se používá koncentrovaný karbolfuchsin aplikovaný za horka. Tímto postupem se obarví všechny přítomné bakterie. Acidorezistentní bakterie poté ale není možné odbarvit kyselým alkoholem.
- K dobarvení neacidorezistentních bakterií a dalších struktur se používá malachitová zeleň. Acidorezistentní bakterie jsou červené, ostatní struktury světle modré až světle zelené.
- K průkazu *Mycobacterium tuberculosis* (původce tuberkulózy) se používá **průkaz podle Ziehl-Neelsona**. K průkazu *Mycobacterium leprae* se používá **průkaz podle Fita**.

## METODA WARTHIN-STARRY (BARVENÍ STŘÍBREM)

Metoda Warthin-Starry se používá k průkazu spirochet (rody *Borrelia*, *Leptospira*, *Treponema*), *Legionella*, *Bartonella* a *Helicobacter pylori*.

- K barvení se používá roztok dusičnanu stříbrného. Buněčná stěna bakterií je schopná vázat stříbrné ionty, ale nedochází k jejich redukci. Redukce stříbrných iontů na kovové stříbro se provádí hydrochinonem.
- Bakterie se obarví tmavě hnědě, pozadí řezu je žluté.

## PAS REAKCE

K průkazu hub a améb lze využít i PAS reakci, protože buněčná stěna hub obsahuje velké množství polysacharidů.

- Cytoplazma améb obsahuje glykogen. Principem barvení je oxidace polysacharidů na aldehydy kyselinou jodistou. Aldehydy následně reagují se Shiffovým reagens za vzniku růžového zbarvení.

## Odkazy

### Použitá literatura

- ČÍŽKOVÁ, Kateřina. *Základy histochemických metod*. - vydání. Univerzita Palackého v Olomouci, 2018. 50 s. ISBN 9788024453163.