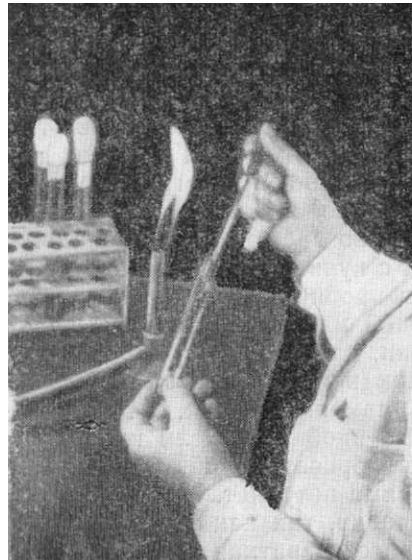


Техника приготовления
препаратов
микрорганизмов

Техника приготовления
препарата фиксированных
окрашенных клеток
микроорганизмов

1-й этап: Отбор культуры микроорганизма

1. Пробирку с культурой держат в левой руке почти в горизонтальном положении вблизи горелки.
2. Правой рукой вынимают ватную пробку из пробирки, зажимая ее между мизинцем и ладонью, а края пробирки обжигают на пламени горелки. Петлю держат в правой руке большим, указательным и средним пальцами.
3. Обожженной в пламени бактериологической иглой из пробирки берут небольшое количество микробной массы.
4. Если культуру берут из жидкой среды, не следует сильно наклонять пробирку, чтобы не смочить ее края и пробку.. обожженной в пламени бактериологической иглой из пробирки берут небольшое количество микробной массы. Если культуру берут из жидкой среды, не следует сильно наклонять пробирку, чтобы не смочить ее края и пробку.



Бактериологическая петля для приготовления препаратов микроорганизмов

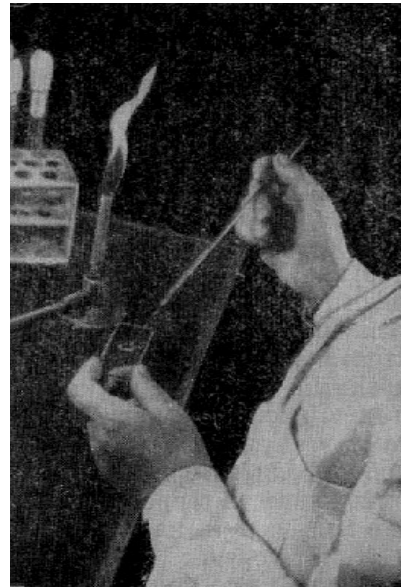


бактериологическая петля

2-й этап: приготовление мазка

5. После взятия культуры края пробирки и пробку обжигают в пламени и пробирку закрывают.

6. Петлю с культурой микроорганизма бактериологической петлей вносят в предварительно помещенную на предметное стекло каплю водопроводной воды и размазывают тонким слоем до получения мазка. Бактериологическую петлю до и после использования прокалывают на пламени спиртовки.



3-й этап: Высушивание мазка на воздухе

Мазок высушивают при комнатной температуре и приступают к фиксации

4-й этап: Фиксация мазка жаром

- Цели фиксации:
 - 1. Обезвреживание микроорганизма.
 - 2. Обеспечение лучшего прикреплении мазка к стеклу.
 - 3. Клетки становятся доступными к окрашиванию.

5-й этап: Простое окрашивание
фуксином – 2 минуты

Заключительный этап

- 1. Смыть избыток красителя водопроводной водой.
- 2. Высушивание приготовленного мазка на воздухе.

**Техника
микроскопирования
препарата фиксированных
окрашенных клеток**

- При изучении микроорганизмов используют иммерсионные объективы.
- Обязательным условием является погружение объектива в масло, показатель преломления, которого близок к показателю преломления стекла
- (1.52).

Работа с иммерсионными объективами x 90, x100

- При использовании иммерсионного объектива вначале центрируют оптическую часть микроскопа, поднимают конденсор
- до упора вверх.
- На предметное стекло с окрашенными препаратами наносят каплю иммерсионного масла.
- Иммерсионный объектив, под контролем глаза сбоку, осторожно погружают в каплю масла.
- Устанавливают, наблюдая в окуляр, очень медленно поднимают предметный столик до появления контуров изображения, вначале макровинтом, а затем микровинтом, получая четкое изображение препарата.

**Исследование живых клеток
микроорганизмов методом
раздавленной капли**

Приготовление препарата «Раздавленная капля»

1. Приготовление препарата из суспензии клеток микроорганизмов

1. Бактериологической петлей, с соблюдением правил асептики, на обезжиренное предметное стекло наносят небольшое количество культуры микроорганизма.
2. Равномерно тонким слоем распределяют нанесенную каплю размером 1 см^2 и покрывают покровным стеклом

2. Приготовление препарата живых клеток микроорганизмов, выросших на плотной питательной среде

1. На обезжиренное предметное стекло наносят каплю водопроводной воды.
2. Бактериологической петлей, с соблюдением правил асептики, захватывают в петлю небольшое количество культуры микроорганизма.
3. Вносят петлю с культурой в каплю воды на предметное стекло, размешивают и покрывают покровным стеклом.

**Основные условия
приготовления препарата
«Раздавленная капля»**

1. Не следует вносить много культуры, препарат будет густым и мало пригодным для микроскопирования.
2. Нельзя допускать образования пузырьков воздуха под покровным стеклом.
3. Избыток жидкости, выступающей из-под покровного стекла, удаляют фильтровальной бумагой.

Техника микроскопирования препарата «Раздавленная капля»

Работа с сухими системами объективов x10, x40

- Препараты микроскопируют, слегка затемняя поле зрения с помощью конденсора.
- Вначале просматривают несколько полей зрения с объективом **x10**, передвигая предметный столик с помощью коаксиальной ручки. Нужный для исследования участок препарата устанавлива-ют в центре поля зрения.
- Вращением диска револьвера заменяют объектив **x10** на **x40**.

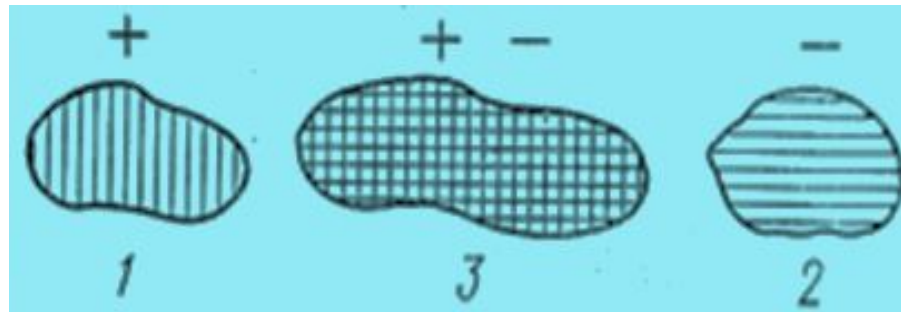
**Сложные способы окраски.
Окраска по Граму**

1. На обезжиренном предметном стекле делают мазки разных бактерий: в центре мазок исследуемой культуры, слева и справа – контрольных культур (рис.5), одна из которых должна быть грамположительной (*Sarcina*), другая – грамотрицательной (*Escherichia coli*). Мазки готовят, как и при простом способе (см. слайды 3,,6).
2. На мазки наносят 2...3 капли раствора кристаллического фиолетового и через 2...3 мин окрашивания краску смывают водой.
3. Наносят 2...3 капли раствора Люголя и по истечении 1...2 мин смывают водой (препарат чернеет).
4. Препарат обесцвечивают 0,5...1,0 мин 96%-ным этиловым спиртом, быстро промывают водой .
5. Проводят дополнительное окрашивание 1...2 мин водным фуксином.
6. Препарат промывают водой, высушивают

Главное условие корректного исследования окраски бактерий по Граму

1. Использовать односуточную культуру бактерий, т.к. некоторые грамположительные бактерии с возрастом теряют свои грамположительные свойства.
2. Использовать эталонные культуры, с заранее известным отношением к окраске по Граму.

Схема приготовления препарата при окраске бактерий по Граму



1 – мазок грамположительных бактерий; 2 – мазок грамотрицательных бактерий; 3 – исследуемая культура.

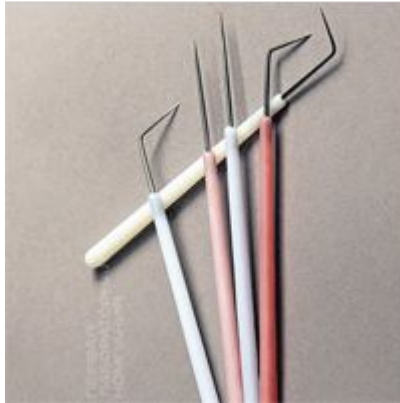
Техника микроскопирования

- Приготовленный препарат микроскопируют с иммерсионной системой, исследуя вначале мазки контрольных культур, а затем исследуемой.
- При правильном окрашивании грамположительные бактерии имеют сине-фиолетовый, а грамотрицательные – розово-красный цвет.

Приготовление препаратов для
микроскопирования мицелиальных
грибов

Техника приготовления препаратов грибов

1. Двумя обожженными и затем охлажденными препаровальными иглами



отбирают небольшой кусочек мицелия вместе с плодоносящими гифами.

2. Переносмят его на обезжиренное предметное стекло в каплю смеси глицерина и этанола (1: 1).

3. Осторожно, не нарушая структуры мицелия, расправляют гифы иглами.

4. Накрывают препарат покровным стеклом и слегка прижимают.

Техника микроскопирования препарата мицелиальных грибов

- Приготовленный препарат микроскопируют с сухими системами объективов: $\times 10$, $\times 40$.
- Поле зрения затемняют с помощью конденсора.
- Вначале просматривают несколько полей зрения с объективом $\times 10$, передвигая предметный столик с помощью коаксиальной ручки. Нужный для исследования участок препарата устанавливают в центре поля зрения.
- Вращением диска револьвера заменяют объектив $\times 10$ на $\times 40$.