

# Экзаменационные микропрепараты

# Морфологические разновидности бактерий

<b>ТОНКОСТЕННЫЕ, ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ БАКТЕРИИ</b>		<b>ТОЛСТОСТЕННЫЕ, ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ БАКТЕРИИ</b>	
Менингококки		Пневмококки	
Гонококки		Стрептококки	
Вейлонеллы		Стафилококки	
Палочки		Палочки	
Вибрионы		Бациллы*	
Кампилобактерии, Хеликобактерии		Клостридии*	
Спириллы		Коринебактерии	
Спирохеты		Микобактерии	
Риккетсии		Бифидобактерии	
Хламидии		Актиномицеты	

\*Расположение спор: 1 – центральное, 2 – субтерминальное, 3 – терминальное.

# **СПИСОК ЭКЗАМЕНАЦИОННЫХ МИКРОПРЕПАРАТОВ**

- 1. Staphylococcus spp., чистая культура, окраска по Граму**
- 2. Staphylococcus spp., чистая культура, простой метод окраски (фуксин)**
- 3. Streptococcus pyogenes, чистая культура, окраска по Граму**
- 4. Streptococcus pyogenes, чистая культура, простой метод окраски (фуксин)**
- 5. Грамположительные палочковидные бактерии (вегетативные клетки), представители родов Bacillus, Clostridium , Lactobacillus , окраска по Граму**

## **Список экзаменационных микропрепаратов (продолжение)**

- 6. Грамотрицательные палочковидные бактерии, представители семейств *Enterobacteriaceae*, окраска по Граму**
- 7. *Neisseria meningitidis* в чистой культуре, окраска метиленовым синим**
- 8. *Neisseria gonorrhoeae* в гное, окраска метиленовым синим**

## **Список экзаменационных микропрепаратов (продолжение)**

- 9. Окраска по Граму смешанного мазка из Грам «+» и Грам «-» бактерий**
- 10. *Mycobacterium tuberculosis* в мокроте, окраска по Цилю-Нильсену**
- 11. или смешанный мазок стрептококков, кандид и туберкулезной палочки, окраска по Цилю-Нильсену)**

## **Список экзаменационных микропрепаратов (продолжение)**

- 12. Чистая культура капсульных бактерий, окраска по Бурри-Гинсу**
- 13. Стрептобацилла, простой метод окраски**
- 14. Стрептобацилла, окраска по Граму**
- 15. Споры у бактерий, окраска по Шефферу-Фултону**
- 16. Грибы Candida, простой метод окраски**
- 17. Грибы Candida, окраска по Граму**
- 18. Грибы Candida + стрептококк (смешанная культура, окраска по Граму)**

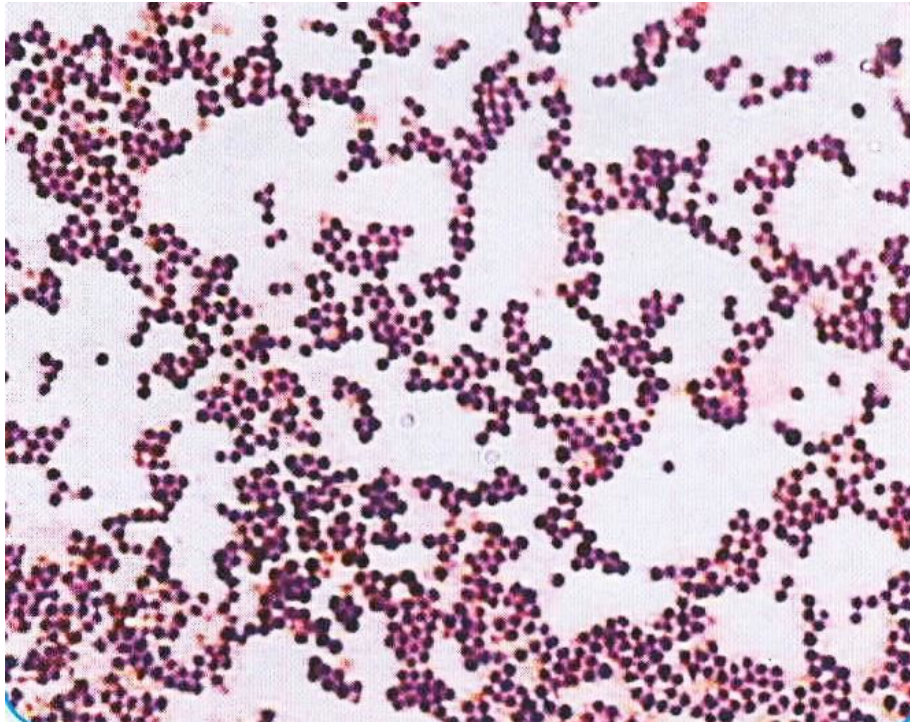
## ОСНОВНЫЕ СЛОЖНЫЕ СПОСОБЫ ОКРАСКИ ДЛЯ СВЕТОВОЙ МИКРОСКОПИИ

Способ окраски	Цель окраски	Этапы окраски	Результат
По Граму	Окраска мазков из клинического материала, дифференциация бактерий	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Генциан-фиолет</li> <li>2. р-р Люголя</li> <li>3. <math>C_2H_5OH</math> (смыть водой)</li> <li>4. фуксин</li> </ol>	Грамотрицательные бактерии окрашены в <b>красный цвет</b> , а грамположительные – в <b>фиолетовый</b>
По Цилю-Нельсену	Выявление кислотоустойчивых бактерий	<p>Фуксин Циля (фуксин на каболовой к-те)</p> <p>Подогреть (5 раз)</p> <p><math>H_2SO_4</math> (смыть водой)</p> <p>Метиленовый синий</p>	Кислотоустойчивые бактерии окрашены в <b>красный</b> цвет, остальные – в <b>синий</b>
По Ожешко	Выявление спор	<p><math>HCl</math> (далее – метод Циля-Нильсена)</p> <p>Фуксин Циля (фуксин на каболовой к-те), подогреть (5 раз)</p> <p><math>H_2SO_4</math> (смыть водой)</p> <p>Метиленовый синий</p>	Споры окрашены в <b>красный</b> цвет, бактерии – в <b>синий</b>
По Бурри-Гинсу	Выявление капсул	<p>Тушь+ взвесь бактерий</p> <p>Фиксация</p> <p>Фуксин</p>	На темном фоне (тушь) видны <b>красного</b> цвета бактерии и неокрашенные капсулы
По Нейссеру	Выявление зерен волютина	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Метиленовый синий 1 мин</li> <li>2. р-р Люголя 1 мин</li> <li>3. р-р хризоидина (или везувина) 1-3 мин</li> </ol>	<b>Желтые палочки</b> с биполярными зернами волютина <b>синие-коричневого</b> цвета
По Романовскому-Гимзе	Окраска мазков клинического материала и простейших	<p>Фиксация в смеси Никифорова</p> <p>Азур + эозин + метиленовый синий</p> <p>Смыть водой</p>	Ядра эукариотических клеток окрашены в фиолетово-красный цвет, цитоплазма – в голубовато-синий

# Грамположительные бактерии



# **Staphylococcus spp., чистая культура, окраска по Граму**



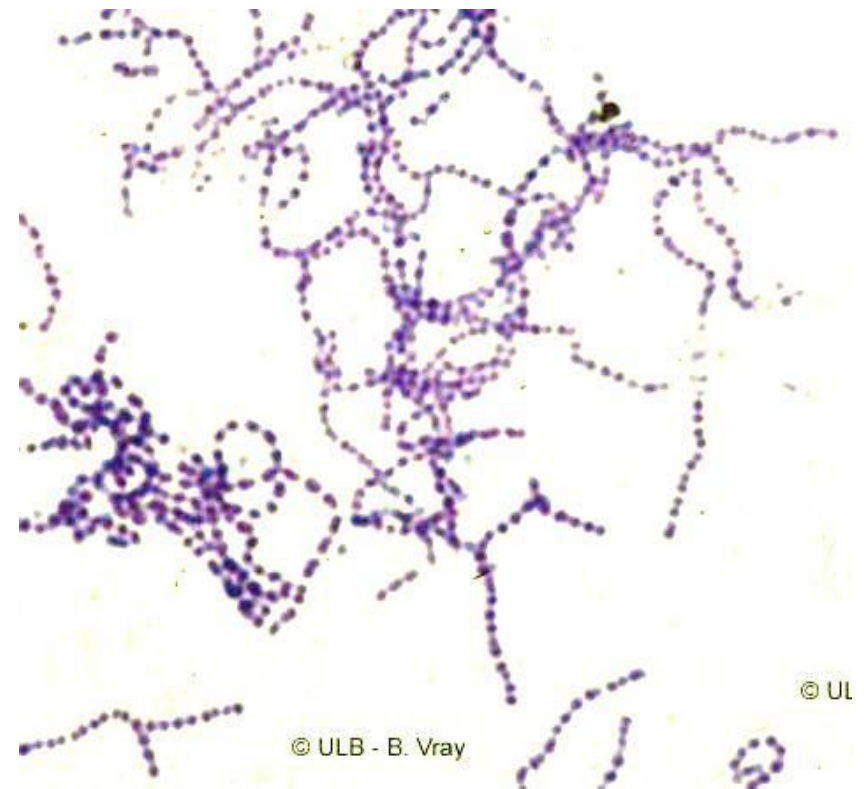
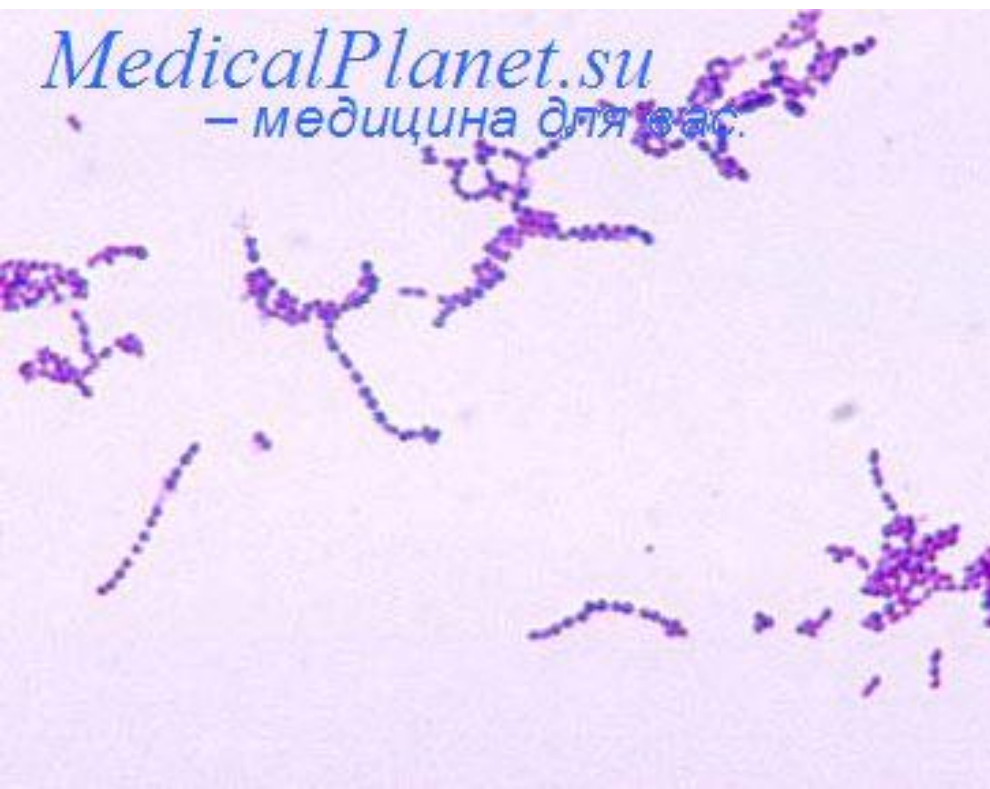
**Стафилококки имеют шаровидную форму, в мазке располагаются скоплениями, напоминающими гроздь винограда. По Граму окрашиваются положительно :  
в фиолетовый цвет**

**Staphylococcus spp., чистая культура,  
простой метод окраски (фуксином)**

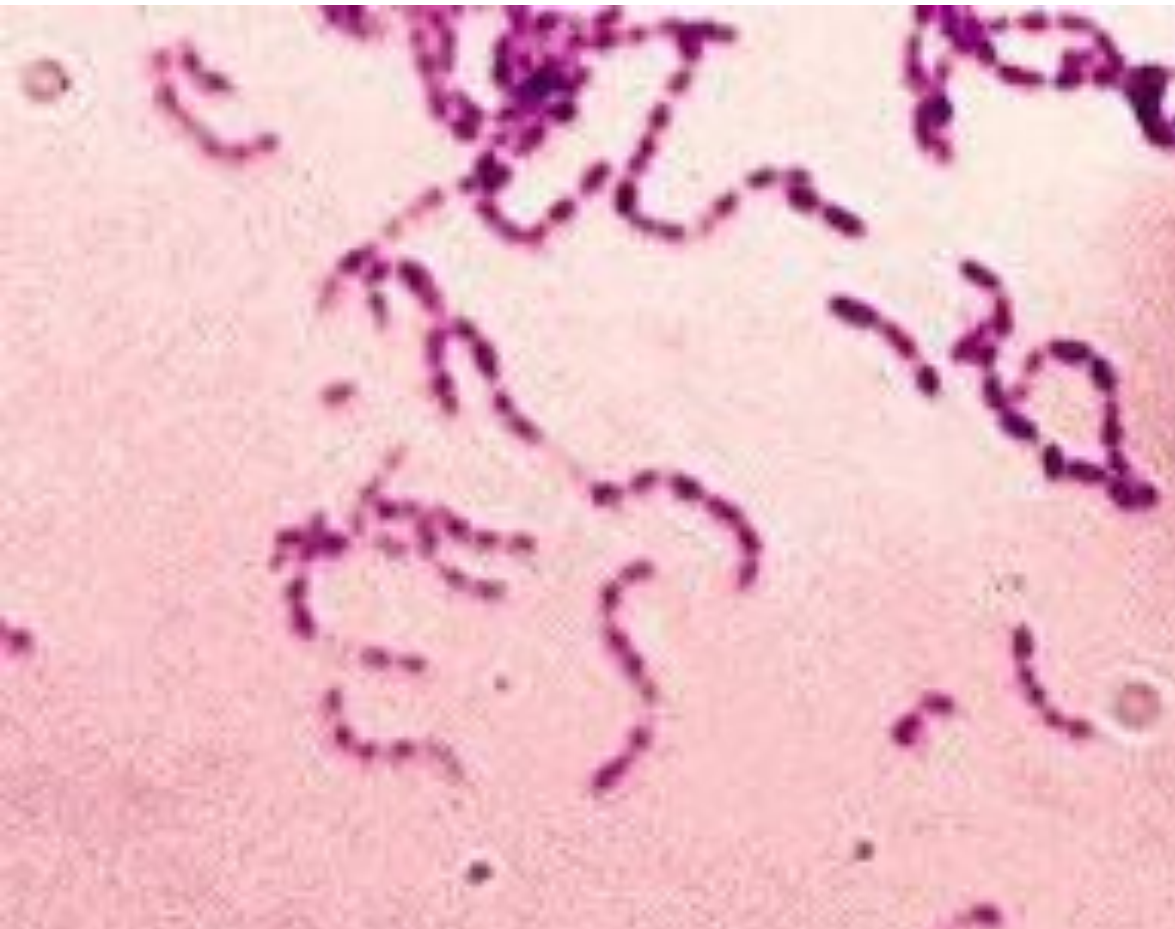


# **Streptococcus pyogenes, чистая культура, окраска по Граму**

**Стрептококки имеют шаровидную форму, в мазке чаще располагаются в виде цепочки («ожерелье»), по Граму окрашиваются положительно: в фиолетовый цвет**

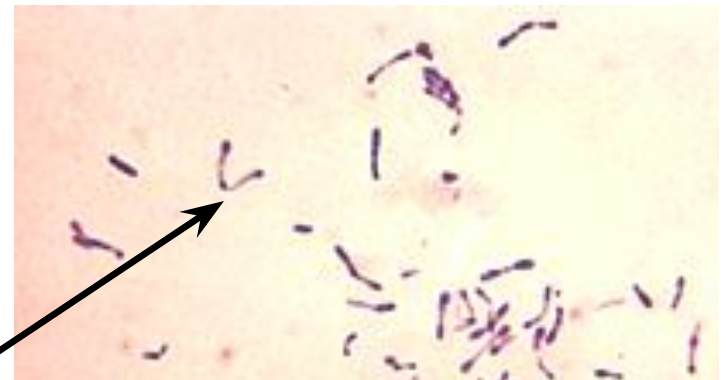
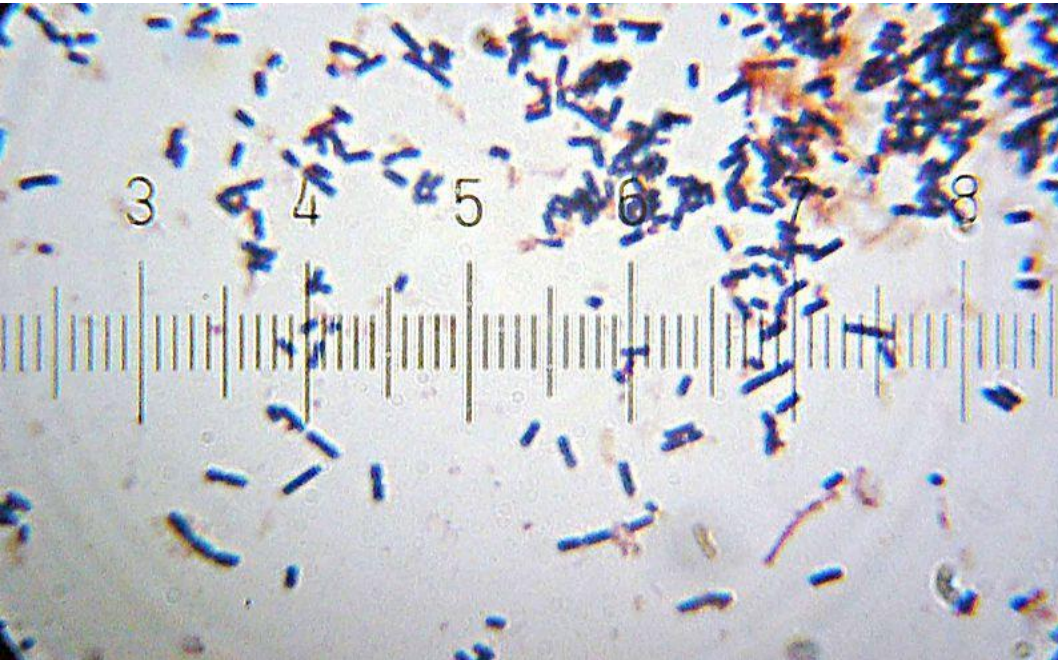


**Streptococcus pyogenes, чистая культура,  
простой метод окраски (фуксин)**



# Коринебактерии

(чистая культура, окраска по Леффлеру)



**Палочки,  
располагаются под углом,  
образуя фигуры в виде X или V  
(окраска по Лёффлеру,  
метиленовым синим)**

**Выявление зерен волютина (запасные питательные вещества, гранулы полифосфата) у коринебактерий (окраска по Нейссеру)**

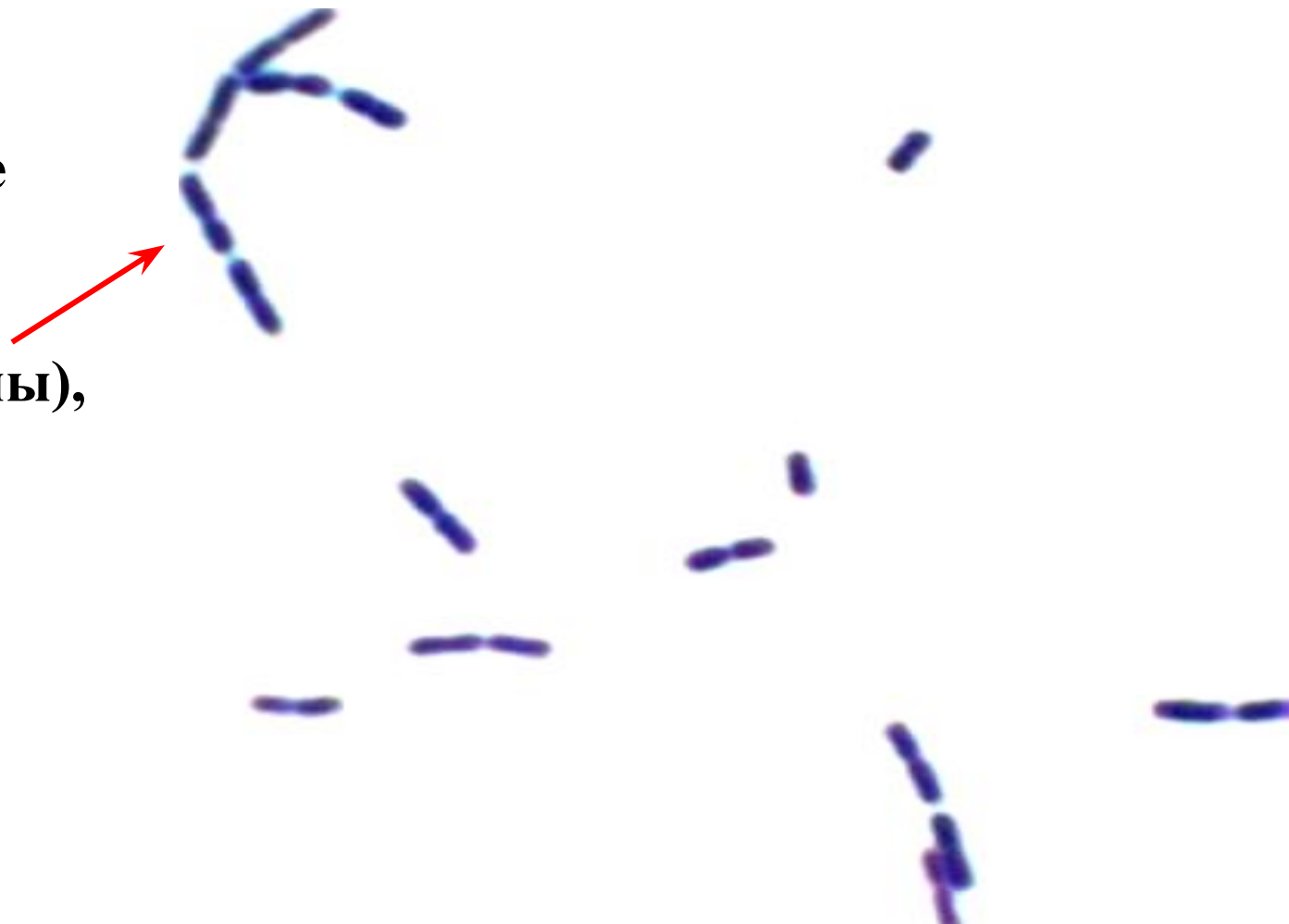


**Выдерживают фиксированный мазок по 1 мин в растворе уксуснокислого метиленового синего и растворе Люголя, промывают водой и докрашивают раствором хризоидина или везувина.**

- Цитоплазма палочек окрашивается в желтый цвет, зерна волютина – в коричнево-синий.**

## Представители рода *Bacillus*, чистая культура, окраска по Граму

- Крупные палочки, расположенные одиночно или в виде цепочек (стрептобациллы), по Граму окрашиваются положительно

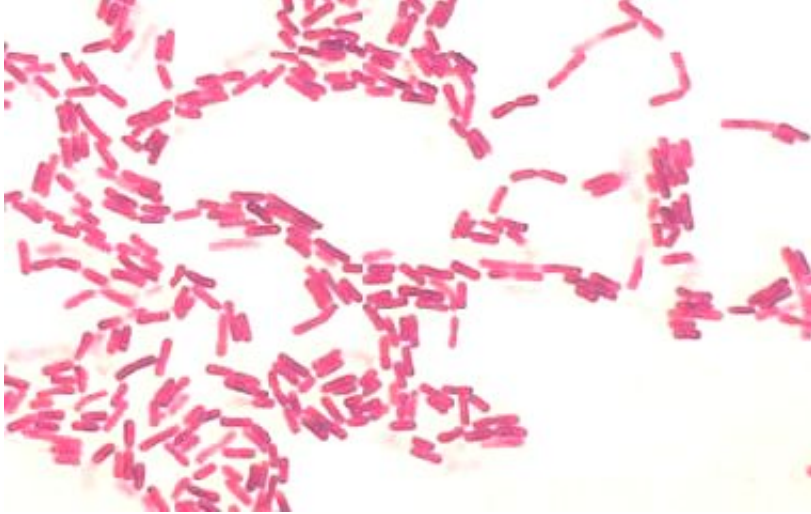


**Стрептобациллы, чистая культура,  
простой метод окраски (фуксин)**





# Грамотрицательные бактерии



- **Бактерии семейства Enterobacteriaceae**

- **Все энтеробактерии - мелкие палочки, в мазке располагаются беспорядочно.**

- **По Граму окрашиваются отрицательно: в красный цвет**

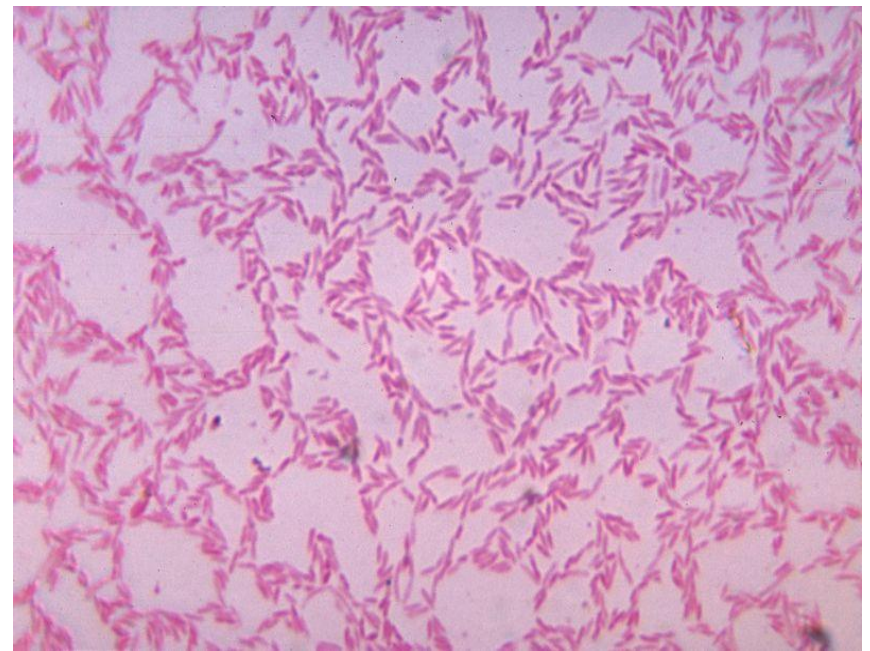
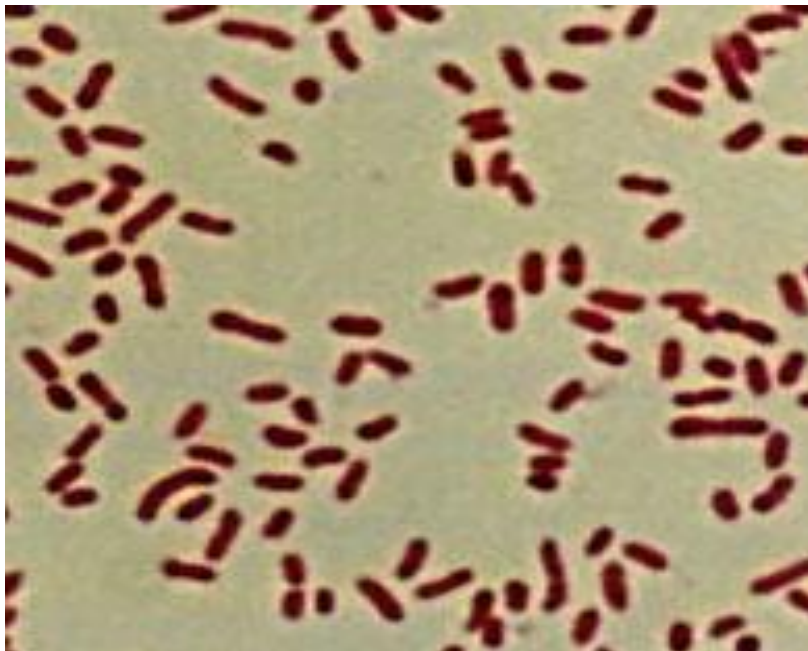
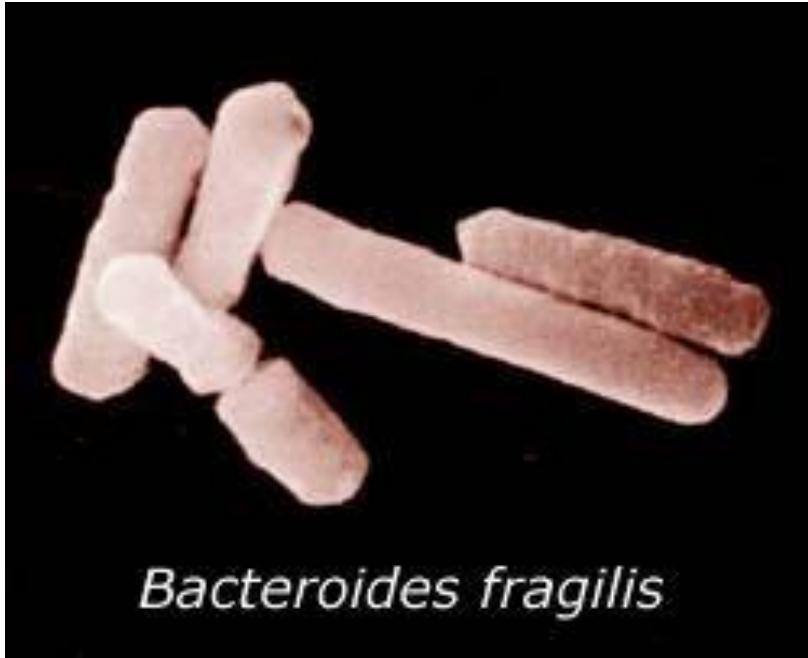


# Bacteroides

Род включает более 45 видов.

- Грамотрицательные прямые или слегка изогнутые палочки
- Размер 0,5-0,8 (1-2 мкм)
- Располагаются поодиночке, парами или короткими цепочками из 3-4 клеток
- Спор не образуют, некоторые виды образуют капсулы
- Некоторые – подвижны (перитрихи)
- Хемоорганотрофы

# Морфология бактериоидов

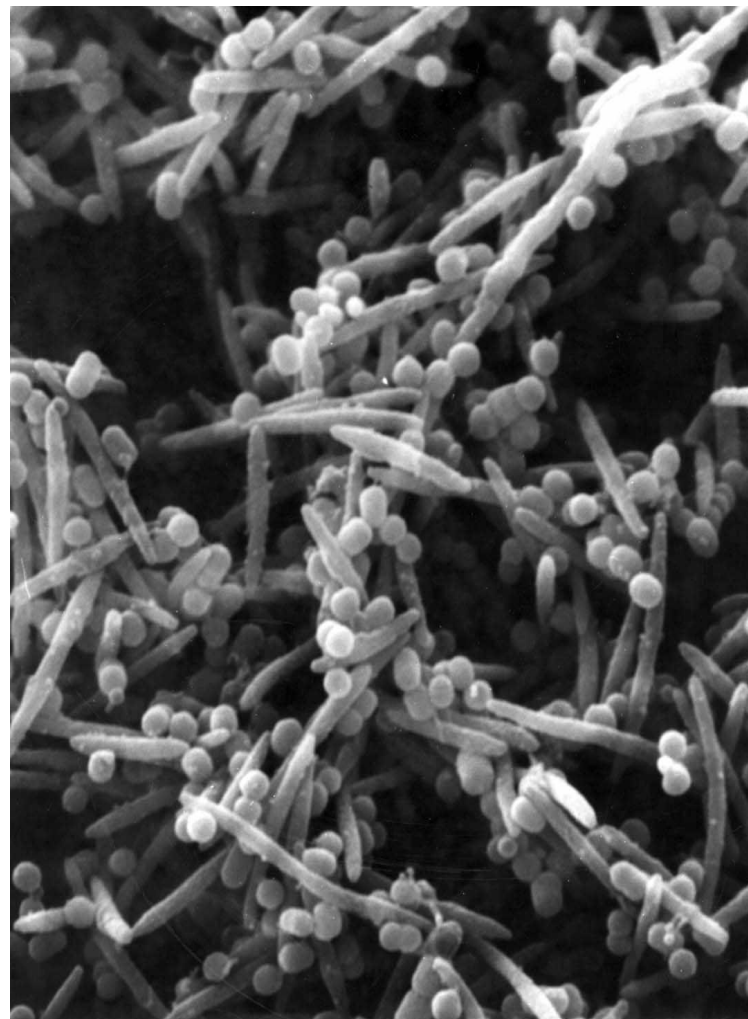
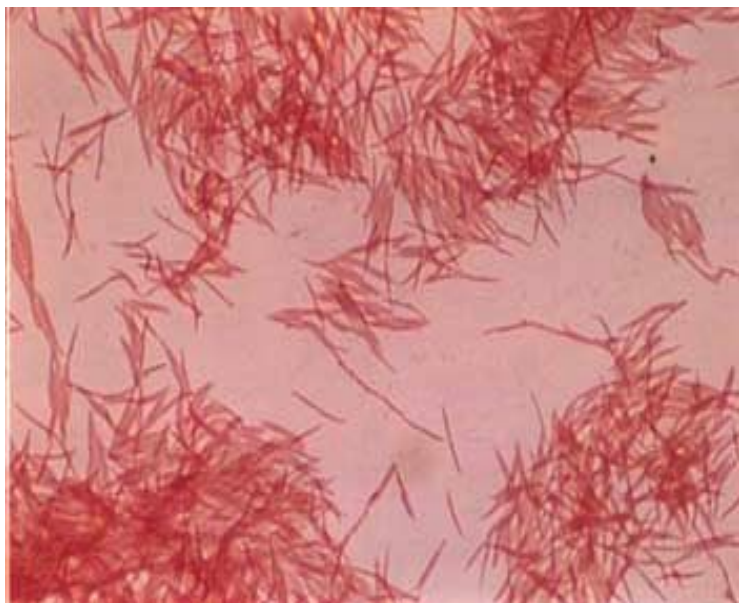


# Fusobacterium

## Род включает 16 видов

- грамотрицательные прямые или слегка изогнутые веретенообразные палочки с заостренными концами
- размер 0,5-1,5 (2-3 мкм)
- в чистой культуре встречаются нитевидные формы до 80-100 мкм и ветвящиеся формы
- бактерии неподвижны
- спор и капсул не образуют
- хемоорганотрофы

# Морфология фузобактерий



# Veillonella

- Включает 7 видов (от человека были выделены: *V. atipica*, *V. dispar*, *V. parvula*).
- Грамотрицательные диплококки или короткие цепи
- Метаболизм бродильного типа; не сбраживают углеводы
- Для культивирования нуждаются в CO<sub>2</sub>
- Среда обитания: полость рта, кишечник и дыхательные пути человека и животных
- ***Выделены при абсцессах мягких тканей, раневых инфекциях, синуситах, отитах в ассоциации с другими бактериями и чистых культурах***
- Чувствительны к антибиотикам широкого спектра действия

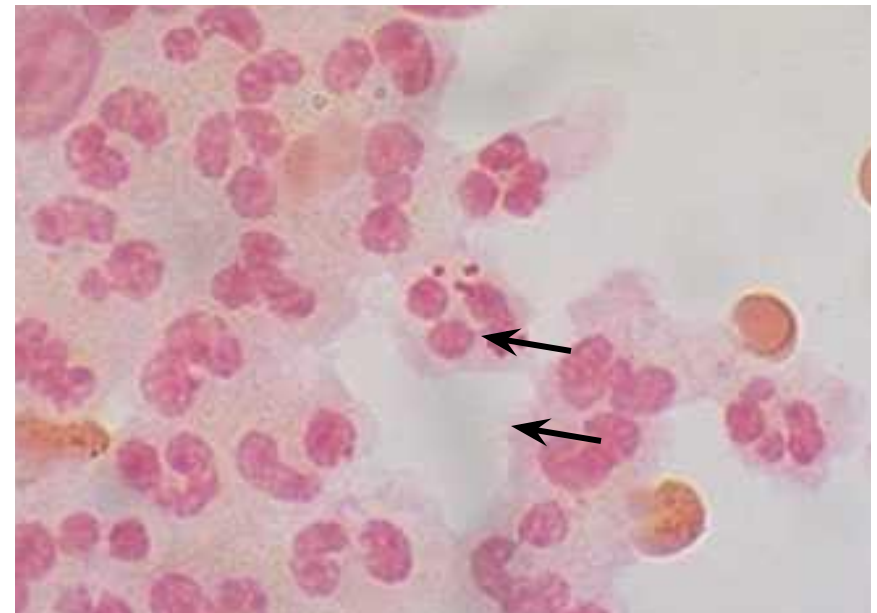
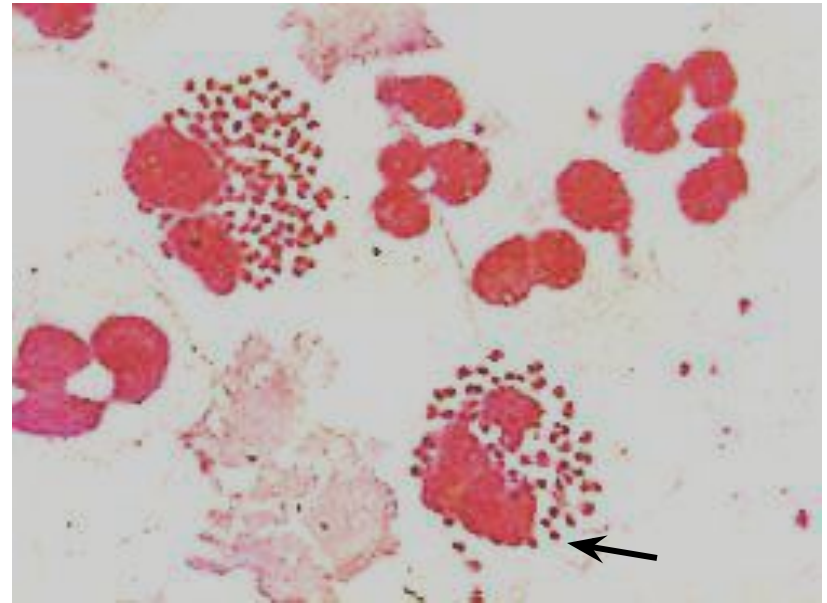
# Морфология вейлонелл





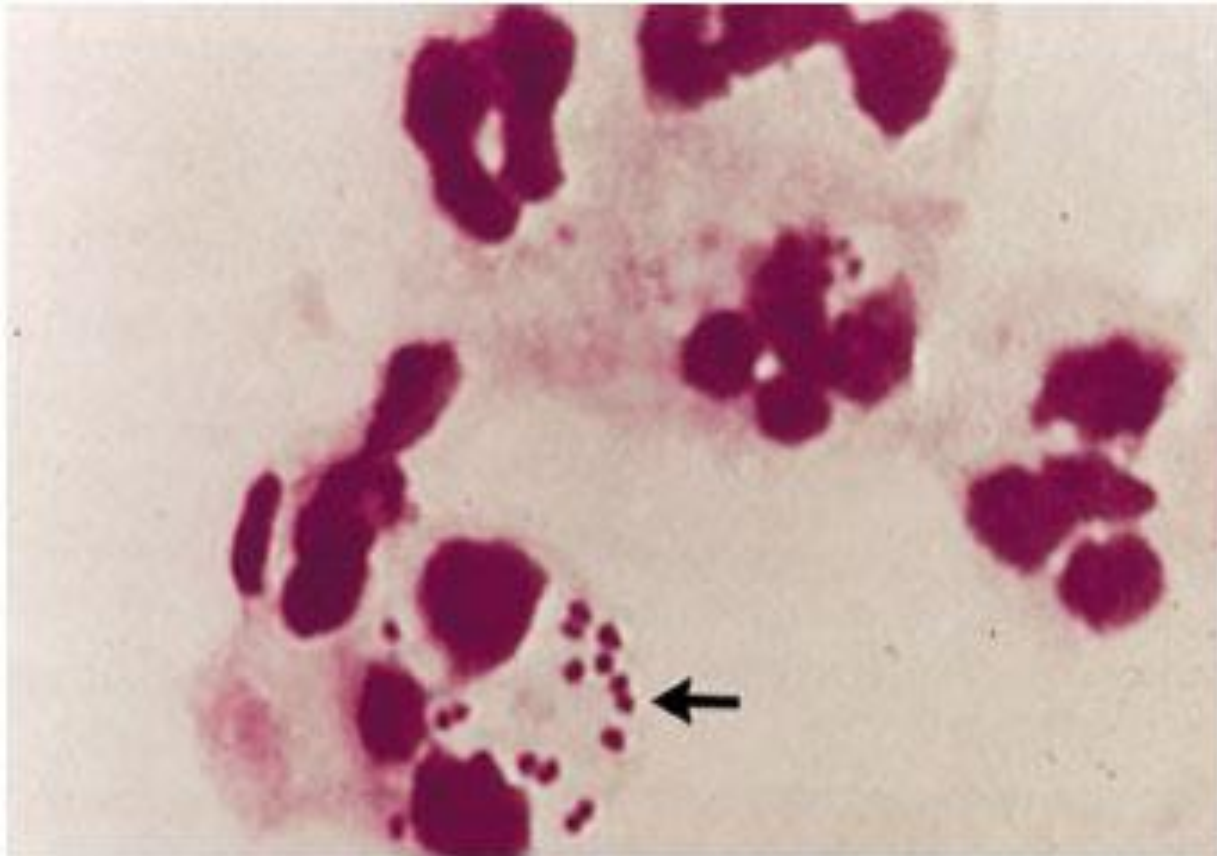
***Neisseria meningitidis*,  
чистая культура, окраска по  
Граму**

- Шаровидные клетки бобовидной формы или в виде кофейных зерен, расположены попарно
- По Граму окрашиваются отрицательно
- Большое количество диплококков внутри лейкоцитов указывает на незавершенный фагоцитоз

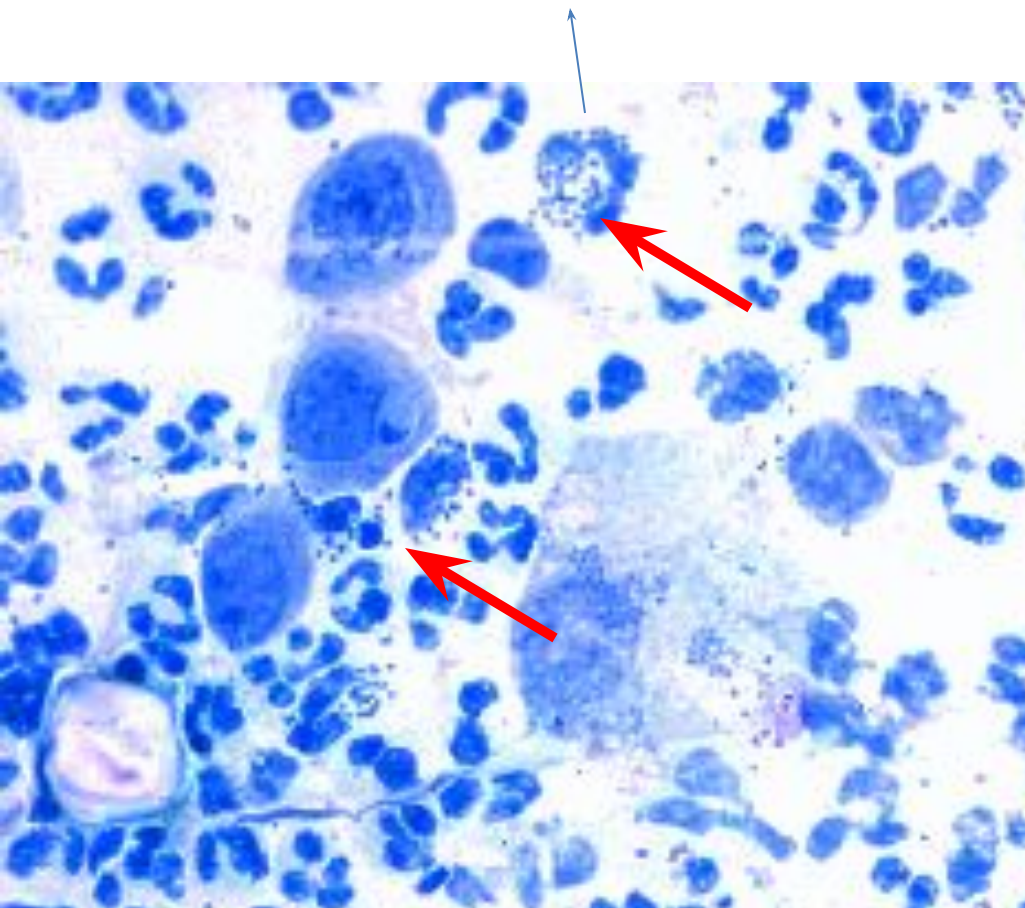
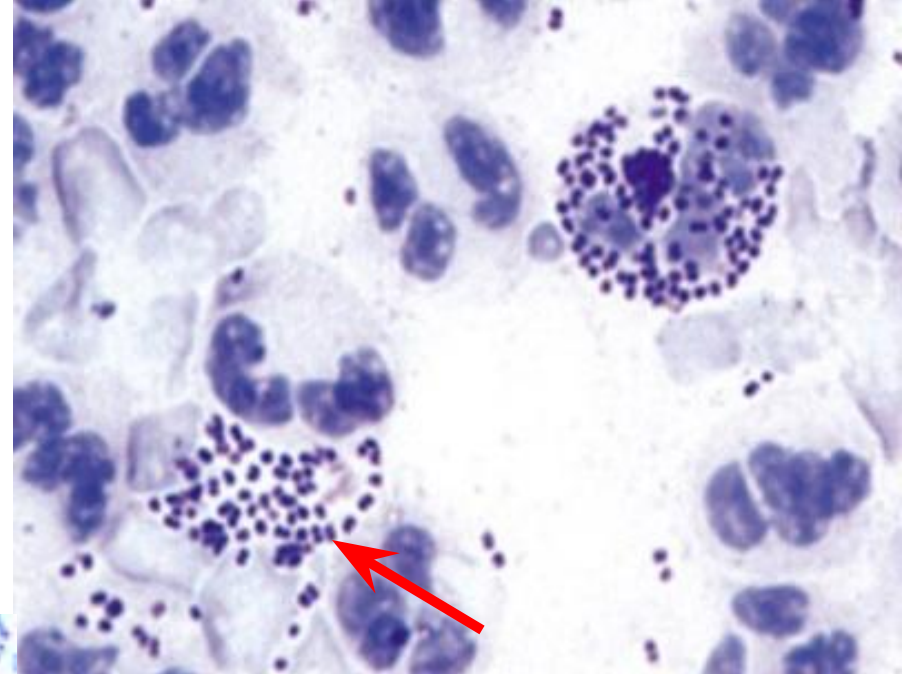


***Neisseria gonorrhoeae* в гное, окраска по Граму**

**• В поле зрения видны лейкоциты и  
грамотрицательные диплококки, расположенные  
преимущественно внутри лейкоцитов**



**Микроскопия  
*N. meningitidis* и *N. gonorrhoeae*  
(простой метод окраски,  
метиленовый синий)**



# Сложные дифференциальные методы окраски

✓•метод Грама

✓•метод Циля-Нильсена

Метод Грама основан на разнице в строении клеточной стенки бактерий.

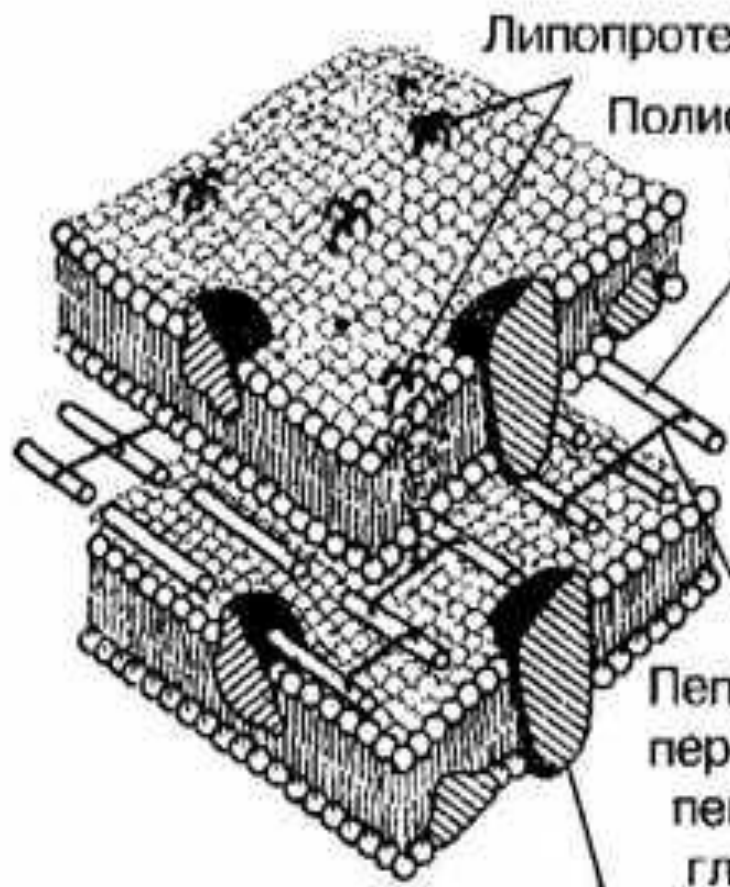
Грамположительные бактерии содержат в клеточной стенке **тейхоевые кислоты, магниевую соль и РНК**, которые образуют прочный химический комплекс с генциан фиолетовым и раствором Люголя.

Это соединение не разрушается при действии спирта, и бактерии сохраняют фиолетовый цвет.

Грамотрицательные бактерии не способны удержать основной краситель, так как не содержат рибонуклеаты Mg и тейхоевые кислоты.

Под действием спирта из грамотрицательных бактерий краситель вымывается (генциан фиолетовый), клетки обесцвечиваются и окрашиваются дополнительным красителем (фуксином) в **фуксиново-красный цвет**.

**А**



Кишечная палочка

Белки

**Б**



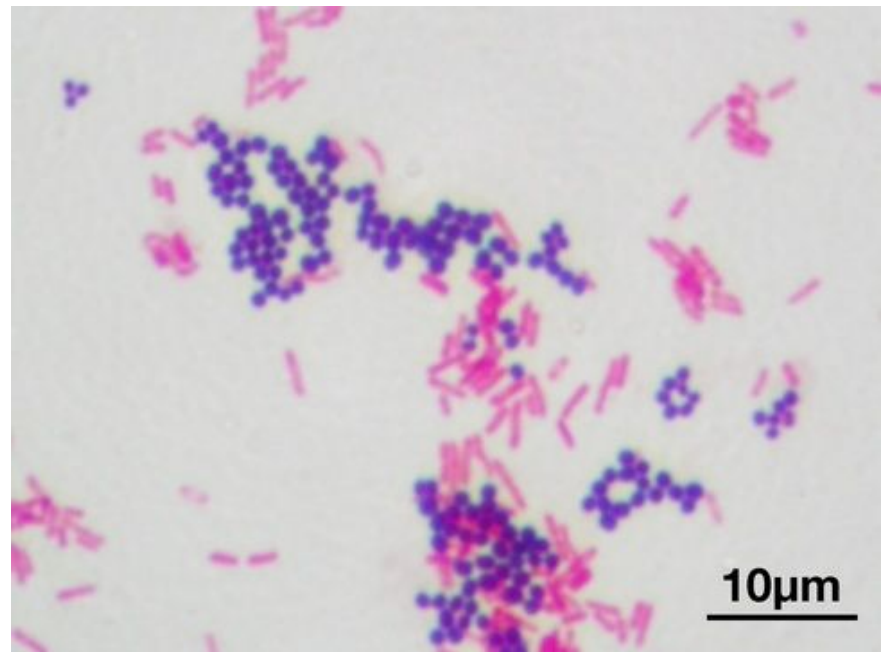
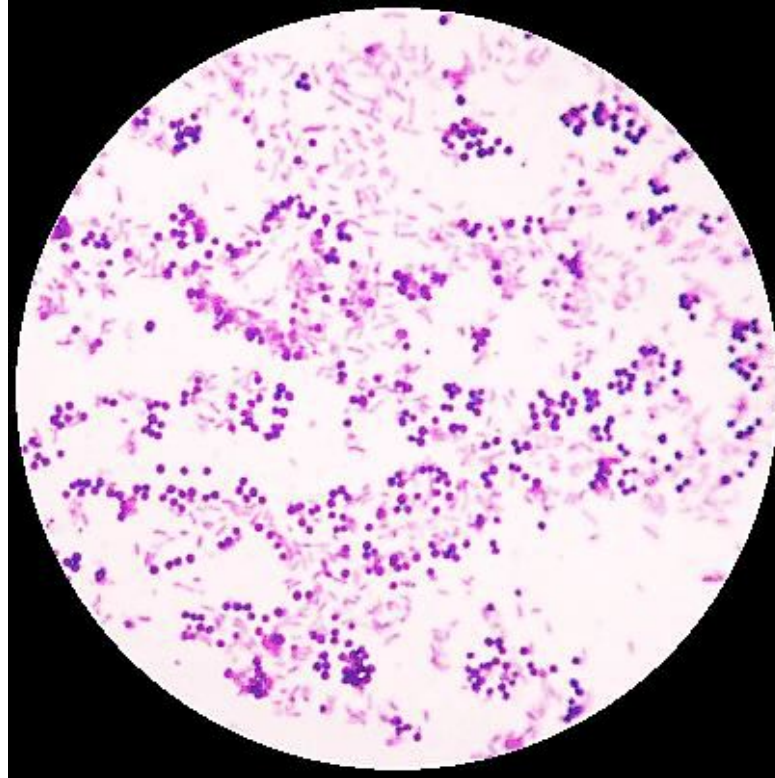
Золотистый стафилококк

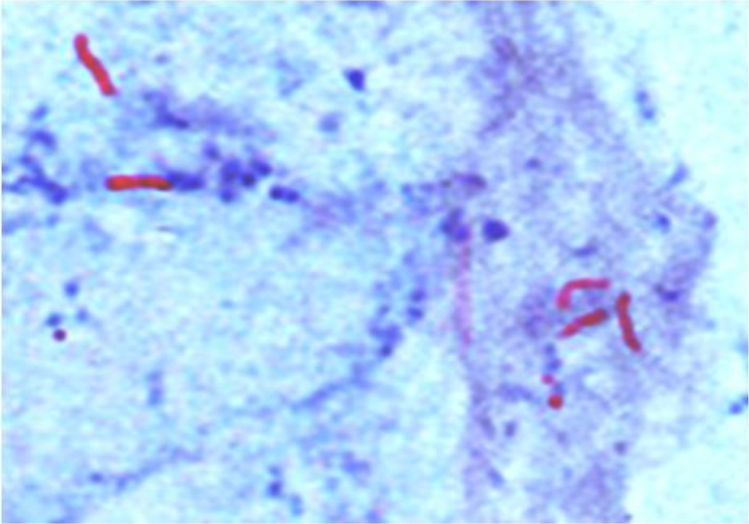
**FireAiD** - все по  
медицине.

# Окраска по методу Грама

- Окраска по Граму смешанного мазка

- В поле зрения видны грамположительные кокки фиолетового цвета и грамотрицательные палочки красного цвета





## **Mycobacterium tuberculosis** **в мокроте, окраска** **по методу Циля-Нильсена**

Применяется для дифференциации кислотоустойчивых и некислотоустойчивых микроорганизмов.

Устойчивость бактерий к кислоте обусловлена повышенным содержанием в клеточной стенке и цитоплазме липидов, воска и оксикислот.

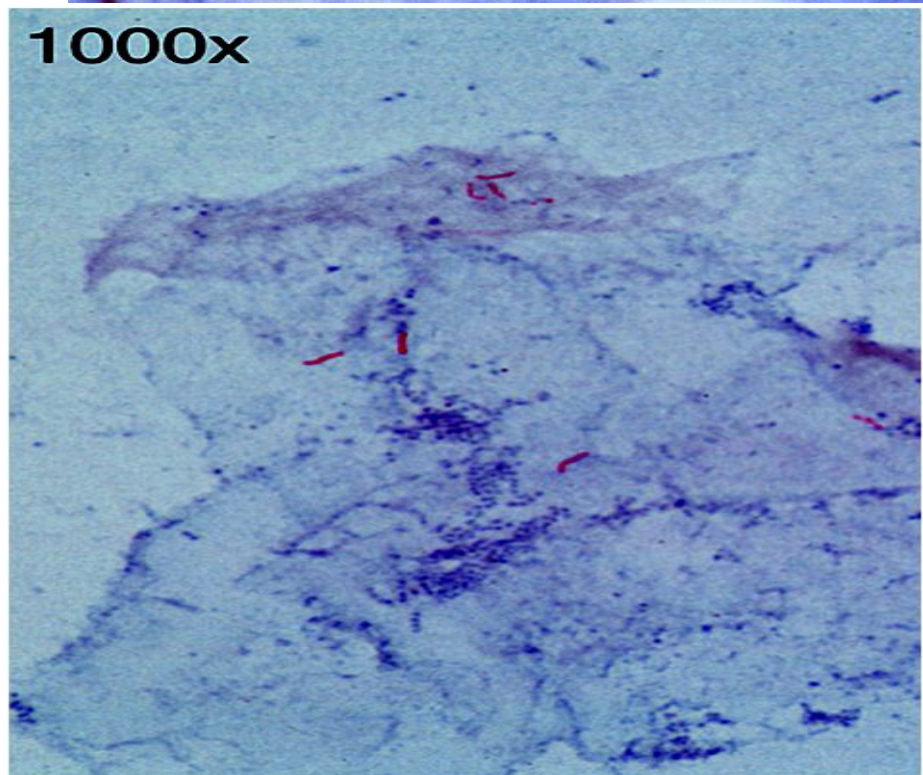
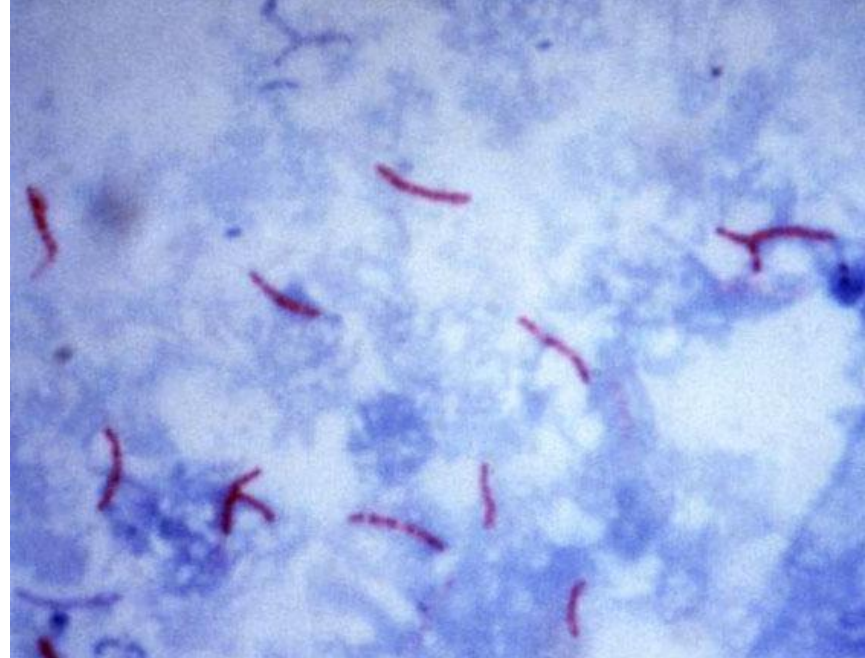
Принцип основан на том, что кислотоустойчивые бактерии за счет содержания указанных веществ прочно связывают карболовый фуксин при нагревании (т. е. окрашиваются в красный цвет) и не обесцвечиваются кислотой.

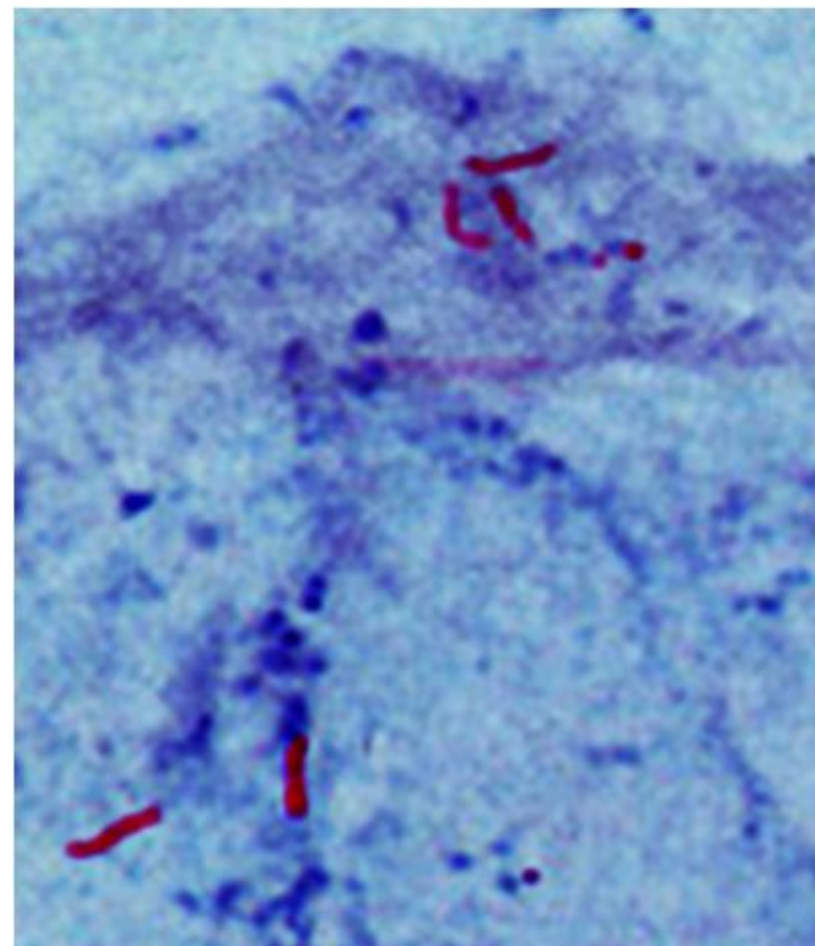
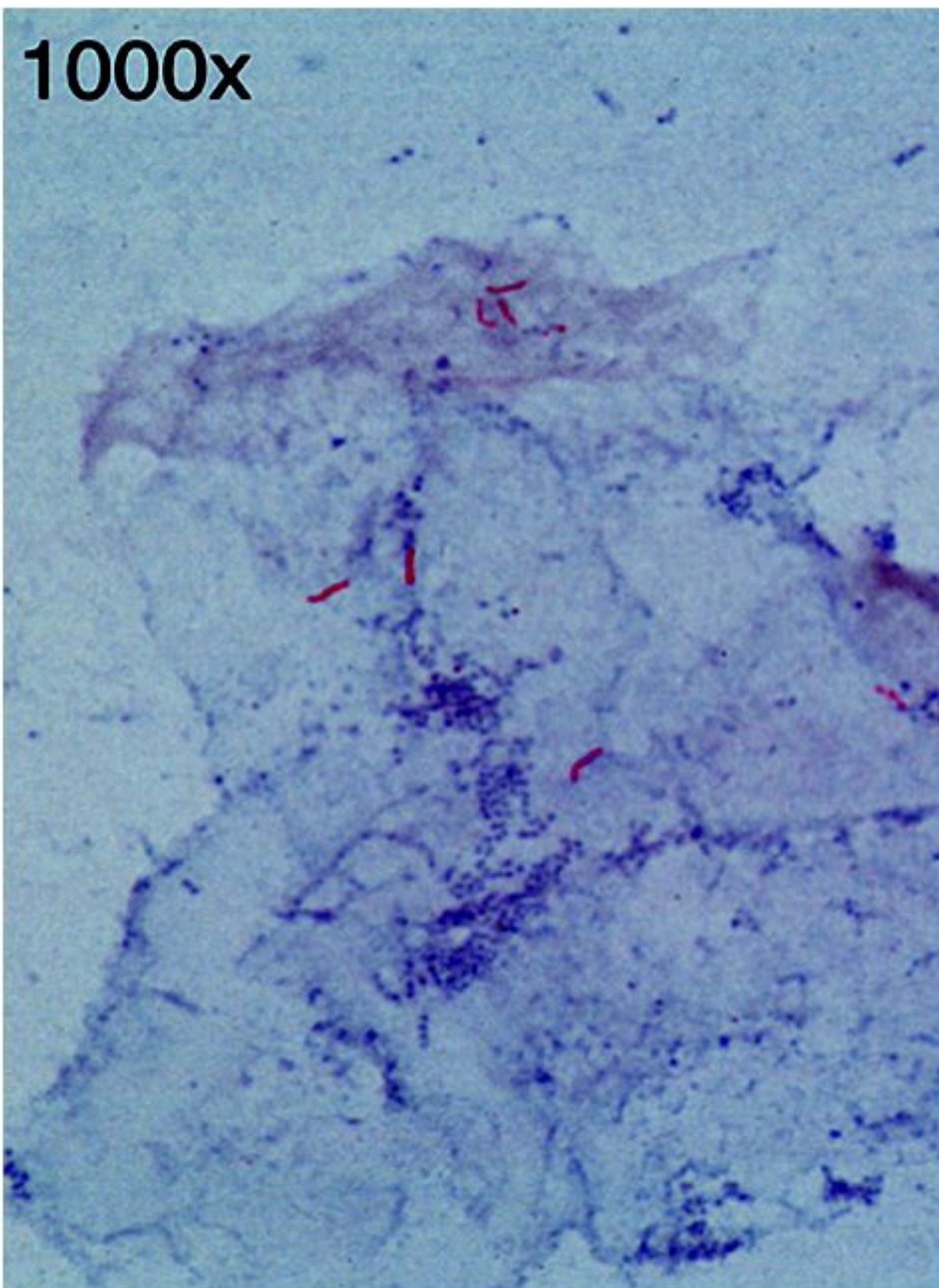
Некислотоустойчивые бактерии и другие элементы мазка (тяжи мокроты, эпителий, нейтрофилы и пр.) обесцвечиваются серной кислотой и при использовании дополнительного красителя (метиленового синего) — окрашиваются в синий цвет.



**•Окраска мокроты больного туберкулезом по Цилю-Нильсену**

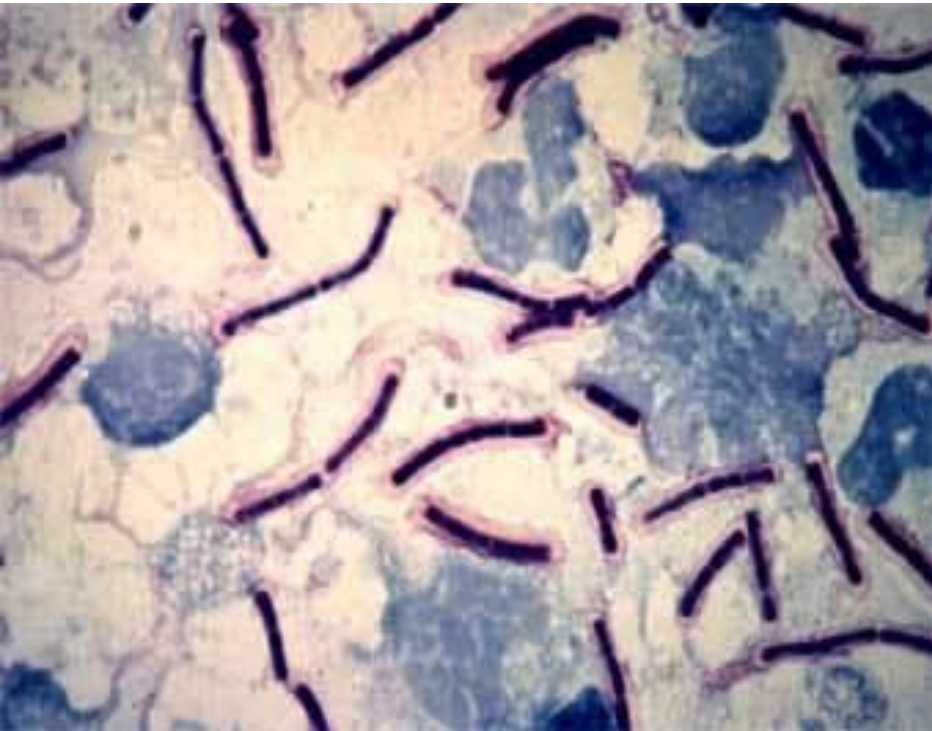
**•В поле зрения виды рубиново-красные кислотоустойчивые туберкулезные палочки и некислотоустойчивые бактерии и элементы мокроты, окрашенные в синий и голубой цвет**





Кислотоустойчивые  
микобактерии - окраска  
по Циль-Нильсену

**Сложные методы окраски,  
позволяющие выявить  
отдельные  
морфологические  
структуры бактериальных клеток**



## **Bacillus anthracis**

**(возбудитель сибирской язвы) в органах, окраска по**

**Граму**

- **На фоне окрасившейся ткани видны крупные грамположительные палочки, расположенные одиночно или короткими цепочками, окруженные тонкими бесцветными капсулами**

**Стрептобацилла (*Bacillus anthracoides*) , чистая культура,  
(во время спорообразования), окраска по Граму**

- **Бациллы располагаются в мазке цепочками (стрептобациллы)**
- **Споры располагаются центрально,**
- **при окраске по Граму не прокрашиваются**



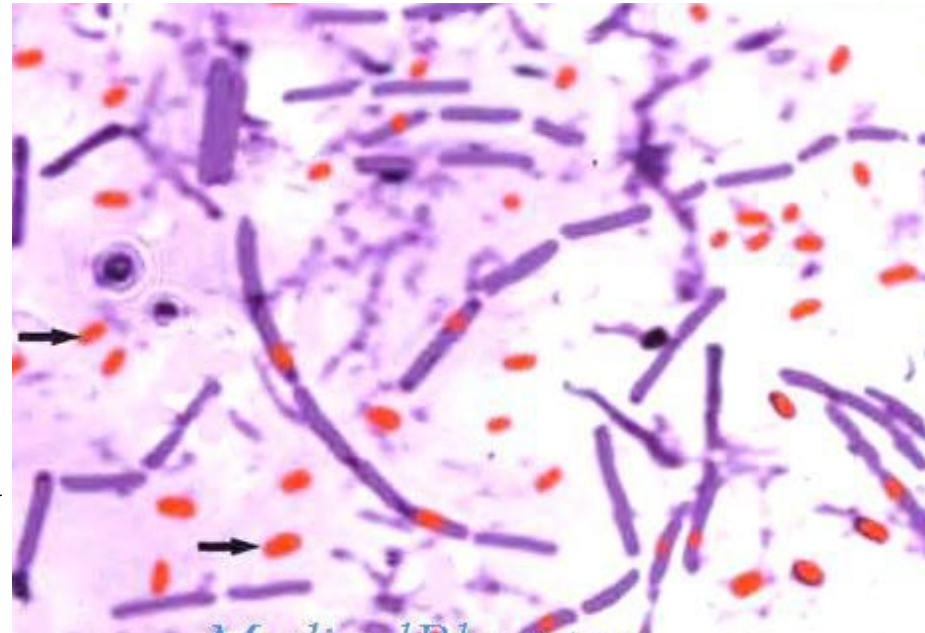


**Bacillus anthracis, чистая культура, окраска спор по методу Ожешко (Ауэски).**

**Споры рубиново-красные, расположены внутриклеточно или вне клеток.**

**Вегетативные клетки - палочки, расположенные цепочками, окрашены в синий цвет (метод Ожешко).**

- Метод основан на принципе окраски кислотоустойчивых бактерий.
- Отличие заключается в предварительной обработке микроорганизмов 0,5 %-ой соляной кислотой, что облегчает окраску спор карболовым фуксином.
- Споры кислотоустойчивы, поэтому красятся в красный цвет,

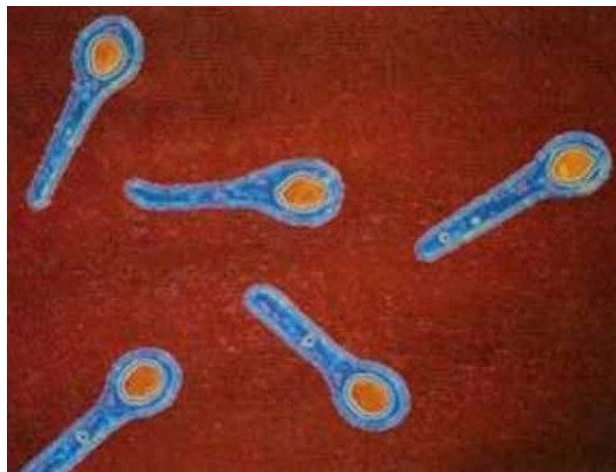
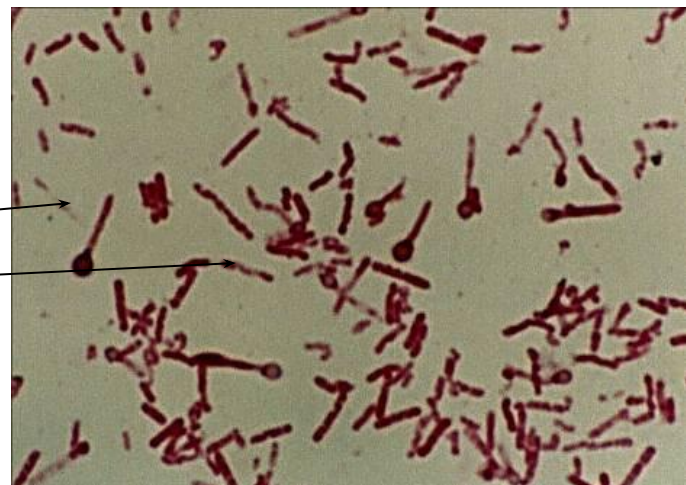


# ***Клостридии (электронная микроскопия)***



## Морфология *Cl. tetani*

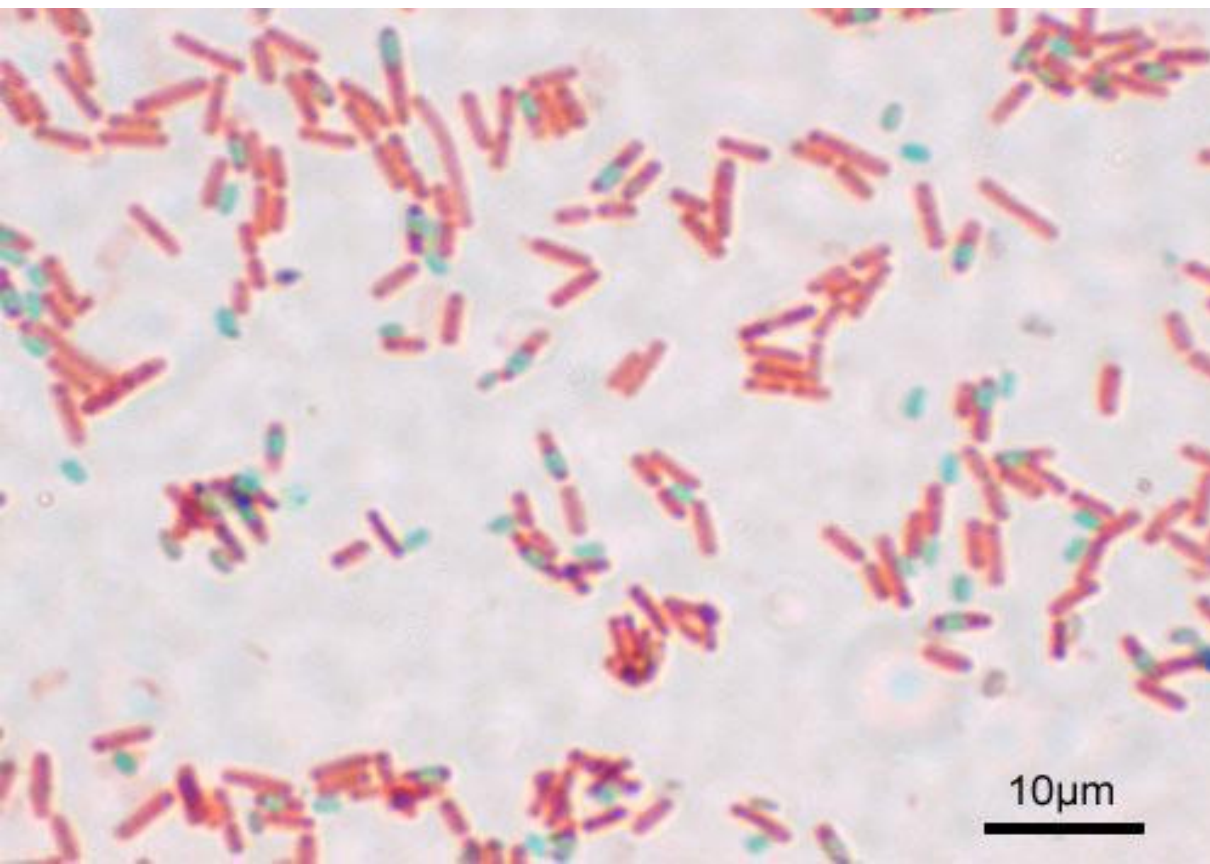
- Грамположительные палочки с закруглёнными концами
- Жгутики (перитрихи)
- В мазках располагаются одиночно или короткими цепочками
- Споры круглые (реже овальные) расположены *терминально*





## Споры. Окраска по Шефферу-Фултону

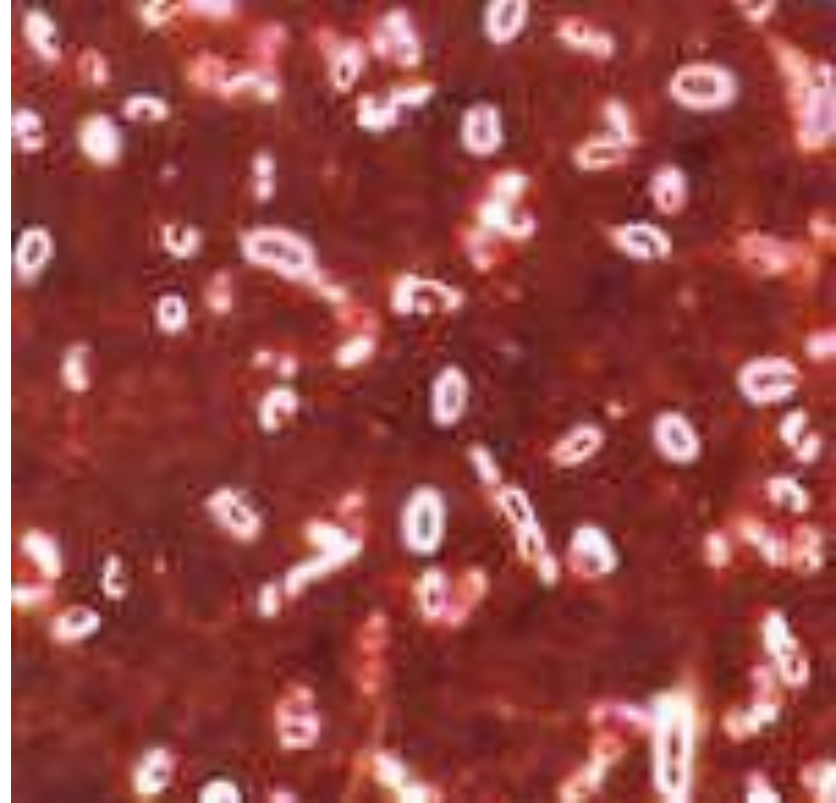
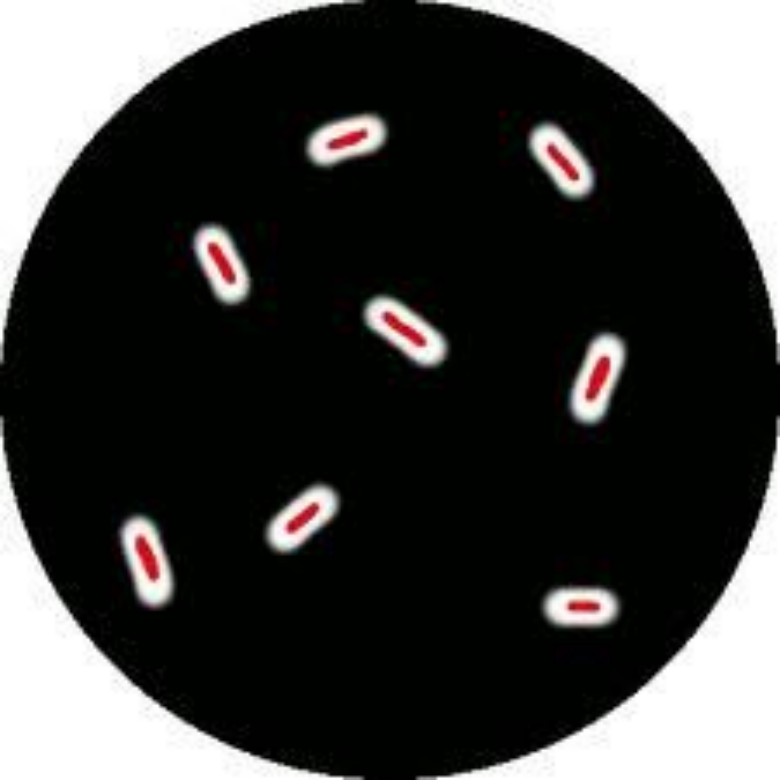
В данном методе окраску проводят 5%-ым водным раствором малахитового зелёного (окрашивает споры), подогревая мазок до появления паров, после промывания – докрашивают 0,5%-м водным раствором сафранина.



Споры  
окрашиваются в  
зеленый цвет,  
вегетативные  
клетки – в  
красный.

## Выявление капсулы по методу Бурри-Гинса.

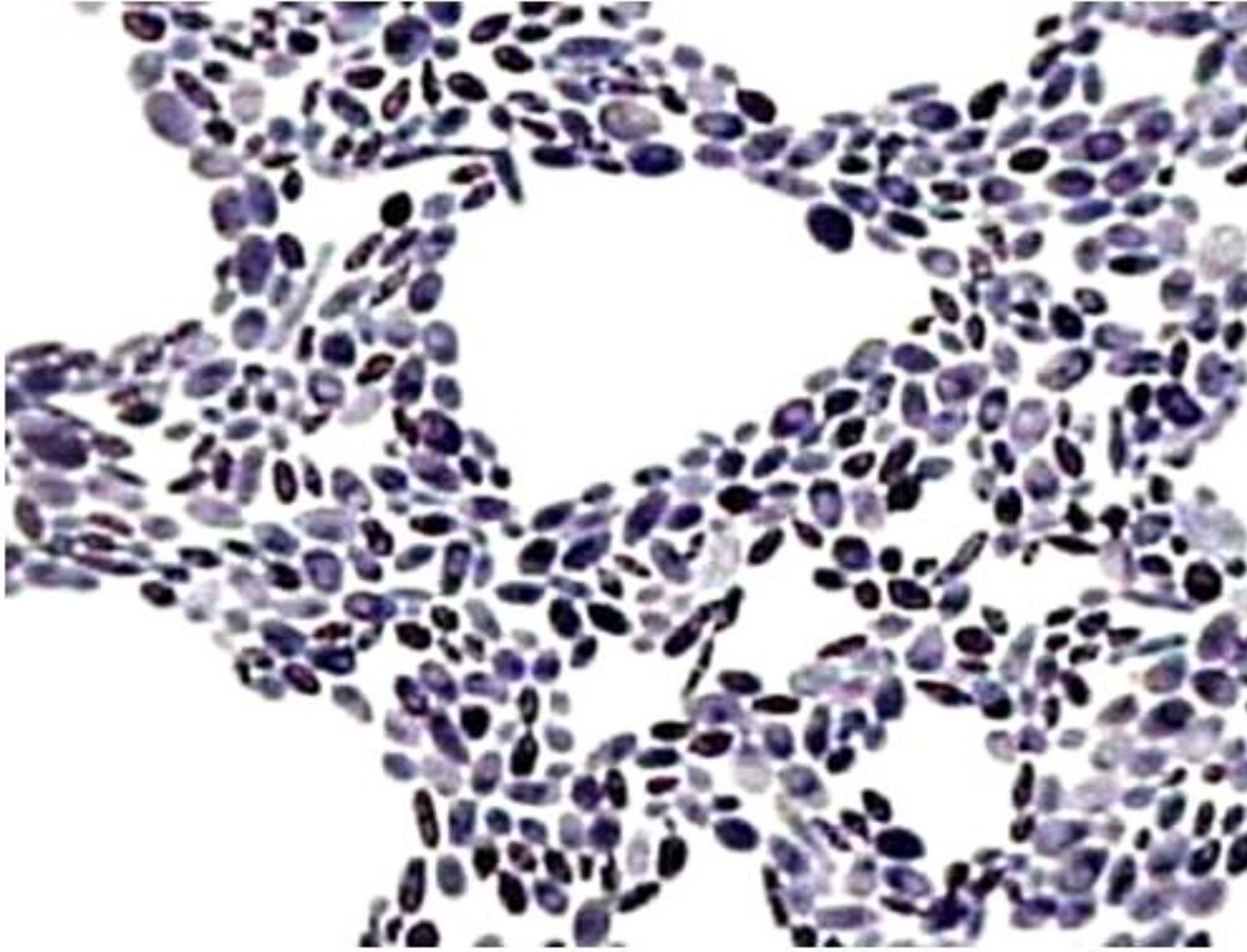
- Каплю туши, разведенную 1:10 дистиллированной водой, смешивают с исследуемой культурой и равномерно распределяют по всей поверхности стекла (по аналогии с мазком крови).
- Мазок сушат на воздухе, фиксируют в смеси Никифорова и окрашивают фуксином Циля, разведенным водой 1:3 в течении 2 минут.
- Промыв мазок водой, сушат его и микроскопируют с иммерсионной системой.
- На темном фоне видны красные микроорганизмы, окруженные бесцветной или слабо-розовой капсулой.



**Чистая культура капсульных бактерий,  
окраска по методу Бурри-Гинса**

- На темном фоне туши видны красные бактериальные клетки, окруженные неокрашенными бесцветными капсулами**

# Дрожжеподобные грибы рода *Candida*



## Дрожжеподобные грибы р. *Candida*, окраска по Граму



- Кандиды – эукариоты.
- Клетки крупные, характерен полиморфизм.
- В поле зрения видны крупные круглые или овальные клетки.
- От материнских клеток отпочковываются дочерние клетки.

- Дрожжеподобный гриб *Candida albicans*, простой метод окраски.

- В поле зрения видны как отдельные овальные клетки гриба, так и псевдомицелий.



Нити псевдомицелия

The image shows a microscopic view of Candida albicans. It features several long, thin, dark, branching filaments of pseudomycelium. Interspersed among these filaments are numerous small, dark, oval-shaped yeast cells. Some cells are seen in small clusters, while others are isolated. The background is a light, slightly textured surface.