

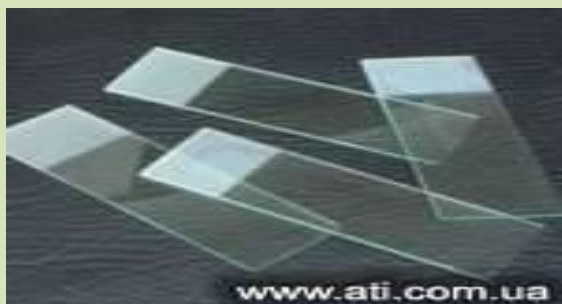
Микроскопические методы исследования морфологии микроорганизмов



Техника приготовления мазка

Для приготовления мазка необходимо иметь:

Чистое обезжиренное предметное стекло.



Культуру, выращенную на плотной питательной среде — агаре, или жидкой среде — бульоне.



Бактериологическая петля.



Спиртовка.



Набор красок.



Этапы приготовления мазка

- 1.** Обезжиренное предметное стекло и бактериологическую петлю прожигают в пламени горелки. Пробирку с изучаемой культурой держат между указательным и большим пальцами левой руки. Петлю берут правой рукой, мизинцем правой руки прижимают пробку пробирки к ладони.
 - ❖ Если мазок готовится с жидкой питательной среды, то каплю культуры наносят петлей на предметное стекло.
 - ❖ Если мазок делают из культуры с агара, то петлю с культурой вносят на предметное стекло и добавляют каплю физиологического раствора, в котором эмульгируют внесенный материал.
 - ❖ Петлю обжигают в пламени горелки. Мазок должен быть тонким, равномерно растертым, округлой формы, размером **1,5-2** см.

Этапы приготовления мазка

2. Высушивание мазка производится при комнатной температуре.

3. Фиксация мазка производится с целью:

□ Убить микробные клетки.

□ Обеспечить лучшее прилипание микробов к предметному стеклу.

□ Облегчить дальнейшее окрашивание.

- Фиксация мазка в пламени горелки производится **3-кратно**, действие пламени должно длиться **2** секунды.

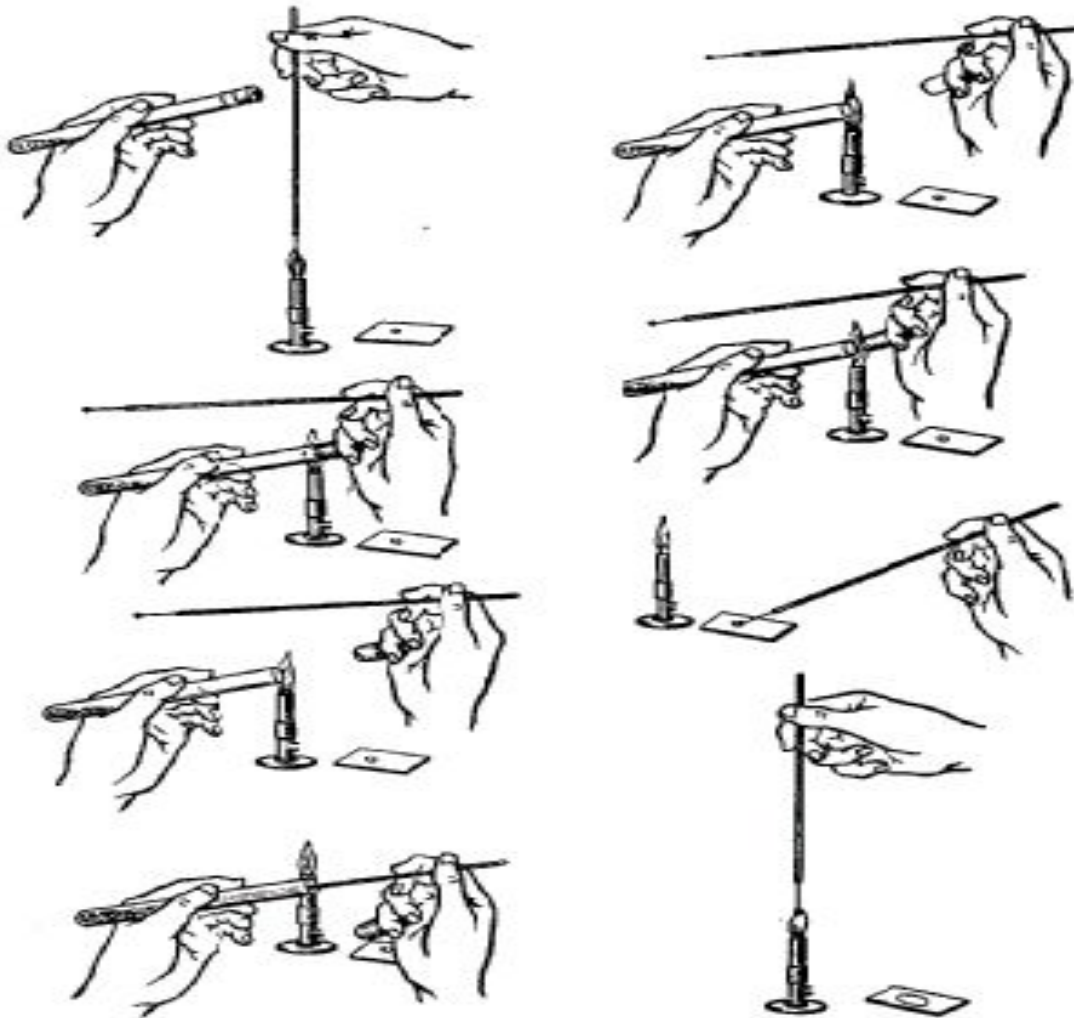
4. Окраска препаратов проводится:

❖ Простыми методами (водным фуксином Пфейффера, метиленовой синькой Леффлера), когда окрашивается вся клетка и используется только один краситель;

❖ Сложными методами, когда определяются клеточные структуры.

5. После экспозиции мазок промывают водой, высушивают фильтровальной бумагой и микроскопируют под иммерсией.

Техника приготовления мазка



При микроскопии мазков изучают морфологические и тинкториальные свойства культур бактерий: форму, структуру и размер клеток, наличие спор, капсулы, жгутиков, пилей, расположение клеток относительно друг друга, цвет в соответствии с использованными методами окраски, наличие и характер подвижности.

Методы окраски мазков

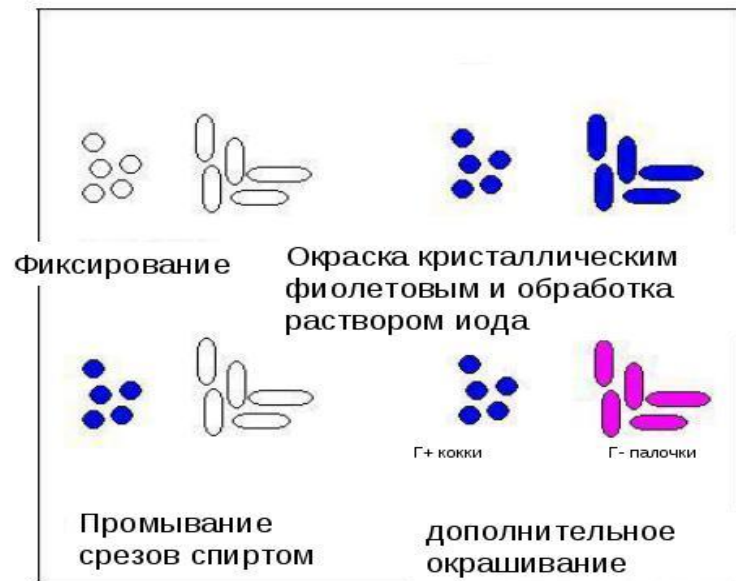
Простой метод. Фиксированный мазок окрасить каким-либо одним красителем, например фуксином водным (**1-2** мин) или метиленовым синим (**3-5** мин), промыть водой, высушить и микроскопировать.

Сложные методы. Последовательно нанести на препарат определенные красители, различающиеся по химическому составу и цвету, протравы, спирты, кислоты и др. Это позволяет выявить определенные структуры клеток и дифференцировать одни виды микроорганизмов от других. Окраска методом Грама является сложным методом.

Окраска методом Грама



Способ окраски по Граму



1. На фиксированный мазок нанести карболово-спиртовой раствор генцианового фиолетового через полоску фильтровальной бумаги. Через **1-2** мин ее снять, а краситель слить.

2. Нанести раствор Люголя на **1-2** мин.

3. Обесцветить этиловым спиртом в течение **30-60** с до прекращения отхождения фиолетовых струек красителя.

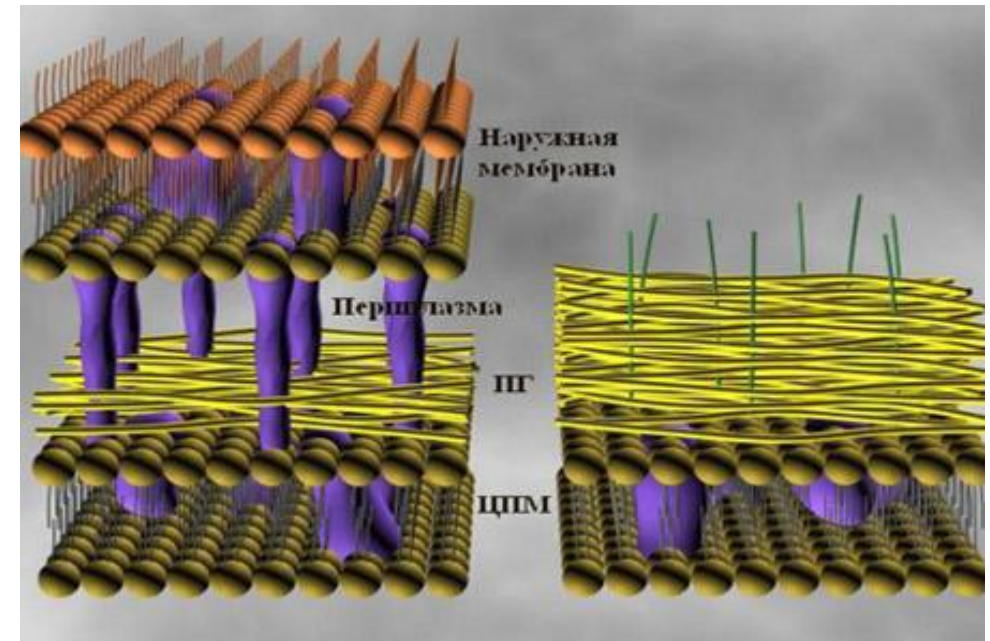
4. Промыть водой.

5. Докрасить водным раствором фуксина в течение **1-2** мин, промыть водой, высушить и микроскопировать.

*Грамположительные бактерии окрашиваются в **темно-фиолетовый цвет**, грамотрицательные - в **красный**.*

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

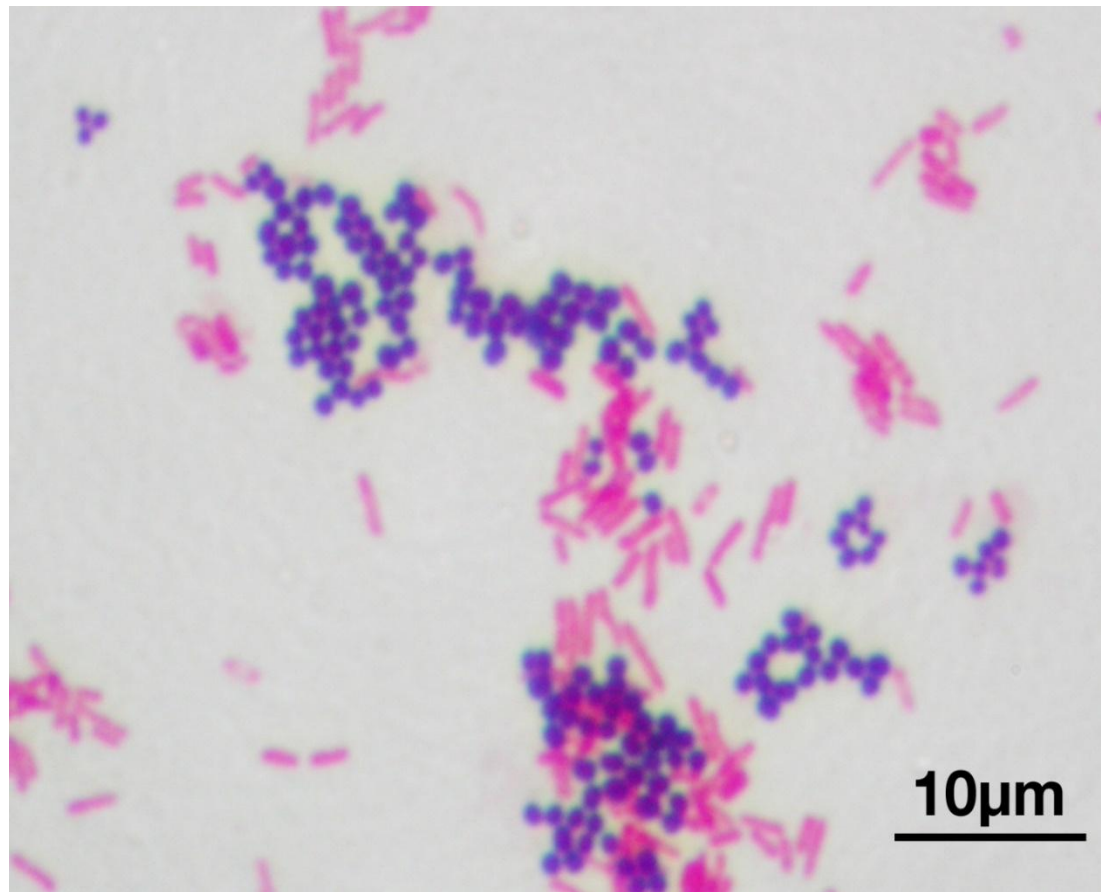
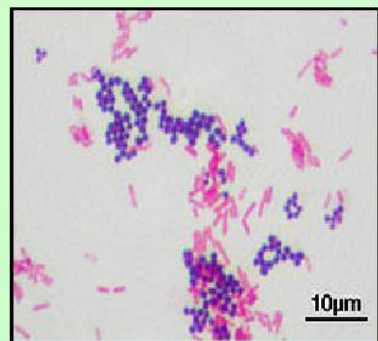
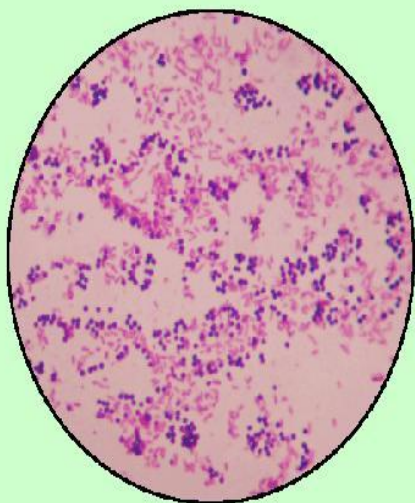
*Расположение спор: 1 - центральное, 2 - субтерминальное, 3 - терминальное.



Строение бактериальной стенки грамположительных (справа) и грамотрицательных (слева) бактерий.

Окраска мазков по Граму

Смесь стафилококка и мелкой палочки
(окраска по Граму)



Окраска мазков по Граму



Стрептококк в мазке окрашенном по Граму



Сложные методы окраски

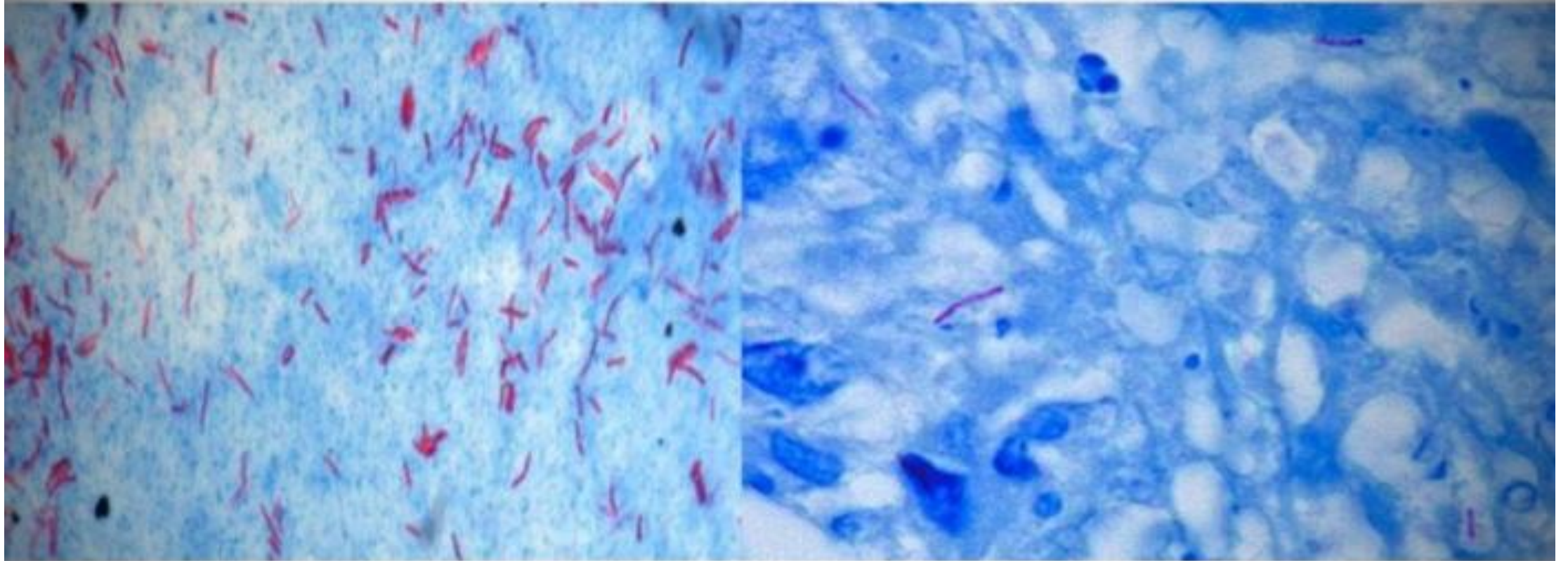
Методы окраски: сложные (основные)

- Окраска **по Граму** (основной метод окраски в бактериологии)
 - определение типа строения клеточной стенки
- Окраска **по Цилю-Нильсену**
 - выявление кислотоустойчивых бактерий (микобактерий)
 - выявление спор
- Окраска **по Нейссеру**
 - выявление включений волютина и идентификация по их наличию коринебактерий
- Окраска **по Бурри-Гинсу**
 - выявление капсул
- Окраска **по Морозову**
 - выявление жгутиков
 - выявление трепонем
 - выявление вирусов натуральной и ветряной оспы в оспенных пузырьках
- Окраска **по Здрадовскому**
 - выявление риккетсий и хламидий
- Окраска **по Романовскому-Гимзе**
 - выявление риккетсий и хламидий
 - выявление спирохет с предварительной их дифференциацией по цвету окрашивания
 - выявление простейших

Окраска мазка по методу Циля - Нильсена

Мазок из флотационного слоя
по Цилю-Нильсену

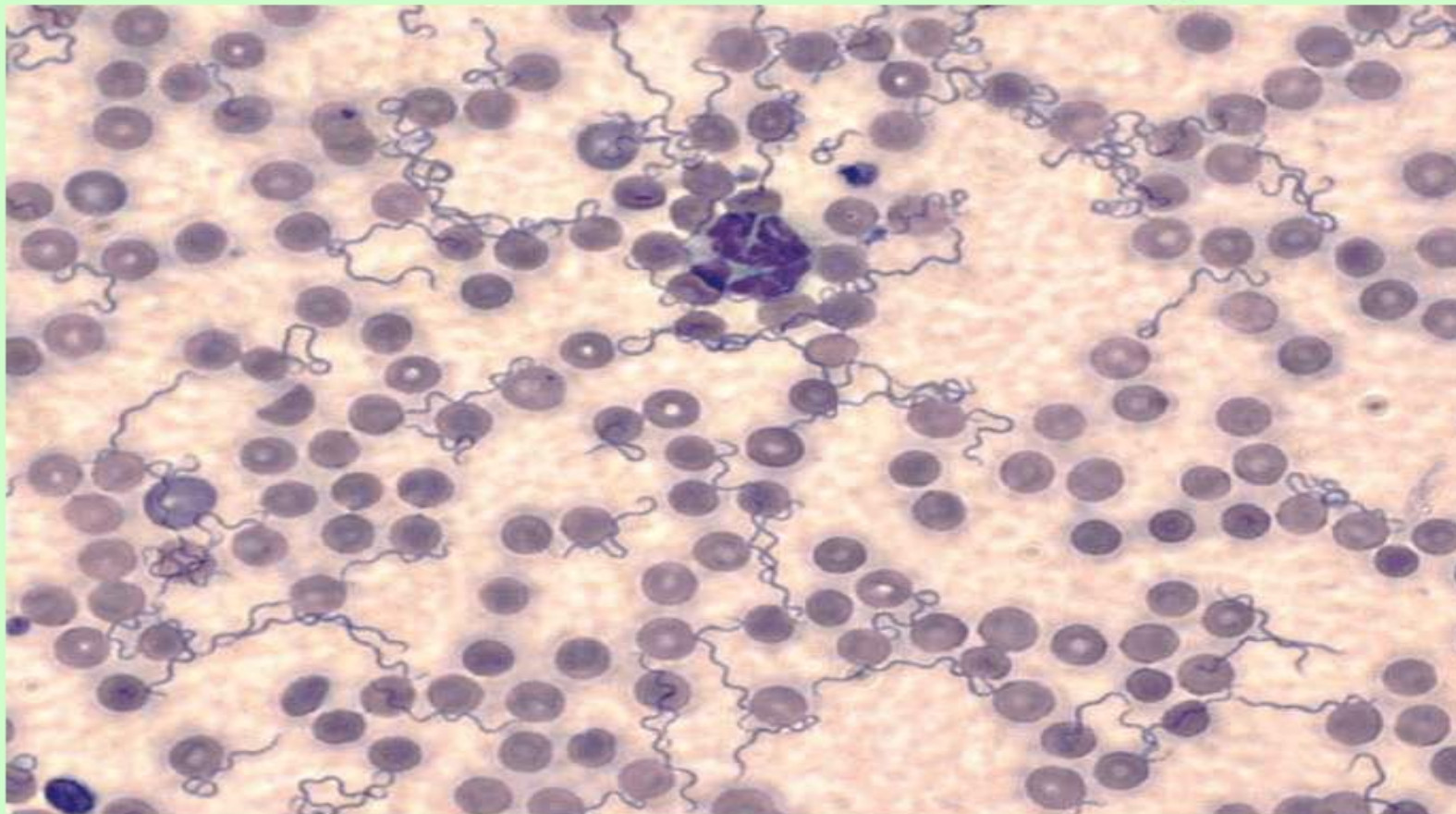
Прямая окраска мокроты
по Цилю-Нильсену



Probakterii

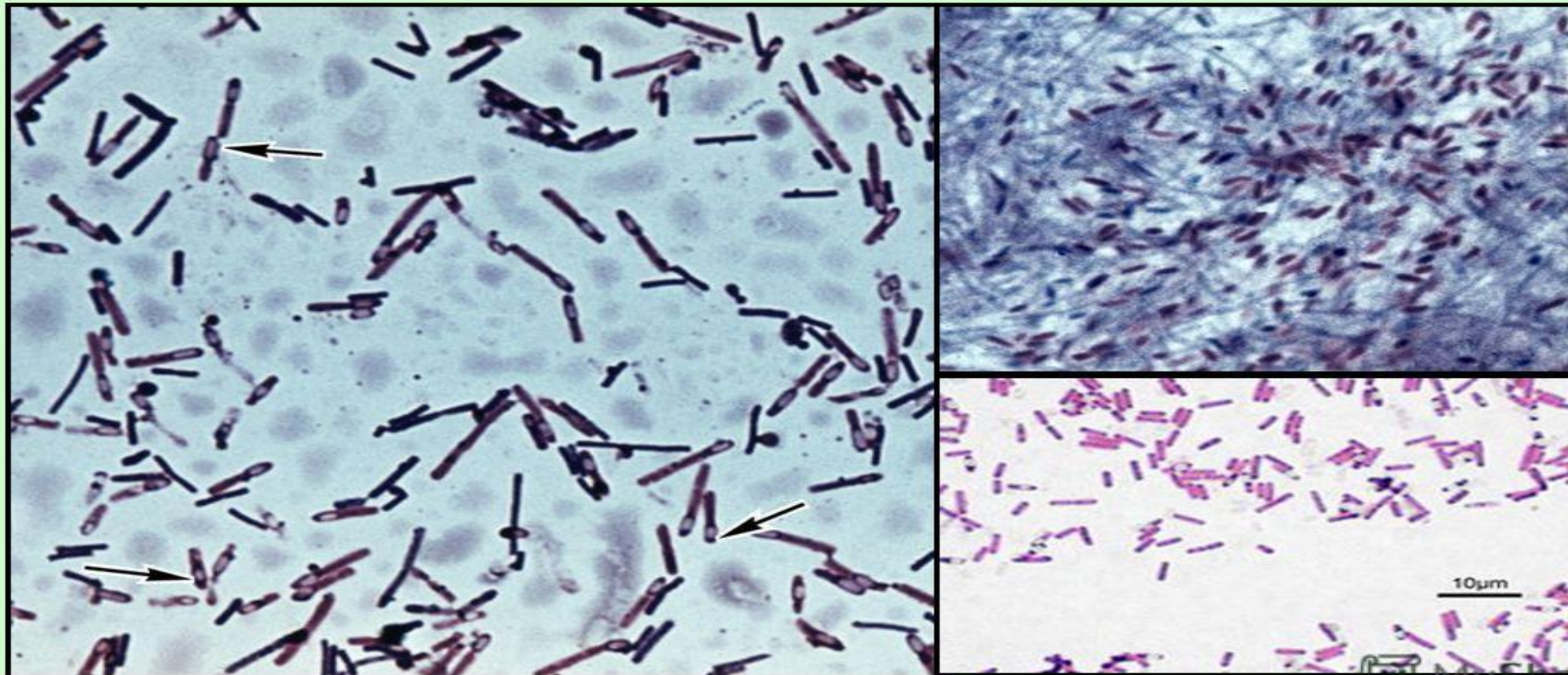
Окраска мазка по методу Романовского - Гимзе

Боррелия (окраска по Романовскому-Гимзе)



Окраска мазка по методу Ожешко

Споры бактерий (окраска по **Ожешко**)



Окраска мазка по методу Бурри - Гинса

Бактерии с капсулой (окраска по **Бурри-Гинсу**)

