

10.02.23

05 група

Методи мікробіологічних досліджень

.Методи мікроскопії для вивчення мікрорганізмів.

Мікроскопічні методи дослідження - способи вивчення дуже дрібних, нерозрізнених неозброєним оком об'єктів за допомогою мікроскопів. Широко застосовуються в бактеріологічних, гістологічних, цитологічних, гематологічних і інших дослідженнях (бактеріологічне дослідження, гістологічні методи дослідження, цитологічна діагностика).

Звичайна світлова мікроскопія призначена для вивчення пофарбованих препаратів на предметних стеклах. За допомогою світлової мікроскопії можна досліджувати рухливість мікроорганізмів. Для цього застосовують метод висячої краплі. Невелику краплю мікробної суспензії наносять на середину покривного скла. Предметне скло з поглибленням ("лункою"), краї якого змазані вазеліном, обережно накладають на покривне скло так, щоб крапля досліджуваної рідини виявилася в центрі поглиблення, щільно притискають до скла і швидко перевертають догори. Для дослідження препарату використовують іммерсійний об'єктив, який занурюють у іммерсійну олію на покривному склі.

Крім світлової існують фазово-контрастна, темнопольна (ультрамікроскопія), люмінесцентна, поляризаційна, ультрафіолетова й електронна мікроскопія.

Фазово-контрастна мікроскопія заснована на інтерференції світла: прозорі об'єкти, що відрізняються по показнику заломлення від навколишнього середовища, виглядають або як темні на світлому тлі (позитивний контраст), або як світлі на темному тлі (негативний контраст). Фазово-контрастна мікроскопія застосовується для вивчення живих мікроорганізмів і кліток у культурі тканини.

Темнопольна мікроскопія (ультрамікроскопія) заснована на розсіюванні світла мікроскопічними об'єктами (у тому числі тими, розміри яких менше межі дозволу світлового мікроскопа). При темнопольній мікроскопії в об'єктив попадають тільки промені світла, розсіяного об'єктами при бічному висвітленні (аналогічно ефекту Тиндалля, прикладом якого є виявлення порошин у повітрі при висвітленні вузьким променем сонячного світла). Прямі промені від освітлювача в об'єктив не попадають. Об'єкти при темнопольній мікроскопії виглядають яскраво світлими на темному тлі. Застосовується темнопольна мікроскопія переважно для вивчення спірохет і виявлення (але не вивчення морфології) великих вірусів.

В основі люмінесцентної мікроскопії лежить явище люмінесценції, тобто здатності деяких речовин світитися при опроміненні їх короткохвильової (синьо-фіолетової) частиною видимого світла або ультрафіолетових променів з довжиною хвилі, близької до видимого світла. Люмінесцентна мікроскопія використовується в діагностичних цілях для спостереження живих чи фіксованих мікроорганізмів, пофарбованих люмінесцентними барвниками (флюорохромами) у дуже великих розведеннях, а також при виявленні різних антигенів і антитіл за допомогою імунофлюоресцентного методу.

Поляризаційна мікроскопія заснована на явищі поляризації світла і призначена для виявлення об'єктів, що обертають площину поляризації. Застосовується в основному для вивчення мітозу.

В основі ультрафіолетової мікроскопії лежить здатність деяких речовин (ДНК, РНК) поглинати ультрафіолетові промені. Вона дає можливість спостерігати і кількісно встановлювати розподіл цих речовин у клітці без спеціальних методів фарбування. В ультрафіолетових мікроскопах використовується кварцова оптика, що пропускає ультрафіолетові промені.

Електронна мікроскопія принципово відрізняється від світлової як пристроєм електронного мікроскопа, так і його можливостями. В електронному мікроскопі замість світлових променів для побудови зображення використовується потік електронів у глибокому вакуумі. Як лінзи, фокусуючих електрони, служить магнітне поле, створюване електромагнітними котушками. Зображення в електронному мікроскопі спостерігають на флюоресцуючому екрані і фотографують. Як об'єкти використовують ультратонкі зрізи чи мікроорганізмів тканин товщиною 20- 50 нм, що значно менше товщини вірусних часток. Висока здатність сучасних електронних, що дозволяє, мікроскопів дозволяє одержати корисне збільшення в мільйони разів. За допомогою електронного мікроскопа вивчають ультратонка будівля мікроорганізмів і тканин, а також проводять імунну електронну мікроскопію.

<http://ukrsheath.ru/rizne/materiali-dlja-likariv/15619-metodi-mikroskopichnogo-dosli-dzhennja.html>

+Зважаючи на це, одним з найважливіших методів дослідження будови мікроорганізмів є мікроскопія. В основі сучасних мікроскопічних методів дослідження лежить світлова мікроскопія з численними її різновидами, такими як темнопольна, фазовоконтрастна, аноптральна, поляризаційна, інтерференційна, люмінесцентна та ін. При вивченні анатомії й ультраструктури вірусів використовують електронну мікроскопію.

Особливості різних видів мікроскопії

Імерсійна система	Темно-польна мікроскопія	Фазово-контрастна мікроскопія	Люмінесцентна мікроскопія	Електронна мікроскопія
	Об'єкт досліджується при боковому освітленні. Використовують для дослідження рухливості мікроорганізмів.	Можна розглядати живі клітини (бактерії). Не збільшує роздільної здатності, але дозволяє вивчити нові деталі внутрішньої структури бактерійної клітини, дослідити окремі стадії її розвитку, поділ, вплив хіміотерапевтичних препаратів.	Базується на використанні явища флюоресценції. Переваги: кольорове зображення, висока контрастність, можливість досліджувати як живі, так і вбиті мікроорганізми.	Збільшене зображення отримують за допомогою потоку електронів. Переваги: висока роздільна здатність, збільшення від 20 тис. до 5 млн. разів

Д/З Опрацювати тему.