

22.02.23.

05 група

Методи мікробіологічних досліджень

Тема: приготування фіксованого та фарбованого мазків

Дослідження мікроорганізмів проводять або у живому або ж у фіксованому забарвленому стані.

Живі препарати використовуються для вивчення розмірів, форми, структури, рухливості, характеру розмноження, утворення спор тощо.

Для того, щоб добре роздивитись форму багатьох, особливо дрібних та слабо забарвлених мікроорганізмів, їх необхідно пофарбувати. Для цього використовують *фіксовані забарвлені препарати*.

На сьогоднішньому уроці ми приготуємо живі препарати маслянокислих бактерій та забарвлені препарати дріжджів і молочнокислих бактерій.

І почнемо ми з приготування фіксованих забарвлених препаратів культури дріжджів і молочнокислих бактерій

Фіксовані забарвлені препарати готують у декілька етапів:

1. виготовлення мазка,
2. висушування,
3. фіксація,
4. забарвлення,
5. мікроскопування.

Демонстрація відеоролика (2 хв)

При роботі з чистими культурами одного виду мікроорганізмів важливо не допустити їх забруднення іншими мікробами. Щоб не заразити чисті культури сторонніми мікроорганізмами, при виготовленні препаратів необхідно дотримуватись стерильності та чіткої послідовності дій на етапі виготовлення мазка.

1-й етап – виготовлення мазка (демонстрація)

1. Запалити спиртовий пальник. Приготувати чисте предметне скло (попередньо знежирене за допомогою спирту).
2. Пробірку з культурою мікроорганізмів взяти в ліву руку.
3. У праву руку взяти бактеріологічну петлю і прожарити її у верхній частині полум'я пальника. Металеву частину держака повільно пронести через вогонь два-три рази.
4. Не випускаючи петлі, мізинцем і безіменним пальцем правої руки витягнути ватну пробку з пробірки.
5. Край відкритої пробірки пронести через полум'я пальника.
6. Ввести в пробірку стерильну петлю, охолодити її, торкаючись внутрішньої поверхні пробірки, а потім взяти петлею невелику кількість мікробної маси.

7. Шийку пробірки і ватну пробку провести через верхню частину полум'я пальника і закрити пробірку пробкою.

8. Пробірку поставити в штатив, а петлею нанести на чисте предметне скло досліджувану культуру мікроорганізмів і розподілити рівномірно на площі 1-4 см², зробивши якомога тонший мазок.

9. Залишки бактерій на петлі обпалити в полум'ї пальника.

Наступний етап приготування препарату – це висушування.

2-й етап - висушування

10. Виготовлений препарат висушити, тримаючи скло високо над полум'ям (або при кімнатній температурі)

3-й етап – фіксація

З якою метою проводиться фіксація препаратів? *(фіксація дає можливість швидко вбити мікроорганізми, міцно прикріпити їх до скла і добре профарбувати)*

Які види фіксації вам відомі? *(термічна і хімічна фіксація)*

11. Зафіксувати препарат, тобто вбити мікроорганізми і забезпечити їх прилипання до поверхні скла. Для цього скло з препаратом дріжджів провести тричі через верхню частину полум'я пальника (тобто провести термічну фіксацію). А на препарат з молочнокислими бактеріями нанести на 5-7 хвилин етиловий спирт (провести хімічну фіксацію).

4-й етап – забарвлення (простий метод)

Які розрізняють методи фарбування бактерій? *(прості і складні методи)*

12. Фіксований препарат залити кількома краплями барвника. Препарат дріжджів - фуксином, молочнокислі бактерії – метиленовим синім. Розподілити барвник по всій поверхні мазка. Фарбувати препарат фуксином протягом 1-2 хв, метиленовою синьою – 5 хв. Потім фарбу злити, препарат добре промити дистильованою водою.

Скло з країв протерти фільтрувальним папером, препарат висушити при кімнатній температурі.

5-й етап - проведення мікроскопії

Виготовлені препарати дріжджів і молочнокислих бактерій розглянути спочатку при малому збільшенні мікроскопа (об'єktiv *8).

Потім нанести на препарат краплю імерсійної олії і розглянути препарат під великим збільшенням мікроскопа (об'єktiv *90).

Знайти брунькотвірні овальні клітини дріжджів та кулясті чи паличкоподібні клітини молочнокислих бактерій.