

23.02.23.

05 група

Методи мікробіологічних досліджень

Лабораторна робота

**Тема: Приготування препаратів для мікроскопування.
Приготування фіксованого та зафарбованого мазка.**

Мета роботи: формування вмінь і навичок виготовлення препаратів «висяча крапля», «роздавлена крапля» та мазків для мікроскопічного дослідження.

КМЗ: скельце з лункою (1 шт.), барвник метиленовий синій (1:40), скляний місток (1 шт.), предметне скло (2 шт.), покривне скло (3 шт.), бактеріальна петля (3 шт.), штатив (1 шт.), вазелін, дистильована вода, пальник, серветка, піпетка, пробірка з чистою культурою (*Saccharomyces cerevisiae*), імерсійна олія.

Порядок виконання роботи

Дослід 1 Виготовлення препарату «висяча крапля»

1. На середину покривного скла нанесіть маленьку, з чіткими краями краплю суспензії мікроорганізмів (рис.1, а).

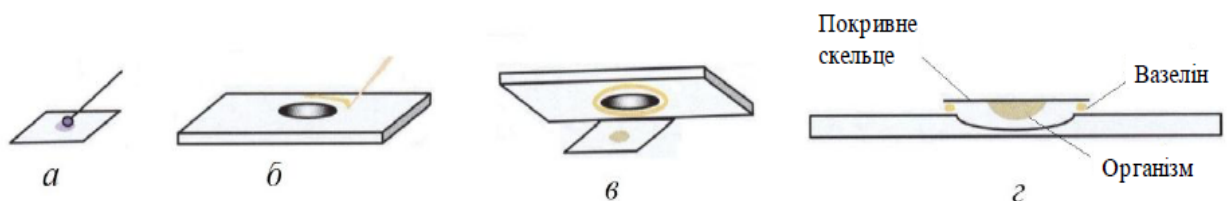


Рис.1 Схема виготовлення препарату «висяча крапля»

2. Краї предметного скла з лункою попередньо змастіть вазеліном (рис.1, б).
3. Краплю матеріалу покрийте предметним склом з лункою, краї якої змащені вазеліном (рис.1, в)
4. Переверніть предметне скло з прилиплим до нього покривним склом (рис.1, г). Крапля виявляється висячою у герметично закритій вологій камері, з якої рідина випаровується дуже повільно, і тому препарат лишається придатним для спостереження довгий час.
5. Мікроскопуйте «висячу краплю» з плоским дзеркалом і звуженою діафрагмою.
6. Розглянутий під мікроскопом препарат «висяча крапля» замалюйте в таблицю 1 з відповідним збільшенням мікроскопа, за якого проводили дослідження.

Дослід 1 Виготовлення препарату «роздавлена крапля»

1. Приготуйте предметне та покривне скельця. Візьміть пробірку з культурою в ліву руку та помістіть її похило між великим і вказівним пальцем на відстані 3-5 см від полум'я (рис.2, а).
2. Профламбуйте петлю (рис.2, б).
3. Відкрийте пробірку, затискаючи корок правою долонею (рис.2, в).
4. Стерильну петлю введіть у пробірку з культурою, охолодіть, доторкнувшись до внутрішньої поверхні пробірки, а потім візьміть нею невелику кількість біомаси мікроорганізмів (рис.2, г).

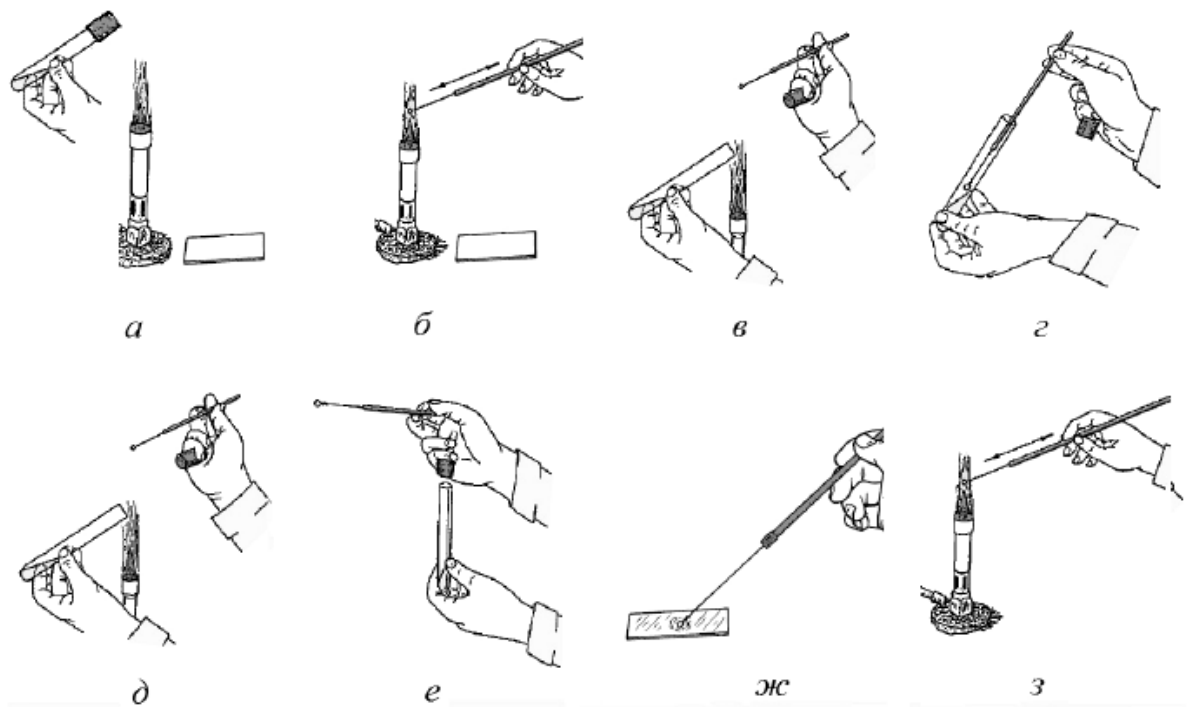


Рис. 2 Схеми відбору біомаси для виготовлення препарату.

5. Обпаліть краї пробірки та корка – закрийте пробірку, поставте її в штатив (рис.2, д - е).
6. Петлею з біомаси зробіть штрих на склі, розітріть штрих петлею круговими рухами, щоб вийшла суспензія (рис.2, ж).
7. Профламбуйте петлю (рис.2, з).
8. Отриману суспензію мікроорганізмів накрийте покривним склом . Щоб у полі зору не було пухирців повітря, розташуйте покривне скло під кутом 45°, доторкніться ним до краю краплі і, коли вона розділиться вздовж межі, обережно накрийте краплю суспензії покривним скельцем (рис.3 в, г).
9. Мікроскопуйте.
10. Розгляньте під мікроскопом препарат «роздавлена крапля» замалюйте в таблицю 1 з відповідним збільшенням мікроскопа, за якого проводили дослідження.

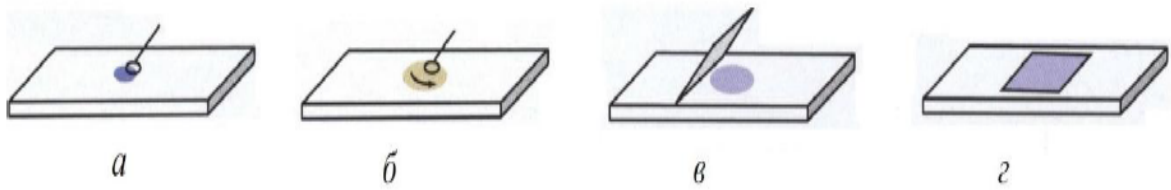


Рис. 3 Схеми виготовлення препарату «роздавлена крапля»

Дослід 3 Приготування фіксованого забарвленого препарату

1. Приготуйте суспензію мікроорганізмів, аналогічно до описаного вище.
2. Висушіть препарат на повітрі, або тримаючи скло високо над полум'ям (рис.4, б).
3. Зафіксуйте препарат, тобто вбийте клітини і забезпечте їх прилипання до поверхні скла. Для цього скло з препаратом тричі проведіть через верхню частину полум'я (термічна фіксація) (рис.4, в).
4. На фіксований препарат крапніть кілька крапель барвника метиленовий синій та розподіліть барвник по всій поверхні мазка (рис.4, г).
5. Залиште фарбу на 3-5 хв. (рис.4, д).

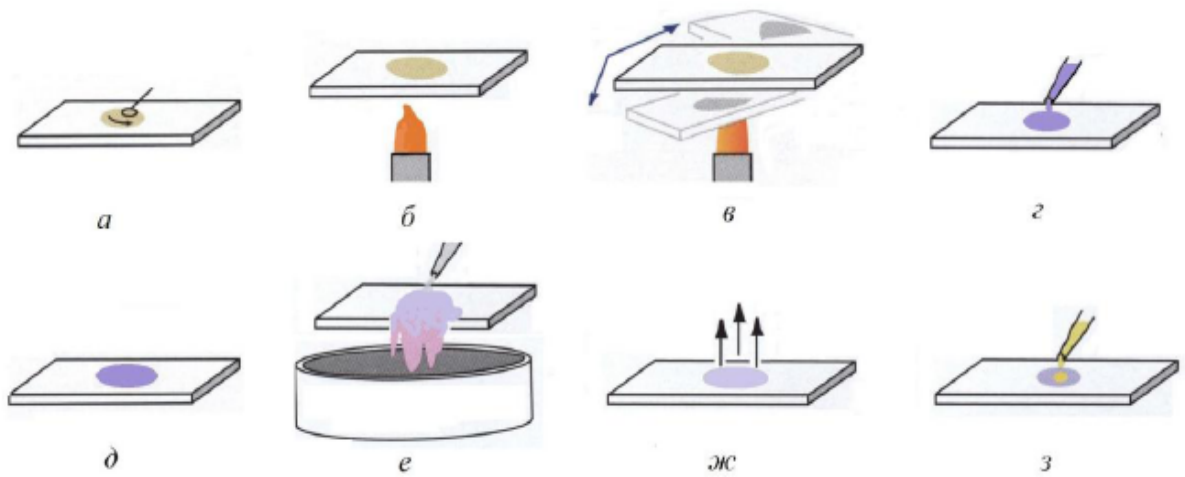


Рис. 4 Схема послідовного виготовлення фіксованого забарвленого препарату

6. Потім фарбу злийте, препарат добре промийте дистильованою водою (рис.4, е).
7. Скло з країв протріть серветкою, препарат висушіть (рис.4, ж).
8. Нанесіть на сухий препарат краплю імерсійної олії (рис.4, з) і розгляньте препарат під мікроскопом (об'єктив Х90).
9. Замалюйте препарат до таблиці1.

Запитання для самоперевірки

1. Для чого проводять мікроскопію мікроорганізмів в живому стані?
2. Назвіть переваги препарату «висяча крапля» над препаратом «роздавлена крапля».
3. Застосовуючи які методи, фіксують мікроорганізми на предметному склі?
4. Які барвники використовують для фарбування клітин?