

#### Заняття № 4.

**Тема:** Морфологія, структура бактерій. Складні методи фарбування.

**Мета** – оволодіти методами візуалізації оболонки, капсул, цитоплазматичних включень, органів руху, спор бактерій.

#### Питання для підготовки

1. Методика фарбування методом Ціль-Нільсена.
2. Структура бактерії.
3. Спороутворення у бактерій та методи їх виявлення.
4. Будова джгутиків бактерій та методи їх виявлення.
5. Різні види фімбрій та їхнє значення.

#### ТЕОРЕТИЧНІ ВІДОМОСТІ


Складні методи фарбування застосовують для т.зв. кислотостійких мікробів. Особливість зафарбовування цих бактерій полягає в тому, що зафарбовані карболовим фуксином вони не знебарвлюються під впливом концентрованих кислот. Особливістю мікроорганізмів цієї групи є те, що вони погано сприймають фарбу. Для того, щоб зафарбувати кислотостійкі мікроорганізми, доводиться використовувати концентровані розчини барвника у нагрітому стані з протравами та подовженим часом фарбування. До кислотостійких патогенних мікроорганізмів належать збудники туберкульозу та лепри.

(Детально питання розкрито у посібнику: Климнюк С.І., Ситник І.О., Творко М.С., Ширококов В.П. Практична мікробіологія: Посібник.- Тернопіль: Укрмедкнига, 2004.- 438 с.)

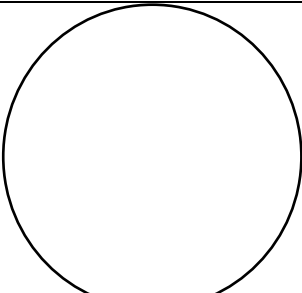
#### ПРАКТИЧНА ЧАСТИНА

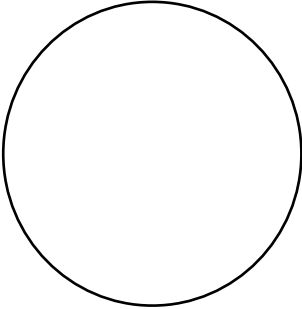
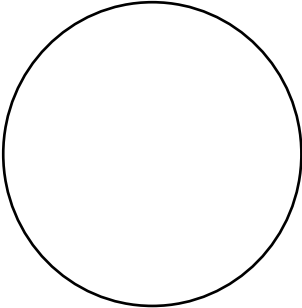
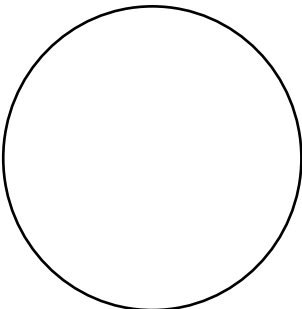
**Робота 1.** Розглянути та замалювати різні види розміщення спор та джгутиків бактерій.

Зарисуйте відповідні види розміщення спор та запишіть приклади назв бактерій.

Центральне	Субтермінальне	Центральне
		

Зарисуйте різні види розміщення джгутиків у бактерій.

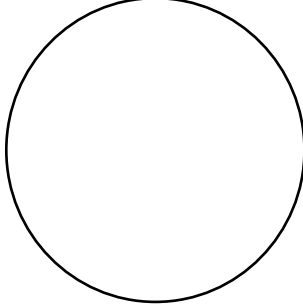
Монотрихи		Вид

Перитрихи		Вид
Амфітрихи		Вид
Лофотрихи		Вид

**Робота 2. Фарбування фіксованого препарату за Цілем-Нільсеном та їх мікроскопія.**

Проведіть фарбування фіксованих препаратів за наступною схемою:

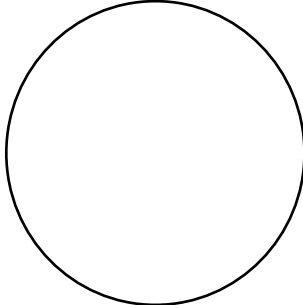
1. На фіксований препарат покласти суху смужку фільтрувального паперу;
2. Нанести 3-4 краплі карболового фуксину Циля. Тримаючи предметне скло за допомогою пінцета тричі нагрійте препарат над полум'ям спиртівки до появи пари. Час фарбування – 5 хвилин;
3. Після охолодження скла необхідно зняти фільтрувальний папір та промити його водою;
4. Для знебарвлення на препарат нанести розчин сірчаної кислоти ( $w = 5\%$ ) на 30 секунд;
5. Ретельно промити препарат водою;
6. Нанести на мазок декілька крапель водного розчину метиленового синього (3-4 хв);
7. Промити водою та просушити фільтрувальним папером;
8. За допомогою імерсійної олії дослідити препарат під мікроскопом та зарисувати побачене до зошита.

	Назва препарату _____ Характеристика морфологічних та тинкторіальних властивостей _____
---	--

**Робота 3. Фарбування спор культури *Bacillus subtilis* за Ауеско та їх мікроскопія.**

Проведіть фарбування спор за наступною схемою:

1. На нефіксований, але висушений на повітрі препарат налити 0,5 % розчин хлористоводневої кислоти та підігріти на полум'ї протягом 1-2 хвилин;
2. Злити залишки кислоти та промити водою;
3. Препарат висушити та зафіксувати у полум'ї спиртівки;
4. Надалі фарбувати за методом Циля-Нільсена;
5. За допомогою імерсійної олії дослідити препарат під мікроскопом та зарисувати побачене до зошита.

	Назва препарату _____ Характеристика морфологічних та тинкторіальних властивостей _____
--	--

**Робота 4. Прижиттєва дослідження мікроорганізмів. Дослідження рухливості.**

**Приготування препарату роздавленої та висячої краплі.**

Для дослідження форми та виявлення рухливості бактерії досліджують у живому стані за допомогою методів «роздавленої» та «висячої» краплі.

*Метод роздавленої краплі:*

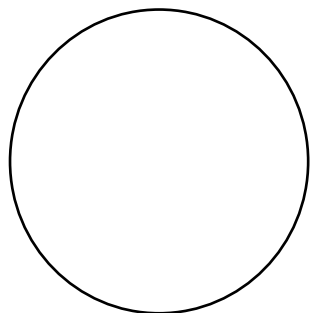
1. На знежирене предметне скло наносять краплю бульйонної культури (якщо культура вирощена на щільному середовищі – попередньо на предметне скло наносять краплю стерильної дистильованої води і перемішують) та покривають її покривним склом;
2. Покривне скло опустити таким чином, щоб не було пухирців повітря. Надлишок рідини забирають фільтрувальним папером (який відразу поміщають до дезінфікуючого розчину). Проводити мікроскопіювання із використанням об'єктиву 40х;

*Метод висячої краплі:*

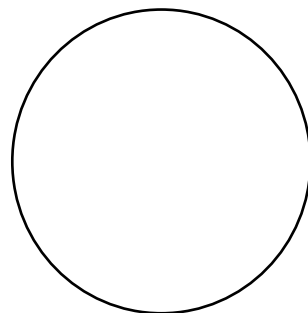
1. До центру покривного скла внести краплю бактеріальної зависі;
2. Краї предметного скла з лункою змастити вазеліном та притиснути до покривного скла таким чином, щоб крапля була посередині лунки. Швидким рухом перевернути отриману камеру;
3. Дослідити висячу краплю зі сторони покривного скла спочатку із об'єктивом 8х, потім – 40х.

Зарисуйте побачене:

Препарат «Роздавлена крапля»



Препарат «Висяча крапля»



Висновки: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Підпис чергового \_\_\_\_\_

Підпис викладача \_\_\_\_\_

<https://xn--80adi8aaufcj8j.xn--j1amh/testbase/group/8>