

Эта часть работы выложена в ознакомительных целях. Если вы хотите получить работу полностью, то приобретите ее воспользовавшись формой заказа на странице с готовой работой: <https://studservis.ru/otvety-na-bilety/126892>

Тип работы: Ответы на билеты

Предмет: Микробиология

-

Тема: «Световой микроскоп. Техника микроскопирования. Методы приготовления препаратов микроорганизмов».

Теория вопроса. Устройство микроскопа.

Техника микроскопирования.

1. Перед началом микроскопирования нужно установить правильное освещение. Для этого с микроскопа снимают окуляр и, глядя прямо в объектив, устанавливают зеркало так, чтобы источник света (лампа или окно) были видны посередине объектива.

2. После предварительной установки света на предметный столик микроскопа кладут готовый препарат и закрепляют его зажимами.

3. При помощи макрометрического винта опускают тубус почти до соприкосновения с покровным стеклом

4. Глядя в окуляр, постепенно поднимают тубус до появления изображения. Для наведения резкости пользуются микрометрическим винтом.

5. При микроскопировании следует держать оба глаза открытыми. Смотрят в микроскоп левым глазом.

Методы приготовления препаратов микроорганизмов

1. Приготовление фиксированного препарата. На чистое обезжиренное предметное стекло наносят каплю водопроводной воды. Для обезжиривания стекла используют этиловый спирт и серный эфир в соотношении 1:1. Прокаленной бактериологической петлей из пробирки с культурой или с поверхности среды из чашки Петри берут небольшое количество микробной массы и вносят в каплю воды. Каплю тщательно размазывают петлей по стеклу на поверхности около 4 см². Затем мазок сушат на воздухе при комнатной температуре. Высушенный препарат фиксируют. Для этого стекло три-четыре раза медленно проводят нижней стороной над пламенем горелки. Зафиксированный препарат окрашивают. При окрашивании мазка препарат помещают в препаратодержатель. На мазок наносят несколько капель красителя. По окончании окрашивания препарат промывают водой, фильтровальной бумагой удаляют воду, подсушивают на воздухе и микроскопируют.

2. «Раздавленная капля». На предметное стекло наносят каплю водопроводной воды и помещают в нее небольшое количество клеток изучаемых микроорганизмов, размешивают и накрывают покровным стеклом. Микроорганизмы, выращенные на плотной питательной среде, переносят в каплю воды бактериологической петлей, выращенные в жидкой среде - стерильной пипеткой. В этом случае каплю воды на предметное стекло можно не наносить. Капля исследуемого материала должна быть настолько мала, чтобы после прижатия ее покровным стеклом не было избытка жидкости, выступающего из-под него. В противном случае избыток жидкости необходимо удалить фильтровальной бумагой.

3. «Висячая капля». Каплю суспензии микроорганизмов петлей наносят на покровное стекло, которое поворачивают каплей вниз и помещают на специальное предметное стекло с углублением (лункой) в центре. Капля должна висеть свободно, не касаясь краев и дна лунки. Края лунки предварительно смазывают вазелином. Капля оказывается герметизированной во влажной камере, что делает возможным многодневное наблюдение за объектом. Для длительных наблюдений используют стерильные стекла, а суспензию микроорганизмов готовят на жидкой питательной среде. Препараты фиксированных окрашенных клеток микроорганизмов.

Контрольные вопросы:

1. Что представляют собой микроорганизмы? Приведите примеры.

Микроорганизмы представляют собой невидимые человеческим зрением живые организмы, обитающие практически везде (поскольку вода находится также практически везде), осуществляющие в природе важные функции, и приносящие человеку как вред, так и пользу. (бактерии, сине-зеленые водоросли).

Назовите единицу измерения размеров бактериальной клетки.

Единица измерения размеров бактериальной клетки - микрометр – это дольная единица измерения длины в

Международной системе единиц (СИ), равная одной миллионной части метра (0,000001 м, или 10⁻⁶ метра, или 10⁻³ миллиметра).

2. Из каких основных частей состоит микроскоп?

Основные части микроскопа:

1. Объектив - одна из важнейших частей микроскопа, поскольку он определяет полезное увеличение объекта. Объектив состоит из металлического цилиндра с вмонтированными в него линзами, число которых может быть различным. Увеличение объектива обозначено на нем цифрами. В учебных целях используют обычно объективы х8 и х40. Качество объектива определяет его разрешающая способность.

2. Окуляр устроен намного проще объектива. Он состоит из 2-3 линз, вмонтированных в металлический цилиндр. Между линзами расположена постоянная диафрагма, определяющая границы поля зрения. Нижняя линза фокусирует изображение объекта, построенное объективом в плоскости диафрагмы, а верхняя служит непосредственно для наблюдения. Увеличение окуляров обозначено на них цифрами: х7, х10, х15.

Окуляры не выявляют новых деталей строения, и в этом отношении их увеличение бесполезно. Таким образом, окуляр, подобно лупе, дает прямое, мнимое, увеличенное изображение наблюдаемого объекта, построенное объективом.

3. Что относится к механической части микроскопа?

Механическая часть микроскопа. К ней относят штатив, предметный столик и тубус (трубу).

Штатив имеет основание в виде подковы и колонку (тубусодержатель) в форме дуги. К нему примыкают коробка механизмов, система зубчатых колес для регуляции положения тубуса. Система приводится в движение вращением макрометрического и микрометрического винтов.

Микрометрический винт (кремальера, зубчатка, макровинт) служит для предварительной ориентировочной установки изображения рассматриваемого объекта.

Микрометрический винт (микровинт) используют для последующей четкой установки на фокус. При полном повороте микровинта труба передвигается на 0,1 мм (100 мкм).

4. Чем представлена оптическая часть микроскопа?

Оптическая часть микроскопа состоит из основного оптического узла (объектив и окуляр) и вспомогательной осветительной системы (зеркало и конденсор). Все части оптической системы строго центрированы относительно друг друга.

5. Какие бывают объективы? Какие они имеют обозначения и чем отличаются?

Виды объектива:

1. Ахроматы. Объективы ахроматы имеют цветовую коррекцию по основной и двух дополнительных длин волн видимого диапазона спектра. Хроматическая разность увеличения не исправлена, но ее можно компенсировать т.н. компенсационным окуляром. Кривизна поля не исправлена и в объективы особенно с маленьким увеличением по краям поля зрения изображение размыто. В маркировке на оправе объектива обычно не указан код оптической коррекции. На объективах фирмы OptiTech встречается маркировка (S) - это объектив ахромат с пружинным механизмом, который защищает препарат от раздавливания объективом микроскопа.

2. Апохроматы - это объективы, у которых полностью исправлена хроматическая абберация, но хроматическая разность увеличения и кривизна поля зрения не исправлены. На оправе объектива указана маркировка АПО, АРО.

3. Планахроматы - это объективы у которых исправлена кривизна поля, хроматическая абберация и хроматическая разность увеличения. Очень полезный объектив, для малых увеличений, дающий резкое изображение по всему полю. Маркируется кодом ПЛАН, PL, Plan.

6. Что такое разрешающая способность микроскопа и от чего она зависит?

Разрешающая способность микроскопа — это способность выдавать чёткое раздельное изображение двух близко расположенных точек объекта. Степень проникновения в микромир, возможности его изучения зависят от разрешающей способности прибора.

7. У каких систем микроскопа (или сухих) выше разрешающая способность?

Выше разрешающая способность у иммерсионных систем микроскопа.

8. Что находится между иммерсионным объективом микроскопа и препаратом? Между первой линзой и предметом заполнено жидкостью. Применяемая так жидкость называется иммерсионной.

9. Что такое иммерсионный объектив, иммерсионная система микроскопа, иммерсионная жидкость?

Иммерсионные жидкости – это жидкости, которые необходимы для увеличения числовой апертуры и соответственно повышения разрешающей способности иммерсионных объективов, специально рассчитанных для работы с этими жидкостями и, соответствующим образом, маркированными. Иммерсионная система — оптическая система, в которой пространство между первой линзой и предметом заполнено жидкостью. Применяемая таким образом жидкость называется иммерсионной.

Иммерсионный объектив – это объектив светового микроскопа, для эксплуатации которого необходима замена воздушной прослойки между ним и препаратом на др. оптическую среду – иммерсию.

10. Каков показатель преломления кедрового масла? Кедровое или минеральное масло имеет показатель преломления 1,515.

11. Можно ли погружать в иммерсионное масло сухой объектив и почему?

Нет, нарушится оптическая точность измерения.

12. Почему иммерсионное масло следует наносить только на совершенно сухой препарат? Так как возникает эмульсия воды в иммерсионном масле и четкость изображения в микроскопе резко снижается.

13. Каково назначение окуляра?

Окуляр — элемент оптической системы, обращенный к глазу наблюдателя, часть оптического прибора (видоискателя, дальномера, бинокля, микроскопа, телескопа и так далее), предназначенная для рассматривания изображения, формируемого объективом или главным зеркалом прибора.

14. Как определить собственно увеличение окуляра?

Определить увеличение микроскопа, необходимо умножить кратность окуляра на ту же величину объектива. Полученный результат – количество крат, на которые увеличивается исследуемый предмет:
 $H_{\text{микроскопа}} = H_{\text{объектива}} \cdot H_{\text{окуляра}}$

15. Чему равно рабочее увеличение окуляра?

Окуляр состоит из 2-3 линз. Увеличение окуляров обозначено на них цифрами: x7, x10, x15. У типичных исследовательских микроскопов увеличение окуляра равно 10.

16. Что такое увеличительная способность микроскопа и как она определяется?

Увеличительная способность микроскопа. Коэффициент увеличения микроскопа определяется произведением увеличения окуляра (K) и увеличением объектива (V):

17. Каковы общие правила работы с микроскопом?

При работе с микроскопом необходимо соблюдать операции в следующем порядке:

1. Работать с микроскопом следует сидя;
2. Микроскоп осмотреть, вытереть от пыли мягкой салфеткой объективы, окуляр, зеркало;
3. Микроскоп установить перед собой, немного слева на 2-3 см от края стола. Во время работы его не сдвигать;
4. Открыть полностью диафрагму, поднять конденсор в крайнее верхнее положение;
5. Работу с микроскопом всегда начинать с малого увеличения;
6. Опустить объектив 8 х в рабочее положение, т. е. на расстояние 1 см от предметного стекла;
7. Глядя одним глазом в окуляр и пользуясь зеркалом с вогнутой стороной, направить свет от окна в объектив, а затем максимально и равномерно осветить поле зрения;
8. Положить микропрепарат на предметный столик так, чтобы изучаемый объект находился под объективом. Глядя сбоку, опускать объектив при помощи макровинта до тех пор, пока расстояние между нижней линзой объектива и микропрепаратом не станет 4-5 мм ;
9. Смотреть одним глазом в окуляр и вращать винт грубой наводки на себя, плавно поднимая объектив до положения, при котором хорошо будет видно изображение объекта.
10. Передвигая препарат рукой, найти нужное место, расположить его в центре поля зрения микроскопа;
11. Если изображение не появилось, то надо повторить все операции пунктов 6, 7, 8, 9;
12. По окончании работы с большим увеличением, установить малое увеличение, поднять объектив, снять с рабочего столика препарат, протереть чистой салфеткой все части микроскопа, накрыть его полиэтиленовым пакетом и поставить в шкаф.

18. В чем особенности работы с иммерсионной системой микроскопа?

1. В первую очередь необходимо поставить микроскоп на минимальное увеличение;
2. Затем обеспечивается максимально возможное и качественное освещение для того, чтобы максимум света попадало на объектив микроскопа;
3. На предметный столик устанавливается предметное стекло, то есть, исследуемый препарат;
4. После этого на предметное стекло наносится капля иммерсионной жидкости;

4. При помощи макровинта иммерсионный объектив микроскопа перемещается к предметному стеклу при помощи вращения макровинта, объектив вводится в иммерсионную среду;

5. При помощи микровинта производится настройка, фокусировка изображения до получения четкого изображения исследуемого объекта.

6. Проводится непосредственная микроскопия с изучением препарата.

7. После окончания микроскопирования тубус с объективом отводится от предметного стекла, убирается предметное стекло, и главной частью окончания работы с иммерсионным микроскопом является удаление остатков иммерсионного масла с поверхности объектива микроскопа, что позволит в дальнейшем избежать искажения изображения из-за неправильной эксплуатации оборудования.

19. Какие вы знаете наиболее распространенные модели современных микроскопов?

Konus Crystal PRO 7-45X Stereo – самый многофункциональный. Тринокулярный прибор предназначен для пайки, ювелирных мастерских, зубных лабораторий. Бинокулярная и стереоскопическая насадка дополняют возможности изделия. Расстояние, диоптрии настраиваются, регулируется галогеновое освещение.

Andonstar A 1 – самый продуктивный. Увеличение достигает 500х путем изменения расстояния до рассматриваемого предмета. Отличительной чертой считается невысокая стоимость.

20. Какие методы приготовления препаратов клеток микроорганизмов вы знаете?

1. Метод «раздавленной» капли.

2. Метод «висячей» капли.

21. В чем суть метода «раздавленной» капли?

На чистое предметное стекло наносят каплю воды. В каплю вносят культуру и смешивают с водой.

Накрывают каплю покровным стеклом так, чтобы не образовались пузырьки воздуха. Стеклопалочкой прижимают покровное стекло к предметному. Капля должна быть небольшой, не выходящей за края покровного стекла, но если суспензия попала за край – удаляют фильтровальной бумагой. Микроскопируют препарат с объективом 40X. Метод удобен для исследования подвижности бактериальных клеток, а также просмотра крупных объектов – плесневых грибов, дрожжей. Применяют при изучении запасных веществ клетки.

22. Из каких этапов состоит метод приготовления фиксированных препаратов микроорганизмов?

Приготовление фиксированных окрашенных препаратов включает несколько этапов: приготовление мазка, высушивание, фиксация и окрашивание.

23. Как происходит приготовление мазка?

Процесс приготовления мазка состоит из трех этапов: а) собственно приготовление мазка: на обезжиренное предметное стекло наносят каплю воды. Затем на пламени горелки прокалывают петлю до красного каления, мизинцем правой руки открывают у огня пробирку с культурой, после остывания петли, берут ею небольшое количество культуры. После этого закрывают пробирку пробкой и эмульгируют бактерии в капле воды так, чтобы она помутнела. Затем прожигают петлю с избытком культуры, охлаждают ее и быстрыми круговыми движениями равномерно распределяют каплю на площади диаметром 15–25 мм и снова прожигают петлю. Для приготовления мазка методом отпечатка вырезают блок агара с выросшей колонией и помещают на покровное стекло бактериями вниз, резко прижимают блок к стеклу, после этого препарат сразу же фиксируют. б) высушивание препарата, препарат после высыхания должен быть равномерно тонким. Высушивание можно ускорить, держа препарат высоко над пламенем спиртовки.

24. Что такое фиксация мазка и что она обеспечивает?

Фиксация мазка или его закрепление, преследует следующие цели: а) инактивировать микроорганизмы; б) закрепить их на поверхности стекла и предотвратить их смывание при последующем окрашивании; в) повысить восприимчивость клеток к красителям.

25. Какие виды фиксации вы знаете?

Фиксация необходима для инактивации бактерий и прикрепления (фиксации) их к стеклу, предотвращения аутолизиса клеток и улучшения восприятия красителя.

а) Самым распространенным методом фиксации бактерий считается обработка жаром, что осуществляется путем трехкратного проведения препарата мазком сверху через пламя спиртовки или газовой горелки. Препарат находится в пламени спиртовки 3 секунды. После чего препараты из бактерий окрашиваются разными способами. Метод применим при работе с чистой культурой микробов.

б) Фиксация химическими веществами используется для выявления и дифференциации структурных элементов: жгутиков, протоплазмы, нуклеоида, оболочки, при работе со смешанным материалом (кровь, отпечатки органов, соскобы со слизистых, гной, мокрота). В качестве фиксаторов используют:

- метиловый спирт (фиксируют 5 минут),

- этиловый спирт (фиксируют 20 минут),
- смесь Никифорова: равные объёмы спирта и эфира (фиксируют 20 минут),
- спирт - формол: смесь 5мл неразведённого формалина мл и 96 % этилового спирта (фиксируют 15 минут),
- жидкость Боуэна: неразбавленный формалин 10 мл, ледяная уксусная кислота 2 мл, насыщенный водный раствор пикриновой кислоты 30 мл (фиксируют 30 минут),
- жидкость Карнуа - ледяная уксусная кислота 10 мл, хлороформ 30 мл и 96 % спирт (фиксируют 15 минут).

26. Какие методы окраски микроорганизмов вы знаете?

Окраска микроорганизмов - комплекс методов и приемов, применяемый для изучения морфологических свойств микроорганизмов.

Существуют простые и сложные способы окрашивания микробов. При простой окраске обычно используют только один краситель, чаще всего красного цвета - фуксин (окраска производится в течение 1-2 мин) или синего цвета - метиленовый синий (время обработки мазка краской 3-5 мин).

При сложных методах окраски применяют два или более контрастных красителя, протравы, дифференцирующие вещества. Среди сложных методов окраски различают дифференциальные методы и методы, предназначенные для выявления отдельных структур клетки. К дифференциальным методам относятся методы Грама и Циля-Нельсена, позволяющие различать по цвету микроорганизмы, сходные по морфологическим свойствам.

27. Чем отличаются простые методы окраски от дифференцированных?

Сложные методы окраски (их еще называют дифференциальными) основаны на особенностях физико-химического строения микробной клетки. Они применяются для изучения структуры клетки, а также для дифференциации микроорганизмов на основе их тинкториальных свойств. При сложном способе окраски мазков, приготовленный из исследуемого материала, воздействуют двумя красящими веществами, из которых один является основным, а другой дополнительным. Кроме красящих веществ, при сложных методах окраски применяют различные дополнительные вещества: спирт, кислоты, щелочи - для обесцвечивания или протравы микроорганизмов.

28. Какие красители используют для окраски бактерий?

Стандартные красители, используемые для окраски бактерий, - карболовый фуксин Циля, фуксин Пфайффера и метиленовый синий по Лёффлеру. Для получения более информативных результатов в светоптической микроскопии используют специальные и дифференцирующие методы окраски.

29. Какова техника микроскопирования фиксированного окрашенного препарата?

Фиксированные окрашенные препараты микроскопируют вначале с объективом 40х, потом - с объективом 90х. В правильно окрашенном и хорошо промытом препарате поле зрения остается светлым и чистым, а окрашенными оказываются клетки микроорганизмов.

30. Что такое посев? Посев - один из стационарных методов культивирования микроорганизмов на питательных средах, применяемый для культуральной диагностики в медицинской микробиологии, а также для исследования биохимических и биологических свойств в различных биотехнологических целях. В зависимости от содержания исследуемых бактерий в образце, проводят посев на плотные питательные среды (для получения изолированных колоний и определения чистоты культуры). Если в исследуемом материале содержание микроорганизмов незначительное, то посев проводят на жидкие среды обогащения.

Тема: «Морфология микроорганизмов»

Теория вопроса. Формы бактерий.

Приготовить фиксированные окрашенные препараты, посмотреть под микроскопом и зарисовать шаровидные (*Micrococcus agilis*, *Azotobacter croococcum*, *Sarcina flava*), палочковидные (*Bacillus mycoides*, *Pseudomonas putida*) и спиралевидные (*Spirochaeta dentium*). Рисунки делают простым или цветным карандашом. Подписи под рисунком должны быть по латыни. Ниже указывают общее увеличение микроскопа.

Шаровидные формы

Micrococcus agilis *Azotobacter croococcum* *Sarcina flava*

Общее увеличение микроскопа: $10 \times 40 = 400$

Палочковидные формы

Bacillus mycoides Pseudomonas putida Clostridium botulinum

Общее увеличение микроскопа: $10 \cdot 40 = 400$

Спиралевидные формы

Spirochaeta dentium

Общее увеличение микроскопа: $10 \cdot 40 = 400$

Нитчатые формы

Actinomyces

Общее увеличение микроскопа: $10 \cdot 40 = 400$

Методика приготовления препарата в раздавленной капле

1. Обезжиривание предметного стекла. Для этого используется спирт или смесь Никифорова (к спиртовому раствору добавляем равнозначный объем эфира).

2. В питательном агаре (подойдет бульон мясной или из костной муки) засеивать микробную культуру.

3. Микробиологической петлей нанести каплю суспензии на стекло.

4. Затем аккуратно прикрыть покровным стеклом. Капелька раздавится, образуя жидкую среду с неравномерными контурами.

5. Включите нижний осветитель микроскопа, положить микрообъект на его столик.

Приготовить препарат в раздавленной капле железобактерий Leptothrix ochracea, представляющих нитчатые формы бактерий и сделать рисунок в тетради.

Leptothrix ochracea

Общее увеличение микроскопа: $10 \cdot 40 = 400$

Актиномицеты

Теория вопроса.

Актиномицеты - формы бактерий, имеющие истинный, но не имеющие перегородок мицелий.

Мицелиальный (в виде ветвящихся нитей) рост этих грамположительных бактерий придает им внешнее сходство с грибами. Это сходство усиливается вследствие наличия у высших форм актиномицетов наружных неполовых спор, которые называются конидиями.

В отличие от грибов, актиномицеты имеют прокариотическое строение клетки, не содержат в клеточной стенке хитина или целлюлозы, размножаются только бесполым путем.

У низших актиномицетов мицелий фрагментируется на типичные одноклеточные бактерии. Мицелий актиномицетов подразделяют на субстратный (в субстрате) и воздушный. К мицелиальным бактериям относят микобактерии, род накардий и актиномицетов, несколько родов высших актиномицет.

Приготовить и посмотреть фиксированный окрашенный препарат актиномицета Streptomyces chromogenes.

-

Эта часть работы выложена в ознакомительных целях. Если вы хотите получить работу полностью, то приобретите ее воспользовавшись формой заказа на странице с готовой работой: <https://stuservis.ru/otvety-na-bilety/126892>