

**Дисципліна:** Епізоотологія з мікробіологією

**Спеціальність:** 5.11010101 «Ветеринарна медицина»

### **ІНСТРУКТИВНА КАРТКА №3**

**Тема заняття:** Вивчити будову мікроскопа, правила догляду за мікроскопом та проведення мікроскопії мазків.

Мета проведення заняття: Вивчити будову і принципи роботи світлових, електронних, люмінесцентних мікроскопів, а також навчитися виготовляти та забарвлювати мазки різними способами.

Після виконання роботи студент повинен

знати: будову мікроскопа і техніку мікроскопіювання; спеціальні методи мікроскопії; правила догляду за мікроскопом.

вміти: проводити мікроскопіювання готових препаратів та мазків; проводити спеціальні методи мікроскопії; проводити догляд за мікроскопом.

Матеріально-технічне оснащення робочого місця: мікроскопи, серветки, кедрова олія, забарвлені препарати різних видів мікробів.

Інструктаж з техніки безпеки.

Зміст і послідовність виконання завдань

1. Вивчити будову мікроскопа.
2. Оволодіти технікою мікроскопіювання.
3. Засвоїти правила догляду за мікроскопом.

Методичні рекомендації з виконання та оформлення

## Завдання 1

### Вивчити будову мікроскопа

Мікроскоп (від грецьких слів малий, дивлюся) – оптичний прилад для вивчення малих об'єктів, недоступних неозброєному оку. В мікроскопі розрізняють механічну і оптичну частини.

Механічна частина мікроскопа складається з ніжки, тубусотримача, рухомого предметного столика, гвинтів,

за допомогою яких переміщується предметний столик, труби мікроскопа або тубуса. У верхню частину тубуса мікроскопа вкладають окуляр, а в нижній частині тубуса є «револьвер», який обертається по колу 1, в отвори якого вгвинчуються об'єктиви. Обертаючи «револьвер», можна підвести під отвір тубуса будь-який об'єктив. Тубус пересувається з низу вгору за допомогою гвинтів: мікрометричного і мікрометричного. Макрометричним гвинтом користуються при невеликих збільшеннях, а також при сильних об'єктивах для початкової орієнтовної установки. Для точнішої установки користуються мікрометричним гвинтом.

Пересуваючи тубус за допомогою цих двох гвинтів, його встановлюють так, щоб дістати ясну мікроскопічну картину: це досягається в тому разі, коли відстань об'єкта дорівнюватиме фокусній відстані цього об'єкта до об'єктива.

Оптична частина мікроскопа складається з освітлювального апарата, об'єктивів і окулярів. Освітлювальний апарат складається з дзеркала, конденсатора, діафрагми. Дзеркалом наводять промені в напрямі об'єктива і через нього в середину мікроскопа.

Одна сторона дзеркала плоска, друга – вгнута. При денному світлі користуються плоскою стороною дзеркала, при штучному – вгнутою.

Конденсатор призначений для збирання променів, які йдуть від дзеркала в одній точці – фокусі, що повинен міститися в площині досліджуваного препарату. Він складається з системи сильних лінз, під конденсатором розташована діафрагма за допомогою якої регулюють обсяг променів, потрібних для освітлювання досліджуваного препарату. За допомогою важеля діафрагму можна звужувати або розширювати подібно до зіниці ока.

В комплексі мікроскопа є набір окулярів на оправі яких є цифри, що означають ступінь власного збільшення, наприклад: X 5, X 7, X 10, X 12, X 15. Окуляр складається з двох лінз: верхньої, або очної, нижньої – збірної. Відстань між лінзами дорівнює півсумі із фокусних відстаней. Чим менша фокусна відстань, тим більше збільшення (збільшує окуляр), тому короткі окуляри сильніші, а довші – слабкіші. Окуляри з найменшим збільшенням позначають цифрами 1,2, а середні – 3, 4.

Найважливішою частиною мікроскопа є об'єктив, який являє собою систему лінз вміщених в оправу. Передня (фронтальна) лінза найменша є найголовнішою, вона збільшує об'єктив. Розміщені за нею лінзи називаються корекційними, вони призначені усунути дефекти оптичного зображення, яке вони дають, наприклад X 86, X 406, X 90.

Існують два типи об'єктивів: сухі і імерсійні.

Сухим називають об'єктив, між фронтальною лінзою якого і досліджуваним об'єктивом міститься повітря. При використанні цих об'єктивів не всі світлові промені попадають через об'єктив в око дослідника.

Імерсійна система об'єктивів дає можливість розглядати препарат завдяки тому, що між лінзою і досліджуваним об'єктивом встановлюється однорідне (гомогенне) середовище (скло препарату – олія – скло об'єктива з однаковим показником заломлення). Всі промені, не заломлюються і не змінюючи свого напрямку, попадають в об'єктив, цим досягається найкраще освітлення найдрібніших об'єктивів. При мікроскопії можуть бути використанні кедрова, вазелінова, рецинова олії.

Загальне збільшення мікроскопа дорівнює добутковій збільшення об'єктива на збільшення окуляра. Наприклад, при використанні окуляра X 10 і об'єктива X 90 збільшення буде в 900 разів.

Вітчизняна промисловість випускає біологічні мікроскопи різних моделей. Дуже зручними в роботі є біноклярні мікроскопи – МБІ-3, МБІ-4. В 1932 р. було винайдено електронний мікроскоп, в якому замість світлових променів використовується потік електронів. При електронній мікроскопії можна розглядати об'єкти, розмір яких у 50-100 раз менший, ніж у тих, які видно в звичайному мікроскопі. Нові електронні мікроскопи дають збільшення в 5 млн.разів.

## Завдання 2

Оволодіти технікою мікроскопіювання.

Мікроскоп поставити дзеркалом до джерела світла, щоб встановити освітлення. Револьвер переводять на об'єктив найменшого збільшення (X 8) і спостерігаючи в окуляр, ловлять дзеркалом джерело світла, щоб освітити поле зору.

Після наведення світла на предметний столик кладуть предметне скло з мазком і затискають його фіксаторами (клемами). Дивлячись з боку, за допомогою макрогвинта опускають об'єктив до нижнього його положення, щоб не робити предметне скло. Потім дивляться в окуляр, повільно піднімають макрогвинтом тубус доти, поки з'явиться зображення. Щоб чітко бачити досліджуваний об'єкт, роблять тонку наводку мікрогвинтом. Не зміщуючи рухомий предметний столик мікроскопа, розглядають досліджуваний об'єкт, при збільшенні об'єктива в X 40, а потім при імерсійній системі.

При вивченні незабарвлених препаратів слід опускати конденсатор. Обсяг предметів регулюється діафрагмою. Забарвлені препарати краще розглядати при зовсім відкритій діафрагмі, а незабарвлені – при звуженій.

Спеціальні методи мікроскопії.

Останнім часом у мікробіологічній практиці використовують не лише звичайні методи оптичної і електронної мікроскопії, але й спеціальні – в темному полі зору, фазовоконтрастний і люмінесцентний методи.

Мікроскопія в темному полі зору.

В темному полі зору мікроскопію проводять при бічному освітленні. Щоб мати бічне освітлення, звичайний конденсатор замінюють спеціальним параболоїд – конденсатором в якому центральна частина, нижньої лінзи затемнена, а бічна поверхня дзеркальна. Такий конденсатор затримує центральну частину рівнобіжного пучка променів, утворюючи темне поле зору. Промені попадають на бокову дзеркальну поверхню конденсатора, відбиваються і концентруються в її фокусі. Якщо на шляху променя будь-яких частинок, то він переломлюючись, падає на бічну дзеркальну поверхню, відбиваючись виходить з конденсатора. Якщо промінь на своєму шляху

зустрічає мікроби клітини, то світло в препараті відбивається від них і попадає на об'єктив. У цьому випадку мікробні клітини та інші досліджувані об'єкти яскраво світяться.

Джерелом штучного світла використовують освітлювач 0.1-7 або лампу 100-150 Вт., в металевому футлярі.

Щоб дістати рівнобіжні промені, користуються лише плоским дзеркалом. Досліджують матеріал сухою системою (об'єктив 40). Невелику краплю досліджуваного матеріалу кладуть на предметне скло (завтовшки 0.17 мм). На верхню лінзу конденсатора наносять краплю імерсійної олії, якою заповнюють простір між конденсатором і предметним склом. Якщо використовують імерсійну систему, тоді користуються спеціальним об'єктивом з діафрагмою, яка затримує промені, що проходять крізь гомогенну масу.

Мікроскопія в темному полі запроваджується, наприклад, для того, щоб знайти збудника лептоспірозу, а також вивчення рухливості мікробів.

Фазовоконтрастна мікроскопія ґрунтується на тому, що оптична довжина шляху світла в будь-якій речовині залежить від показника заломлення. Для фазовоконтрастної мікроскопії застосовують спеціальні об'єктиви ахромати (Ф 10, Ф 20, Ф 40 і олійну імерсію Ф 0190); фазовий конденсатор з револьвером і спеціальними діафрагмами для кожного об'єктива; допоміжний мікроскоп малого збільшення.

### Завдання 3

Засвоїти правила догляду за мікроскопом.

Догляд за мікроскопом. Після роботи імерсійну систему протирають серветкою, спочатку змоченою ксилолом або бензином, а потім сухою. Револьвер переводять на мале збільшення і між об'єктивом і столиком мікроскопа вміщують суху марлеву серветку. Конденсор злегка опускають. Мікроскоп ставлять під скляний ковпак або в спеціальний ящик чи шафу.

? Контрольні запитання.

1. З яких частин складається мікроскоп?
2. Яка найважливіша частина мікроскопа?
3. З яких частин складається механічна частина мікроскопа?
4. Для чого застосовується оптична частина?
5. Які існують спеціальні методи мікроскопії?
6. Які є типи об'єктивів?
7. Правила догляду за мікроскопом?

Інструктивна картка складена викладачем Мельник Т.В.