

# Mikroskopia

Diagnostické využitie

# Mikroskopia

- využíva možnosť
  - zväčšenia
  - rozlišovania (schopnosť odlíšenia dvoch subjektov oddelene a nie ako jeden)
- 3 typy – podľa spôsobu použitého na zviditeľnenie subjektov:
  - svetelná mikroskopia,
  - fluorescenčná mikroskopia,
  - elektrónová mikroskopia

# Mikroskop - svetelný

Zväčšenie: 2 systémy šošoviek sa používajú na zväčšenie obrazu vzorky – šošovky objektívu, šošovky okuláru

Šošovky objektívu: – x 10: zbežné prehliadnutie

– x 40: veľké mikroorganizmy (parazity a ich cysty a vajíčka, vláknité huby)

– x 100 s imerziou : baktérie, kvasinky, morfológické detaily veľkých mikroorganizmov

- Šošovky okuláru : obvykle x 10, x 25
- Celkové zväčšenie je súčinom oboch typov šošoviek.

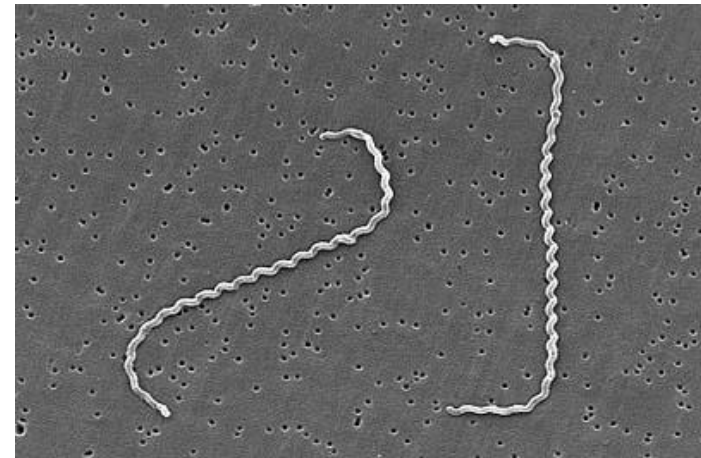
Rozlišovacia schopnosť: určená vlnovou dĺžkou svetla a uhlom pod ktorým vstupuje lúč svetla do šošovky objektívu – numerická apertúra. Svetelný mikroskop: 2  $\mu\text{m}$  – dolná hranica pre znázornenie baktérií.

# Svetelné mikroskopy

Index lomu svetla pozadia a baktérie je takmer rovnaký – zlé rozlíšenie - natívny preparát – živé baktérie (pohyblivosť, pučanie) - farbené preparáty (zvýšia kontrast medzi mikroorganizmom a pozadím) – lepšia rozlišovacia schopnosť + možnosť zobrazit' niektoré subcelulárne štruktúry

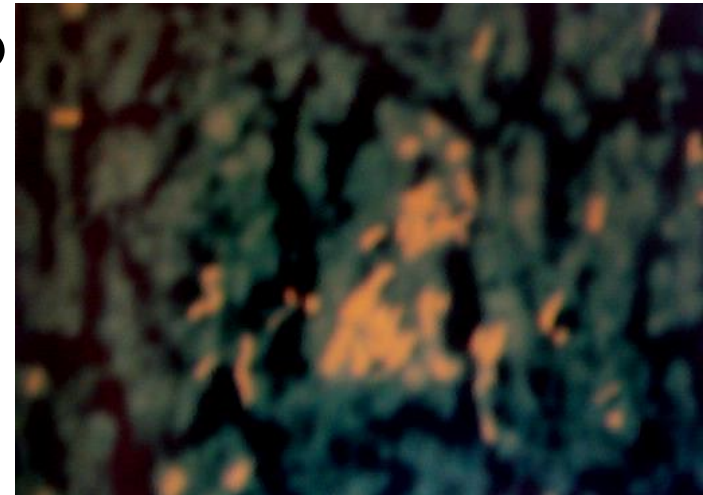
Mikroskopia v tmavom poli: vzorka je osvetlená lúčom nasmerovaným z periférie. ( $0,1\mu\text{m}$  –  $0,2\mu\text{m}$ ) – *Treponema, Borrelia, Leptospira*

Mikroskopia s fázovým kontrastom – filtrovací systém vizualizuje fázové rozdiely svetla po prechode objektami rôznej hustoty. Poskytuje 3 rozmerný obraz



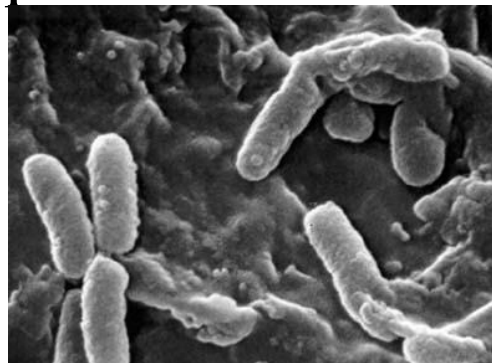
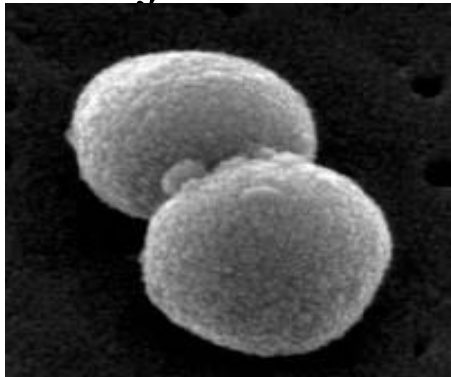
# Fluorescenčný mikroskop

- Používa ortuťovú vákuovú lampu, ktorá emituje svetlo kratších vlnových dĺžok v porovnaní so svetlom používaným v svetelnom mikroskope.
- Využívajú fluorochromy – zlúčeniny schopné absorbovať krátkovlnné ultrafialové alebo ultramodré svetlo a emitovať energiu vyšších vlnových dĺžok. Fluorochromy sa použijú na prípravu preparátu – fluorescenčné farbenie – ktorý po osvetlení krátkovlnným svetlom fluoreskuje
- Vysoká citlivosť – organizmus alebo štruktúra svieti (fluoreskuje) na tmavom pozadí



# Elektronový mikroskop

- Používa magnety – nie šošovky – na nasmerovanie lúča elektrónov cez vzorku na obrazovku. Tento proces používa o mnoho kratšie vlnové dĺžky svetla, zväčšenie a rozlišovacia schopnosť je mnohokrát lepšia.
- Znázornenie vírusov a subcelulárnych štruktúr
- 2 typy – transmisná – čiastočky prechádzajú priamo cez vzorku – skenovacia – čiastočky prechádzajú cez vzorku pod uhlom – 3 rozmerný obraz

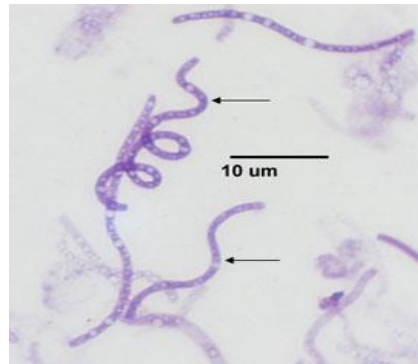
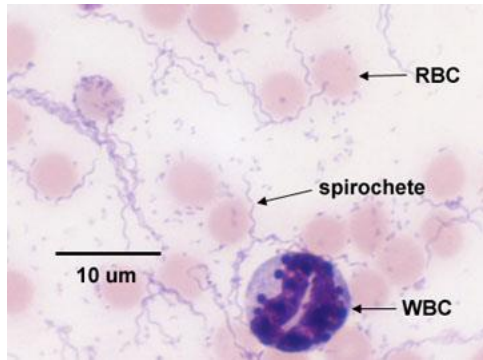
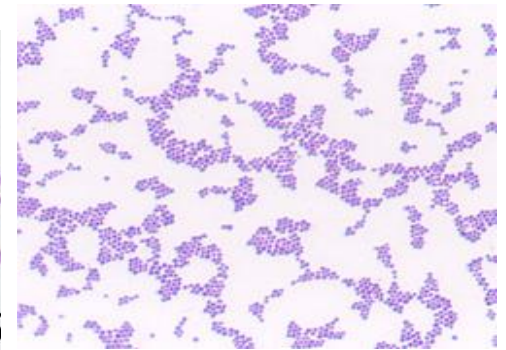
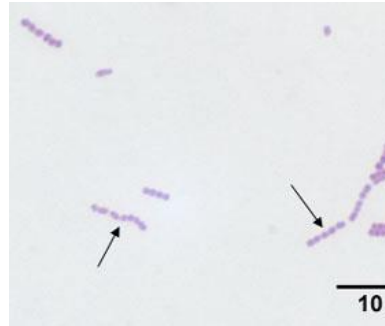
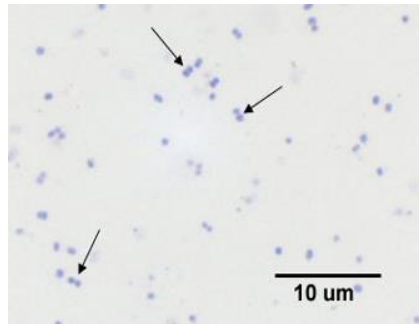
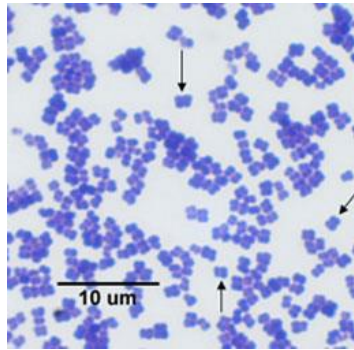


# Typy útvarov viditeľné v svetelnom mikroskope

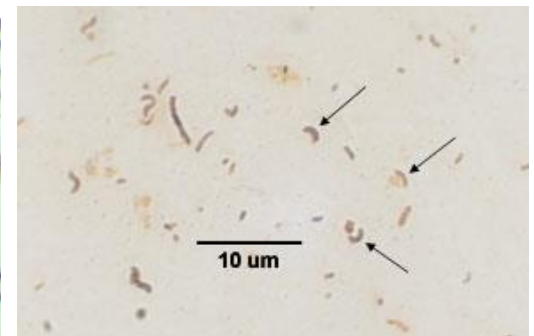
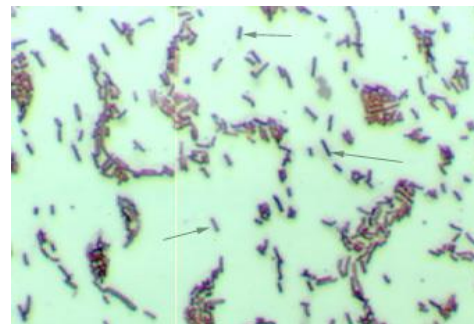
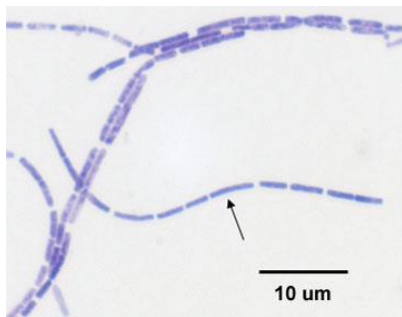


Rozvetvené vlákna, špirála, vibrio, hrubá palička, tetráda – štvorica kokov, stafylokoky – stravec kokov, streptokoky – retiazky kokov, diplokoky - dvojice kokov ( lancetovitý tvar – plameň a sviečka., kávové zrno), rôzne husté špirály u spirochét. *Leptospira interrogans* ?

# Zvýšenie rozlišovacej schopnosti farbením



Vibrio, paličky so spórmi, špirálovité vláknité baktérie, spirochéty, stafylokoky, streptobacily, streptokoky, tetrády, diplokoky,





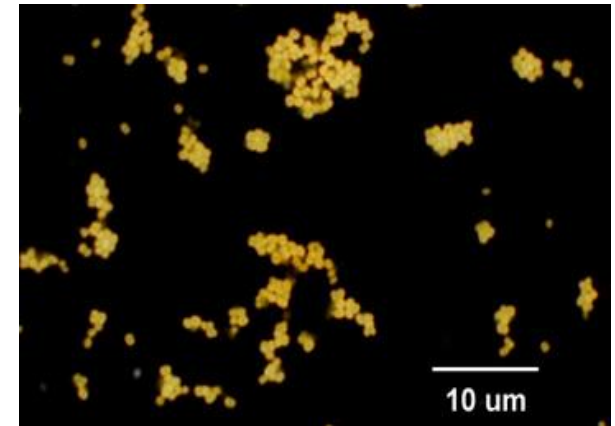
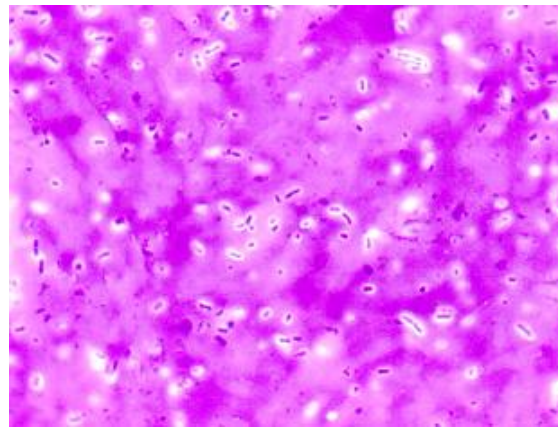
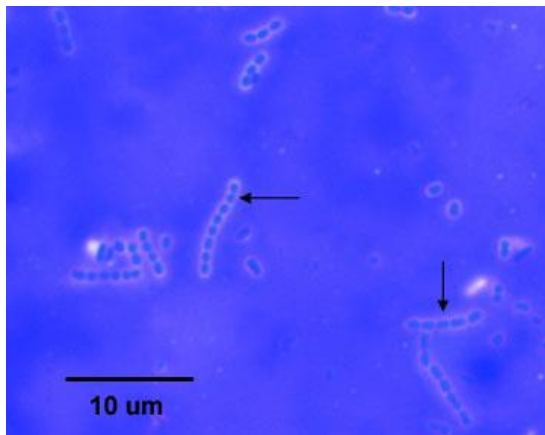
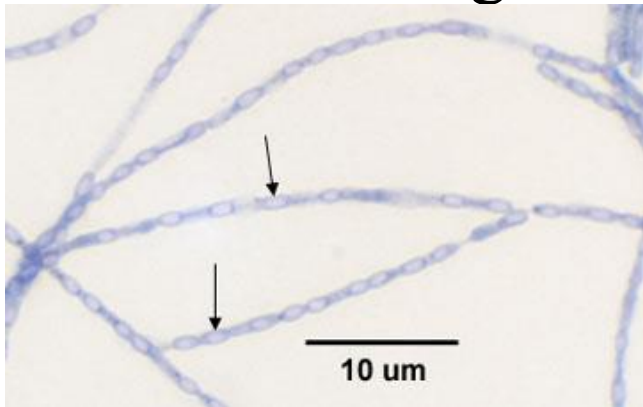
# Negatívne farbenie

zvýšenie kontrastu proti tmavému pozadiu

- Burriho metóda znázornenia púzdra,

- farbenie Gramovým farbením nefarbitel'ných štruktúr (spór)

– negatívne farbenie stafylokokov



# Možnosti znázornenia bakteriálnych spór

