



## EXAMENUL MICROSCOPIC

### I. Preparatul nativ (umed, între lamă și lamelă)

Permite studierea:

- mobilității germenilor
- morfologiei bacteriene

**Tehnica de lucru:** se realizează o suspensie de germeni vii între lamă și lamelă

Examinarea se face cu:

- microscopul optic, cu obiective uscate, condensator coborât.
- microscopul cu fond întunecat
- microscop cu contrast de fază

### II. Colorația negativă (metoda Burri)

Permite studierea:

- germenilor greu colorabili (*Leptospira*, *Treponema*)
- germenilor cu capsulă (*Klebsiella*, *S. pneumoniae*) Coloranți: suspensii coloidale (colargol, tuș de China, tuș de India)

**Tehnica de lucru:**

- germenii se suspensionează într-o picătură de colorant, care se întinde cu o altă lamă pe toată lama
- uscare la temperatura camerei
- examinare: cu microscopul optic, cu imersie. Se colorează fondul preparatului, bacteriile rămân necolorate

### III. Preparate colorate

Permit studierea:

- morfologiei germenilor
- dispoziției germenilor
- afinității tinctoriale (colorabilitatea)

**Baza preparatelor colorate constă în efectuarea unui frotiu.**

**Etapele realizării frotiurilor:**

- etalarea – întinderea pp. pe lamă (să nu atingă marginile)
- uscarea la temperatura camerei
- fixarea (la flacără sau chimică) – se denaturează proteinele bacteriene -> moartea microbilor; asigură adeziunea preparatului de lamă.



Tipuri de preparate colorate:


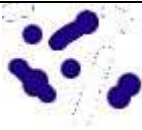

### 1. colorații simple

- se folosește un singur colorant (1-2 min)
- înlăturarea colorantului în exces
- spălare, uscare
- examinare la microscop cu **obiectiv de imersie**

### 2. colorații compuse

#### a. Colorația Gram

- Diferențiază bacteriile Gram pozitive (colorate în albastru-violet) de cele negative (colorate în roșu)

Etape	Gram +	Gram -	
colorare cu violet de gențiana 2 min.	albastru	albastru	
mordantare (lugol) 2 min.			
spălare cu apă de robinet			
decolorare cu alcool 96°	albastru	decolorate	
spălare cu apă de robinet			
recolorare fuxină 2 min.	albastru	roșu	
spălare cu apă de robinet			
uscare			
examinare la microscop cu <b>obiectiv de imersie</b>			




Exemple de bacterii Gram pozitive și Gram negative:

	Gram +	Gram -
coci	Staphylococcus spp, Streptococcus spp.	Neisseria spp.
cocobacili	<i>S. pneumoniae</i> , Enterococcus spp.	Klebsiella spp., Haemophilus spp., Acinetobacter spp.
bacili	Clostridium spp., Bacillus spp., Corynebacterium spp.	<i>E. coli</i> , Salmonella spp., Shigella spp., Proteus spp. , Pseudomonas spp.



**b. colorația Ziehl-Neelsen**

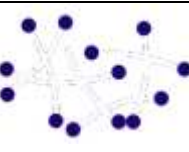
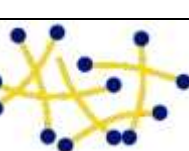
- Se utilizează pentru evidențierea germenilor acido-alcool-rezistenți (BAAR); ex: *Mycobacterium tuberculosis*
- pe fondul albastru al frotiului se observă bacili acido-alcool-rezistenți

Etape	
colorare cu fucsina fenicată (carbol fucsina) 2 min	
spălare	
decolorare: alcool acid 3x 1 min	
spălare	
recolorare cu albastru de metilen 4 min	
spălare, uscare	
examinare la microscop cu <b>obiectiv de imersie</b>	

**3. Colorații speciale**

**a. Colorația Neisser**

- Se evidențiază corpusculii metacromatici Babeș-Ernst la *Corynebacterium* spp.
- Se observă bacili cu corp bacterian colorat în galben, cu corpusculi colorați albastru și cu dispoziție caracteristică

Etape	
colorare cu amestec de coloranți preparat extemporaneu timp de 8 - 10 minute <ul style="list-style-type: none"> <li>• 2 părți colorant Neisser A (albastru de metilen)</li> <li>• 1 parte colorant Neisser B (cristal violet)</li> </ul>	
spălare cu apă distilată	
colorare cu crizoidină 5 -10 secunde	
uscare fără spălare	
examinare la microscop cu <b>obiectiv de imersie</b>	