



Kỹ thuật vi sinh



CHƯƠNG 2

Phương pháp phân lập và thuần khiết vi sinh vật mục tiêu

Phân lập vi sinh vật

- **Phân lập vi sinh vật là gì?**

- ❑ Là quá trình tách riêng các loài vi sinh vật từ quần thể ban đầu và đưa về dạng thuần khiết.
- ❑ Vi sinh vật ở dạng thuần khiết là giống vi sinh vật được tạo ra từ 1 tế bào ban đầu.

- **Vì sao phải phân lập vi sinh vật?**

- ❖ Trong thiên nhiên hoặc trong các vật phẩm nghiên cứu, vi sinh vật thường tồn tại ở dạng hỗn hợp gồm nhiều loài khác nhau.
- ❖ Muốn nghiên cứu về hình thái, sinh lý, lý hoá hoặc sử dụng vào thực tiễn một loài nào đó thì cần phải đưa chúng về dạng thuần khiết.

Các nội dung chính của phân lập VSV

- Nguồn phân lập
- Thu mẫu, xử lý mẫu
- Môi trường nuôi cấy phân lập
- Các phương pháp phân lập
- Điều kiện nuôi cấy

Nguồn phân lập

rất đa dạng

Mục tiêu



Nguồn phân lập

- VSV đặc thù cho sinh thái vùng
- Tìm loài mới, độc đáo
- Thu nhận enzyme
- Sản phẩm thứ cấp

Nguồn phân lập

rất đa dạng

Thu mẫu gì?

Mẫu đất, nước, rễ cây, hoa quả, u sần trên lá, ruột côn trùng, san hô,...

Ở đâu?

- Rừng nguyên sinh,
- Thủy vực ô nhiễm (Fe, S,...)
- Điều kiện cực đoan: t° lạnh, t° nóng, pH acid
- Mẫu bệnh phẩm,...

Thu mẫu, xử lý mẫu

- **Dụng cụ, thiết bị lấy mẫu:** phù hợp với từng loại mẫu, không làm nhiễm bẩn và ảnh hưởng đến mẫu khi lấy
- **Dụng cụ chứa, bảo quản mẫu:** phù hợp với từng loại mẫu, không làm nhiễm bẩn và ảnh hưởng đến mẫu bảo quản, túi nilong, can, chai, lọ, hộp,...



Thiết bị lấy
mẫu **nước**



Thiết bị dao vòng
lấy mẫu **đất**

Thu mẫu, xử lý mẫu

- **Các thông số cần thiết khi lấy mẫu:** Tên mẫu, địa chỉ, kinh độ, vĩ độ, ngày lấy mẫu, tình trạng lấy mẫu, điều kiện thời tiết, nhiệt độ lúc lấy mẫu, người lấy mẫu,...
- **Bảo quản mẫu:** đảm bảo đúng điều kiện bảo quản mẫu, không làm hư hỏng, tạp nhiễm,...
- **Tiền xử lý mẫu:** loại bỏ những thành phần không mong muốn
phơi, phá vỡ keo đất,...
- **Đồng nhất mẫu:** trộn nhiều mẫu, nghiền, giã,...

Lấy mẫu phân lập nấm mốc

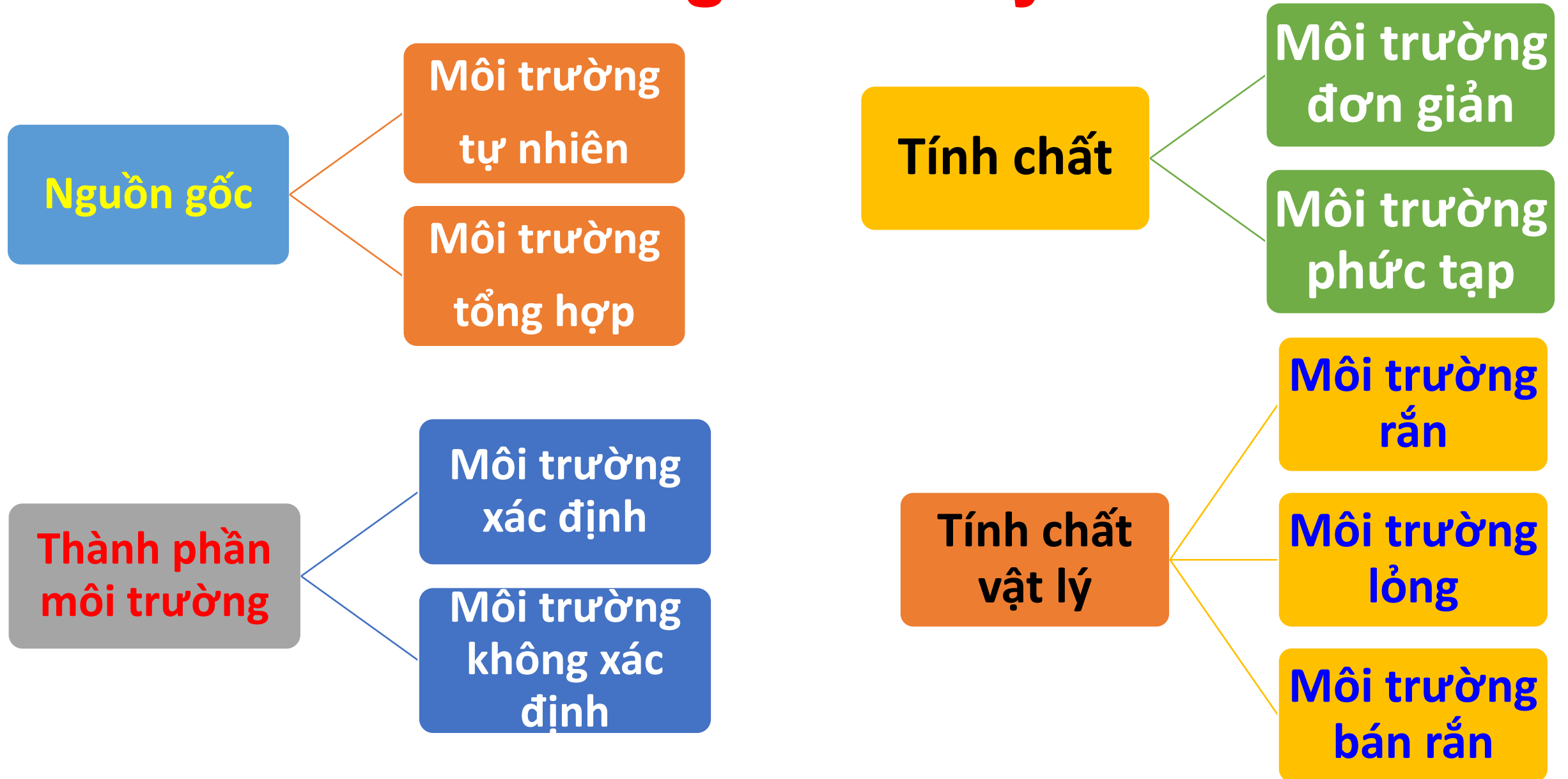
- **Phân lập nấm từ đất:** Khi lấy mẫu đất phân lập nấm mốc ta gạt bỏ lớp lá mục để lộ bề mặt lớp đất và dùng thìa sạch lấy phần đất bề mặt đó cho vào túi ni long, ghi các thông số cần thiết về nơi lấy mẫu
- **Phân lập nấm ưa nước:** nên lấy mẫu nước ngọt và lá rơi ở những ổ sinh thái nước, chẳng hạn như ở sông, suối, ao hồ. Đặc biệt nấm ưa nước dễ dàng bị mắc vào những khúc gỗ mục
- **Để phân lập nấm ưa mặn:** có thể lấy mẫu từ các cạnh củi mục, thực vật ưa mặn, thực vật ven biển, từ cát ở bãi biển và từ nước biển, đặc biệt là bọt biển

Môi trường phân lập

Công thức chung cho môi trường nuôi cấy

- Nguồn Carbon
- Nguồn Nito
- Nguồn khoáng
 - + Đa lượng: C, H, O, N, P, S (chính),
K, Ca, Mg, Fe (phụ)
 - + Vi lượng: Mn, Zn, Co, Mo, Ni, Cu
- Yếu tố tăng trưởng: vitamin, aa, purine

Môi trường nuôi cấy VSV



Môi trường phân lập

Phân nhóm

1. Môi trường phổ quát (General purpose)
2. Môi trường làm giàu (enrichment media)
3. Môi trường chọn lọc (Selective media)
4. Môi trường nhận diện (Differential media)

Môi trường phân lập

1. Môi trường phổ quát (General purpose)

⑩ Môi trường thích hợp cho nhóm VSV: vi khuẩn, xạ khuẩn, nấm mốc, nấm men,...

Ví dụ:

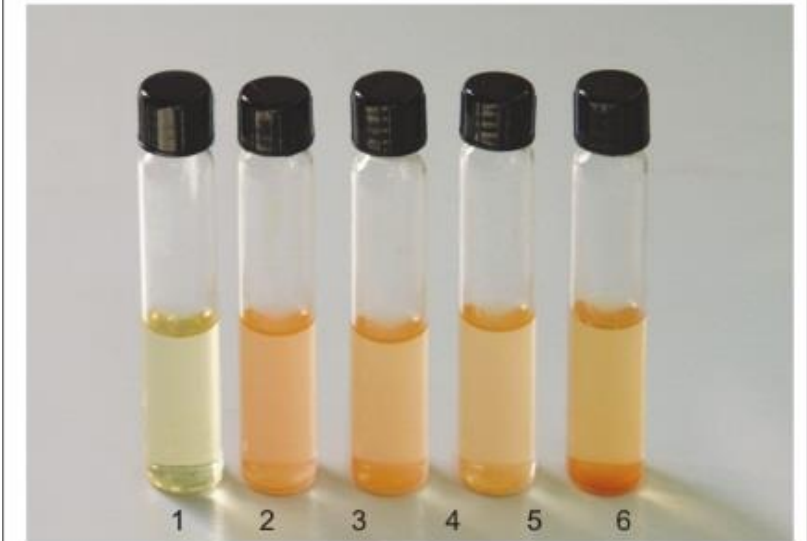
➤ Môi trường **Nutrient Agar** thích hợp cho hầu hết vi khuẩn

- Thành phần gồm nguồn carbon, nito hữu cơ, vitamin
- Các thành phần tự nhiên khác không xác định như peptone, cao nấm men,...

Môi trường phân lập

2. Môi trường làm giàu (Enrichment media)

- *Môi trường dịch thể nhằm làm tăng số lượng (tạo ưu thế tăng trưởng) cho đối tượng VSV mục tiêu, hạn chế đối tượng khác*
- **Môi trường Tetrathionate broth, Selenite Broth:**
tăng sinh chọn lọc *Salmonella*



**Fluid Selenite Cystine Medium
(Selenite Cystine Medium) (Twin Pack)
M025**

1. Control
2. *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028
3. *Salmonella* Choleraesuis ATCC 12011
4. *Salmonella* Typhi ATCC 6539
5. *Escherichia coli* ATCC 25922

Môi trường phân lập

3. Môi trường chọn lọc (Selective media):

- Môi trường rắn thích hợp cho sự tăng trưởng của đối tượng này nhưng hạn chế sự tăng trưởng của đối tượng khác

➤ **Môi trường khuyết thành phần:** môi trường vô đạm nhằm chọn lọc vi khuẩn cố định đạm tự do

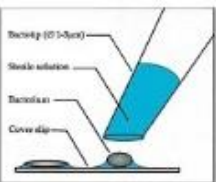
➤ **Môi trường chọn lọc do độc tính** (Selective toxicity): Bile salts chọn lọc cho Enterobacteriaceae

Môi trường phân lập

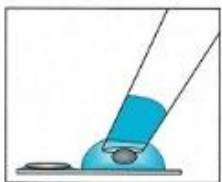
4. Môi trường nhận diện (Differential media)

- *Làm hiện ra các đặc tính đặc trưng của 1 nhóm cho phép phân biệt với nhóm khác*
- Môi trường **Mac Conkey's** gồm có peptone, lactose, agar, đỏ trung tính giúp nhận diện khả năng lên men lactose và khuẩn lạc có màu hồng

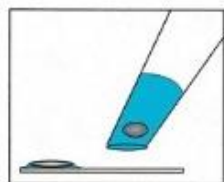




1. Spread bacterial culture on a cover slip

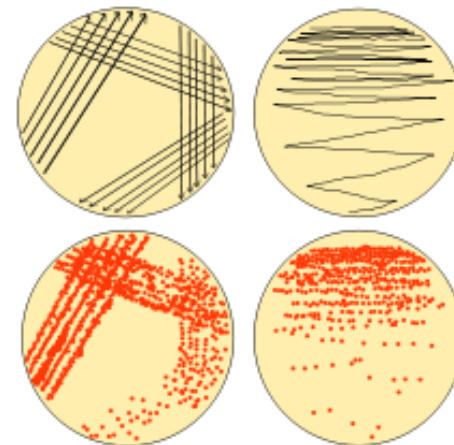


2. Resuspend bacterium using sterile solution



3. Aspirate suspended cell

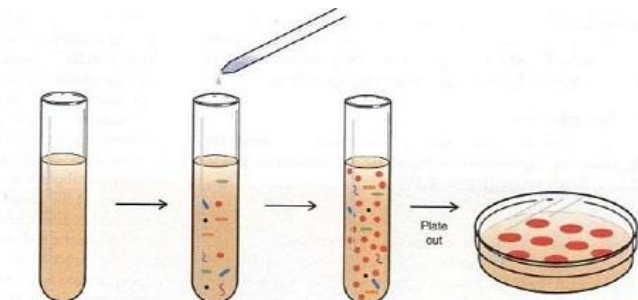
Phương pháp ria trên đĩa thạch



Phương pháp vi thao tác

PHƯƠNG PHÁP PHÂN LẬP

Phương pháp pha loãng trải



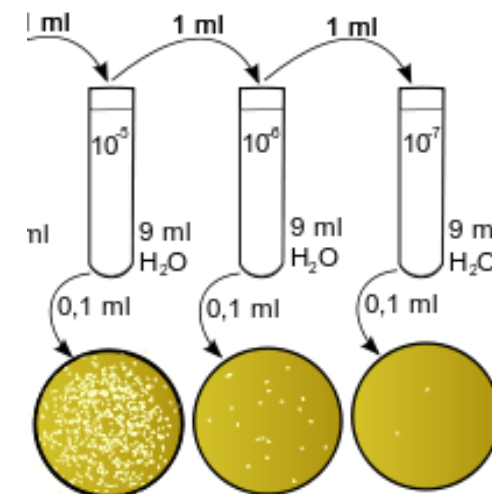
Medium contains select nutrient sources chosen because few bacteria, other than the organism of interest, can use them.

Sample that contains a wide variety of organisms, including the organism of interest, is added to the medium.

Organism of interest can multiply, whereas most others cannot.

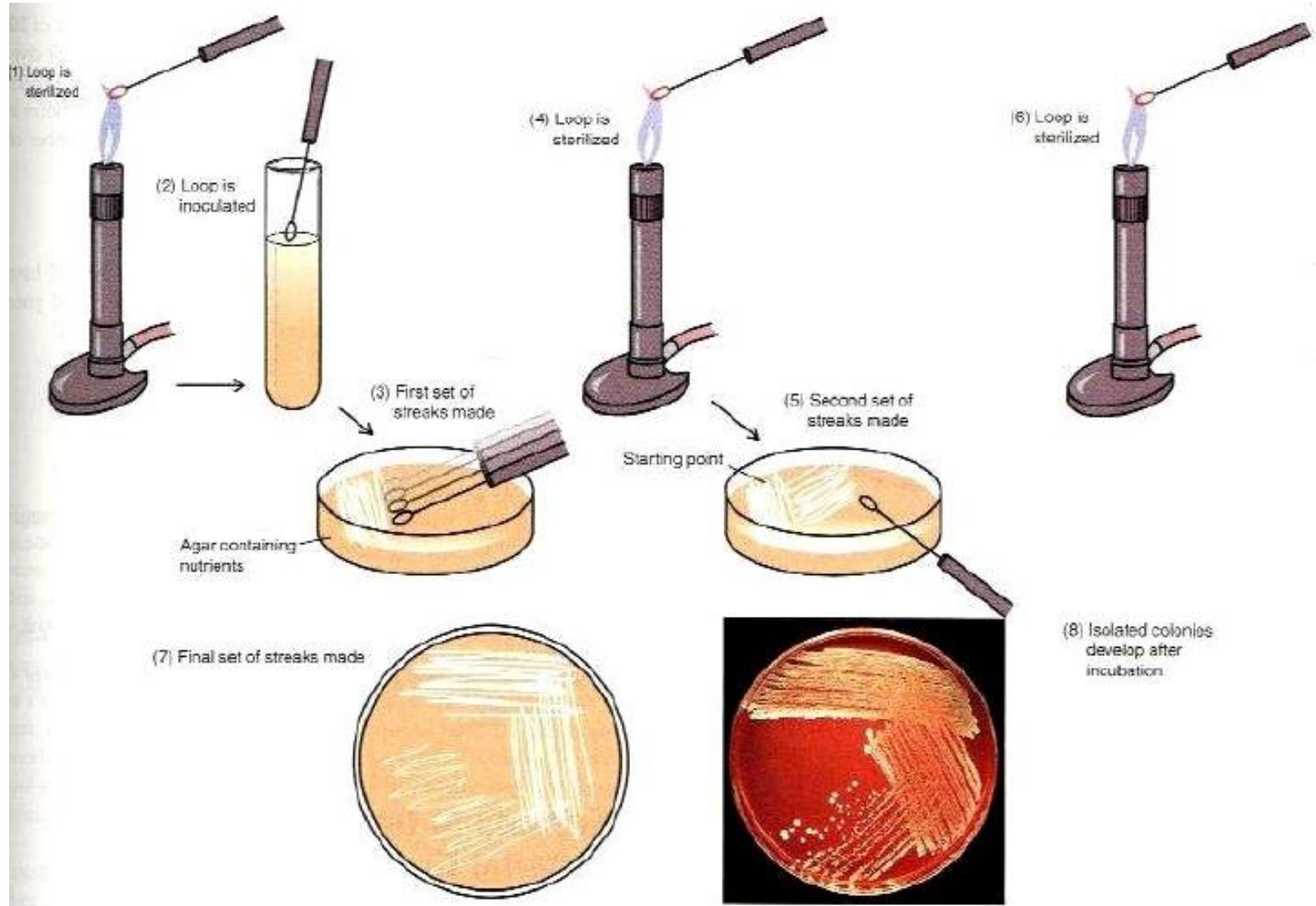
Enriched sample is plated onto appropriate agar medium. A pure culture is obtained by selecting a single colony of the organism of interest.

Phương pháp nuôi tăng sinh



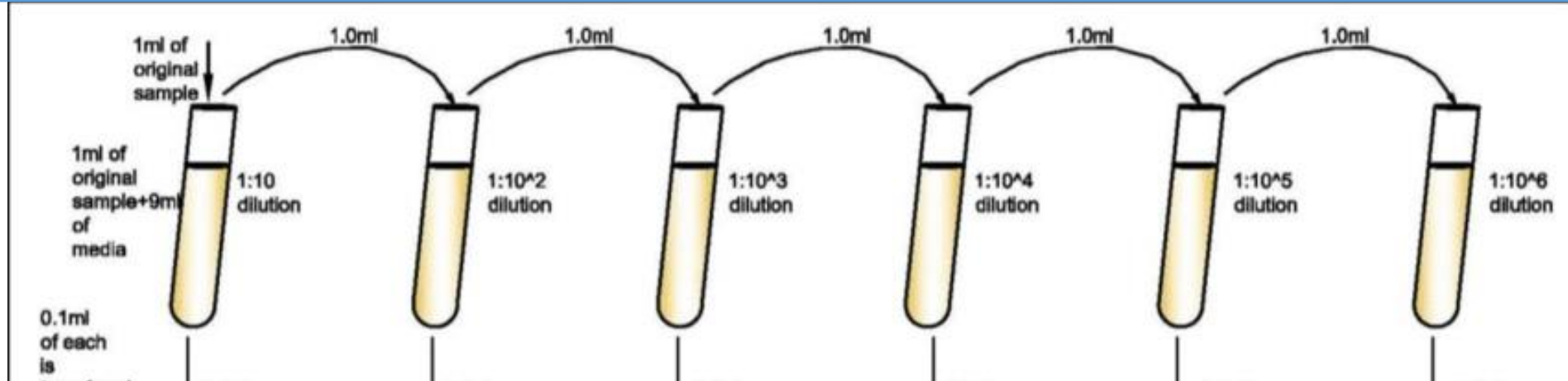
Phương pháp ria trên đĩa thạch

Streak plate method

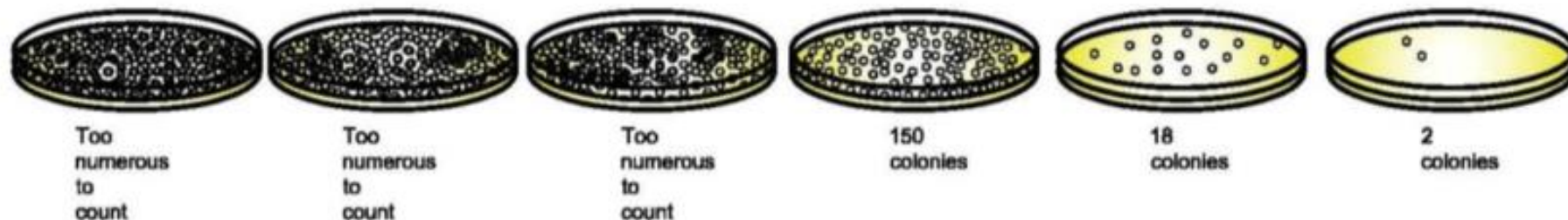
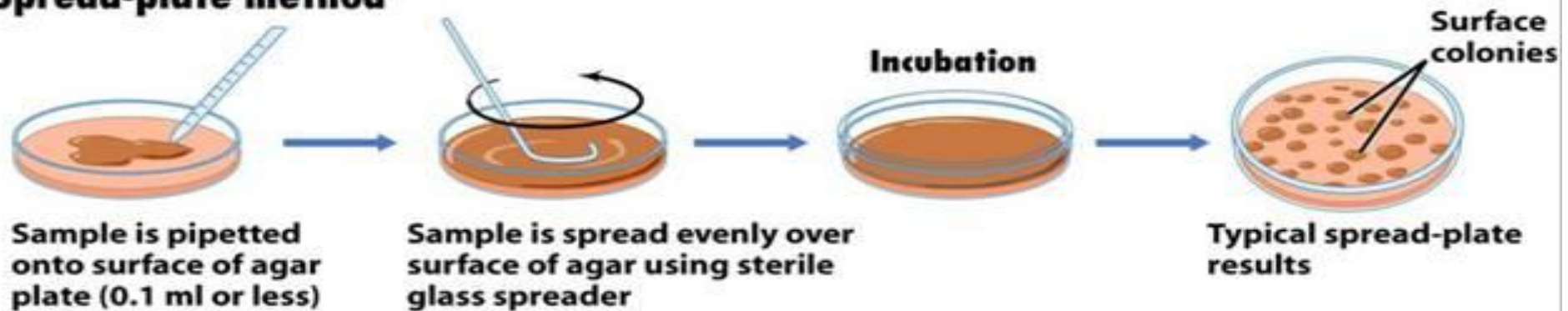


Phương pháp pha loãng trải

Serial Dilution Method

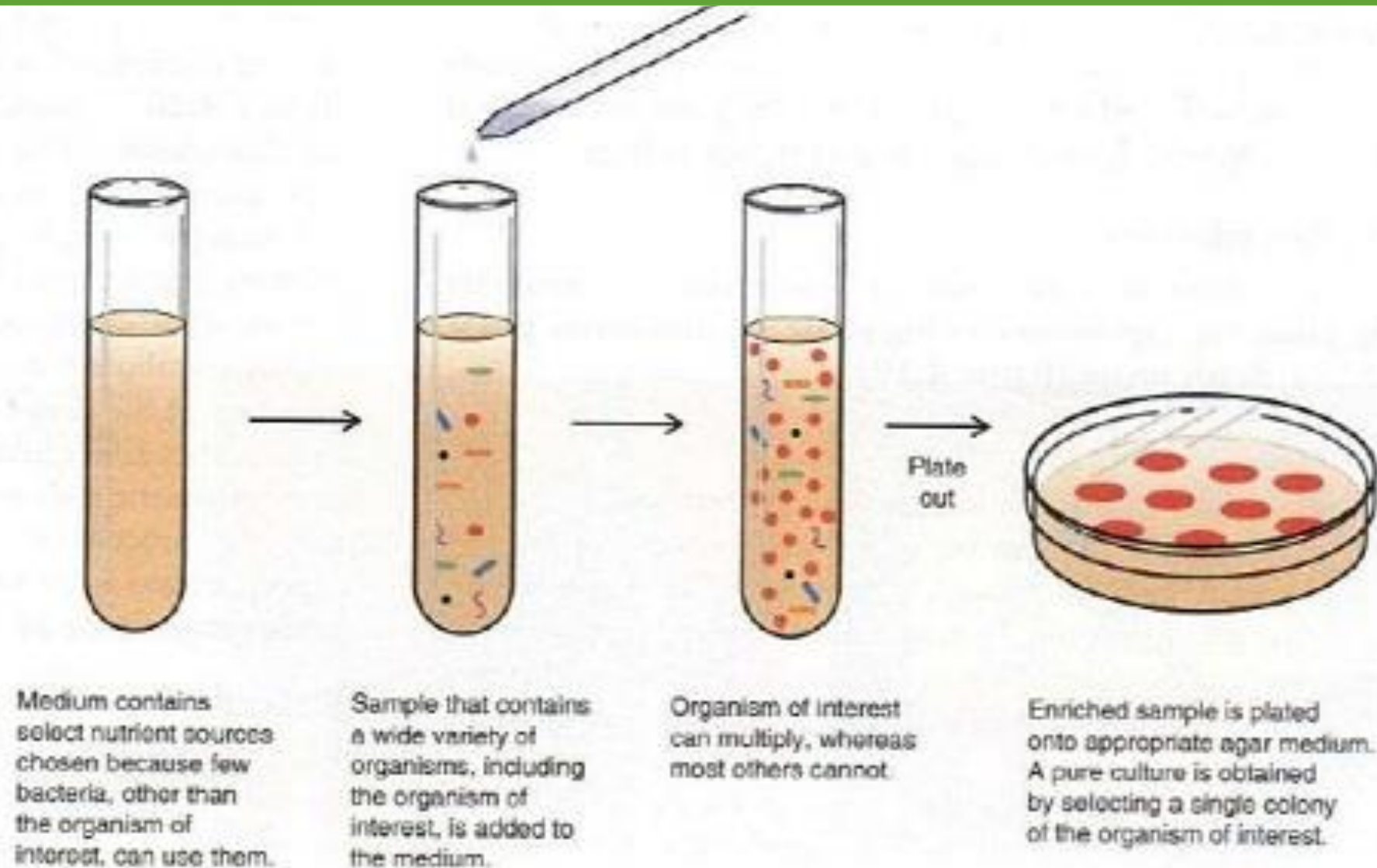


Spread-plate method



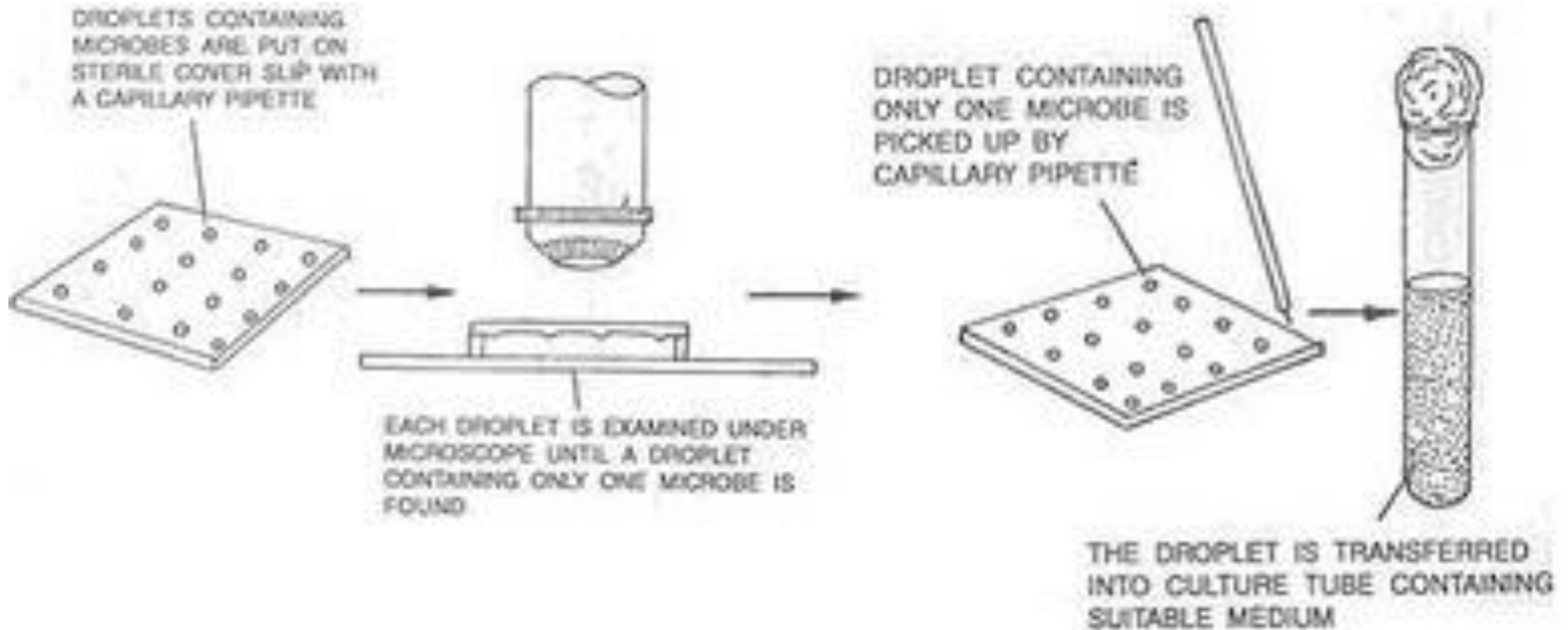
Phương pháp nuôi tăng sinh

Enrichment Culture Method



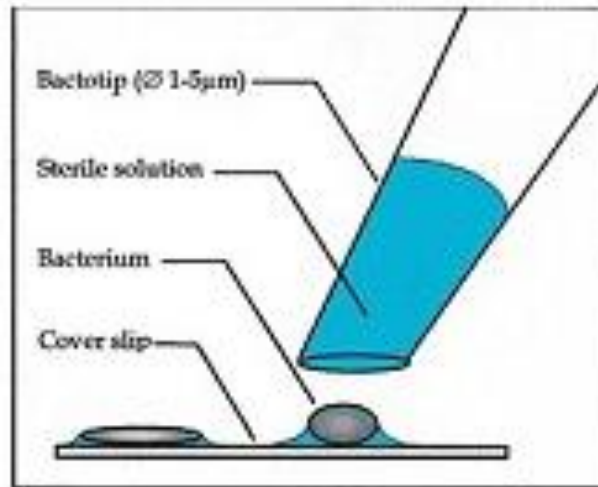
Phương pháp vi thao tác

Capillary pipette method

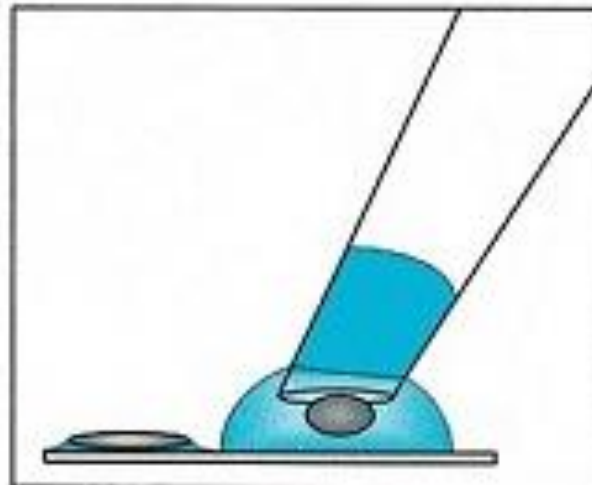


Phương pháp vi thao tác

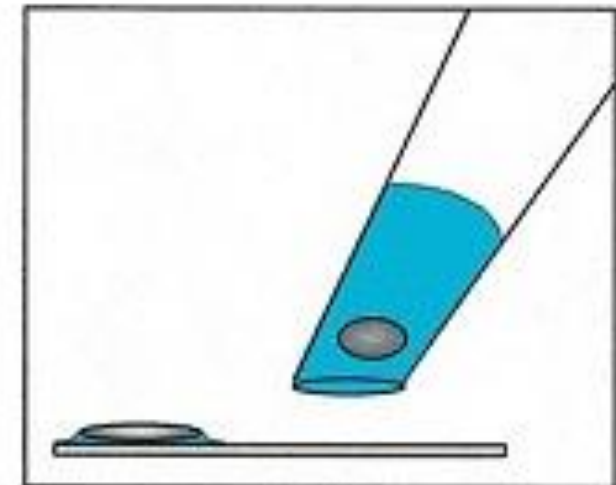
Micromanipulator method



1. Spread bacterial culture on a cover slip



2. Resuspend bacterium using sterile solution



3. Aspirate suspended cell

Chuẩn bị môi trường nuôi cấy

- *Môi trường dùng để phân lập, nhân giống, giữ giống vi sinh vật, đồng thời để nuôi cấy và nghiên cứu các đặc điểm sinh học.*

Nguyên tắc pha chế môi trường

- ❑- Dựa trên cơ sở nhu cầu về các chất dinh dưỡng và khả năng đồng hoá các chất dinh dưỡng của từng loại sinh vật.
- ❑- Để đảm bảo sự cân bằng về áp suất thẩm thấu giữa môi trường và tế bào vi sinh vật nên cần điều chỉnh tỷ lệ và nồng độ các chất trong thành phần môi trường.
- ❑- Đảm bảo các điều kiện hoá lý cần thiết cho các hoạt động trao đổi chất của vi sinh vật.

Điều kiện nuôi cấy

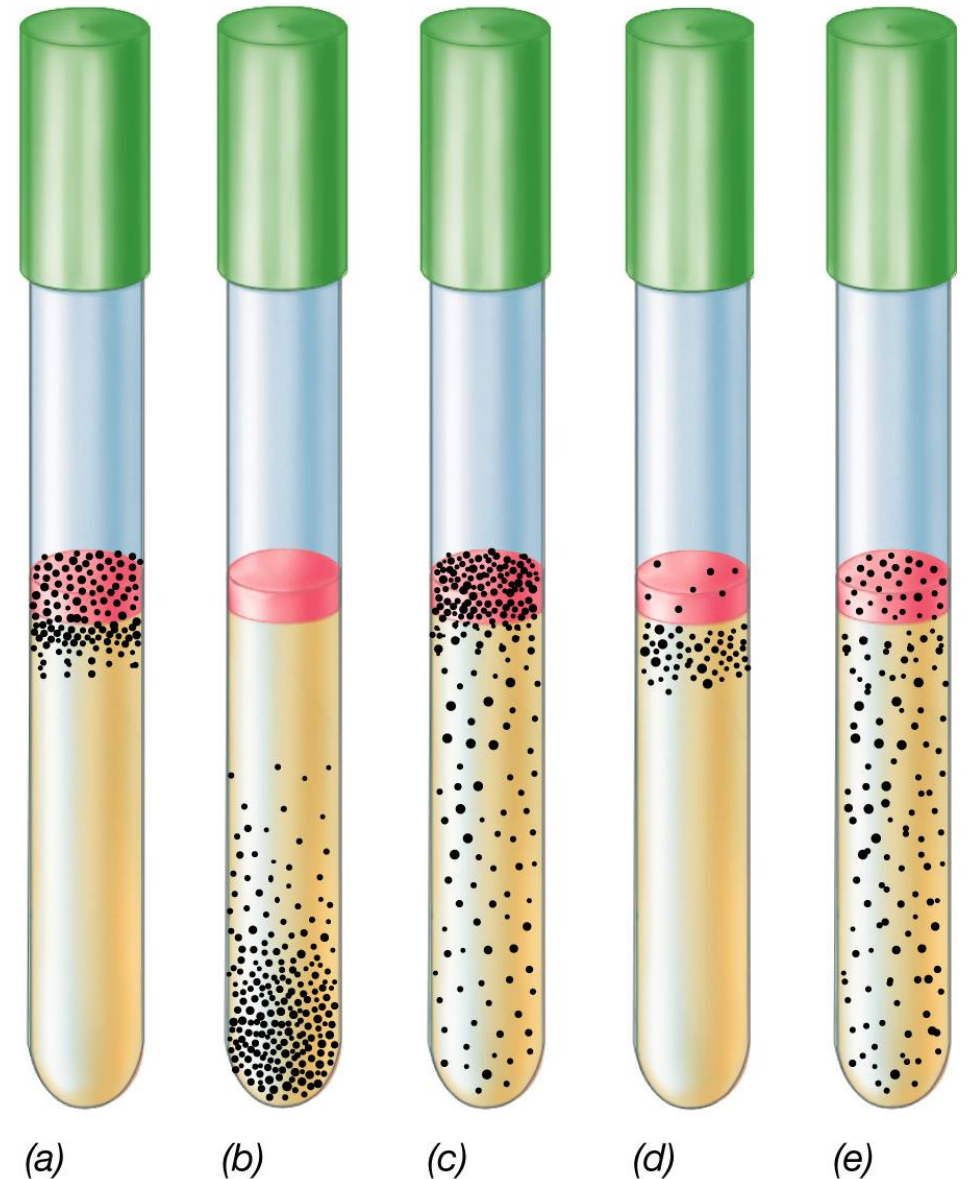
Hai điều kiện nuôi cấy điển hình

- **Hiếu khí**

- Nuôi cấy bề mặt (trên thạch)
- Nuôi cấy lỏng với hệ thống lắc

- **Kỵ khí**

- Môi trường có chất khử (**reduced substance**)
- Bình kỵ khí (**Candle Jar, Gas-pak**)
- Nuôi lỏng sâu (**deep-culture**)



Điều kiện nuôi cấy

- **Đối với vi sinh vật hiếu khí:**

- + Cung cấp thường xuyên và đầy đủ O_2 .
- + Lớp môi trường nuôi cấy có độ dày vừa phải.
- + Các bình chứa môi trường được lắc thường xuyên trong quá trình nuôi để cung cấp thêm oxi cho vi sinh vật.
- + Nếu nuôi cấy trong môi trường có khối lượng lớn phải tiến hành sục khí thường xuyên hay định kỳ.

- **Đối với vi sinh vật kỵ khí:** Hạn chế sự tiếp xúc với oxi bằng cách

- + Đổ lên bề mặt môi trường parafin, dầu vazơlin;
- + Cấy sâu vào môi trường đặc.
- + Nuôi cấy trong bình hút chân không. Nuôi trong ống nghiệm đặc biệt sau khi rút hết không khí và hàn kín lại.

Điều kiện nuôi cấy

- **Nhiệt độ:** Tùy loài vi sinh vật khác nhau, chọn nhiệt độ tối thích cho sự phát triển của chúng và duy trì sự ổn định nhiệt độ đó.
- **Độ ẩm:** Để duy trì độ ẩm trong quá trình nuôi cấy:
 - + Đảm bảo đủ lượng nước khi làm môi trường.
 - + Trong điều kiện cần thiết có thể phun nước vô khuẩn vào phòng nuôi hoặc để nước bốc hơi trong tủ ẩm.

Làm thuần vi sinh vật

- quan sát các khuẩn lạc này từ các phía (từ trên xuống, từ bên cạnh), chú ý về kích thước, hình dạng khuẩn lạc, hình dạng mép, bề mặt, độ dày, có núm hay không, độ trong, màu sắc (trên, dưới, có khuếch tán ra môi trường hay không)

Chọn khuẩn lạc riêng lẻ, điển hình của vi sinh vật mục tiêu để cấy chuyển vào môi trường thích hợp

Đặt các đĩa petri trên vào tủ ấm với nhiệt độ và thời gian thích hợp
Sau lấy ra quan sát các khuẩn lạc riêng rẽ. Sự thuần khiết của khuẩn lạc là biểu hiện sự thuần khiết của giống.

Cấy chuyển nhiều lần để có được những đơn vị khuẩn lạc thuần khiết

Một số hình dạng khuẩn lạc



Tròn



Không có hình dạng xác định



Có nhiều sợi nhỏ



Dạng chấm điểm



Phẳng



Nổi



Nhô cao



Lõm giữa



Dạng đống



Trơn láng



Gợn sóng



Phân thùy



Răng cưa



Nhiều sợi nhỏ



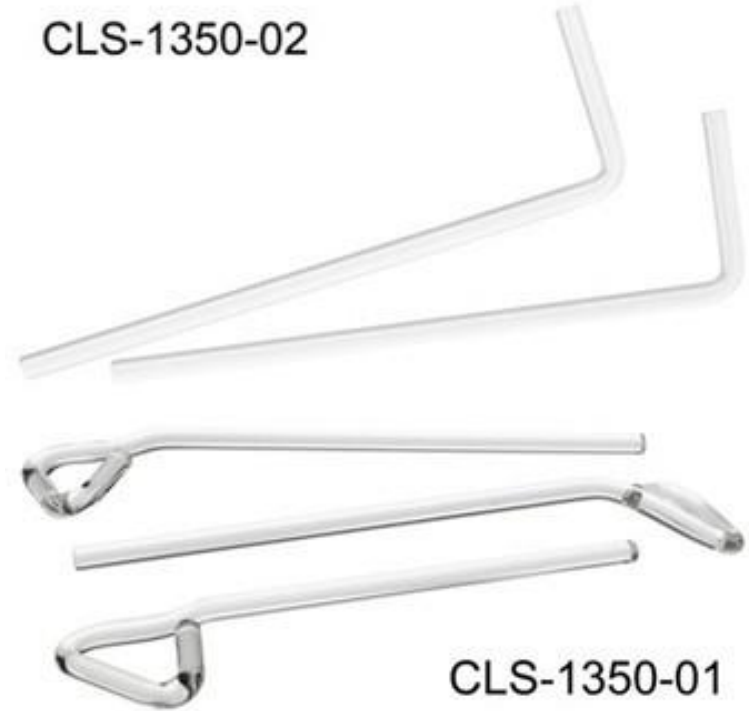
Gợn sóng

Một số hình dạng khuẩn lạc mọc trên môi trường rắn: hàng 1 (nhìn từ trên xuống), hàng 2 (nhìn ngang), hàng 3 (dạng rìa khuẩn lạc)

Các loại que cấy vi sinh



CLS-1350-02



CLS-1350-01



G17

Các phương pháp bảo quản vi sinh vật

- ❑ Giữ giống vi sinh vật trên thạch
- ❑ Giữ giống trên môi trường thạch dưới lớp dầu khoáng
- ❑ Giữ giống trong đất, cát hoặc hạt
- ❑ Phương pháp lạnh đông và đông khô

Phiếu thông tin về chủng vi sinh vật bảo quản

Đại học Quốc gia Hà Nội

Trung tâm Công nghệ Sinh học

Bảo tàng Giống chuẩn vi sinh vật (VTCC)

Thông tin chung về

chủng vi sinh vật bảo quản

1. Nấm sợi ☐ Nấm men ☐ Xạ khuẩn ☐ Vi khuẩn ☐

2. Tên khoa học:

Giống (Genus)

Loài (Species)

Dưới loài (Subspecies)

Tên khác nếu có (synnonym):

3. Nguồn phân lập:

Nơi phân lập:

4. Thời gian bắt đầu bảo quản tại VTCC:

5. Người phân lập:

6. Người cung cấp:

Nơi cung cấp:

7. Ký hiệu chủng VTCC:

8. Ký hiệu là lý lịch chủng từ các bảo tàng khác:

9. Chủng chuẩn (Type) ☐ Chủng tự nhiên (wild) ☐ Đột biến (cụ thể...) ☐

10. Hình thức sinh sản:

11. Gây bệnh cho: Người ☐ Động vật ☐ Thực vật ☐ Không ☐

12. Dấu chuẩn di truyền (nếu có):

13. Hình thái tế bào, khuẩn lạc:

14. Khả năng ứng dụng:

15. Tài liệu liên quan:

16. Các phương pháp bảo quản:

Đông khô☐

Lạnh sâu☐

Nitơ lỏng☐

Cấy truyền☐

17. Môi trường nuôi cấy thích hợp:

18. Nhiệt độ nuôi cấy thích hợp:

19. Ghi chú:

Giữ giống vi sinh vật trên thạch

- ❖ Các chủng vi sinh vật được cấy trên môi trường thích hợp trong ống nghiệm và để trong điều kiện thích hợp cho vi sinh vật phát triển.
- ❖ Sau đó các chủng vi sinh vật này được chuyển đến nơi bảo quản có nhiệt độ thích hợp.
- ❖ Quá trình này được lặp lại trong một thời hạn nhất định, đảm bảo chủng vi sinh vật luôn được chuyển đến môi trường mới trước khi già và chết.



Nhược điểm của giữ giống vi sinh vật trên thạch

- - Dễ bị tạp nhiễm và dễ dẫn đến mất chủng giống gốc.
- - Mất hay nhầm lẫn nhãn hiệu giữ các chủng trong quá trình bảo quản.
- - Phải nghiên cứu và theo dõi thời gian cây chuyển thích hợp đối với các chủng bảo quản.
- - Tốn nhiều công sức để cấy chuyển.
- - Giống gốc có thể mất do sai sót khi dùng môi trường cấy chuyển không thích hợp.
- - Chủng vi sinh vật cấy chuyển dễ bị thay đổi các đặc điểm sinh học do đột biến xuất hiện sau mỗi lần cấy truyền.

Giữ giống trên môi trường thạch dưới lớp dầu khoáng

- Do Lumiere và Chevrotier tìm ra năm 1914
- Lớp dầu khoáng (parafin, vazolin, các chất keo sinh học,...)
- **Chủng bảo quản được nuôi cấy trong môi trường thạch dinh dưỡng cho chúng phát triển rồi đổ vào ống nghiệm giữ giống một lớp dầu khoáng vô trùng dày 1-2 cm**
- Gắn kín nút bông bằng parafin đặc
- Lưu giữ ở nhiệt độ phòng hoặc 4-7 độ C
- Thời gian bảo quản có thể được vài năm

Giữ giống trên môi trường thạch dưới lớp dầu khoáng

- Phương pháp này áp dụng rộng rãi cho nhiều đối tượng VSV:

- 73% chủng nấm mốc

- 100% chủng xạ khuẩn

- 80% chủng nấm men

- 74% chủng vi khuẩn

Giữ giống trong đất, cát hoặc hạt

- Bào tử của VSV có khả năng sống ở những điều kiện khô hạn kéo dài
- Ứng dụng đất, cát,... là môi trường nghèo dinh dưỡng để bảo quản bào tử VSV
- Đất, cát, hạt được làm sạch, rây để thu những hạt nhỏ và được sấy tiệt trùng
- Đổ cát có bào tử (đất có bào tử) vào ống nghiệm
- Bảo quản không bị ướt, vón cục
- Giữ ở nhiệt độ phòng hoặc 4-6 độ C

Phương pháp đông khô

- Đông khô là quá trình mà nước được lấy ra khỏi mẫu khi các mẫu đang ở trạng thái lạnh sâu.
- Vi sinh vật được huyền phù trong môi trường thích hợp và được làm lạnh trong môi trường chân không.
- Thiết bị đông khô sẽ hút nước và cuối cùng mẫu được làm khô đến mức nhất định.
- Mẫu được hàn kín để cho môi trường chứa mẫu là chân không.
- Đây là phương pháp phổ biến có hiệu quả cao cho bảo quản các đối tượng vi sinh vật khác nhau như nấm sợi, nấm men, vi khuẩn và một số virus.

Phương pháp bảo quản lạnh sâu

- Vi sinh vật được bảo quản trong môi trường dịch thể và nước cần cho hoạt động sống của vi sinh vật bị bất hoạt ở nhiệt độ lạnh sâu ($-196^{\circ}\text{C} \rightarrow -80^{\circ}\text{C}$)
- Bổ sung các chất làm hạn chế tốc độ lạnh sâu và làm tan nhanh như glycerol, DMSO (dimethyl sulfoxide).
- Các thang nhiệt độ khác nhau như -20°C , -30°C , -40°C , -70°C , -80°C , -140°C và -196°C

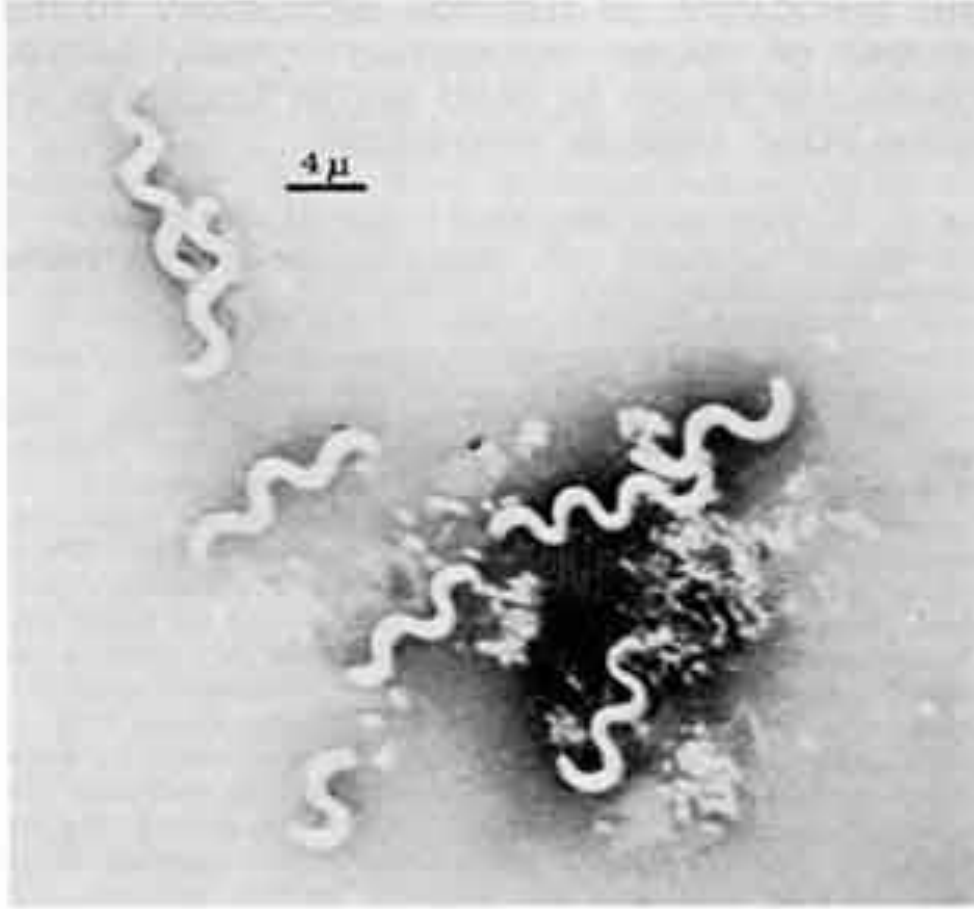
Phương pháp bảo quản lạnh sâu trong nitơ lỏng

- Là phương pháp vụn năng.
- Thích hợp với nhiều đối tượng vi sinh vật khác nhau như vi khuẩn, nấm sợi, nấm men, virus, tảo và cả các dòng tế bào động vật.
- **Nhược điểm:**
 - ❑ đầu tư kinh phí cho thiết bị và điện,
 - ❑ nitơ lỏng hoặc rủi ro như cháy nổ...
 - ❑ không thích hợp với các chủng vi sinh vật thường xuyên dùng đến.
- *Phương pháp này thường được dùng với các chủng vi sinh vật có những đặc tính quý mà không thích hợp với phương pháp đông khô.*

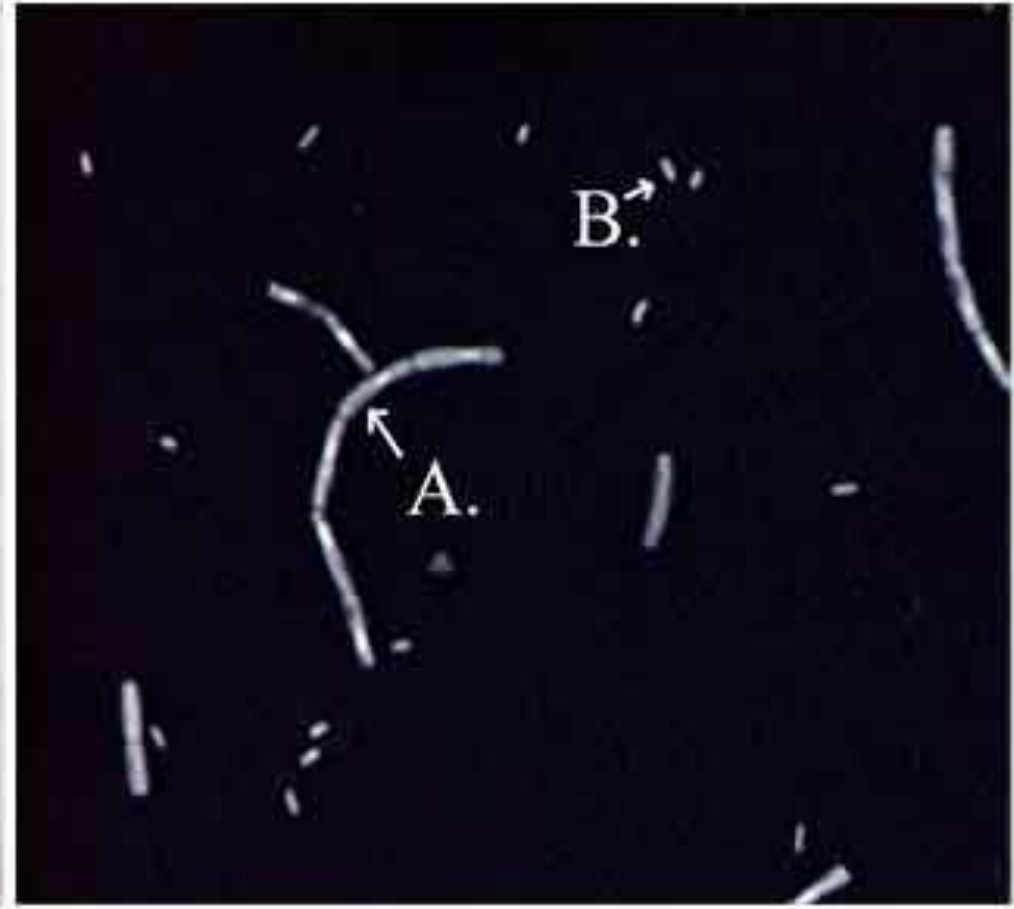
Một số phương pháp nhuộm quan sát tế bào vi sinh vật

- **Nhuộm âm**
- **Nhuộm đơn**
- **Nhuộm kép:**
 - **Nhuộm Gram**
 - **Nhuộm bào tử**
 - **Nhuộm tiêm mao**
- **Đo kích thước vi sinh vật**

Nhuộm âm tính – Negative staining Technique



Negatively stained
Spirillum volutans.

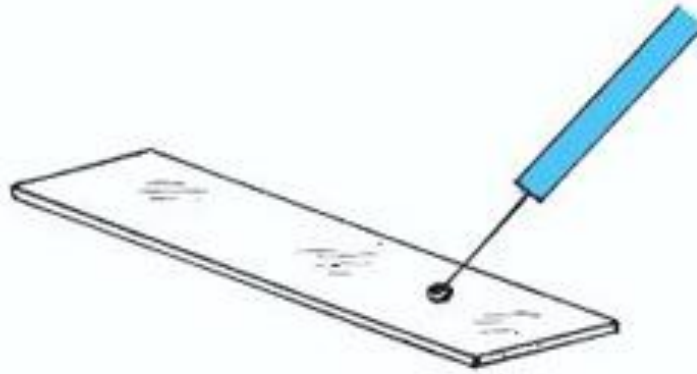


Negatively Stained *Bacillus*
(A) Vegetative Cell (B) Endospore

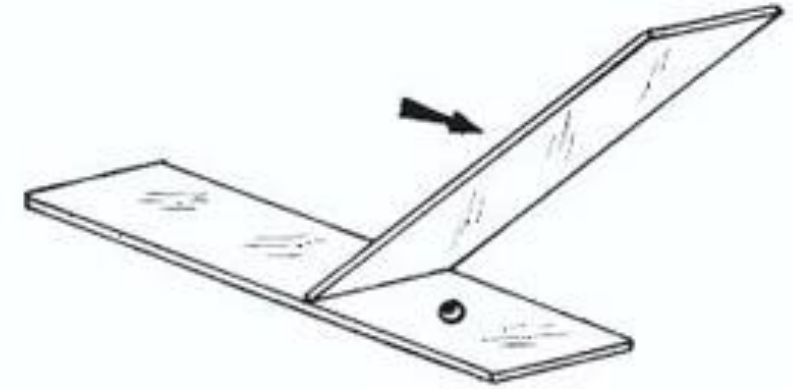
Nền được nhuộm màu, để lại mẫu không bị ảnh hưởng

Nhuộm âm tính

— Negative staining Technique



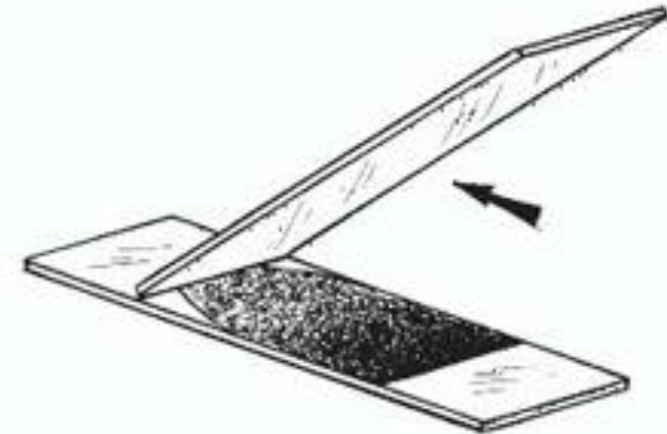
1 Organisms are dispersed into a small drop of nigrosine or india ink. Drop should not exceed 1/8" diameter and should be near one end of the slide.



2 Spreader slide is moved toward drop of suspension until it contacts the drop causing the liquid to be spread along its spreading edge.



3 Once the spreader slide contacts the drop on the bottom slide, the suspension will spread out along the spreading edge as shown.

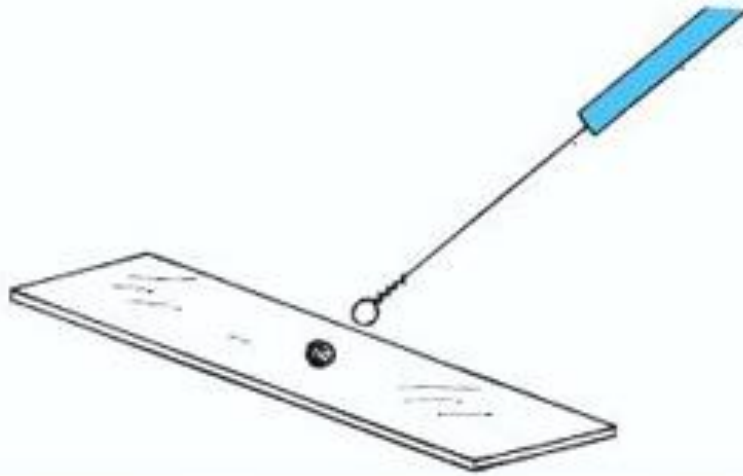


4 Spreader slide is pushed to the left, dragging the suspension over the bottom slide. After the slide has air-dried, it may be examined under oil immersion.

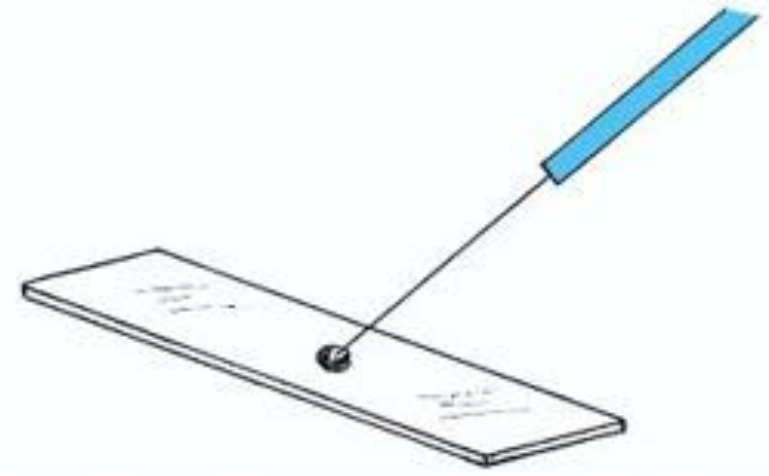
Figure 11.1 Negative staining technique, using a spreader slide

Nhuộm âm tính

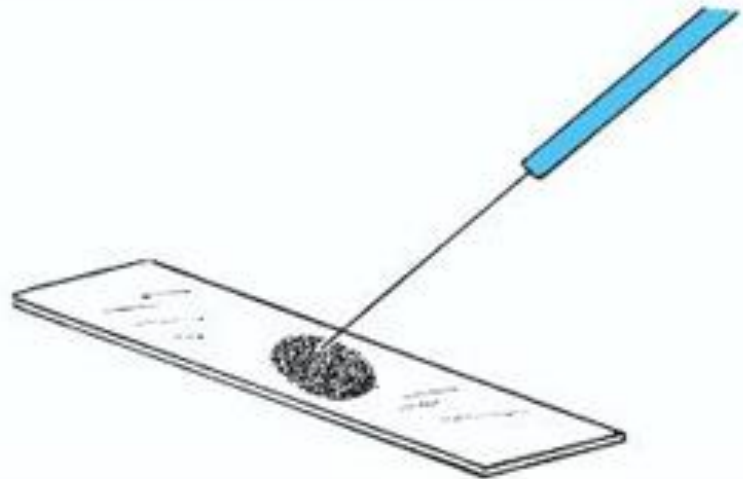
– Negative staining Technique



1 A loopful of nigrosine or india ink is placed in the center of a clean microscope slide.



2 A sterile inoculating wire is used to transfer the organisms to the liquid and mix the organisms into the stain.



3 Suspension of bacteria is spread evenly over an area of one to two centimeters with the straight wire.



4 Once the preparation has completely air-dried, it can be examined under oil immersion. No heat should be used to hasten drying.

Figure 11.2 A second method for negative staining

Nhuộm đơn

Một số thuốc nhuộm được sử dụng:

❖ Xanh methylen

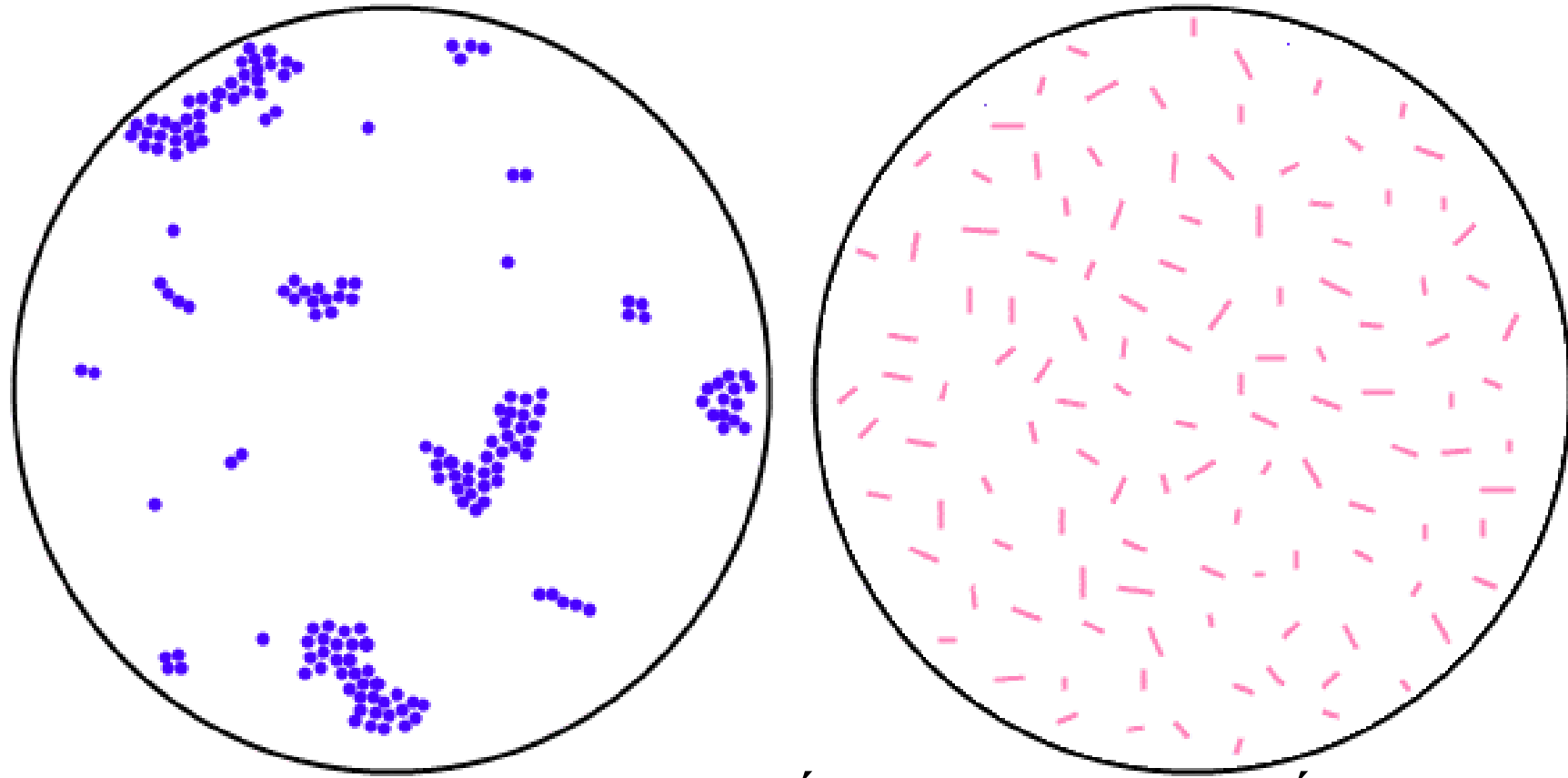
❖ Fuchsin kiềm

❖ Tím kết tinh

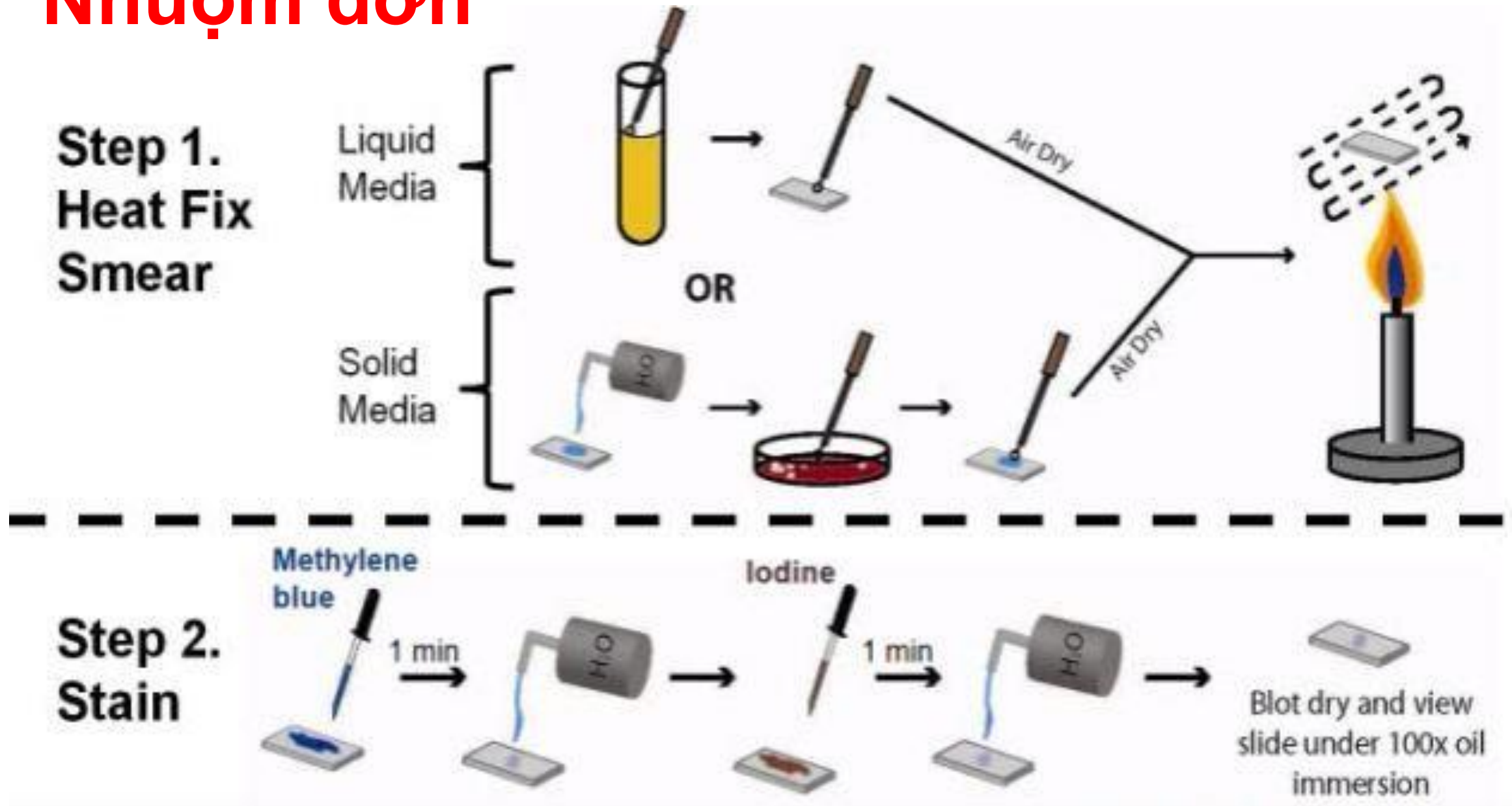
Mục đích:

❑ Xác định hình thái cơ bản và sự hiện diện hoặc vắng mặt của một số loại hạt

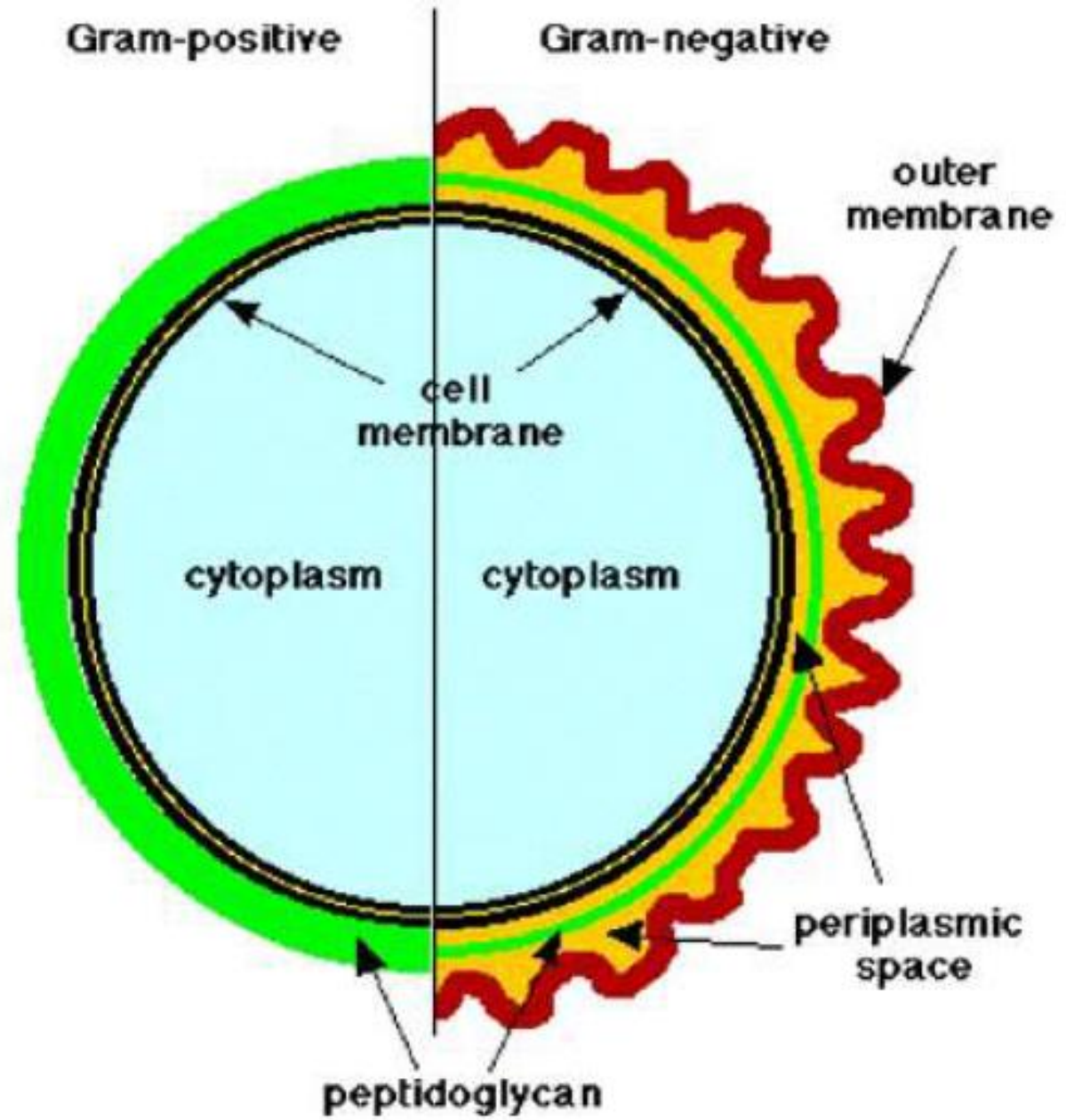
❑ Xác định tác nhân gây bệnh



Nhuộm đơn



Nhuộm Gram



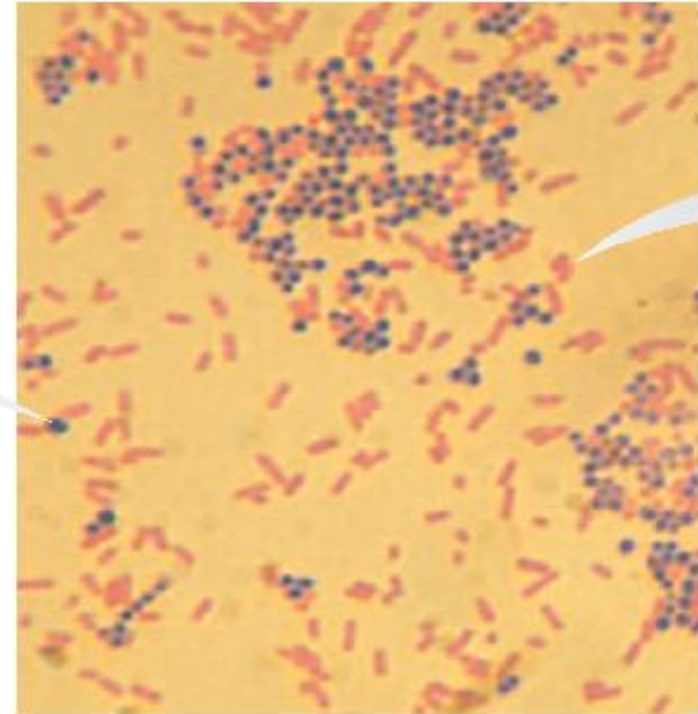
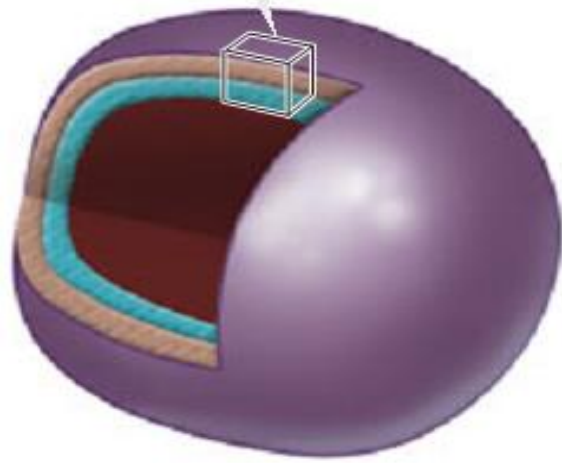
Cấu tạo thành tế bào vi khuẩn Gram (+) và Gram (-)

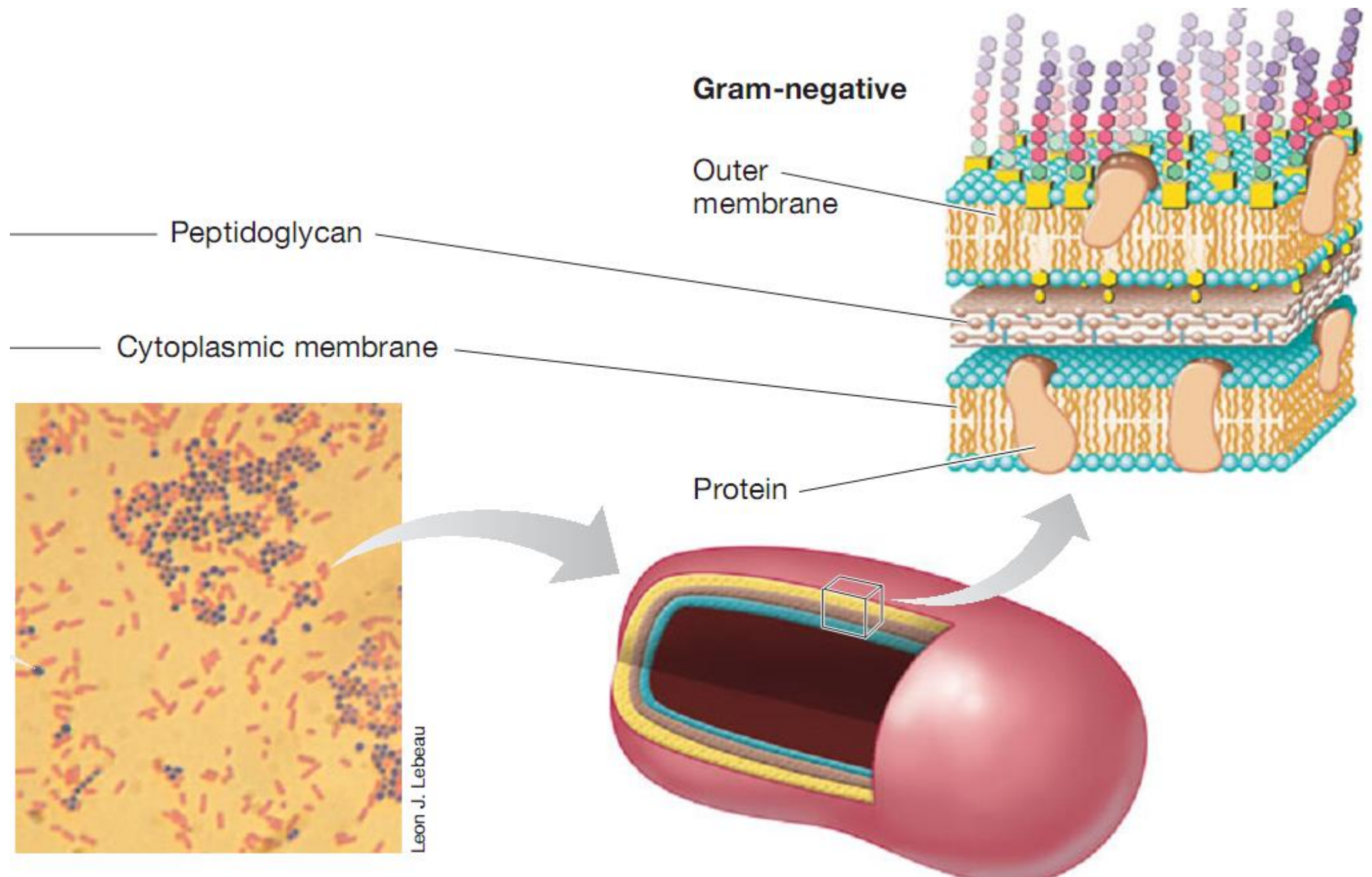
Gram-positive

Peptidoglycan

Cytoplasmic membrane

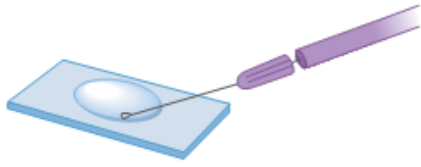
Protein



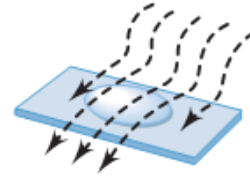


Nhuộm Gram

I. Preparing a smear

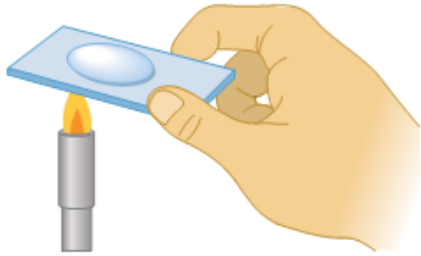


Spread culture in thin film over slide

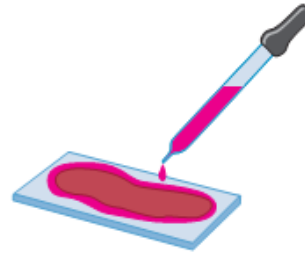


Dry in air

II. Heat fixing and staining

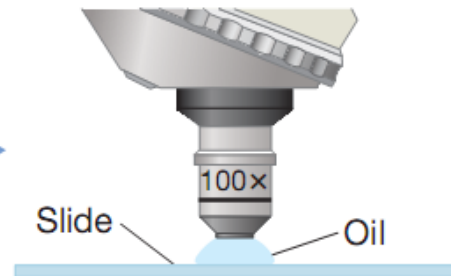


Pass slide through flame to heat fix



Flood slide with stain; rinse and dry

III. Microscopy



Place drop of oil on slide; examine with 100× objective lens

Step 1



Flood the heat-fixed smear with crystal violet for 1 min

Result:

All cells purple

Step 2

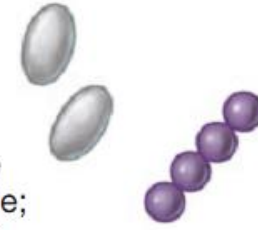


Add iodine solution for 1 min

Result:

All cells remain purple

Step 3

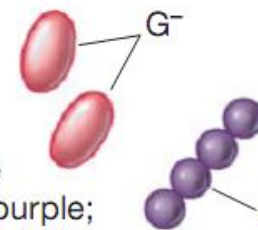


Decolorize with alcohol briefly — about 20 sec

Result:

Gram-positive cells are purple; gram-negative cells are colorless

Step 4



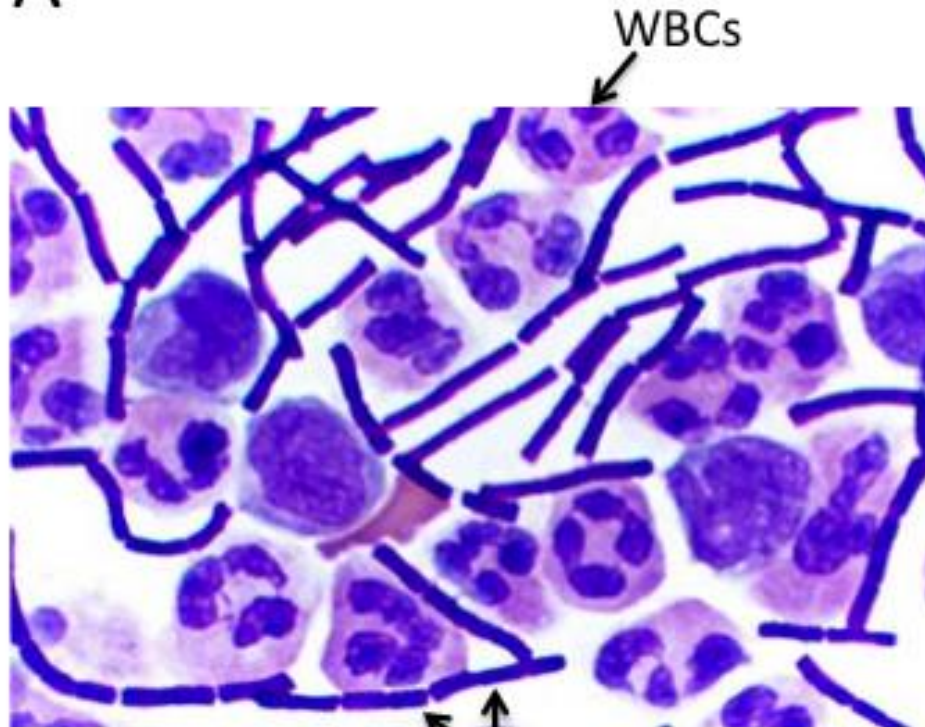
Counterstain with safranin for 1–2 min

Result:

Gram-positive (G^+) cells are purple; gram-negative (G^-) cells are pink to red

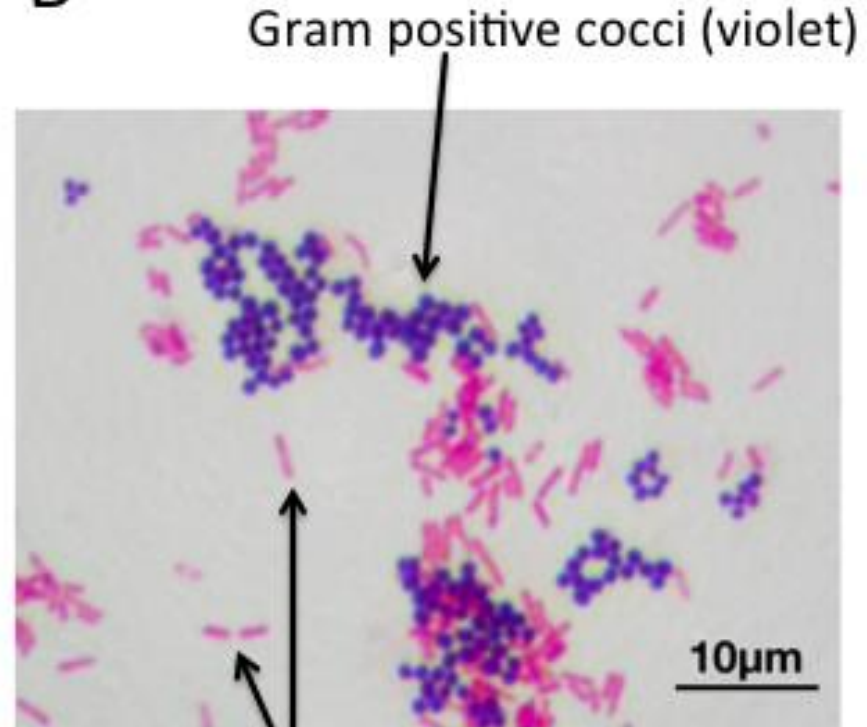
Nhuộm Gram

A



Gram positive rods (violet)

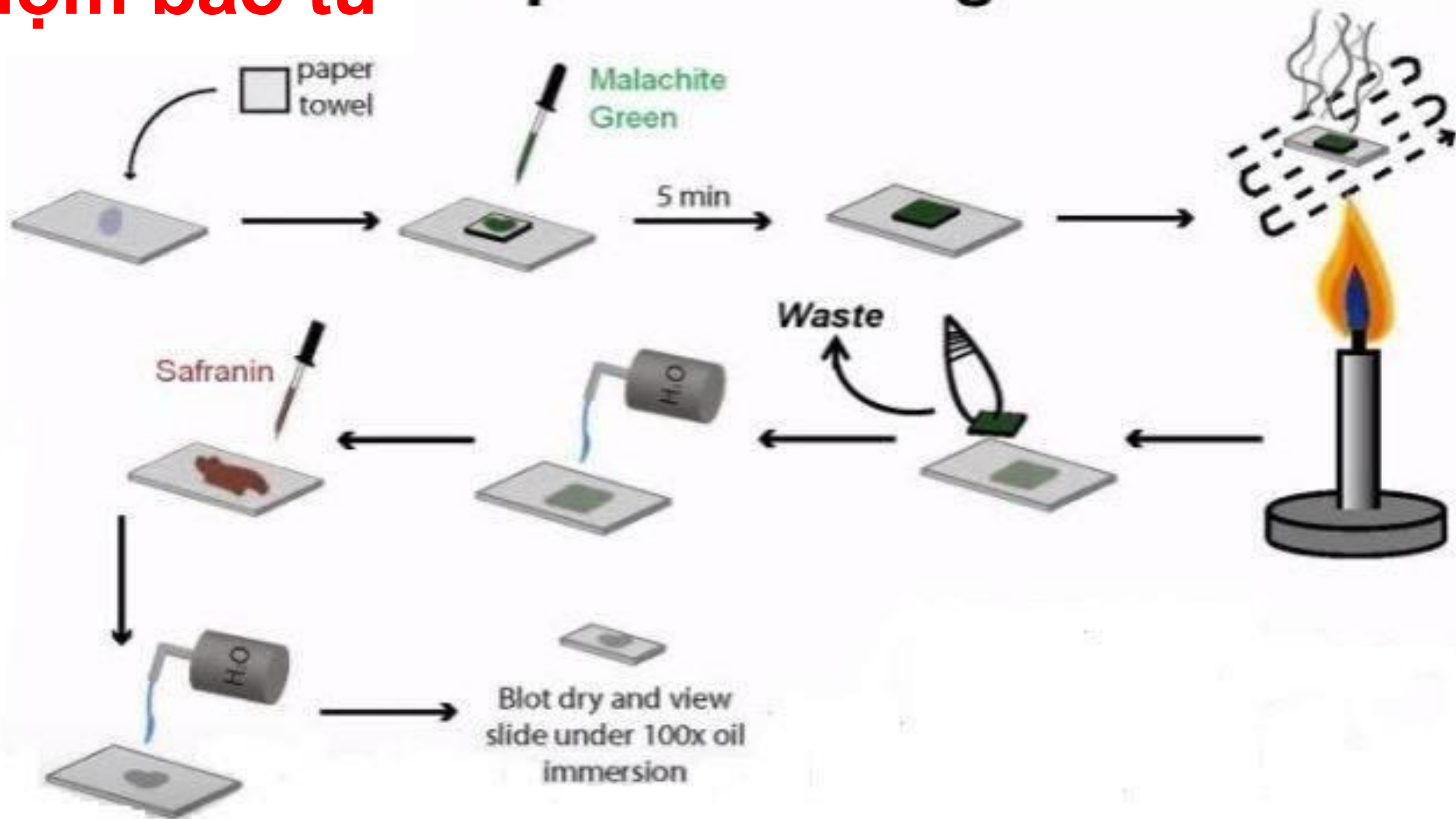
B



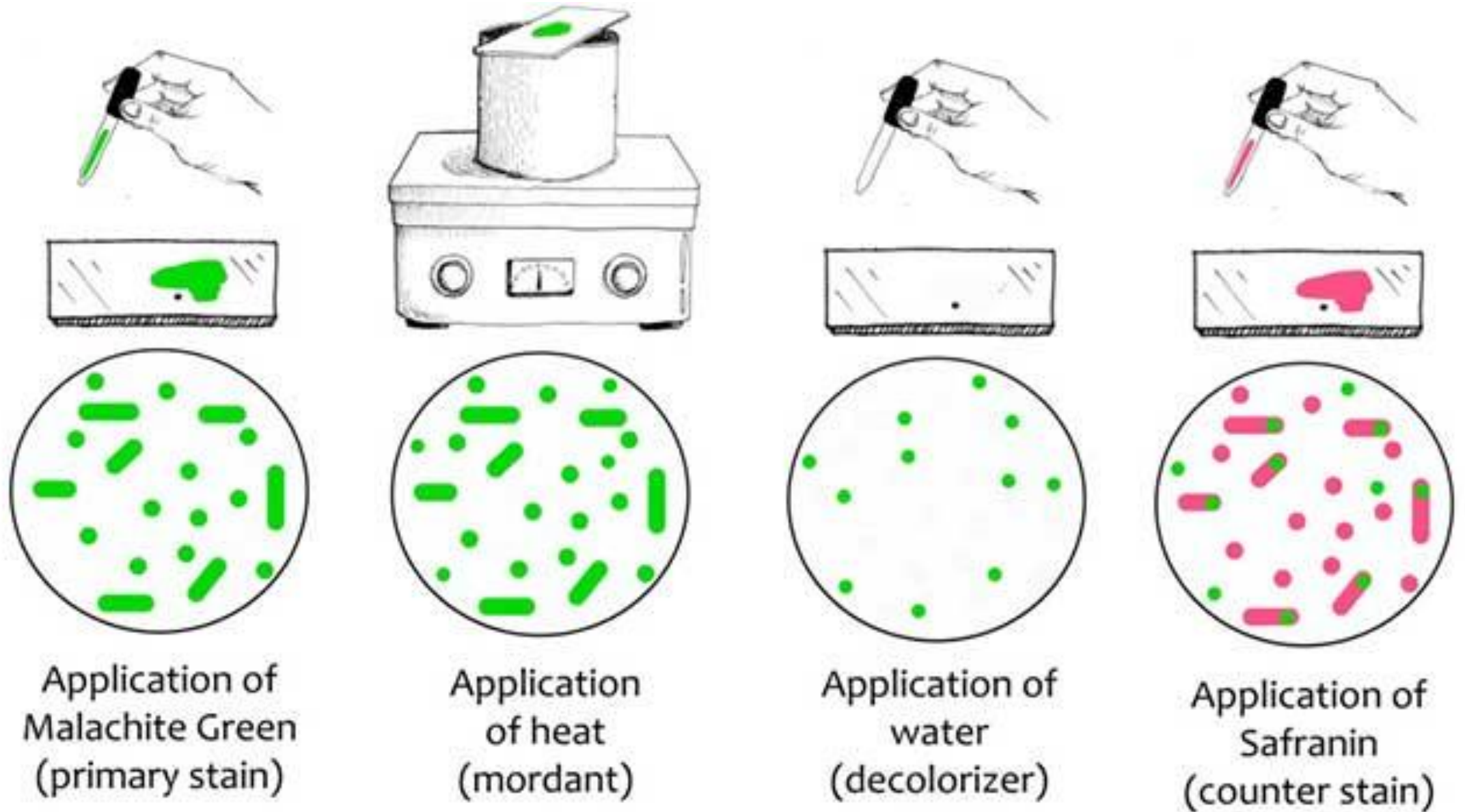
Gram negative rods (pink)

Nhuộm bào tử

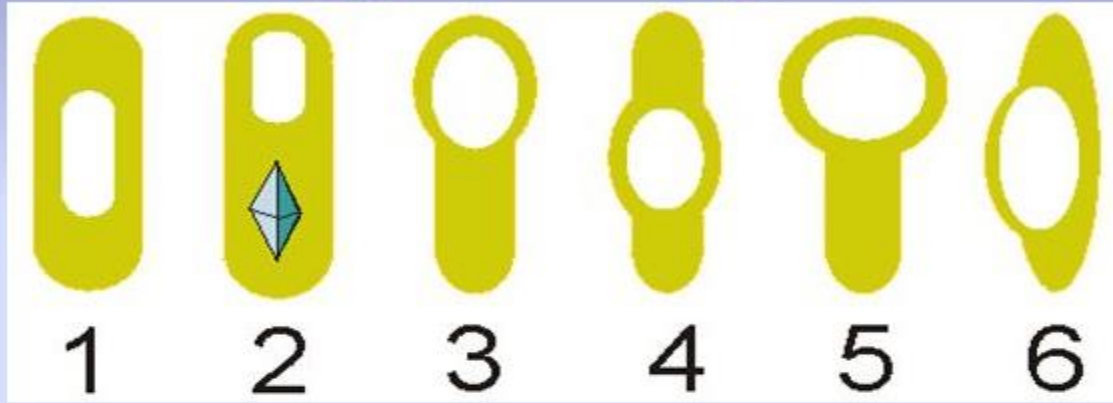
Spore Staining



Nhuộm bào tử - Spore staining



Types of spores



1, 4 – central

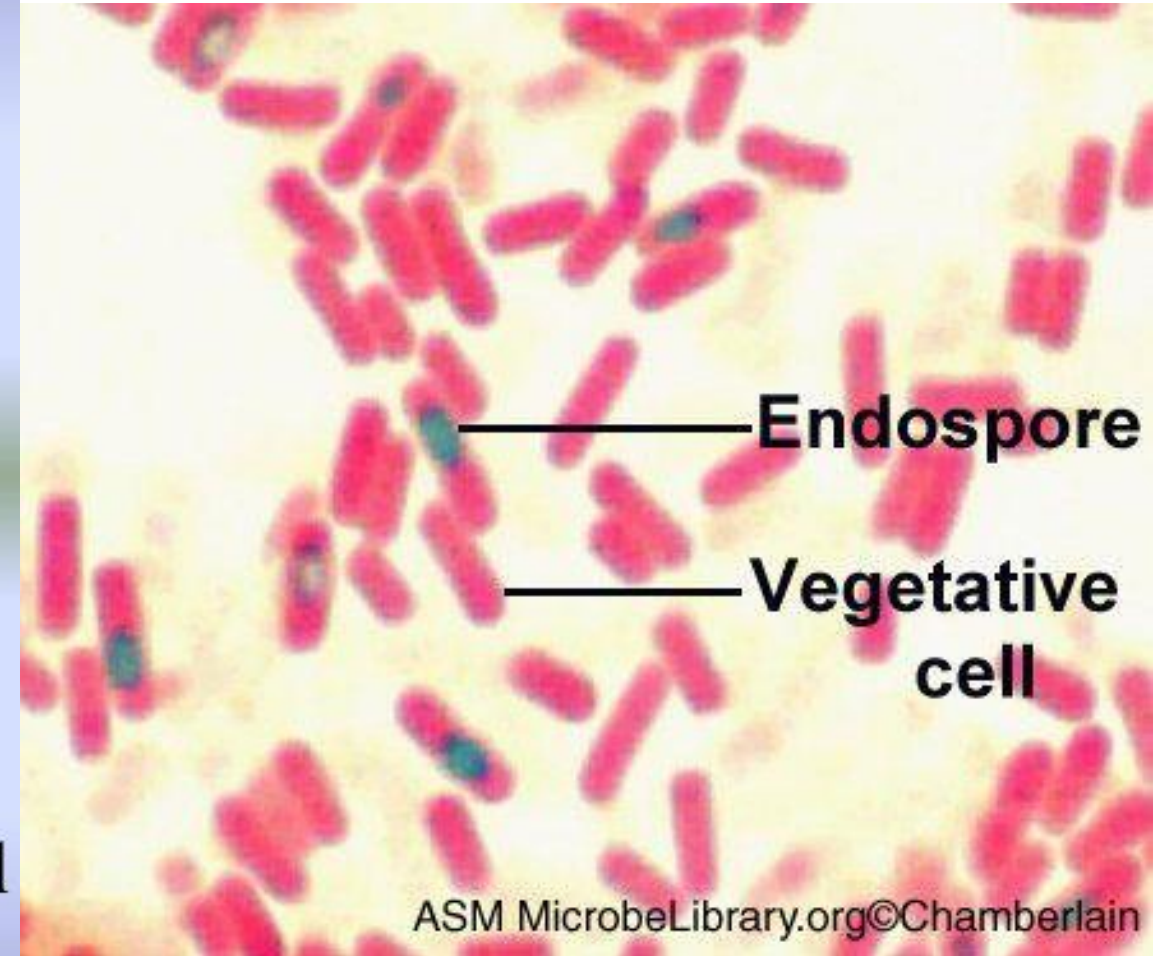
2, 3, 5 – terminal

6 - lateral

2 – with inclusions

3, 4, 5, 6 – spores deforming a bacterial cell

1, 2 – spores not deforming



ASM MicrobeLibrary.org©Chamberlain

Nhuộm tiêm mao

• Hóa chất

➤ Dung dịch A:

<input type="checkbox"/> Acid tannic	5 g
<input type="checkbox"/> FeCl_3	1,5 g
<input type="checkbox"/> Formalin	2 ml
<input type="checkbox"/> NaOH 1%	1 ml
<input type="checkbox"/> Nước cất	100 ml

➤ **Dung dịch B:** 2 g AgNO_3 hoà tan trong 100 ml nước cất, lấy 10 ml để riêng. Nhỏ dung dịch NH_4OH đậm đặc vào 90 ml còn lại, thấy hình thành tủa rất đặc, tiếp tục nhỏ NH_4OH vào cho đến khi tan hết tủa. Lấy 10ml AgNO_3 đã bỏ ra ban đầu nhỏ từ từ vào dung dịch, thấy xuất hiện vẩn mỏng, tiếp tục nhỏ vào cho đến khi vừa tan hết vẩn thì thôi.

• **Chuẩn bị phiến kính:** rửa thật sạch, ngâm trong cồn, đốt cháy hết cồn rồi mới sử dụng.

Nhuộm tiêm mao

❑ Hoạt hoá vi khuẩn 2-3 lần trước khi tiến hành nhuộm.

❑ Dùng que cấy vô trùng lấy vi khuẩn từ mặt thạch (mới cấy 18-24 giờ) hoà vào 1 giọt nước cất đặt giữa phiến kính, để nghiêng cho chảy về một phía, làm khô trong không khí.

❑ Nhỏ dịch A lên vết bôi, giữ 10 phút, rửa bằng nước cất.

❑ Cố định tế bào: hơi nhanh trên ngọn lửa đèn cồn 2-3 lần.

❑ Dùng dung dịch B cho chảy qua để loại hết nước. Nhuộm bằng dịch B trong 30-60 giây. Hơi nóng, để nguội rồi rửa lại bằng nước cất.

❑ Soi kính: dùng vật kính dầu 100X



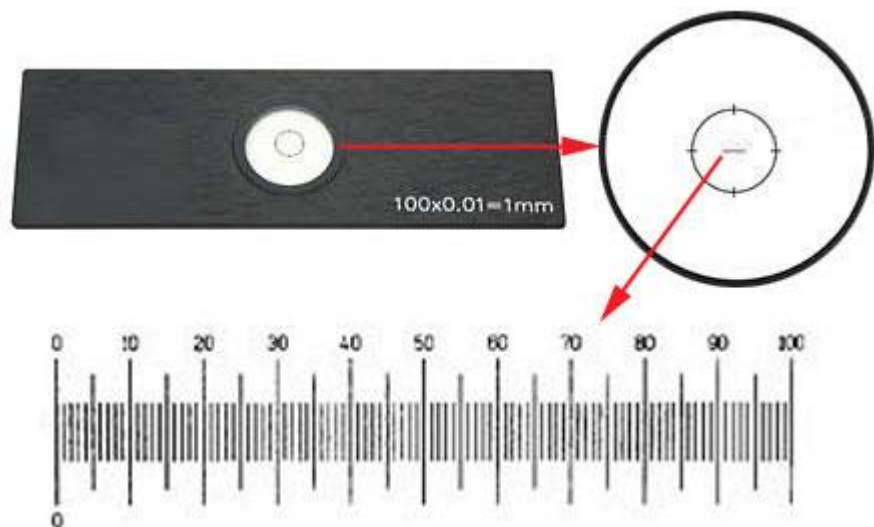
<https://www.asm.org/division/c/gramneg.htm>

Bordetella bronchiseptica. Flagella stain. (1000X oil)

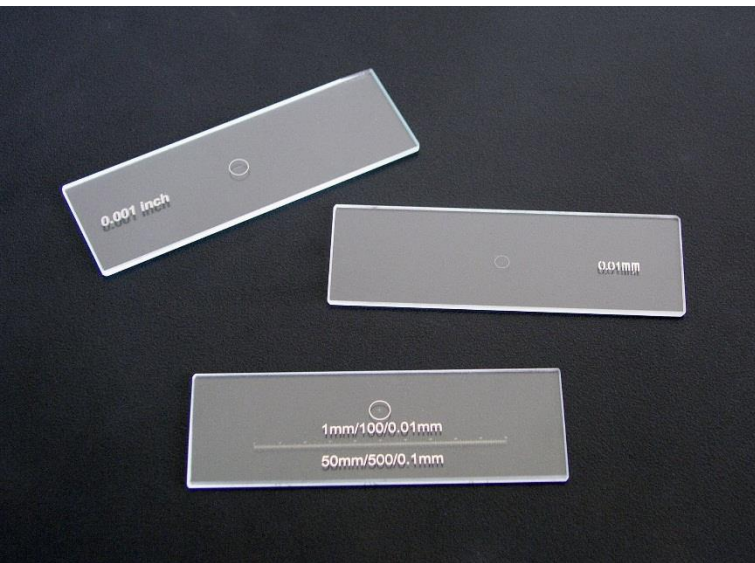
Đo kích thước vi sinh vật



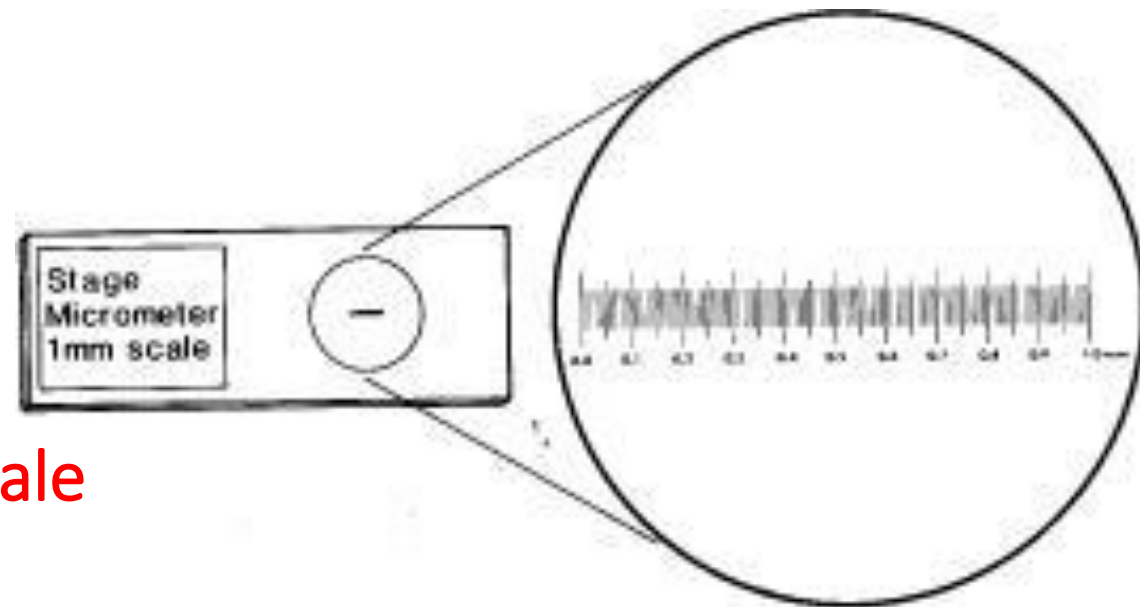
- **Trắc vi thị kính** là một miếng thủy tinh tròn, ở giữa có một thước nhỏ 5mm được chia thành 100 phần bằng nhau và đánh số từ 0-100



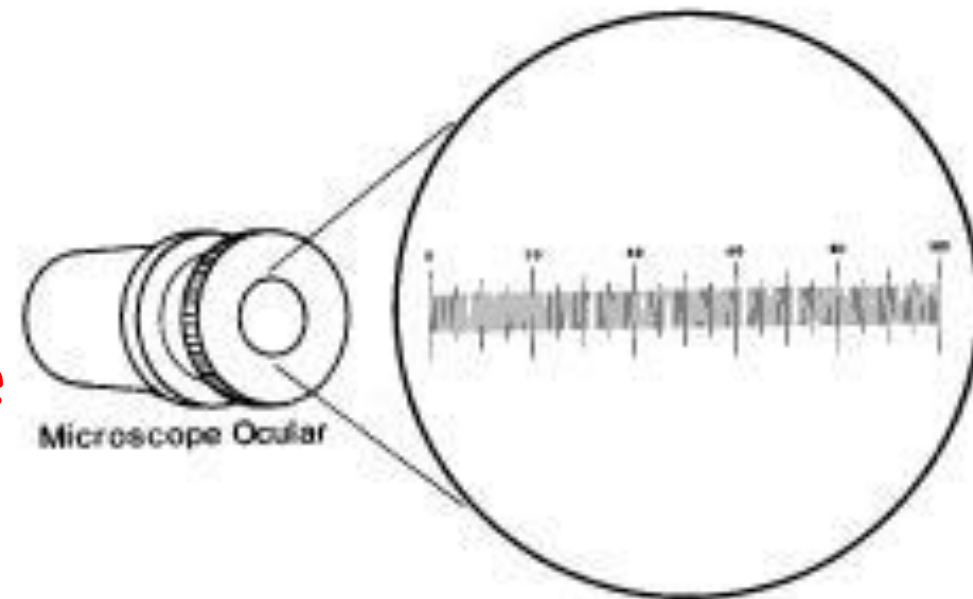
- **Trắc vi vật kính** là một tấm thủy tinh ở giữa có một thước nhỏ 1mm, được chia thành 100 khảnh đều nhau mỗi khoảng chia là 0,01 mm

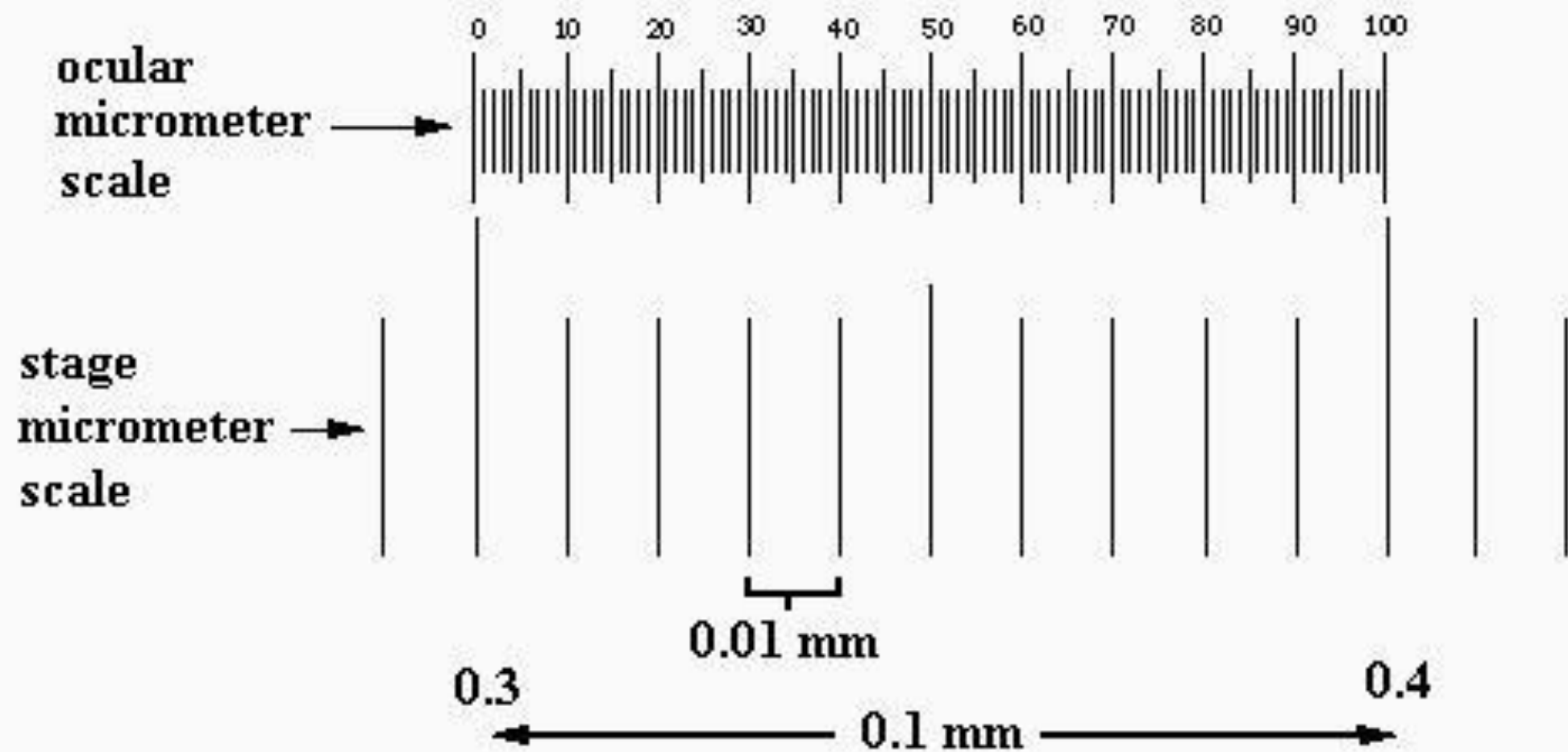


Trắc vi vật kính
Stage micrometer scale



Trắc vi thị kính
Ocular micrometer scale

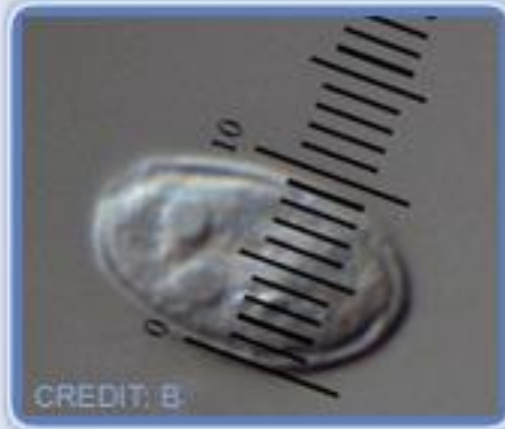
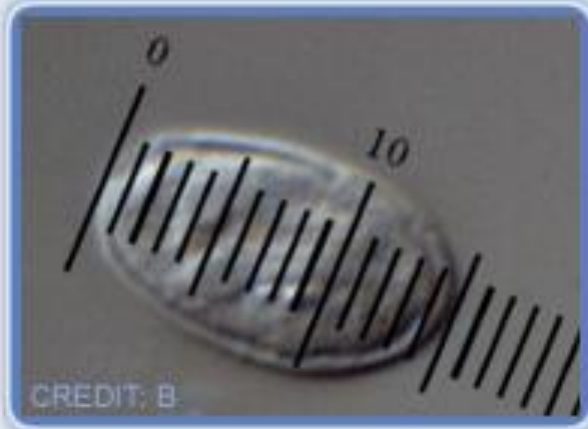




Using your 100X objective, e.g. (shown here), 10 div. on the ocular micrometer scale equal 0.01 mm on the stage micrometer. So each small div. on the ocular micrometer = $1\text{ }\mu\text{m}$. Distance between ocular micrometer divisions is different for each objective; so each objective must be calibrated with the stage micrometer.

Đo kích thước vi sinh vật

Giardia



Cryptosporidium

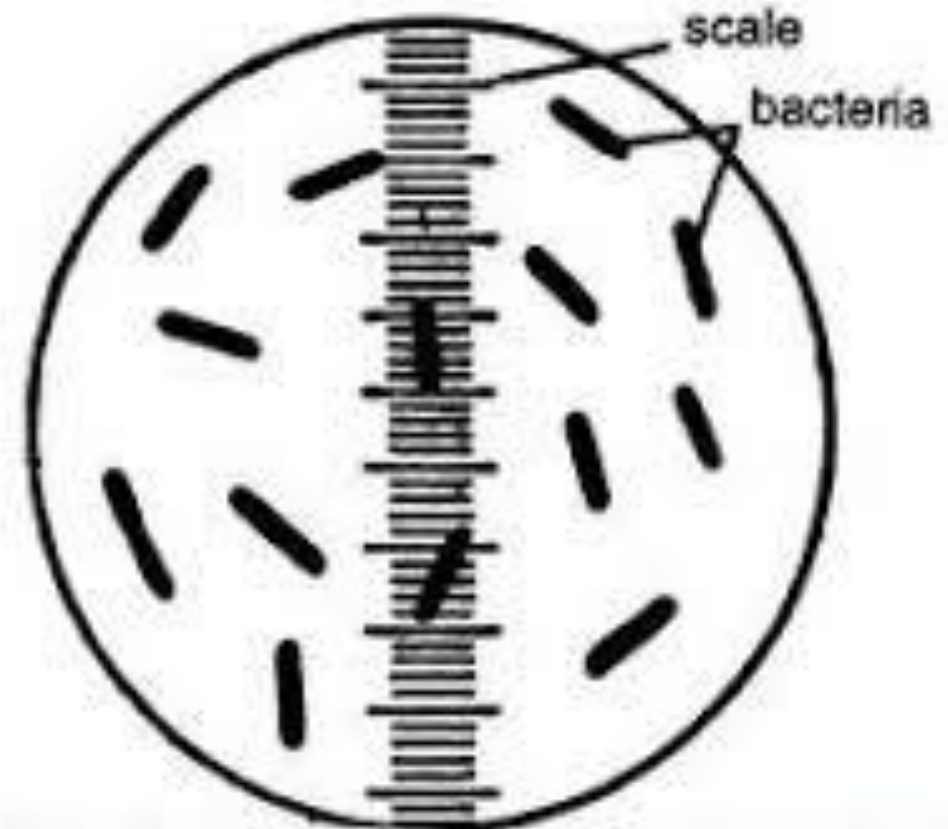


Fig. 107. Diagram showing an ocular micrometer for measuring the dimensions of bacterial cells.



THE END

