

## Ćwiczenie 5 - 2019.10.16 - środa

### Wykonuje asystent

1. Demonstracja wykonania próby na katalazę.
2. Demonstracja wykonania próby na oksydazę cytochromową.
3. Demonstracja wykonania rozcieńczeń w sposób jałowy.

### Wykonuje każda osoba

1. Ćwiczenie 10-krotnych rozcieńczeń w sposób jałowy:
  - demonstracja przez asystenta
  - każda osoba korzysta ze "swojej" probówki z bulionem i "swojej" probówki z NaCl
  - do trzech probówek nalać dokładnie po 4,5 ml jałowego bulionu
  - wykonać trzy kolejne 10-krotne rozcieńczenia (z NaCl do bulionu); wstawić do inkubacji (tylko bulion)

### Wykonuje każda para

1. Próba na oksydazę cytochromową - drobnoustroje 1 i 7.
  - położyć pasek bibułowy na szkiełku podstawowym (nie na stole!!!)
  - nakropić odczynnik (jedną kroplę !)
  - na pasek namazać po dwa drobnoustroje ("od serca")
  - po odczytaniu i zapisaniu wyniku pasek należy wrzucić do pojemnika na materiał zakaźny, a szkiełko do nerki ze środkiem dezynfekcyjnym
2. Próba na katalazę - drobnoustroje 4 i 6.
  - na jednym szkiełku podstawowym wykonać dwa dość gęste rozmazy w kropli soli fizjologicznej
  - na każdy rozmaz nanieść po jednej kropli wody utlenionej → obserwować wynik reakcji
  - po obejrzeniu i zapisaniu wyników szkiełko należy włożyć do nerki ze środkiem dezynfekcyjnym

### Wykonuje grupa

1. Odczyt wyników z poprzednich ćwiczeń
  - szereg identyfikacyjny
    - próba na indol - odczynnik Ehrlicha (300-500  $\mu$ l - delikatnie nawarstwić)
    - dezaminacja fenyloalaniny - 10% FeCl<sub>3</sub> (500  $\mu$ l)
    - hydroliza eskuliny - zaczernienie, oglądanie w świetle UV (całą grupą!)
    - rozkład maltozy - bladoróżowe = (-); różowe = +
    - wykonanie próby Voges-Proskauera (VP):
      - a. do hodowli w podłożu Clarka (C) dodać 300  $\mu$ l odczynnika VP1 (6%  $\alpha$ -naftol)
      - b. intensywnie wstrząsnąć
      - c. dodać 200  $\mu$ l odczynnika VP2 (40% KOH)
      - d. intensywnie wstrząsnąć
      - e. wstawić do ciepłarki
      - f. po 15 min. powinien być widoczny wynik reakcji (wynik dodatni - amarantowe zabarwienie w górnej części próbki)
  - próba na DNazę
    - nalać na szalkę ok. 2 ml 10% HCl (w razie potrzeby delikatnie rozprowadzić), po kilku minutach obserwować wynik reakcji
    - nie odwracać szalek!!!

Demonstracje - wybrane próby fizjologiczne.