

Ćwiczenie 2

Identyfikacja bakterii: formy morfologiczne bakterii i kolonii

1. Omówienie wyników z poprzedniego ćwiczenia.

2. Barwienie bakterii i mikroskopowanie. Wiadomości ogólne. Zasady posługiwania się mikroskopem.

3. Barwienie proste błękitem metylenowym.

Niewielka ilość wody (kranówki, mineralnej) наносimy na szkiełko, suszymy i utrwalamy. Następnie na 5min nakraplamy roztwór błękitu metylenowego, delikatnie spłukujemy wodą destylowaną, suszymy i oglądamy pod imersją.

4. Barwienie złożone metodą Grama (*E. coli*, *Micrococcus* i inne)

a) nanoszenie bakterii na szkiełko podstawowe.

W przypadku wykonywania preparatu z hodowli płynnej наносimy na szkiełko kroplę hodowli a w przypadku bakterii z podłoży stałych materiał pobieramy jałową eżą, a następnie zawieszamy w kropli soli fizjologicznej naniesionej na szkiełko podstawowe . Po wysuszeniu utrwalamy preparat przez 3-krotne przeciągnięcie szkiełka podstawowego nad płomieniem palnika.

b) na tak utrwalone bakterie nakraplamy roztwór fioletu krystalicznego w ten sposób by pokrył on powierzchnię, na którą naniesiono bakterie. Barwnik pozostawiamy na **2 minuty**, po czym spłukujemy wodą destylowaną.

c) następnie наносimy płyn Lugola na ok. **1 minutę**. Roztwór spłukujemy obficie najpierw wodą destylowaną a następnie alkoholem etylowym.

d) następnie наносimy roztwór fuksyny zasadowej na **40 sekund**. Po tym czasie spłukujemy szkiełko wodą destylowaną i suszymy preparat. Przed umieszczeniem na stoliku mikroskopu na szkiełko наносimy kroplę olejku imersyjnego.

5. Pokaz. Obserwacja gotowych preparatów z różnymi formami morfologicznymi bakterii

ziarniaki: dwoinki, czworaczki, gronkowce, paciorkowce, cylindryczne: pałeczki, laseczki, spiralne: krętki, śrubowce, przecinkowce, prątki wybarwione metodą Ziehl-Neelsena.

7. Pokaz. Obserwacja bakterii wytwarzających barwniki przez binokular (*Gaffkya*, *Sarcina*, *Serratia*, *Micrococcus*, *Pseudomonas aeruginosa* i *fluorescens*)

8. Przygotowanie jałowo płytek z pożywką LA