**MIKROBIOLOGIA OGÓLNA Z MIKROBIOLOGIĄ JAMY USTNEJ,**

STOMATOLOGIA, ROK AKADEMICKI 2023-24

**Ćwiczenia laboratoryjne (30 godz.), CZWARTEK**

**grupy laboratoryjne I i II: godz. 11.15-12.45;**

**grupy laboratoryjne III i IV: godz. 14.00-15.30**

|  |
| --- |
| **ĆWICZENIA LABORATORYJNE****ZAJĘCIA STACJONARNE W ZAKŁADZIE MIKROBIOLOGII, UL. CHAŁUBIŃSKIEGO**  |
| **DATA** | **Nr** | **TEMAT** |
| 5.10.2023 | 1 | Zasady pracy laboratoryjnej. Techniki wykonania preparatu mikroskopowego i metody barwienia. Podłoża mikrobiologiczne, metody hodowli i różnicowania drobnoustrojów.  |
| 12.10.2023 | 2 | Gram-dodatnie ziarenkowce *Staphylococcus i Micrococcus.*  |
| 19.10.2023 | 3 | Gram-dodatnie ziarenkowce *Streptococcus i Enterococcus.* |
| 26.10.2023 | 4 | Gram-dodatnie pałeczki *Corynebacterium, Rothia, Lactobacillus* oraz pałeczki kwasooporne *Mycobacterium.* |
| 9.11.2023 | 5 | Gram-ujemne pałeczki *Haemophilus, Bordetella, Legionella* Gram-ujemne ziarenkowce *Neisseria, Moraxella.*  |
| 16.11.2023 | 6 | **TEST 1 (tematy2-5)**Gram-ujemne pałeczki *Enterobacterales* orazbakterieniefermentujące *Pseudomonas, Acinetobacter, Stenotrophomonas.* |
| 23.11.2023 | 7 | Gram-dodatnie beztlenowe laseczki przetrwalnikujące *Clostridium, Clostridioides.* |
| 30.11.2023 | 8 | Gram-dodatnie i Gram-ujemne beztlenowe bakterie nieprzetrwalnikujące. |
| 7.12.2023 | 9 | **TEST 2 (tematy 6-8)**Antybiotyki i chemioterapeutyki. Laboratoryjne metody oznaczania lekowrażliwości drobnoustrojów. |
| 14.12.2023 | 10 | Mechanizmy oporności drobnoustrojów. |
| 21.12.2023 | 11 | **TEST 3 (tematy 9-10)**Kontrola zakażeń. Sterylizacja, dezynfekcja, antyseptyka |
| 11.01.2024  | 12 | Grzybicze zakażenia jamy ustnej. |
| 18.01.2024 | 13 | Mikrobiota jamy ustnej, część 1. Mikrobiologia próchnicy zębów i chorób dziąseł.   |
| 25.01.2024  | 14 | **TEST 4 (tematy 11-14)**Mikrobiota jamy ustnej, część 2. Mikrobiologia chorób przyzębia |
| **1.02.2024** | **15** | **EGZAMIN PRAKTYCZNY** |

TEST składa się z 15 pytań: 10 pytań jednokrotnego wyboru (1pkt) i 5 pytań otwartych (2pkt).

KRYTERIA OCENIANIA TESTÓW (punktacja - ocena):

0 - 11 pkt  (55%)  -  niedostateczny
12 - 13 pkt (60-65%) - dostateczny
14 - 15 pkt (70-75%) - dostateczny plus
16 - 17 pkt (80-85%) - dobry
18 - 19 pkt (90-95%) - dobry plus
 20 pkt  (100%) - bardzo dobry

**ZALICZENIE BIEŻĄCEGO TESTU JEST WARUNKIEM PRZYSTĄPIENIA DO KOLEJNEGO TESTU**

**PLAN SZCZEGÓŁOWY ĆWICZEŃ LABORATORYJNYCH**

|  |
| --- |
| **ĆWICZENIE 1: Zasady pracy laboratoryjnej. Techniki wykonania preparatu**  **mikroskopowego i metody barwienia. Podłoża mikrobiologiczne, metody**  **hodowli i różnicowania drobnoustrojów**  |

***Część teoretyczna:***

* Organizacja i dyscyplina pracy w czasie ćwiczeń z mikrobiologii.
* Typy mikroskopów stosowanych w badaniach mikrobiologicznych. Mikroskop: świetlny, z ciemnym polem widzenia, fluorescencyjny. Zasady mikroskopowania.
* Ocena morfologii drobnoustrojów. Techniki sporządzania preparatów (przyżyciowy, utrwalony) i barwienia bakterii (barwienie proste, złożone, pozytywne, negatywne, negatywno-pozytywne)
* Podłoża mikrobiologiczne (proste, wzbogacone, wybiórczo-różnicujące, chromogenne).

Morfologia kolonii drobnoustrojów.

***Część praktyczna:***

* Sporządzanie preparatów z wybranych bakterii; barwienie metodą Grama; wizualizacja w mikroskopie świetlnym
* Demonstracja gotowych preparatów w mikroskopie z jasnym i ciemnym polem widzenia

oraz w mikroskopie fluorescencyjnym.

**ĆWICZENIE 2: Gram-dodatnie ziarenkowce *Staphylococcus, Micrococcus***

***Część teoretyczna:***

* Charakterystyka i chorobotwórczość gronkowców: *Staphylococcus* *aureus*, *Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus lugdunensis, Micrococcus spp.*
* Zasady diagnostyki laboratoryjnej

***Część praktyczna:***

* Demonstracja hodowli na agarze z krwią, charakterystyka morfologii kolonii, rodzaje hemolizy.
* Demonstracja gotowych preparatów z omawianych bakterii w mikroskopie świetlnym
* Testy identyfikacyjne dla gronkowców: wytwarzanie katalazy, CF , koagulazy (demonstracja), ID32 Staph, Crystal GP - demonstracja.
* Wykonanie i analiza preparatów z wybranych bakterii

|  |
| --- |
| **ĆWICZENIE 3: Gram-dodatnie ziarenkowce *Streptococcus, Enterococcus***  |

***Część teoretyczna:***

* Charakterystyka i chorobotwórczość :

1*. Streptococcus:*

* grupa Mutans *(S. mutans S. sorbinus S. ratti)*
* grupa Salivarus *(S. salivarius, S. vestibularis)*
* grupa Mitis *(S. mitis S. oralis, S. cristatus S. sanguinis, S. pneumoniae, S. pseudopneumoniae)*
* grupa Anginosus *(S. anginosus S. intermedius S. constellatus)*

 *Streptococcus pyogenes*, *S. agalactiae*

2. *Enterococcus faecalis, Enterococcus faecium*

* Zasady diagnostyki laboratoryjnej

***Część praktyczna:***

* demonstracja hodowli na agarze z krwią, charakterystyka kolonii, rodzaje hemolizy.
* oglądanie gotowych preparatów bakterii w mikroskopie świetlnym
* różnicowanie i identyfikacja : test na wytwarzanie katalazy, wrażliwość na bacytracynę, optochinę, wykrywanie antygenów grupowych (demonstracja Slidex Strepto Kit), Api20Strep, Crystal GP (demonstracja)
* Wykonanie i analiza preparatów z wybranych bakterii

|  |
| --- |
| **ĆWICZENIE 4: Gram-dodatnie pałeczki *Corynebacterium, Rothia, Lactobacillus oraz***  **kwasooporne pałeczki *Mycobacterium.*** |

***Część teoretyczna:***

* Charakterystyka i chorobotwórczość:

*Corynebacterium diphteriae; Rothia spp., Lactobacillus spp.*

*Mycobacterium tuberculosis.*

* Zasady diagnostyki laboratoryjnej
* Immunoprofilaktyka (kalendarz szczepień)

***Część praktyczna:***

* Demonstracja hodowli na podłożach wybiórczych i zwykłym
* Oglądanie gotowych preparatów bakterii w mikroskopie świetlnym.
* Wykonanie i analiza preparatów z wybranych bakterii

**ĆWICZENIE 5: Gram-ujemne małe pałeczki *Haemophilus, Bordetella, Legionella***

 **Gram-ujemne ziarenkowce *Neisseria, Moraxella.***

***Część teoretyczna:***

* Charakterystyka i chorobotwórczość *Neisseria*, *Moraxella, Legionella*
* Charakterystyka i chorobotwórczość: *Haemophilus, Bordetella*
* Immunoprofilaktyka (aktualny kalendarz szczepień)
* Zasady diagnostyki laboratoryjnej

***Część praktyczna:***

* Demonstracja hodowli bakterii na podłożach stałych: *Neisseria* i *Moraxella* (Agar z krwią), *Haemophilus* na podłożu czekoladowym
* Omówienie testu z czynnikami wzrostowymi BX i BV (różnicowanie *Haemophilus)*
* Demonstracja testów Crystal NH, APINH do identyfikacji *Neisseria* i *Haemophilus*
* Różnicowanie *Moraxella catarrhalis* i *Neisseria* wchodzących w skład flory fizjologicznej górnych dróg oddechowych za pomocą testu z krążkiem BC (na agarze MH)
* Oglądanie gotowych preparatów.
* Wykonanie i analiza preparatów z wybranych bakterii

|  |
| --- |
| **ĆWICZENIE 6: TEST 1 (tematy2-5)** **Gram-ujemne pałeczki *Enterobacterales***  **orazbakterieniefermentujące *Pseudomonas, Acinetobacter, Stenotrophomonas*** |

***Część teoretyczna:***

* Charakterystyka i chorobotwórczość pałeczek *Enterobacterales:* *Escherichia, Proteus, Klebsiella*, *Salmonella*, *Shigella.*
* Charakterystyka i chorobotwórczość bakterii niefermentujących: *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas* *maltophilia*.
* Zasady diagnostyki laboratoryjnej

***Część praktyczna:***

* Demonstracja hodowli bakteryjnych na podłożach wybiórczych: Agar MacConkey’a (MC), Agar SS, Agar Mueller’a-Hinton (MH), Agar zwykły
* Testy identyfikacyjne - demonstracja ID32GN, Crystal ENF, Crystal GN
* Test na wytwarzanie oksydazy (metoda paskowa)
* Wykonanie i analiza preparatów z wybranych bakterii

|  |
| --- |
| **ĆWICZENIE 7: Gram-dodatnie beztlenowe laseczki przetrwalnikujące *Clostridium,***  ***Clostridioides.*** |

***Część teoretyczna:***

* Charakterystyka i chorobotwórczość laseczek: *Clostridium tetani, Clostridium botulinum, Clostridium perfringens* oraz *Clostridioides difficile.*
* Zasady diagnostyki laboratoryjnej
* Schemat profilaktyki pre- i poekspozycyjnej przy podejrzeniu tężca.
* Immunoprofilaktyka (kalendarz szczepień)

***Część praktyczna:***

* Demonstracja hodowli laseczek beztlenowych na podłożach wybiórczych i zwykłym
* Oglądanie gotowych preparatów bakterii w mikroskopie świetlnym.
* Demonstracja testów identyfikacyjnych dla bakterii beztlenowych - API 20A, Crystal ANR.
* Wykonanie i analiza preparatów z wybranych bakterii

|  |
| --- |
| **Ćwiczenie 8: Gram-dodatnie i Gram-ujemne beztlenowe bakterie nieprzetrwalnikujące.** |

***Część teoretyczna:***

* Charakterystyka i chorobotwórczość beztlenowych bakterii

a) Gram-dodatnich: *Actinomyces, Cutibacterium, Eubacterium, Peptostreptococcus*

*b)* Gram-ujemnych*: Tannerella, Porphyromonas, Prevotella, Veillonella, Fusobacterium,*

 *Leptotrichia, Treponema* (j.ustnej*), Selenomonas, Bacteroides.*

***Część praktyczna:***

* Demonstracja gotowych preparatów w mikroskopie świetlnym.
* Demonstracja kolonii wybranych beztlenowców
* Metody hodowli bakterii beztlenowych – anaerostat, generatory atmosfery beztlenowej.
* Zasady diagnostyki laboratoryjnej.
* Wykonanie i analiza preparatów z wybranych bakterii

|  |
| --- |
| **ĆWICZENIE 9: TEST 2 (tematy 6-8)** **Antybiotyki i chemioterapeutyki. Laboratoryjne metody oznaczanie**  **lekowrażliwości drobnoustrojów.**  |

***Część teoretyczna:***

* Charakterystyka najważniejszych grup antybiotyków i chemioterapeutyków: antybiotyki β-laktamowe, aminoglikozydy, makrolidy i ketolidy, linkozamidy, glikopeptydy, tetracykliny, oksazolidynony, fluorochinolony, nitroimidazole (metronidazol), sulfonamidy (kotrimoksazol)
* Omówienie metod oznaczania wrażliwości bakterii na antybiotyki: metoda dyfuzyjno-krążkowa, metoda seryjnych rozcieńczeń leku w bulionie Mueller’a-Hinton, metoda pasków wysyconych antybiotykiem w gradiencie stężeń, metoda automatyczna ATB
* Omówienie pojęć MIC i MBC

***Część praktyczna:***

* Demonstracja metody makrorozcieńczeń (ustalanie MIC) oraz E-testu
* Wykonanie testów lekowrażliwości metodą dyfuzyjno-krążkową z uwzględnieniem detekcji mechanizmów oporności typu ESBL, HLAR, VRE, MRS, **MLSb**

|  |
| --- |
| **ĆWICZENIE 10. Mechanizmy oporności drobnoustrojów** |

***Część teoretyczna:***

* Charakterystyka ogólnych mechanizmów oporności (**sprawdzenie wiedzy studentów**)
* Omówienie wybranych fenotypów oporności bakterii na antybiotyki: MRS (MRCNS, MRSA +warianty), MLSB, VISA, VRSA, VRE, GRE, HLAR, ESBL, MBL , KPC

***Część praktyczna:***

* Odczyt testów i sporządzenie antybiogramów, interpretacja wyników
* Demonstracja wybranych fenotypów oporności
* Oznaczanie szczepów β-laktamazododatnich – metoda cefinazowa.

|  |
| --- |
| **ĆWICZENIE 11: TEST 3 (tematy 9-10)** **Kontrola zakażeń. Sterylizacja, dezynfekcja, antyseptyka** |

***Część teoretyczna:***

* Omówienie fizycznych i chemicznych metod sterylizacji i dezynfekcji
* Demonstracja: metody kontroli sterylizacji, pakowanie sprzętu do sterylizacji (pakiety, rękawy), opakowania jednorazowe.
* Omówienie profilaktyki zakażeń w gabinecie stomatologicznym

***Część praktyczna:***

* Wykonanie doświadczeń:

1. Bakteriobójcze działanie promieniowania UV

2. Działanie preparatów dezynfekcyjnych do higienicznego mycia rąk (1 płytka na 2 studentów)

**ĆWICZENIE 12: Grzybicze zakażenia jamy ustnej.**

***Część teoretyczna:***

* Charakterystyka grzybów drożdżopodobnych *Candida* (*C. albicans, C. auris, C. glabrata, C. tropicalis, C. krusei, C. dubliniensis,* *C. kefyr, C. guilliermondii, C. parapsilosis)*

**Kandydoza jamy ustnej:**

- ostra kandydoza rzekomobłoniasta (pleśniawki),

- ostra kandydoza zanikowa,

- przewlekła kandydoza zanikowa,

- przewlekła kandydoza hiperplastyczna,

- zapalenia kątów ust;

- stomatopatia protetyczna

* Charakterystyka grzybów drożdżopodobnych *Cryptococcus* spp.

**Kryptokokoza jamy ustnej.**

* Charakterystyka grzybów pleśniowych i dimorficznych

**Penicylioza, histoplazmoza i inne owrzodzenia w jamie ustnej u osób z obniżoną odpornością.**

* diagnostyka laboratoryjna zakażeń grzybiczych (metody pobierania i przesyłania materiału do badań mykologicznych; metody identyfikacji grzybów)

***Część praktyczna:***

* Identyfikacja i różnicowanie grzybów. Demonstracja:

- hodowli na podłożu Sabouraud’a i Chromagar Candida,

- testu filamentacji

- chlamydospor w mikrohodowli,

- hodowli grzybów pleśniowych

- gotowych preparatów

* wykonanie i analiza preparatów z wybranych drożdżaków

|  |
| --- |
| **ĆWICZENIE 13: Mikrobiota jamy ustnej, część 1.**  **Mikrobiologia próchnicy zębów i chorób dziąseł.**   |

***Część teoretyczna:***

* omówienie pozytywnej i negatywnej roli mikrobioty, związku mikrobioty jamy ustnej z zakażeniem ogólnoustrojowym endogennym (przykłady)
* omówienie przyczyn, czynników etiologicznych oraz **diagnostyki mikrobiologicznej:**

a) próchnicy zębów

a) zapalenia dziąseł (*gingivitis*):

- związanego z płytka nazębną

- nie związanego z płytka nazębną (specyficzne bakteryjne, wirusowe, grzybicze)

c) ostrego martwiczo-wrzodziejącego zapalenia dziąseł (ANUG – acute necrotizing ulcerative gingivitis) i jego agresywnej formy - NOMA

***Część praktyczna:***

* Nauka wykonania **posiewu redukcyjnego** materiałów własnych pobranych z jamy ustnej.

|  |
| --- |
| **ĆWICZENIE 14: TEST 4 (tematy 11-14)** **Mikrobiota jamy ustnej, część 2. Mikrobiologia chorób przyzębia.** |

***Część teoretyczna:***

Omówienie czynników etiologicznych oraz **diagnostyki mikrobiologicznej** w przypadku:

* przewlekłego zapalenia przyzębia:

- miejscowe i uogólnione

* agresywnego zapalenie przyzębia:

- miejscowe i uogólnione

* martwicze choroby przyzębia:

- martwiczo wrzodziejące zapalenie przyzębia (NUP; *necrotizing ucerative periodontitis*)

* ropnie tkanek przyzębia
* zapalenia tkanek wokół implantu (*peri-implantistis*) oraz okołoimplantowe zapalenie błony śluzowej (*peri-mucositis*)

***Część praktyczna:***

* Odczyt i interpretacja posiewów własnych oraz wykonanie i analiza preparatów barwionych metodą Grama
* Wykonanie preparatów przyżyciowych z kieszonek dziąsłowych (mikroskop z ciemnym polem widzenia)

|  |
| --- |
| **ĆWICZENIE 15: EGZAMIN PRAKTYCZNY I ZALICZENIE ĆWICZEŃ** |

**Egzamin praktyczny jest sprawdzianem umiejętności przygotowania preparatów mikrobiologicznych oraz identyfikacji obserwowanych drobnoustrojów.**

**Podczas obserwacji w mikroskopie świetlnym, należy ocenić DWA preparaty :**

***1. przygotowany przez nauczyciela***

***2. wykonany przez studenta, z danej hodowli na podłożu stałym,***

**a następnie przygotować pisemne odpowiedzi dotyczące:**

* 1. **zastosowanej techniki barwienia**
	2. **morfologii obserwowanych mikroorganizmów**
	3. **sposobu ułożenia obserwowanych komórek**
	4. **prawdopodobnej grupy drobnoustrojów**