

**Program ćwiczeń z Diagnostyki mikrobiologicznej dla studentów
III roku Oddziału Analityki Medycznej,
rok akademicki 2023/2024
SEMESTR LETNI**

Ćwiczenia (60 godz.):

środa:

8.00 - 10.15 ćwiczenia grupy CL1, CL2,CL3

11.30 - 13.45 ćwiczenia grupy CL4,CL5,

czwartek:

8.00 - 9.30 ćwiczenia grupy CL1, CL2, CL3

10:00- 11:30 ćwiczenia grupy CL4,CL5

Ćwiczenie 1: środa 28.02.2024

Temat : Temat: Bezpieczeństwo pracy w laboratorium mikrobiologicznym

Wstęp do diagnostyki mikrobiologicznej - Metody barwienia, typy mikroskopów.

- a) zapoznanie studentów z organizacją i dyscypliną pracy podczas ćwiczeń z mikrobiologii;
- b) nauka higienicznego mycia rąk
- c) zapoznanie studentów z programem ćwiczeń, zasadami sprawdzania efektów kształcenia i zaliczenia ćwiczeń
- d) przedstawienie różnych typów mikroskopów: jasne i ciemne pole widzenia, mikroskop fluorescencyjny;
- e) nauka obsługi mikroskopu świetlnego
- f) zapoznanie z różnymi technikami barwienia: proste, złożone, pozytywne, negatywne, pozytywno-negatywne
- g) oglądanie gotowych preparatów w mikroskopie jasnego i ciemnego pola
- h) ocena morfologii komórek bakteryjnych i grzybów w gotowych preparatach

Ćwiczenie 2: czwartek 29.02.2024r.

Temat: Morfologia drobnoustrojów. Metody barwienia preparatów

- a) omówienie złożonych metod barwienia: metody – Grama, Neissera, Moellera, Burri-Ginsa
- b) samodzielne wykonanie preparatów barwionych różnymi metodami
- c) ocena morfologii komórki w mikroskopie świetlnym

Ćwiczenie 3: środa 06.03.2024r.

Temat: Metody hodowli drobnoustrojów, przygotowanie podłoży mikrobiologicznych

- a) samodzielne przygotowanie podłoży (rozpuszczenie podłoży sypkich, określenie pH podłoży, wyjałowienie podłoży przed wylaniem na płytki)
- b) demonstracja różnych gotowych podłoży do hodowli

- c) demonstracja metod służących uzyskaniu różnych warunków hodowli (tlenowe, beztlenowe, mikroaerofilne)

Ćwiczenie 4: czwartek 7.03.2024r.

Temat: Metody hodowli drobnoustrojów c.d., morfologia kolonii bakterii na podłożach stałych i płynnych

- a) nauka samodzielnego wylewania podłoża na płytki Petriego
- b) demonstracja morfologii kolonii różnych bakterii wyhodowanych na podłożach

Ćwiczenie 5: środa 13.03.2024r.

Temat : Nauka posiewu redukcyjnego, ilościowego i półilościowego

- a) zasady i znaczenie różnych rodzajów posiewów wykorzystywanych w mikrobiologii
- b) wykonanie posiewu redukcyjnego wymazu z rany
- c) wykonanie posiewu ilościowego moczu
- d) wykonanie półilościowego i ilościowego posiewu końcówki cewnika naczyniowego

Ćwiczenie 6: czwartek:14.03.2024 r.

Temat : Odczyny serologiczne w diagnostyce mikrobiologicznej bakterii z rodzaju *Salmonella*, *Shigella* i *E.coli* (EPEC)

- a) Odczyt posiewów wykonanych na poprzednim ćwiczeniu
- b) Wykonanie typowania serologicznego (aglutynacja szkiełkowa) przy diagnostyce salmonelloz
- c) Wykonanie typowania serologicznego *Shigella spp.* (aglutynacja szkiełkowa)
- d) Wykonanie typowania serologicznego w kierunku szczepów EPEC (aglutynacja szkiełkowa)
- e) Demonstracja innych odczynów serologicznych, w tym odczynu Widala

Ćwiczenie 7: środa 20.03.2024 r.

Kolokwium I z ćwiczeń 1-5

Temat : Diagnostyka mikrobiologiczna kłęsy, boreliozy i bakterii z rodzaju *Leptospira*

- a) diagnostyka kłęsy
ocena morfologii *Treponema pallidum* w mikroskopie ciemnego pola
Odczyn precypitacji - wykonanie
 - Wykonanie USR
 - Demonstracja VDRL
 - Demonstracja testów biernej hemaglutynacji –TPHA
- b) Diagnostyka boreliozy
Testy serologiczne ELISA i Western-Blot, zasada wykonania i interpretacji wyników
- c) Diagnostyka *Leptospira spp.* – demonstracja

Ćwiczenie 8: czwartek 21.03.2024 r.

Temat: Morfologia komórek, kolonii, zasady hodowli i identyfikacji bakterii z rodzaju *Staphylococcus* i *Micrococcus* spp.

- a) Podłoża do hodowli *Staphylococcus* spp. i *Micrococcus* spp.
- b) Ocena komórek w preparatach mikroskopowych
- c) Ocena kolonii i hemolizy na Columbia agar
- d) Różnicowanie gronkowców na podstawie typów hemolizy
- e) Różnicowanie gronkowców na podstawie cech biochemicznych
- f) Różnicowanie *Staphylococcus* spp. i *Micrococcus* spp.
- g) Podłoża chromogenne dla *S.aureus* i MRSA

Ćwiczenie 9: środa 27.03.2024 r.

Kolokwium II z ćwiczeń 6-7

Temat: Morfologia komórek, kolonii, zasady hodowli i identyfikacji paciorkowców z rodzaju *Streptococcus* i *Enterococcus*

- a) Podłoża do hodowli paciorkowców
- b) Ocena komórek w preparatach mikroskopowych
- c) Ocena kolonii na Columbia agar
- d) Różnicowanie paciorkowców na podstawie typów hemolizy
- e) Różnicowanie paciorkowców na podstawie cech biochemicznych
- f) Różnicowanie paciorkowców z udziałem metod serologicznych

Ćwiczenie 10: czwartek 28.03.2024 r.

Temat: Morfologia komórek, kolonii, zasady hodowli i identyfikacji *Corynebacterium* spp. i *Listeria* spp.

- a) Ocena morfologii komórki w mikroskopie świetlnym
- b) Ocena morfologii kolonii
- c) Zasady hodowli na podłożach sztucznych
- d) Identyfikacja toksynogennych szczepów *C.diphtheriae*

Ćwiczenie 11: środa 10.04.2024 r.

Kolokwium III z ćwiczeń 8-10

Temat: Diagnostyka i różnicowanie Gram ujemnych pałeczek z rodziny *Enterobacterales* i niefermentujących

- a) ocena morfologii kolonii pałeczek Gram-ujemnych na różnych podłożach hodowlanych
- b) różnicowanie poszczególnych rodzajów w obrębie *Enterobacterales* zwłaszcza *E.coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter* spp., *Proteus* spp., *Salmonella* spp., *Shigella* spp.
- c) różnicowanie *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., *Stenotrophomonas maltophilia* i *Burkholderia cepacia*

Ćwiczenie 12: czwartek 11.04.2024 r.

Temat: Diagnostyka i różnicowanie bakterii z rodzaju: *Neisseria*, *Moraxella*, *Haemophilus*, *Bordetella spp.*

- a) demonstracja podłoży do hodowli bakterii
- b) Ocena komórek w preparatach barwionych w mikroskopie świetlnym i kolonii bakterii na podłożach stałych
- c) Różnicowanie *Moraxella* i *Neisseria* oraz gatunków w obrębie rodzaju *Neisseria*
- d) Serotypy *Neisseria meningitidis*
- e) Diagnostyka *N.gonorrhoeae*
- f) Diagnostyka *Bordetella pertussis*

Ćwiczenie 13: środa 17.04.2024 r.

Kolokwium IV z ćwiczeń 11-12

Temat: Metody dezynfekcji i kontrola ich skuteczności

- a) Mycie wodą z mydłem a antyseptykiem (mycie higieniczne) rąk
- b) Hodowla odcisków palców – ocena skuteczności procesu mycia higienicznego rąk
- c) Ocena prawidłowości mycia higienicznego rąk w lampie UV
- d) Znaczenie UV w procesach dezynfekcji
- e) Gotowanie jako proces dezynfekcji, badanie przeżywalności różnych bakterii w procesie gotowania
- f) Badanie jałowości powietrza metodą sedymentacji i zderzeniową

Ćwiczenie 14: czwartek 18.04.2024 r.

Temat: Metody sterylizacji i kontrola ich skuteczności

- a) Odczyty badań z poprzednich ćwiczeń
- b) Metody sterylizacji
 - i. - demonstracja różnych autoklawów
- c) Kontrola procesów sterylizacji
 - i. Testy chemiczne
 - ii. Biologiczne

Ćwiczenie 15: środa 24.04.2024 r.

Temat: Oznaczanie wrażliwości bakterii na antybiotyki – metody jakościowe i ilościowe

- a) warunki wykonania oznaczeń wrażliwości metodą dyfuzyjno-krażkową
- b) wykonanie antybiogramów dla rodzaju *Staphylococcus spp.*, *Enterococcus spp.*, *E.coli*, *Enterobacter spp.*, *Pseudomonas spp.* metodą dyfuzyjno-krażkową
- c) rekomendacje EUCAST i KORLD do interpretacji wyników oznaczeń wrażliwości na antybiotyki
- d) oznaczanie wartości MIC – metody (demonstracja):
 - ilościowe w agarze, w podłożu płynnym
 - dyfuzyjna z użyciem pasków wysyconych gradientem stężeń antybiotyków
- e) wykonanie oznaczenia wartości MIC metodą paskową

- f) demonstracja oznaczenia wartości MBC
- g) zasady interpretacji wyników testów ilościowych

Ćwiczenie 16: czwartek 25.04.2024 r.

Kolokwium V z ćwiczeń 13-14

Temat : Oznaczanie wrażliwości bakterii na antybiotyki- metody ilościowe c.d.

- h) odczyt testów jakościowych i interpretacja wyników

Ćwiczenie 17: środa 8.05.2024 r.

Kolokwium VI – wprowadzające do ćwiczeń z antybiotyków (zakres wymaganej wiedzy zostanie przekazany drogą mailową i ogłoszony wraz z programem na stronie Katedry)

Temat: Metody wykrywania mechanizmów lekooporności u pałeczek Gram-ujemnych

- a) odczyt testów z poprzedniego ćwiczenia
- b) demonstracja wykrywania ESBL metoda dwóch krążków i E-testu
- c) demonstracja wykrywania karbapenemaz typu MBL, KPC, OXA
- d) zasady interpretacji wyników

Ćwiczenie 18: czwartek 9.05.2024

Temat: Metody wykrywania mechanizmów lekooporności u pałeczek Gram-ujemnych c.d.

- a) Wykonanie badań metodą dyfuzyjno- krążkową w kierunku wytwarzania enzymów:

ESBL
MBL
KPC
OXA -48

- b) Interpretacja antybiogramów dla szczepów ESBL, MBL, KPC, OXA – 48

Ćwiczenie 19: środa 15.05.2024 r.

Temat : Metody wykrywania mechanizmów oporności Gram (+) ziarniaków

- a) Odczyt testów z poprzedniego ćwiczenia
- b) Demonstracja metod wykrywania szczepów: MRSA, HLAB, VISA/GISA, VRE, GRE, PRP, MLS_B, PRSP
- c) Dobór metody do wykrywania poszczególnych mechanizmów lekooporności
- d) zasady interpretacji wyników

Ćwiczenie 20: czwartek 16.05.2024 r.

Temat: Metody wykrywania mechanizmów oporności Gram (+) ziarniaków c.d.

- a) wykonanie testów w kierunku wykrycia szczepów MRSA, HLAB, VRE, GRE, PRP, MLS_B, PRSP z użyciem metody dyfuzyjno-krążkowej

- b) wykonanie testów w kierunku wykrycia szczepów PRSP metodą paskową – oznaczenie MIC penicyliny i cefalosporyn III generacji
- c) Interpretacja wyników badań

Ćwiczenie 21: środa 22.05.2024 r.
Kolokwium VII z ćwiczeń 15-20

Temat: Diagnostyka bakterii beztlenowych Gram(+), Gram (-)

- a) Demonstracja podłoży do hodowli beztlenowców
- b) Demonstracja hodowli różnych bakterii beztlenowych
- c) Warunki hodowli bakterii beztlenowych – anaerostaty, czas inkubacji
- d) Różnicowanie beztlenowców
- e) Ocena morfologii komórek beztlenowców w mikroskopie świetlnym - oglądanie gotowych preparatów

Ćwiczenie 22: środa 29.05.2024r.

Temat: Grzyby drożdżopodobne – hodowla i identyfikacja. Wstęp do diagnostyki grzybów pleśniowych

- a) Odczyt testów z poprzedniego ćwiczenia
- b) Demonstracja hodowli grzybów drożdżopodobnych na podłożu Sabouraud oraz na podłożach wybiórczo-różnicujących (np. Chromagar Candida)
- c) Wykonanie preparatów mikroskopowych „mokrych” w soli fizjologicznej, w laktofenolu, w tuszu (Cryptococcus) - obserwacja mikromorfologii drożdżaków
- d) Wykonanie preparatów mikroskopowych barwionych metodą Grama- obserwacja
- e) Obserwacja mikroskopowa morfologii drożdżaków w mikrohodowlach na podłożu ryżowym (występowanie chlamydospor, pseudostrzępek, kształt i układ blastospor, artrospory)
- f) Test filamentacji dodatni (*C. albicans* lub *C. dubliniensis*) i ujemny (np. *C. parapsilosis*) – odczyt
- g) Identyfikacja na podstawie metabolizmu (auxanogram węglowodanowy i azotowy, zymogram) - na przykładzie wybranych testów komercyjnych
- h) Antymikogram – demonstracja i odczyt
- i) Omówienie zasad bezpieczeństwa pracy z grzybami zarodnikującymi (pleśniami)

Ćwiczenie 23: czwartek 6.06.2024 r.

Kolokwium z ćwiczenia nr 22 oraz z wiedzy z wykładu nr 12 z dnia 29.05.2024r.

Temat: Grzyby strzępkowe -*Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucormycetes* (*Mucor*, *Rhizopus*, *Absidia*) – hodowla, identyfikacja

- a) Obserwacja morfologii wzrostu grzybów pleśniowych i dermatofitów na podłożach stałych (rewers, awers)
- b) Obserwacja mikroskopowa morfologii grzybów strzępkowych w gotowych preparatach w laktofenolu

Ćwiczenie 24: czwartek 13.06.2024 r.
Temat: odrabianie i zaliczenie ćwiczeń