

MIKROBIOLOGIA OGÓLNA Z MIKROBIOLOGIĄ JAMY USTNEJ
WYDZIAŁ LEKARSKO-STOMATOLOGICZNY, ROK AKADEMICKI 2024-25

Ćwiczenia laboratoryjne (30 godz.), CZWARTEK
grupy laboratoryjne (I rzut): godz. 11.30-13.00
grupy laboratoryjne (II rzut): godz. 14.00-15.30

ĆWICZENIA LABORATORYJNE ZAJĘCIA STACJONARNE W ZAKŁADZIE MIKROBIOLOGII UMW UL. CHAŁUBIŃSKIEGO		
DATA	Nr	TEMAT
10.10.2024	1	Zasady pracy laboratoryjnej. Techniki wykonania preparatu mikroskopowego i metody barwienia. Podłoża mikrobiologiczne, metody hodowli i różnicowania drobnoustrojów.
17.10.2024	2	Gram-dodatnie ziarenkowce <i>Staphylococcus</i> i <i>Micrococcus</i> .
24.10.2024	3	Gram-dodatnie ziarenkowce <i>Streptococcus</i> i <i>Enterococcus</i> .
31.10.2024	4	Gram-dodatnie pałeczki <i>Corynebacterium</i> , <i>Rothia</i> , <i>Lactobacillus</i> oraz pałeczki kwasooporne <i>Mycobacterium</i> .
7.11.2024	5	TEST 1 (tematy 1-4) Gram-ujemne pałeczki <i>Haemophilus</i> , <i>Bordetella</i> , <i>Legionella</i> Gram-ujemne ziarenkowce <i>Neisseria</i> , <i>Moraxella</i> .
14.11.2024	6	Gram-ujemne pałeczki <i>Enterobacterales</i> oraz bakterie niefermentujące <i>Pseudomonas</i> , <i>Acinetobacter</i> , <i>Stenotrophomonas</i> .
21.11.2024	7	Gram-dodatnie beztlenowe laseczki przetrwalnikujące <i>Clostridium</i> , <i>Clostridioides</i> .
28.11.2024	8	Gram-dodatnie i Gram-ujemne beztlenowe bakterie nieprzetrwalnikujące.
5.12.2024	9	TEST 2 (tematy 5-8) Antybiotyki i chemioterapeutyki. Laboratoryjne metody oznaczania lekowrażliwości drobnoustrojów.
12.12.2024	10	Mechanizmy oporności drobnoustrojów.
19.12.2024	11	TEST 3 (tematy 9-10) Grzybicze zakażenia jamy ustnej.
9.01.2025	12	Mikrobiota jamy ustnej, część 1. Mikrobiologia próchnicy zębów i chorób dziąseł.
16.01.2025	13	Mikrobiota jamy ustnej, część 2. Mikrobiologia chorób przyzębia.
23.01.2025	14	TEST 4 (tematy 11-14) Kontrola zakażeń. Sterylizacja, dezynfekcja, antyseptyka
30.01.2025	15	ZALICZENIE ĆWICZEŃ (sprawdzian umiejętności praktycznych)

Każdy TEST składa się z 15 pytań:

- 5 zamkniętych pytań jednokrotnego wyboru,
- 5 zamkniętych pytań wielokrotnego wyboru,
- 5 pytań otwartych.

KRYTERIA OCENIANIA TESTÓW (punktacja - ocena):

- poniżej 60% - niedostateczny (2,0)
- 60-68% - dostateczny (3,0)
- 69-76% - dość dobry (3,5)
- 77-84% - dobry (4,0)
- 85-92% - ponad dobry (4,5)
- 93-100% - bardzo dobry (5,0)

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. sobrinus*, *S. rattii*)
 - grupa Salivarius (*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*)
 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 kwasoo odporne pałeczki *Mycobacterium*.

Część teoretyczna:

- Charakterystyka i chorobotwórczość:
Corynebacterium diphtheriae; *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: TEST 1 (tematy 1-4)

**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:

**Gram-ujemne pałeczki *Enterobacterales*
oraz bakterie niefermentujące *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 5-8)

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-krażkowa, 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 (ustalenie MIC) oraz E-testu
- Wykonanie testów lekowrażliwości metodą dyfuzyjno-krażkową 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), MLS_B , 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)

Grzybicze zakażenia jamy ustnej.

Część teoretyczna:

- Charakterystyka grzybów drożdżopodobnych *Candida* spp. i *Cryptococcus* spp.
 - a) Kandydoza jamy ustnej:**
 - ostra kandydoza rzekomobłoniasta (pleśniawki),
 - ostra kandydoza zanikowa,
 - przewlekła kandydoza zanikowa,
 - przewlekła kandydoza hiperplastyczna,
 - zapalenia kątów ust;

- stomatopatia protetyczna
b) Kryptokokoza jamy ustnej.

- Charakterystyka grzybów pleśniowych i dimorficznych
- c) **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 12: 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 13: 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 ulcerative periodontitis*)
- ropnie tkanek przyzębia

- zapalenia tkanek wokół implantu (*peri-implantitis*) oraz okołointplantowe zapalenie błony śluzowej (*peri-mucositis*)

Część praktyczna:

- Odczyt i interpretacja posiewów własnych oraz wykonanie i analiza preparatów barwionych metodą Grama

ĆWICZENIE 14: TEST 4 (tematy 11-14)

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 płytką na 2 studentów)

ĆWICZENIE 15: SPRAWDZIAN UMIEJĘTNOŚCI PRAKTYCZNYCH. ZALICZENIE ĆWICZEŃ.

Część praktyczna:

- Odczyt wyników badań (z ćw. 14) i ich interpretacja.
- **SPRAWDZIAN UMIEJĘTNOŚCI PRAKTYCZNYCH** (sporządzenie 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 (formularz) dotyczące:

- a) zastosowanej techniki barwienia
- b) morfologii obserwowanych mikroorganizmów
- c) sposobu ułożenia obserwowanych komórek
- d) prawdopodobnej grupy drobnoustrojów