**Ćwiczenie 1 Morfologia I fizjologia bakterii**

1. *Barwienie złożone - metoda Grama*

Przygotowanie preparatu: odtłuszczone szkiełko podstawowe , nałożenie bakterii ( z hodowli płynnej – 1-2 oczka ezy lub ze stałej - kropla soli + część kolonii bakteryjnej lub grzybiczej z podłoża stałego - rozprowadzenie na szkiełku

- utrwalenie preparatu (nad płomieniem)

- barwienie:

1. fiolet krystaliczny – 3 min.

Spłukać wodą

2.płyn Lugola – 2 min.

Spłukać wodą

1. Etanol – kilkasekund

Spłukaćwodą

1. Fuksyna – 30 sek.

Spłukaćwodą

- po wyschnięciu oglądamy pod imersją

**Wykonaj barwienie preparatów własnych ze wskazanych przez nauczyciela hodowli stałych ziarniaków Gram(+), ziarniaków Gram(-), pałeczek Gram+, pałeczek Gram(-) , drożdżaków – każdy student wykonuje własny preparat**

**Preparaty pokazowe:**

1. Obejrzyj pod mikroskopem i narysuj to co widzisz, uzupełnij pytania…

* Preparat barwiony czerwienią Kongo

Co widać w tym barwieniu?

* Preparat barwiony metodą Ziehl -Neelsena

Bakterie są koloru :…..

Tło………………..

Wykorzystujemy w diagnostyce…..

* Preparat barwiony metodą Grama

Podłoża

1. Agar krwawy – agar z dodatkiem 5 % krwi baraniej (owczej)

Obejrzyj rodzaje hemolizy paciorkowców na podłożu krwawym – opisz wygląd

Alfa podaj przykłady

Beta podaj przykłady

Gamma podaj przykłady

1. Wykonaj test na obecność katalazy z podłoża krwawego z kolonii wskazanych przez asystenta i oceń czy są to bakterie katalazo-dodatnie czy katalazo – ujemne. Wpisz wynik.

Wykorzystywany jest do różnicowania …………………………….. od………………………………

1. Podłoże McConkeya jest podłożem - określ typ………….

Kolonie laktozo+ są koloru …… podaj przykłady

Kolonie laktozo (-) są koloru…………… podaj przykłady

1. Podłoże Chapmana stosowane jest w diagnostyce ……………………

Kolonie mannitolo+ są koloru…………………… podaj przykład

Kolonie mannitolo(-) są koloru ….. podaj przykład

1. Scharakteryzuj jakie bakterie mogą rosnąć na wskazanym przez asystenta podłożu chromogennym kierując się kolorem kolonii posługując się wzorcem kolorów danego podłoża.
2. Odczytaj test biochemiczny typu API - wskazany przez asystenta – posługując się instrukcją do odczytu danego testu.
3. Opisz kolonie bakteryjne lub grzybicze ze wskazanej przez asystenta płytki kierując się następującymi cechami:

Nazwa podłoża :

Cecha różnicująca:

Zapach kolonii -

Wyglądkolonii-

1. Hodowla drobnoustrojów w podłożu płynnym – zaznacz na rysunku w której części probówki rosną bakterie wybitnie tlenowe. Względnie beztlenowei bezwzględnie beztlenowe.

1. Pobieranie materiałów do badania mikrobiologicznego. Po omówieniu przez Asystenta skierowania na badanie bakteriologiczne wypełnij przykładowe skierowanie – formularz otrzymasz od Asystenta

**Ćwiczenie 2**

**Flora fizjologiczna - posiewy**

1. Odczytaj płytki z ubiegłego tygodnia z posiewami z nosa, jamy ustnej i skóry , opisz według wzoru: liczba różnych kolonii na płytce, kolor, kształt kolonii, obecność hemolizy, czynnik różnicujący

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Miejsce  Pobrania  Rodzaj podloża | nos | j.ustna: | Skóra: |
| Agar z krwią |  |  |  |
| McConkey |  |  |  |
| Chapman |  |  |  |
| Saburauda |  |  |  |
| czekoladowe |  |  |  |
| Inne: |  |  |  |

1. Wykonaj posiewy: odciskowe palców (przed myciem, po myciu mydłem, po dezynfekcji), z powierzchni nieożywionych (metodą odciskową - Count-Tact, wymazy) oraz badanie zanieczyszczenia powietrza metodą opadową
2. Wykonaj posiewy z wymazu z pochwy w kierunku *S.agalactiae*.
3. Opisz poszczególne etapy badania bakteriologicznego na przykładzie badania ropy, BAL-u, krwi (wyboru dokonuje Asystent):
4. Pobranie materiału……………………….. na ………………………
5. Warunki transportu…………………………
6. W laboratorium:
7. Wykonanie preparatu bezpośredniego………………………..
8. Posiew na podłoża – opisz kolonie

* Agar z krwią
* czekoladowe
* P. McConkeya
* Chapmana
* Saburauda
* Podłoża chromogenne
* Podłoże płynne – tioglikolan

1. Różnicowanie biochemiczne na odstawie testu:…………………
2. Wykonanie oznaczenia wrażliwości na antybiotyki metodą/ami:

5.Odczytaj przygotowane antybiogramy metodą dyfuzyjno-krążkową wg następującego schematu:

Badany szczep - ….

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Nazwa antybiotyku/chemioterapeutyku** | **Strefa - mm** | **Interpretacja wg EUCAST**  **S-wrażliwy**  **I-średniowrażliwy**  **R - oporny** | **Możliwy mechanizm oporności** |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |

6. Demonstracja przez Asystenta wybranych płytek z tzw. drobnoustrojami alarmowymi, zanotuj mechanizmy oporności dla wybranych bakterii:

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Mechanizm oporności | Drobnoustroje, które posiadają ten mechanizm | Test laboratoryjny wykrywający ten mechanizm | Podstawy biochemiczne lub molekularne mech. Oporności | Oporność na jakie grupy antybiotyków |
| MRSA |  |  |  |  |
| ESBL |  |  |  |  |
| KPC |  |  |  |  |
| MBL |  |  |  |  |
| MLSb |  |  |  |  |
| PRSP |  |  |  |  |
| AmpC |  |  |  |  |

Ćwiczenie 3

Dezynfekcja i sterylizacja

1. Analiza posiewów środowiskowych wykonanych przez studentów pod kątem ilościowym i jakościowym – należy opisać swoje posiewy z zaznaczeniem miejsca pobrania , ilości i jakości drobnoustrojów i zinterpretować wynik

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Miejsce pobrania | ilość | jakość | Interpretacja wyniku |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |

1. Ocena „ odcisków palców” – opisz rezultat, zinterpretuj pod kątem ilościowym i jakościowym.

Czy prawidłowo wykonał Pan/Pani dezynfekcję rąk?.....odp…………..

Brudny palec….

Po umyciu wodą z mydłem….

Po dezynfekcji…………….

1. Odczytaj płytkę z badaniem kontroli bakteriologicznej powietrza – oblicz , napisz wynik i zinterpretuj wg obowiązujących norm w Polsce
2. Posiew z pochwy/odbytu w kierunku *Streptococcus agalactiae:*

Rodzaj podłoża…………………….

Wynik ………………………………………

1. Przygotowanie referatu:

Temat:…………………..