KONSPEKTY Mikrobiologia i choroby zakaźne

**Ćw.nr1 i 2 Morfologia i fizjologia drobnoustrojów. Imię i nazwisko:**

1.Wykonaj barwienie preparatów własnych ze wskazanych przez nauczyciela hodowli stałych ziarniaków Gram(+), ziarniaków Gram(-), pałeczek Gram+, pałeczek Gram(-), drożdżaków – każdy student wykonuje co najmniej 2 różne preparaty własne.

*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.płynLugola – 2 min.

Spłukać wodą

1. Etanol – kilka sekund

Spłukać wodą

1. Fuksyna – 30 sek.

Spłukać wodą

- po wyschnięciu oglądamy pod imersją

Preparaty pokazowe:

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 błękitem metylenowym

2.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

3.PodłożeMcConkeya jest podłożem - określ typ………….

Kolonie laktozo+ są koloru …… podaj przykłady

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

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

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

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

5.Uzupełnij :

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | z krwią owczą | Chapmana(MSA)  | MacConkeya | czekoladowe | Coccosel | Pyocyanosel | Sabourauda |
| rodzaj podłoża |  |  |  |  |  |  |  |
| czynnik wybiórczy  |  |  |  |  |  |  |  |
| czynnik różnicujący |  |  |  |  |  |  |  |
| dla jakich drobnoustrojów |  |  |  |  |  |  |  |
| możliwa barwa kolonii  |  |  |  |  |  |  |  |

6.Scharakteryzuj jakie bakterie mogą rosnąć na wskazanym przez asystenta podłożu chromogennym kierując się kolorem kolonii posługując się wzorcem kolorów danego podłoża.

**Ćwiczenie 2.**

**AKTYWNOŚĆ ANTYBIOTYKÓW WOBEC BAKTERII – ZASADY OGÓLNE OZNACZANIA**

1.Uzupełnij luki poniżej w celu zapoznania się z podstawowymi zasadami przygotowania antybiogramów

Najprostsza metoda, pozwalająca ocenić hamującą siłę antybiotyku wobec bakterii to: (podaj nazwę).........................................................................................................................................................

Rodzaj metody (podkreśl): jakościowa / półilościowa / ilościowa

Podłoże (rodzaj):.............................................................

Jakość podłoża (wpisz jakie cechy uwzględnić):.......................

Grubość podłoża (mm): ...................................................

Zawiesina wykonana w H2O/ NaCl(podkreśl)

Gęstość zawiesiny (skala McFarlanda): 0,5 / 1 / 1.5 / 2

Mierzenie gęstości (narzędzie):..........................................

Kierunki posiewu (liczba): ................................................

Krążki antybiotykowe (nazwa, skrót)....................................

Odstęp między krążkami (cm):.............................................

Odstęp krążka od brzegu podłoża (cm):.................................

Maksymalna liczba krążków na podłożu 90∅.........................

Przesuwanie krążków po zetknięciu z podłożem (podkreśl): dopuszczalne / niedopuszczalne

Nakładanie krążków (narzędzie):.........................................

Temp. inkubacji (wpisz).............................................................

Czas inkubacji(wpisz)...............................................................

2.

ODCZYT HAMUJĄCEJ SIŁY ANTYBIOTYKU WOBEC BAKTERII W METODZIE KRĄŻKOWO-DYFUZYJNEJ

Odczytaj gotowy antybiogram wskazany przez asystenta w celu określenia hamującej siły chemioterapeutyków wobec szczepu.

Uzupełnij luki poniżej w celu zapoznania się z podstawowymi zasadami odczytu.

Hamująca siła antybiotyku wobec bakterii jest wyrażona w praktyce pomiarem:

Typ wzrostu badanej bakterii (podkreśl): monowarstwa (confluent growth) / widoczne pojedyczne kolonie

Pomiar SZW dotyczy (podkreśl): pomiaru średnicy SZW / pomiaru promienia SZW

Jednostka pomiaru SZW (wpisz):..........................................

Kategorie lekowrażliwości bakterii (opisz skróty): S................, R.................., I........................

Konwersja pomiaru SZW w kategorię lekowrażliwości (podać rodzaj rekomendacji)...................................

3.

WYZNACZENIE MINIMALNEGO STĘŻENIA HAMUJĄCEGO WZROST BAKTERII (WARTOŚCI

MIC)

MIC jest to (podkreśl): miejsce przecięcia SWZ z paskiem / średnica SZW / promień SZW

Rodzaj metody (podkreśl): jakościowa / półilościowa / ilościowa

Podłoże (nazwa):.............................................................

Typ wzrostu bakterii (podkreśl): monowarstwa (confluent growth) / widoczne pojedyncze kolonie

Pasek gradientowy (nazwa, skrót wybranego antybiotyku na pasku)

Maksymalna liczba pasków na podłożu 90 ∅:

Przesuwanie pasków po zetknięciu z podłożem (podkreśl): dopuszczalne / niedopuszczalne

Nakładanie pasków (narzędzie):..........................................

Temp. inkubacji (wpisz).............................................................

Czas inkubacji (wpisz)...............................................................

Podaj wartość MIC wybranego antybiotyku wobec analizowanej bakterii:..............................................

Jednostka odczytu (podkreśl): mm/ cm/ μg/ml/ mg/l

Kategoria lekowrażliwości (dla danego odczytu): S, I, R.

Konwersja wartości MIC w kategorię lekowrażliwości (podaj rodzaj rekomendacji)

1. MECHANIZMY OPORNOŚCI BAKTERII NA WYBRANE GRUPY ANTYBIOTYKÓW

Uzupełnij tabelę:

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 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 3a i 3b**

1. Wykonanie preparatów bezpośrednich i ich ocena:

1a. Wykonaj własny preparat bezpośredni ze śliny Zinterpretuj i podkreśl to co widzisz:

obecność nabłonków , leukocytów, pałeczek Gram(+), pałeczek Gram (-), ziarniaków Gram(+), ziarniaków Gram(-), drożdżaków – chlamydospory / blastospory, inne…..

1b Obejrzyj gotowy preparat bezpośredni z materiałów klinicznych BAL-u lub plwociny pobranych od pacjentów z podejrzeniem zapalenia płuc. Podobnie jak w ćw. 1a zinterpretuj

obecność leukocytów, pałeczek Gram(+), pałeczek Gram (-), ziarniaków Gram(+), ziarniaków Gram(-), drożdżaków – chlamydospory / blastospory, inne…..

wskaż podstawowe różnice pomiędzy śliną a plwociną/BAL-em:

1. Pacjent z podejrzeniem  **zakażeń górnych , dolnych dróg oddechowych lub oka :**zaproponuj schemat badania mikrobiologicznego, na podstawie gotowych podłoży z posiewem opisz drobnoustroje , zaproponuj identyfikację i na podstawie wykonanego antybiogramu, po jego ocenie wskaż najkorzystniejszą terapię dla pacjenta

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
|  | ANGINA | Zapalenie zatok | Zapalenie spojówek  | Zapalenie płuc |
| Rodzaj pobieranego materiału |  |  |  |  |
| Schemat badania mikrobiologicznego(rodzaj podłozy, czas inkubacji) |  |  |  |  |
| Różnicowanie drobnoustrojów –rodzaje testów |  |  |  |  |
| Interpretacja antybiogramu  |  |  |  |  |
| Antybiotykoterapia celowana – ustal najkorzystniejszą opcję terapeutyczną |  |  |  |  |

1. Szybkie testy w praktyce klinicznej , oznaczanie antygenów drobnoustrojów w materiale od pacjenta z podejrzeniem zakażeń dróg oddechowych. Wymień drobnoustroje i rodzaj badanego materiału, omów z Asystentem przydatność kliniczną tych testów.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Antygen – nazwa bakterii | Rodzaj materiału | Przydatność kliniczna |
|  |  |  |
|  |  |  |
|  |  |  |
|  |  |  |
|  |  |  |

1. Testy genetyczne przydatne w diagnostyce zakażeń dróg oddechowych – wpisz przykłady po omówieniu z Asystentem
2. Posiew kału -podłoże McConkeya , SS , Saburauda (odczyt i interpretacja na następnym ćwiczeniu)
3. Interpretacja płytki z posiewem swojego kału

Podłoże…… kolonie………………

Podłoże…….. kolonie………….

Podłoże…………… kolonie………………..

Interpretacja:

1. Obejrzyj wybrane podłoża z posiewem kału wg następującego schematu:

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Nazwa podłoża | Ocena wzrostu – po jakim czasie | Jakie bakterie identyfikujemy | Wygląd kolonii | Jednostka kliniczna | Leczenie empiryczne/celowane/-podaj leki |
| Agar krwawy |  |  |  |  |  |
| McConkeya |  |  |  |  |  |
| SS |  |  |  |  |  |
| Sabourauda |  |  |  |  |  |
| CCDA |  |  |  |  |  |

1. Diagnostyka zakażeń *Clostridium difficile* – obejrzyj wskazane testy , wpisz metodę badania , przydatność kliniczną oraz zapoznaj się z wynikami dodatnimi i ujemnymi
* Test na obecność dehydrogenazy w kale -
* Wykrycie toksyny A/B oraz szczepu hiperwirulentnego ……
1. Wykrycie Rota/Adenowirusów w kale – zasada testu, przykładowe wyniki badań – opisz i oceń
2. Obejrzyj i narysuj preparat z hodowli *Campylobacter*
3. Przeprowadź serotypowanie E.coli kierunku szczepu EPEC – wynik zaznacz na rysunku:

szczep + surowica szczep + kontrola NaCl

**ĆWICZENIE 4 a i 4 b**

1. Wykonaj posiew moczu ezą kalibrowaną:

 Rodzaj podłoża-

 Czas inkubacji –

1. Wykonaj i oceń preparat bezpośredni wykonany z wymazu z cewki moczowej i/lub pochwy. Narysuj , wskaż elementy fizjologiczne i ewentualnie takie które wskazują na patologię
2. Oceń wybrane 3 posiewy moczu pod kątem ilościowym i jakościowym
3. Oceń antybiogram wg norm EUCAST z wybranych drobnoustrojów izolowanych z zakażeń dróg moczowych:

Gatunek:……………………………..

Antybiotyk/chemioterapeutyk strefa w mm R/S

1. Wskaż i narysuj charakterystyczne elementy preparatów bezpośrednich z pochwy klasyfikowanych jako:

- waginoza

- zakażenie

- drożdżyca

1. Podaj wynik posiewu moczu wykonanego na poprzednim ćwiczeniu:
2. Narysuj charakterystyczne elementy preparatu bezpośredniego z rzeżączki:

1. *Neisseria* - wykonanie testu na oksydazę – wynik………………………
2. Odczyn FTA-ABS - opisz metodę, obejrzyj preparat – opisz w zeszycie
3. Diagnostyka Mycoplasma/Ureaplasma -
* Metoda półilościowa – jakościowa – zasada testu , obejrzyj przykładowe testy i wyniki badań – opisz
* Metoda genetyczna – przykładowe wyniki, zasada testu
1. *Chlamydia trachomatis* –

6a -diagnostyka z wykorzystaniem DIF – opisz zasadę testu, obejrzyj przykładowe preparaty

6b – diagnostyka genetyczna

1. Omówienie wyników badań w kierunku HPV:
* Wpisz typy wysokoonkogenne:
* Tzw. średniego ryzyka:
* Niskiego ryzyka:

**CWICZENIE 5 a i 5 b**

1. WYKONANIE I OCENA MIKROSKOPOWA PREPARATU WYKONANEGO Z DODATNIEJ HODOWLI KRWI.

Na podstawie prezentacji Asystenta wykonaj samodzielnie rozmaz kropli krwi barwiony metodą Grama.

Dokonaj analizy jakościowej i ilościowej poszczególnych składowych preparatu według schematu załączonego poniżej.

KREW

Ocena jakościowa –obecne/brak

Erytrocyty (bez znaczenia diagnostycznego)

Leukocyty

Gram (+) ziarniaki/Gram (-) ziarniaki /Gram (+) pałeczki/Gram (-) pałeczki

Blastospory/Formy inwazyjne (pseudostrzępkowe)

Inne.........................................................................................................................

Ocena ilościowa –schemat:

(+) –pojedyncze komórki w polu widzenia

(++) –do 10 komórek w polu widzenia

(+++) –powyżej 10 komórek w polu widzenia

2.OCENA MIKROSKOPOWA PREPARATU Z HODOWLI KRWI I JEGO PRZYDATNOŚĆ W DEESKALACJI TERAPII EMIPIRYCZNEJ

Na podstawie analizy gotowych preparatów mikroskopowych z hodowli krwi zaproponuj terapię empiryczną zakażenia.

1. Preparat z hodowli krwi

Ziarniaki / pałeczki / Gram (+)/ Gram (-) / blastospory

Terapia empiryczna

1. Preparat z hodowli krwi

Ziarniaki / pałeczki / Gram (+)/ Gram (-) / blastospory

Terapia empiryczna

1. Preparat z hodowli krwi

Ziarniaki / pałeczki / Gram (+)/ Gram (-) / blastospory

Terapia empiryczna

3.INTERPRETACJA WYNIKÓW Z POSIEWÓW KRWI

Na podstawie analizy przypadku uzupełnij zagadnienia.

76-letni mężczyzna przyjęty został do szpitala, ponieważ od trzech dni ma wysoką gorączkę, bóle mięśni, dreszcze, ból w plecach. Badanie wykazało, że ma temperaturę 38,5 °C oraz stwierdzono mikroropnie w wątrobie oraz woreczku żółciowym. Pobrano krew na posiew i włączono antybiotyk. W sześciogodzinnej hodowli krwi obserwuje się gaz, a w preparacie barwionym metodą Grama widać Gram-dodatnie bakterie.

Etiologia zakażenia:

Antybiotyki do terapii celowanej:

Prawdopodobne źródło zakażenia:

1. DIAGNOSTYKA ZAKAŻEŃ KRWI I CENTRALNEGO UKŁADU NERWOWEGO

Zaproponuj diagnostykę mikrobiologiczną dla omawianego przypadku klinicznego. Wykorzystaj pomoce diagnostyczne, wykonaj testy identyfikacyjne w celu wyjaśnienia najbardziej prawdopodobnej etiologii zakażenia.

Zanotuj wyniki przeprowadzonych testów:

Etiologia zakażenia na podstawie przeprowadzonej diagnostyki mikrobiologicznej:

Wykonaj antybiogram dla zidentyfikowanego szczepu, uwzględniając możliwe mechanizmy oporności.