Program ćwiczeń z przedmiotu: **Mikrobiologia** dla kierunku: **Farmacja**

Rok akademicki 2023/2024

6 a.b. Mechanizmy oporności bakterii na antybiotyki. Leki przeciwgrzybicze i przeciwwirusowe (2x4h) - **20-22.02.2024**

7.a. Związki wzajemne występujące między mikoorganizmami. Mikrobiota człowieka i pobieranie materiałów na badanie mikrobiologiczne (4h) - **27-28.02.2024**

7.b. Probiotyki. Drobnoustroje wykorzystywane do celów farmaceutycznych. Zakażenia przewodu pokarmowego (4h) - **28-29.02.2024**

8.a. Mikrobiologia infekcyjna- zakażenia układu oddechowego (4h) - **05-06.03.2024**

8.b. Mikrobiologia infekcyjna- zakażenia układu moczowo- płciowego i zakażenia przenoszone drogą płciową (4h) - **06-07.03.2024**

9.a. Mikrobiologia infekcyjna- zakażenia tkanek miękkich i skóry, zapalenia kości i stawów, zakażenia krwi (4h) - **12-13.03.2024**

9b. Mikrobiologia infekcyjna- zakażenia układu nerwowego, zakażenia powodowane przez prątki i bakterie atypowe. Diagnostyka mikrobiologiczna zakażeń. Interpretacja wyników badań mikrobiologicznych i antybiogramów. Współczesne metody diagnostyki mikrobiologicznej – (3h) - **13-14.03.2024**

**6.a.b Mechanizmy oporności bakterii na antybiotyki. Leki przeciwgrzybicze i przeciwwirusowe.**

Aktualne problemy antybiotykoterapii – narastanie oporności, zmienność czynników etiologicznych zakażeń.

Mechanizmy powstawania oporności bakterii na antybiotyki - oporność naturalna, oporność nabyta: związana z chromosomem – mutacje, związana z plazmidami i transpozonami – koniugacja, transdukcja, transformacja, selekcja szczepów opornych.

Ekspresja fenotypowa oporności na antybiotyki - synteza enzymu degradującego, modyfikacja miejsca docelowego działania, zaburzenie barier przepuszczalności, ominięcie ogniwa zablokowanego przez enzym, wypływ antybiotyku.

Mechanizmy oporności klinicznie ważnych patogenów: *Staphylococcus, Streptococcus pneumoniae, Streptococcus pyogennes, Enterococcus, Haemophilus influenzae, E coli, Klebsiella, Proteus, Pseudomonas, Acinetobacter*.

Chemioterapia zakażeń wirusowych – leki przeciwwirusowe, mechanizmy działania.

Chemioterapia zakażeń grzybiczych - leki przeciwgrzybicze, mechanizmy działania, oznaczanie wrażliwości (antymykogram).

Leki stosowane w zakażeniach wywołanych przez prątki gruźlicy, beztlenowce, bakterie atypowe.

Wskazania i zasady racjonalnej terapii: terapia empiryczna, terapia celowana, terapia deeskalacyjna.

***Część praktyczna:***

***WEJŚCIÓWKA – RODZIAŁ 13.3 I 13.4 ORAZ ROZDZIAŁ 1 W PODRĘCZNIKA NR 2. WYTYCZNE ZE STRONY www.antybiotyki.edu.pl***

Film: Oznaczanie MRSA.

Wykrywanie różnych mechanizmów oporności: betalaktamazy ESBL i AmpC, KPC, MBL, mechanizm M, MLSB, szczepy MRSA, VISA, HLAR, VRE.

Kliniczna interpretacja wyników antybiogramów uzyskanych in vitro.

Odczytanie lekowrażliwości grzybów za pomocą różnych testów: Candifast , E-test na specjalnym podłożu RPMI agar

Odczytanie wrażliwości wybranych bakterii beztlenowych za pomocą E-test (oznaczenie MIC)

Wykonanie posiewów ze skóry, z nosa, z gardła.

**7.a. Związki wzajemne mikroorganizmów oraz mikrobiota człowieka. Pobieranie materiałów na badanie mikrobiologiczne.**

Formy współżycia między drobnoustrojami: synergizm, antagonizm, obojętność – przykłady.

Współżycie drobnoustrojów z organizmem: symbioza, komensalizm, saprofityzm, oportunizm, pasożytnictwo, nosicielstwo, antybioza.

Definicje: mikrobiom, mikrobiota, flora fizjologiczna

Mikrobiota człowieka - skóra, układ oddechowy, pokarmowy, moczowo-płciowy. Rola i uwarunkowania najczęściej występujących drobnoustrojów.

Chorobotwórczość (zjadliwość) drobnoustrojów – zakaźność, inwazyjność, toksyczność.

Czynniki warunkujące chorobotwórczość: struktury powierzchniowe – (fimbrie, otoczki, substancje śluzowe, białka adhezyjne), toksyny (egzotoksyny, endotoksyny, enterotoksyny, mechanizmy działania toksyn), enzymy (np. koagulaza, hialuronidaza….).

Terminy związane z zakażeniem, zapaleniem i epidemiologią chorób infekcyjnych: adhezja, kolonizacja, kontaminacja, inwazja, ewazja, zakażenie (ostre, przewlekłe, oportunistyczne, miejscowe, układowe, uogólnione, bezobjawowe, objawowe, latentne, mieszane, pierwotne, reinfekcja, superinfekcja, szpitalne, pozaszpitalne, endogenne, egzogenne, wrodzone, nabyte, antroponoza, antropozoonoza, zoonoza, sapronoza, bakteriemia, posocznica, intoksykacja, zarażenie, rezerwuar zarazka, źródło zakażenia, wrota zakażenia, okres wylegania, epidemia, endemia, pandemia, współczynnik zachorowalności, wskaźniki: zapadalność, chorobowość, umieralność, śmiertelność.

***Część praktyczna:***

***WEJŚCIÓWKA – ROZDZIAŁ 5.4 – 5.5, 16.1.***

Film. Ekologia jamy ustnej.

Określanie NPL metodą posiewu powierzchniowego i wgłębnego.

Metoda filtracji.

Przykłady współżycia drobnoustrojów –bakterie tlenowe i beztlenowe, posiew z mamką.

Odczytanie posiewów wykonanych z różnych miejsc występowania drobnoustrojów w organizmie.

Wykonanie preparatów z płytki nazębnej i kieszonki dziąsłowej

**7 b. Probiotyki.** **Drobnoustroje wykorzystywane do celów farmaceutycznych. Zakażenia układu pokarmowego. Zatrucia pokarmowe**

Definicje: probiotyki, prebiotyki, synbiotyki.

Pozyskiwanie preparatów probiotycznych. Właściwości szczepów probiotycznych oraz ich rola dla organizmu człowieka.

 Czynniki etiologiczne (bakterie, wirusy, pasożyty), postacie kliniczne, epidemiologia, leczenie zakażeń przewodu pokarmowego i zatruć pokarmowych.

Zasady badań mikrobiologicznych w chorobach przewodu pokarmowego:

* badanie kału i wymazów z odbytu na podłożach wybiórczo-różnicujących, badanie biochemiczne, typowanie serologiczne, typowanie fagowe;
* posiew krwi, moczu, żółci, kału, odczyny serologiczne (dur i paradury);
* wykrycie toksyn (*Clostridium botulinum, Clostridium difficile, S aureus*);
* wykrycie antygenu w kale (*Rotavirus*);

Profilaktyka zakażeń jelitowych: badanie nosicielstwa *Salmonella, Shigella*, badanie stopnia zanieczyszczenia wody – miano coli.

***Część praktyczne:***

***WEJŚCIÓWKA- ROZDZIAŁ 17.3***

Oznaczanie jakościowe i ilościowe zawartości szczepów probiotycznych w probiotykach

Oglądanie dodatnich posiewów w kierunku *Salmonella.*

Ocena testów biochemicznych wyizolowanych pałeczek Gram-ujemnych.

Wykonanie badania serologicznego celem wykrycia patogennych *E coli*.

Oglądanie surowic do ustalenia serotypu *Salmonella, Shigella.*

Ocena stopnia zanieczyszczenia wody.

Wykrycie antygenów rotawirusów i adenowirusów w kale – test VIKIA Rota-Adeno

Izolacja i wykrycie toksyn A i B *Clostridium difficile.*

Oglądanie dodatnich posiewów w kierunku *Campylobacter.*

Wykrywanie antygenu *Helicobacter pylori* w kale testem ImmunoCard STAT! HpSA – próby dodatnie i ujemne

Prezentacja i omówienie wyników badań oznaczania przeciwciał IgG przeciwko *Heliocobacter pylori* metodą IF oraz przeciwciał przeciwko specyficznym antygenom testem Westernblot.

**8.a. Mikrobiologia infekcyjna- Zakażenia dróg oddechowych i oka.**

Przypomnienie flory fizjologicznej układu oddechowego i pokarmowego oraz mechanizmów obrony przed zakażeniem.

Najczęstsze postaci kliniczne zakażeń górnych (URTI) i dolnych (LRTI) dróg oddechowych, czynniki etiologiczne (wirusy, grzyby, bakterie: gronkowce, paciorkowce, pałeczki Gram-ujemne, inne, drobnoustroje wywołujące atypowe zapalenia płuc: *Mycoplasma*, *Chlamydia*, *Legionella*, *Coxiella*), zakażenia pozaszpitalne i szpitalne.

Zasady diagnostyki (posiewy, badania serologiczne, wykrycie antygenu) i leczenia zakażeń układu oddechowego.

Chorobotwórczość, diagnostyka, epidemiologia zakażeń wywołanych przez *Haemophilus* *influenzae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Bordetella pertussis.*

Zakażenia oka – zakażenia wirusowe, grzybicze, bakteryjne, postaci kliniczne, zasady diagnostyki i leczenia.

***Część praktyczna:***

***WEJŚCIÓWKA - ROZDZIAŁ 17.1- 17.2***

Oglądanie i ocena preparatów bezpośrednich z plwociny (leukocyty, bakterie, grzyby).

Oglądanie hodowli różnych materiałów z dróg oddechowych z udziałem: *Staphylococccus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*. Przypomnienie zasad różnicowania w/w drobnoustrojów.

Różnicowanie gatunków *H influenzae* (krążki X, V, XV) oraz *Moraxella catarrhalis*, test biochemiczny API NH - demonstracja

Ocena antybiogramów wykonanych z w/w drobnoustrojów, wypisanie i interpretacja wyniku.

Wykrycie antygenu *Legionella pneumophila* w moczu testem BinaxNOW – demonstracja wyniku dodatniego i ujemnego, wykorzystanie testu w praktyce klinicznej.

Wykrycie antygenu *Streptococcus pneumoniae* w moczu testem BinaxNOW – demonstracja wyniku dodatniego i ujemnego, wykorzystanie testu w praktyce klinicznej.

Wykrycie antygenu *Streptococcus pyogenes* w materiale od pacjenta (wymaz z gardła, migdałków , rany, zmian skórnych itp.) test QUIKVUE+Strep A – omówienie wykonania testu i korzyści dla lekarza i pacjenta wynikających z szybkiego wykrycia obecności paciorkowców beta-hemolizujących gr. A w materiale badanym. Pokaz testu dodatniego i ujemnego.

Oznaczanie mRNA wirusa RS metodą RT-PCR w BAL-u, surowicy pacjenta – zastosowanie testu, przykłady wyników.

**8.b. Mikrobiologia infekcyjna- Zakażenia układu moczowo-płciowego, zakażenia przenoszone drogą płciową**

Przypomnienie flory fizjologicznej układu moczowo-płciowego

Czynniki sprzyjające zakażeniom dróg moczowo-płciowych, postacie kliniczne.

Czynniki etiologiczne zakażeń dróg moczowych.

Badanie bakteriologiczne moczu – zasady i sposoby pobierania moczu, posiewy ilościowe i jakościowe, antybiogram. Flora fizjologiczna, stopnie czystości pochwy.

Najczęściej występujące stany zapalne pochwy: drożdżyca, rzęsistkowica, bakteryjna waginoza (*Gardnerella vaginalis*), chlamydioza (*Chlamydia trachomatis*), opryszczka *(*Herpes simplex typ 2*).* Zasady diagnostyki i leczenia.

Zakażenia wewnątrzpłodowe i okołoporodowe (*Toxoplasma gondii*, *Rubella virus*, CMV, HSV - TORCH; *Treponema pallidum, Streptococcus agalactiae)*.

Czynniki etiologiczne aktualnie związane z chorobami przenoszonymi drogą płciową:

1.wirusowe: 1.a: HSV, HPV, MCV (wywołują lokalne zmiany w obrębie i okolicy narządów rodnych); 1.b.

HIV, HBV, HDV,HCV, HGV, HTLV, HHV 8 (komórka docelowa poza układem płciowym);

2. bakteryjne: *Treponema pallidum*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Haemophilus ducreyi*, *Gardnerella vaginalis*;

3. inne: *Trichomonas vaginalis*, drożdżaki;

Kiła – morfologia i fizjologia krętka bladego – *Treponema pallidum*, inne krętki wystepujące fizjologicznie i chorobotwórcze, diagnostyka kiły w zależności od okresu choroby (preparat bezpośredni, odczyny serologiczne klasyczne (VDRL, USR, Wassermana, Kolmera) i nowoczesne (FTA, FTA-ABS, immobilizacyjny), profilaktyka kiły, zakażenia poza kontaktem płciowym.

Rzeżączka – morfologia i fizjologia dwoinek rzeżączki – *Neisseria gonorrhoeae*, diagnostyka ostrej i przewlekłej rzeżączki (preparat bezpośredni, hodowle, identyfikacja), zakażenia poza kontaktem płciowym.

Nierzeżączkowe zapalenia cewki moczowej (NGU) – chlamydie, mykoplazmy, diagnostyka.

Chemioterapia STD.

***Część praktyczna:***

***WEJŚCIÓWKA- ROZDZIAŁ 17.4-17.5***

Wykonanie posiewu moczu ezą kalibrowaną.

Ocena jakościowych i ilościowych posiewów moczu.

Zastosowanie podłoży chromogennych w diagnostyce moczu oraz identyfikacji *S. agalactiae* (Granada)– przykładowe posiewy.

Ocena antybiogramów z dróg moczowych, wypisanie i interpretacja wyniku.

Oglądanie posiewów wymazów z pochwy.

Oglądanie hodowli *Lactobacillus*, *Gardnerella vaginalis*, *Streptococcus agalactiae.*

Przykład szybkiej diagnostyki – wykrywanie obecności *Streptoccus agalactiae* metodą Real-Time PCR w wymazach – demonstracja aparatu i omówienie testu.

Oznaczanie DNA *Chlamydia trachomatis* w wymazach z szyjki macicy, pochwy, BAL-u noworodka – zastosowanie testu, przykłady wyników

Filmy: Rzeżączka. Kiła wczesna objawowa. HPV.

Oglądanie preparatów bezpośrednich z zakażenia dwoinkami rzeżączki.

Oglądanie hodowli dwoinek rzeżączki, wykonanie testu na wytwarzanie oksydazy.

Oglądanie odczynu FTA-ABS

Oglądanie zestawu do diagnostyki Ureaplasma.

Wykrycie *Chlamydia trachomatis* w preparatach bezpośrednich metodą IF.

Oznaczanie genotypu wirusa HPV metodą PCR/hybrydyzacji w wymazach z kanału szyjki macicy, zeskrobin ze zmian chorobowych - przykłady wyników badań, omówienie zastosowania testu.

**9.a. Mikrobiologia infekcyjna- zakażenia tkanek miękkich i skóry, zapalenia kości i stawów, zakażenia krwi**

Posocznica, bakteriemia, zapalenie wsierdzia – uwarunkowania kliniczne, czynniki etiologiczne, diagnostyka bakteriologiczna: zasady pobierania krwi na posiew ( czas, objętość, podłoża, liczba próbek itp.), metody hodowli krwi, ocena posiewów, interpretacja wyniku posiewu krwi.

Zapalenia skóry, stawów, kości, szpiku– czynniki etiologiczne, diagnostyka.

Zasady chemioterapii zakażeń krwi, zakażeń tkanek miękkich, kości i stawów.

***Część praktyczna:***

***WEJŚCIÓWKA- ROZDZIAŁ – 17.8- 17.11***

Demonstracja zestawów i podłoży do pobierania krwi.

Oglądanie preparatów z zakażeń krwi.

Interpretacja wyników posiewów krwi.

Hodowle i identyfikacja najczęstszych patogenów powodujących zakażenia krwi, tkanek miękkich, kości i stawów.

**9.b. Mikrobiologia infekcyjna- zakażenia układu nerwowego, zakażenia powodowane przez prątki i bakterie atypowe. Diagnostyka mikrobiologiczna zakażeń. Interpretacja wyników badań mikrobiologicznych i antybiogramów. Współczesne metody diagnostyki mikrobiologicznej- 2h**

Czynniki predysponujące do zakażeń CUN, drogi zakażenia.

Zasady pobierania płynu mózgowo-rdzeniowego do badania bakteriologicznego i wirusologicznego.

Czynniki etiologiczne zapaleń opon mózgowo-rdzeniowych i mózgu -

* bakteryjne ropne: *Neisseria meningitidis, Haemophilus influenzae, Streptococcus pneumoniae, Staphylococus, Streptococcus agalactiae,* pałeczki Gram-ujemne,
* bakteryjne nieropne: *Mycobacterium tuberculosis, Listeria monocytogenes, Borrelia burgdorferi, Treponema pallidum*;
* grzybicze: *Cryptococcus neoformans, Candida*
* pasożytnicze: *Toxoplasma gondii;*
* wirusowe (limfocytarne): wirusy neurotropowe – enterowirusy: Polio, Coxackie, Echo, arbowirusy, wścieklizny; wirusy nie neurotropowe, mogące dać powikłania mózgowe – odry, świnki, różyczki, herpes, adenowirusy, schorzenia latentne CUN;

Diagnostyka neuroinfekcji: badanie płynu mózgowo-rdzeniowego (preparaty bezpośrednie,

hodowle, wykazanie swoistych antygenów), posiewy innych materiałów, badania serologiczne (wykrycie przeciwciał).

Diagnostyka gruźlicy- metody barwienia, podłoża diagnostyczne, leczenie

Diagnostyka zakażeń powodowanych przez bakterie atypowe- metody wykrywania, leczenie

Cel i znaczenie badania mikrobiologicznego.

Zasady pobierania materiału do badań mikrobiologicznych: okres pobierania, rodzaje materiałów, sposoby pobierania, przechowywania i transportu

Opracowanie materiału w pracowni bakteriologicznej –znaczenie praktyczne poszczególnych etapów:

-badanie mikroskopowe

-preparat bezpośredni barwiony metodą Grama lub inną ewentualnie wykazanie

antygenu bezpośrednio w materiale metodami serologicznymi lub genetycznymi;

-posiewy na odpowiednie podłoża bakteriologiczne;

-identyfikacja wyhodowanych drobnoustrojów

-preparat z hodowli, ocena morfologii kolonii, badanie cech biochemicznych, badanie serologiczne, typowanie fagowe, sondy molekularne;

-oznaczenie wrażliwości na antybiotyki;

-badanie zjadliwości drobnoustrojów (metody in vivo i in vitro);

Kliniczna interpretacja wyniku badania bakteriologicznego.

***Część praktyczna:***

***WEJŚCIÓWKA – ROZDZIAŁ 17.6 i 16***

Demonstracja zestawów i podłoży do pobierania płynu mózgowo-rdzeniowego .

Oglądanie preparatów z zakażeń płynu mózgowo-rdzeniowego.

Hodowle i identyfikacja najczęstszych patogenów CUN.

Zestaw do identyfikacji antygenów *H. influenzae*, *E.coli* K1, *S .agalactiae, N. meningitidis, Cryptococcus* bezpośrednio z płynu mózgowo-rdzeniowego- zastosowanie w praktyce klinicznej

Metody stosowane w diagnostyce prątki- oglądanie preparatów bezpośrednich i podłoży sotosowanych w diagnostyce gruźlicy.

Metody diagnostyki bakterii atypowych- interpetacja wyników badań i leczenie

Przeprowadzenie i omówienie badania bakteriologicznego na przykładzie badania ropy –preparat bezpośredni, posiew na podłoża: agar z krwią, McConkeya, Chapmana, tioglikolanowe; różnicowanie wyrosłych kolonii (gronkowce koagulaza, E coli–szereg biochemiczny), antybiogram.

Oglądanie preparatów bezpośrednich z różnych materiałów.

Oglądanie hodowli (fizjologia, zakażenie) z różnych materiałów: mocz, krew, kał, pochwa.

Różnicowanie cech biochemicznych bakterii.

Omówienie systemu MALDI-TOF

**LITERATURA OBOWIĄZUJĄCA:**

1. **HECZKO P., WRÓBLEWSKA M., PIETRZYK A: Mikrobiologia lekarska**
2. **DZIERŻANOWSKA D: Antybiotykoterapia praktyczna**

**LITERATURA UZUPEŁNIAJĄCA:**

1. **SZEWCZYK E: Diagnostyka bakteriologiczna**