**Tematy wykładów i ćwiczeń z przedmiotu Mikrobiologia i choroby zakaźne**

**dla studentów kierunku Biotechnologia medyczna I r II°**

Wykłady:

1. Wprowadzenie do mikrobiologii i chorób zakaźnych. – 14.05
2. Antybiotykoterapia zakażeń bakteryjnych- 21.05
3. Zakażenia układu oddechowego i pokarmowego.- 28.05
4. Zakażenia układu moczowo- płciowego. STD.- 04.06
5. Zakażenia układu nerwowego. Zakażenia krwi.- 11.06

Ćwiczenia:

1. **Podstawy różnicowania bakterii i grzybów 16/21.05.2024**

Morfologia bakterii i grzybów: kształt, wymiary, budowa komórki bakteryjnej, struktury powierzchniowe (fimbrie, rzęski, slime, otoczki) i wewnątrzkomórkowe (nukleoid, rybosomy, mezosomy, plazmidy, transpozony, przetrwalniki, ziarnistości). Podział bakterii na Gram-dodatnie i Gram-ujemne, różnice w budowie ich ściany komórkowej. Drobnoustroje z defektywną ścianą komórkową: mykoplazmy, protoplasty, sferoplasty, formy L. Podstawowe cechy różnicujące komórkę *Procaryota*i *Eucaryota*.

Metody badania morfologii drobnoustrojów – badania mikroskopowe: preparaty przyżyciowe i barwione. Zastosowanie różnych typów mikroskopów w mikrobiologii. Metody barwienia – podziały, zastosowanie praktyczne (metoda Grama, Ziehl-Neelsena, Neissera, Giemsy, Lőfflera, metoda pozytywna, negatywna, pozytywno-negatywna).

Fizjologia drobnoustrojów – wymagania odżywcze (skład chemiczny komórki bakteryjnej, różne zapotrzebowanie na składniki pokarmowe); metabolizm – zapotrzebowanie na źródło węgla i źródło energii (autotrofy, heterotrofy, chemolitotrofy, chemoorganotrofy); zapotrzebowanie na tlen (bezwzględne tlenowce, względne beztlenowce, beztlenowce, mikroaerofile); wpływ temperatury (psychrofile, mezofile, termofile), pH, ciśnienia, potencjału oksydoredukcyjnego na wzrost bakterii. Różnice w zapotrzebowaniu wzrostowym różnych grup drobnoustrojów (większość bakterii – podłoża sztuczne; riketsje, chlamydie – namnażanie w żywych komórkach).

Podłoża do hodowli bakterii i grzybów – podziały, przykłady (płynne stałe, półpłynne; proste wzbogacone, wybiórczo-różnicujące, wybiórczo-namnażające, specjalne, podłoża chromogenne); Wykorzystanie metabolizmu i różnych podłoży do różnicowania drobnoustrojów. Metody hodowli bakterii beztlenowych i wymagających zwiększonej atmosfery CO2 – proste testy, szeregi biochemiczne, podłoża selektywne, chromogenne

**Część praktyczna:**

**1a.** Omówienie zasad BHP w pracowni mikrobiologicznej.

Omówienie zasad wykonywania i barwienia preparatów.

Wykonanie i oglądanie preparatów przyżyciowych –kropla wisząca.

Wykonanie preparatów barwionych z hodowli płynnej i stałej metodą Grama. Ocena mikroskopowa wykonanych preparatów. Ocena wielkości i morfologii drobnoustrojów oraz różnicowanie poszczególnych grup drobnoustrojów na podstawie preparatów własnych i pokazowych.

Oglądanie preparatów barwionych różnymi metodami.

Wykrywanie ruchu bakterii na podłożu stałym, w agarze półpłynnym, kropli wiszącej.

Oglądanie różnych podłoży do hodowli drobnoustrojów przed i po posiewie.

Ocena wzrostu bakterii i grzybów na podłożach stałych i płynnych charakterystyka morfologiczna i „biochemiczna” kolonii.

Różnicowanie drobnoustrojów na podstawie rodzaju wzrostu na podłożach płynnych (zmętnienie) i stałych (kolonie).

Hodowla bakterii beztlenowych (anaerostat) i wymagających zwiększonej atmosfery dwutlenku węgla (eksykator).

Różnicowanie bakterii na podstawie cech biochemicznych.

**1.b**

**Wejściówka.- obowiązuje wykład 1.**

Kontynuacja ćwiczenia 1a. Odczyt wyników.

1. **Antybiotyki i mechanizmy oporności. 23/28.05.2024**

Ogólna charakterystyka i podział substancji działających na drobnoustroje - chemioterapeutyki, antybiotyki: beta-laktamowe (penicyliny, cefalosporyny, monobaktamy, karbapenemy, inhibitory beta-laktamaz), aminoglikozydy, chinolony, tetracykliny, makrolidy, linkosamidy, glikopeptydy, inne.

Sposób działania (bakteriobójczy, bakteriostatyczny), zakres działania (wąskie, szerokie spektrum), mechanizm działania poszczególnych grup antybiotyków (hamowanie syntezy ściany komórkowej, uszkodzenie błony cytoplazmatycznej, blokowanie syntezy białek, blokowanie syntezy DNA, konkurencyjne wnikanie w łańcuch metaboliczny).

Uboczne działanie antybiotyków – alergiczne, toksyczne, biologiczne, efekt poantybiotykowy.

Metody badania wrażliwości bakterii na antybiotyki in vitro - antybiogramy: metoda dyfuzyjno-krążkowa, metody kolejnych rozcieńczeń w podłożu stałym i płynnym, E-testy. Znaczenie kliniczne MIC i MBC

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, Streptococcuspneumoniae, Streptococcuspyogennes, Enterococcus, Haemophilusinfluenzae, E coli, Klebsiella, Proteus, Pseudomonas, Acinetobacter*.

**Część praktyczna:**

**2a. Wejściówka. Obowiązuje wykład 2.**

Omówienie zasad wykonywania antybiogramu dyfuzjno-krążkowego wg wytycznych EUCAST -przygotowanie odpowiedniego inokulum, posiew na odpowiednie podłoże, dobór właściwych krążków. Formularz antybiogramu.

Omówienie zasad odczytywania i interpretacja wyników antybiogramów wykonanych metodą dyfuzyjno-krążkową (wrażliwy, oporny) oraz kolejnych rozcieńczeń (ustalenie MIC) dla różnych rodzajów/grup drobnoustrojów. Odczytanie MIC na podstawie E-testu.

**2b.**

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.

1. **Zakażenia układu oddechowego, oka i układu pokarmowego. 04.06/06.06.2024**

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.

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);
* wykrycietoksyn (*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 praktyczna:**

**3.a. Wejściówka. Obowiązuje wykład 3**

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.

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.

Oglądanie dodatnich posiewów w kierunku *Campylobacter.*

**3.b.** 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.

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

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

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.

1. **Zakażenia układu moczowo- płciowego. Zakażenia przenoszone drogą płciową. 11-13.06.2024**

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:**

**4.a. Wejściówka**

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.

Oglądaniehodowli *Lactobacillus*, *Gardnerella vaginalis*, *Streptococcus agalactiae.*

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

**4.b.** Filmy: Rzeżączka. Kiła wczesna objawowa. HPV.

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

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.

1. **Zakażenia układu nerwowego i krwi. Zakażenia szpitalne. 18/20.06.2024**

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

**Część praktyczna:**

**5 a. Wejściówka**

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

**5.b**. 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.

Literatura obowiązująca:

|  |
| --- |
| **1.** Mikrobiologia lekarska – P.B.Heczko, M.Wróblewska, A.Pietrzyk |
| 2. Diagnostyka bakteriologiczna- E.M. Szewczyk |
| **3.** Antybiotykoterapia praktyczna- D.Dzierżanowska |