

ĆWICZENIE 2

DIAGNOSTYKA MIKROBIOLOGICZNA – METODY MIKROSKOPOWE

1. Znaczenie badań bakterioskopowych w diagnostyce chorób zakaźnych.
2. Metody uwidaczniania bakterii.
3. Technika wykonywania preparatów mikroskopowych.
4. Metody barwienia komórek bakteryjnych.
5. Typy mikroskopów i ich zastosowanie w diagnostyce mikrobiologicznej.

**Do wykonania:**

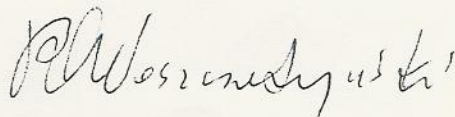
1. Zabarwienie i mikroskopowanie utrwalonego preparatu z hodowli bakterii.
2. Mikroskopowanie zabarwionych metodą Grama preparatów (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Clostridium prefringens*, *Candida albicans*).

**Barwienie złożone – metoda Grama:**

- |  |              |
|--|--------------|
| a) fiolet krystaliczny (1 barwnik)         | 1-2 minuty   |
| splukać wodą                               |              |
| b) płyn Lugola (utrwalacz)                 | 1-2 minuty   |
| splukać wodą                               |              |
| c) alkohol etylowy z acetonem (odbarwiacz) | do 30 sekund |
| splukać wodą                               |              |
| d) fuksyna wodna (2 barwnik)               | 30-60 sekund |
| splukać wodą                               |              |

Bakterie **Gram-dodatnie** barwią się na kolor **fioletowy**,

bakterie **Gram-ujemne** barwią się na kolor **różowy**.



dr n. med. Piotr Obuch-Woszczatyński

I Wydział Lekarski

2006-10-10

2006-10-17

II Wydział Lekarski

2006-10-19

**ĆWICZENIE 3**  
**STERYLIZACJA I DEZYNFEKCJA**

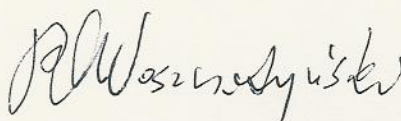
1. Podstawowe pojęcia i definicje:
  - ✓ sterylizacja
  - ✓ dezynfekcja
  - ✓ tyndalizacja
  - ✓ pasteryzacja
  - ✓ dekontaminacja
  - ✓ sanityzacja
  - ✓ antyseptyka
  - ✓ aseptyka
2. Metody sterylizacji.
3. Środki dezynfekcyjne i dezynfekcja w medycynie.
4. Metody kontroli skuteczności sterylizacji i dezynfekcji.
5. Oporność drobnoustrojów na środki dezynfekcyjne.
6. Film dydaktyczny.

**Do wykonania:**

1. Kontrola skuteczności dezynfekcji skóry rąk przy użyciu 70% alkoholu.
2. Badanie występowania bakterii w środowisku.
3. Porównanie różnych metod dezynfekcji przy użyciu szczepów bakteryjnych *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* i *Bacillus subtilis*.
4. Badanie występowania nosicielstwa *Staphylococcus aureus* – pobieranie wymazu z przedsionka nosa i posiew na 1/2 płytki z podłożem Chapmana.

**Demonstracje:**

1. Aparatura stosowana w sterylizacji
2. Filtry bakteriologiczne.
3. Kontrola skuteczności procesów sterylizacji metodą biologiczną (Sporal S).
4. Badanie występowania bakterii metodą odciskową (płytki odciskowa „Count-Tact”).



dr n. med. Piotr Obuch-Woszczatyński



## STERYLIZACJA I DEZYNFEKCJA – WYKONANIE ĆWICZENIA

### 1. Kontrola skuteczności dezynfekcji rąk przy użyciu 70% alkoholu – wykonuje każdy student.

- ✓ Płytki krwawe podzielić na sektory.
- ✓ Każdy ze studentów odciska opuszkę palca na jednym sektorze.
- ✓ Należy umyć ręce i wysuszyć w aparacie do suszenia rąk.
- ✓ Przez minimum 3 min. wycierać palec (ten, którego opuszkę odcisnęto wcześniej) wacikiem zmoczone 70% alkoholem.
- ✓ Odrzucić wacik.
- ✓ Wysuszyć palec.
- ✓ Odcisnąć opuszkę palca w odpowiednim sektorze drugiej płytki.
- ✓ Płytki inkubować w temp. 37°C do następnego dnia.

### 2. Porównanie różnych sposobów dezynfekcji przy użyciu szczepów bakteryjnych.

- ✓ Płytkę agarową podzielić i podpisać wg wzoru:

Badany szczep	1	2	3
Kontrola żywotności			
2% chloramina			
100°C			

- ✓ Przy użyciu ezy posiać punktowo płynne hodowle badanych szczepów w odpowiednich kratkach. Jest to kontrola żywotności badanych szczepów.
- ✓ Pipetą przenieść następnie po 0,5 ml hodowli każdego szczepu do odpowiednich probówek podpisanych „2% chloramina”. Czas ekspozycji na chloraminę 10 minut. Potem należy punktowo posiać ezą w odpowiednich kratkach.
- ✓ Resztę płynnych hodowli umieścić we wrzącej łaźni wodnej. Czas ekspozycji – 10 min. Po tym czasie ezą należy punktowo posiać hodowle w odpowiednich kratkach.
- ✓ Płytkę z posiewami inkubować w temp. 37°C do następnego dnia.

Badane szczepy to:

1. *Escherichia coli*
2. *Staphylococcus aureus*
3. *Bacillus subtilis*

### 3. Kontrola powietrza metodą swobodnej sedimentacji.

Otworzyć płytkę agarową i umieścić na środku stołu na 60 minut. Po tym czasie płytkę zamknąć. Inkubować w temp. 37°C do następnego dnia.

### 4. Posiew metodą odciskową różnych materiałów i przedmiotów.

Wybrać materiały i przedmioty do badania (np. klucze, numerek z szatni, rękaw fartucha, zegarek, monety... ). Podzielić płytkę agarową na kilka sektorów i opisać. Pobrać odciski. Płytkę inkubować w temp. 37°C do następnego dnia.



Warszawa 11 października 2006r.  
18 października 2006r.

IWL

20 października 2006r. IIWL

## Ćwiczenie nr 4

### ZIARENKOWCE GRAM-DODATNIE I GRAM-UJEMNE

#### Demonstracje:

- 1) Wzrost *S. aureus* i *S. epidermidis* na agarze z krwią i podłożu Chapmana.
- 2) Biochemiczne różnicowanie gronkowców.
- 3) Wrażliwość gronkowców na oksacylinę (określanie lekowrażliwości za pomocą systemu ATB STAPH).
- 4) Test na wytwarzanie koagulazy.
- 5) Wzrost *S. pyogenes*, *S. pneumoniae* i *E. faecalis* na agarze z krwią.
- 6) Biochemiczne różnicowanie paciorkowców.
- 7) Badanie lekowrażliwości paciorkowców i enterokoków.
- 8) Test wrażliwości na bacytracynę.
- 9) Test wrażliwości na optochinę.
- 10) Wykrywanie szczepów HLAR (High Level Aminoglycosides Resistance).
- 11) Zestaw Slidex Strepto - do identyfikacji paciorkowców beta-hemolizujących.

12) Preparat ze śledziony myszki zakażonej *S. pneumoniae*.

13) ASO

#### Preparaty mikroskopowe:

- 1) Preparat barwiony metodą Grama wykonany z hodowli *Moraxella catarrhalis*.
- 2) Preparat barwiony metodą Grama wykonany z hodowli bulionowej *S. pyogenes*.
- 3) Preparat barwiony metodą Grama wykonany z hodowli *E. faecalis*.
- 4) Preparat z osadu płynu mózgowo-rdzeniowego pobranego od chorego z zapaleniem opon mózgowo-rdzeniowych wywołanym przez *Neisseria meningitidis*.

#### Do wykonania:

- 1) Wykonanie testu na wytwarzanie katalazy.
- 2) Wykonanie testu na clumping factor.
- 3) Preparat barwiony metodą Grama wykonany z hodowli gronkowców.
- 4) Kontynuacja badań użytkowe nosicielstwa *S. aureus*

BM

## ZIARENKOWCE GRAM - DODATNIE ROSNĄCE W WARUNKACH TLENOWYCH

### Rodzina: Staphylococcaceae

Rodzaj wydzielony: *Staphylococcus*

Gatunki: *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. saprophiticus*, *S. hominis*, *S. warneri*,  
*S. haemolyticus*, *S. auricularis*, *S. cohnii*, *S. xylosus*, *S. simulans*,  
*S. sciuri*, *S. hyicus*, in.

Rodzaj wydzielony: *Gemella*

Gatunki: *G. morbillorum*, *G. haemolysans*

### Rodzina: Micrococcaceae

Rodzaj: *Micrococcus*

Gatunki: *M. luteus*, *M. roseus*, *M. kristingae*, i in.  
*Rothia* (d. *Stomatococcus*)

### Rodzina: Streptococcaceae

Rodzaj: *Streptococcus*

Gatunki: *S. pneumoniae*, *S. bovis*, *S. mutans*, *S. oralis*, *S. salivarius*, *S. sanguis*,  
grupa *S. milleri* (*S. anginosus*, *S. constellatus*, *S. intermedius*),  
*S. pyogenes*, *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae* i in.

Rodzaj: *Lactococcus*

Gatunki: *L. lactis*

### Rodzina: Leuconostocaceae

Rodzaj: *Leuconostoc*

Gatunki: *L. mesenteroides*, *L. lactis*, i in.

### Rodzina: Aerococcaceae

Rodzaj: *Abiotrophia*

Gatunek: *A. defectiva*

### Rodzina: Enterococcaceae

Rodzaj: *Enterococcus*

Gatunki: *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. durans*, *E. avium*, *E. casseliflavus*,  
*E. gallinarum*, i in.

## ZIARENKOWCE GRAM - UJEMNE

### Rodzina: Neisseriaceae

Rodzaj: *Neisseria*

Gatunki: *N. meningitidis*, *N. gonorrhoeae*, *N. flavescens*, *N. lactamica*,  
*N. subflava*, *N. sicca*, *N. mucosa*, i in.

### Rodzina: Moraxellaceae

Rodzaj: *Moraxella*

Podrodzaj: *Branhamella* (ziarenkowce Gram-ujemne)

Gatunek: *Moraxella catarrhalis*