



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczypospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



	Nr projektu	FERS.01.05-IP.08-0335/23
	Tytuł projektu	„STUDENCI HIPOKRATESA- kompleksowy program utworzenia i wdrożenia kierunku lekarskiego na Politechnice Bydgoskiej”
	Beneficjent:	Politechnika Bydgoska im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich

Projekt pt.: „STUDENCI HIPOKRATESA - kompleksowy program utworzenia i wdrożenia kierunku lekarskiego na Politechnice Bydgoskiej” w ramach programu Fundusze Europejskie dla Rozwoju Społecznego 2021-2027 współfinansowanego ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego Plus, nr umowy: FERS.01.05-IP.08-0335/23-00

ĆWICZENIE 2

Podstawy diagnostyki bakteriologicznej – morfologia komórek, metody barwienia preparatów, obserwacje mikroskopowe.

WPROWADZENIE:

Morfologia bakterii: Podstawowe kształty, układy komórek. Różnice w budowie ściany komórkowej bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych.

Metody barwienia: Proste: np. fioletem krystalicznym, umożliwiające obserwację kształtu komórek i układów bakterii; złożone: metoda Grama do różnicowania bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych; specjalistyczne: barwienie bakterii kwasoodpornych metodą Ziehl-Neelsena, barwienie negatywne dla otoczek.

Wykorzystanie mikroskopu świetlnego do obserwacji mikroskopowych - ustawienie światła, ostrości i obiektywu immersyjnego. Znaczenie mikroskopii w diagnostyce bakteriologicznej: wstępne rozpoznanie patogenów na podstawie morfologii ich komórek oraz innych cech rozpoznanych w wyniku zastosowania odpowiedniej metody barwienia.

BARWIENIE PROSTE

Materiały i odczynniki:

- Hodowle bakterii na skosach agarowych: *Escherichia coli* (pałeczki), *Micrococcus* spp. (ziarniaki), *Bacillus subtilis* (laseczki)
- Fiolet krystaliczny

Zadanie 1



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



	Nr projektu	FERS.01.05-IP.08-0335/23
	Tytuł projektu	„STUDENCI HIPOKRATESA- kompleksowy program utworzenia i wdrożenia kierunku lekarskiego na Politechnice Bydgoskiej”
	Beneficjent:	Politechnika Bydgoska im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich

Wykonaj rozmazy bakterii na szkiełkach podstawowych. Wysusz i utrwal preparaty metodą termiczną poprzez ogrzanie nad płomieniem palnika. Zalej rozmazy fioletem krystalicznym (czas barwienia: 2 minuty), spłucz barwnik wodą, osusz preparaty. Obejrzyj preparaty pod mikroskopem z użyciem olejku immersyjnego (pow.1000x). Wykonaj rysunki oglądanych komórek bakterii.

BARWIENIE ZŁOŻONE

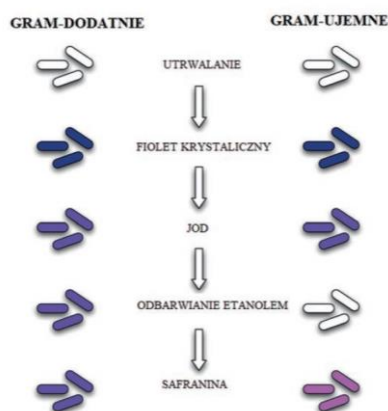
Materiały i odczynniki:

- Hodowle bakterii: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Mycobacterium avium*.
- Barwniki i odczynniki do barwienia: fiolet krystaliczny, płyn Lugola, roztwór etanolu, safranina, zieleń malachitowa, fuksyna karbolowa, błękit metylenowy, roztwór alkoholu i kwasu (95% alkohol etylowy z dodatkiem 3% HCl).

Zadanie 1

Barwienie metodą Grama:

Wykonaj wspólny rozmaz z bakterii *Escherichia coli* oraz *Staphylococcus aureus*. Nałóż na rozmaz fiolet krystaliczny (2 minuty). Utrwal barwnika roztworem jodu (płyn Lugola, 1 minuta) odbarw alkoholem (15 sekund). Następnie wykonaj barwienie kontrastowe safraniną (30 sekund). Obejrzyj preparat pod mikroskopem z użyciem olejku immersyjnego (pow.1000x). Wykonaj rysunek oglądanych bakterii G+ (fioletowe) oraz G- (czerwone).



Zadanie 2

Barwienie metodą Schaeffera – Fultona



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



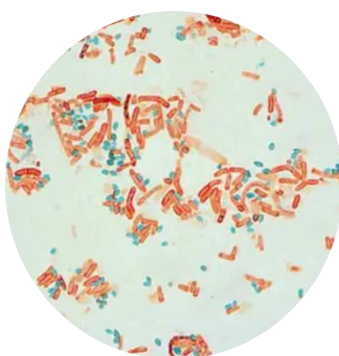
Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



	Nr projektu	FERS.01.05-IP.08-0335/23
	Tytuł projektu	„STUDENCI HIPOKRATESA- kompleksowy program utworzenia i wdrożenia kierunku lekarskiego na Politechnice Bydgoskiej”
	Beneficjent:	Politechnika Bydgoska im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich

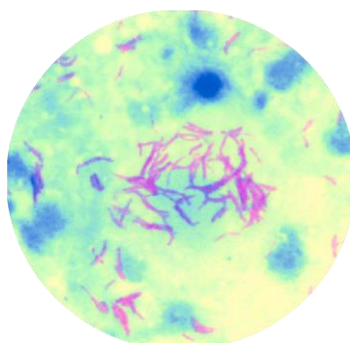
Wykonaj rozmaz z bakterii *Bacillus subtilis*. Utrwalony preparat zalej roztworem zieleni malachitowej (2 minuty). Podgrzej preparat nad płomieniem palnika (podtrzymywanie parowania przez 1 minutę). Po wystygnięciu preparatu zalej rozsmaz barwnikiem kontrastowym - safraniną (3 minuty). Obejrzyj preparat pod mikroskopem z użyciem olejku immersyjnego (pow.1000x). Wykonaj rysunek oglądanych form wegetatywnych (czerwone) i przetrwalników (zielone).



Zadanie 3

Barwienie metodą Ziehl-Neelsena

Wykonaj rozmaz z bakterii *Mycobacterium avium*. Utrwalony preparat zalej roztworem fuksyny karbolowej (3-5 minut) podgrzewając preparat kilkakrotnie (do ukazania się pary, bez doprowadzenia do wrzenia). Spłucz preparat wodą, a następnie odbarw alkoholem z kwasem (ok. 20 sekund), następnie zastosuj barwnik kontrastowy - błękit metylenowy (5 minut). Obejrzyj preparat pod mikroskopem z użyciem olejku immersyjnego (pow. 1000x). Wykonaj rysunek oglądanych komórek bakterii kwasoopornych (różowe).



POSIEW REDUKCYJNY

Materiały i odczynniki:



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską

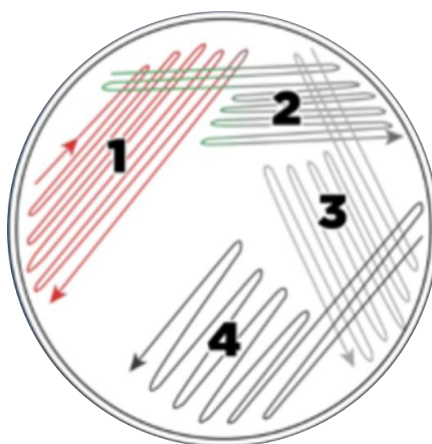


	Nr projektu	FERS.01.05-IP.08-0335/23
	Tytuł projektu	„STUDENCI HIPOKRATESA- kompleksowy program utworzenia i wdrożenia kierunku lekarskiego na Politechnice Bydgoskiej”
	Beneficjent:	Politechnika Bydgoska im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich

- Hodowla płynna 2 gatunków bakterii
- Podłoże ogólne na płytkach Petriego

Zadanie 1

Wykonaj posiew redukcyjny dla mieszaniny 2 gatunków bakterii na ogólnym podłożu agarowym metodą *quadrant streak* .



Materiały graficzne -

<https://labportal.pl/metody-mikroskopowe-w-mikrobiologii/>

Csbr, Prasad & Prasad, C & Narasimha, Aparna & Kumar, M. (2011). Volume 4 Issue 2 Jul-Dec 2011 Negative staining of mycobacteria – A clue to the diagnosis in cytological aspirates: Two case reports. Annals of Tropical Medicine and Public Health. 4. 110. 10.4103/1755-6783.85763.

<https://hardydiagnostics.com/blog/petri-plate-2023>

https://microbiology-clinique.com/endospore-staining-malachite-green.html?utm_content=cmp-true