



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

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 3

Podstawy diagnostyki bakteriologicznej – testy biochemiczne i serologiczne.

WPROWADZENIE:

Testy biochemiczne: Oznaczanie aktywności enzymów (np. katalazy, oksydazy). Wykrywanie zdolności fermentacji cukrów. Testy do różnicowania bakterii (np. *Escherichia coli* od *Klebsiella* spp.)

Testy serologiczne: Zastosowanie przeciwciał do wykrywania antygenów bakterii (np. aglutynacja lateksowa). Testy wykrywające przeciwciała w surowicy pacjenta (Test immunoenzymatyczny ELISA, odczyn wiązania dopełniacza).

Zastosowanie diagnostyczne testów w celu precyzyjnej identyfikacji patogenów istotnych klinicznie i ich wykorzystanie w doborze leczenia celowanego.

TESTY BIOCHEMICZNE

Materiały i odczynniki:

- Hodowle bakterii: *Staphylococcus aureus* (katalazo dodatni), *Streptococcus pneumoniae* (katalazo ujemne), *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *S. Typhimurium*
- 3% roztwór H_2O_2 do testu katalazy
- reagenty do testu oksydazy
- testy API 20E – przed i po inokulacji *E. coli*
- test IMViC - podłoża wchodzące w skład szeregu przed i po inokulacji *E. coli* oraz *E. aerogenes*
- probówki z podłożem Kliglera zawierającym glukozę i laktozę oraz wskaźnik pH



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

Zadanie 1

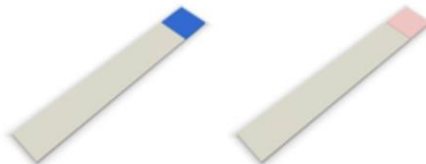
Test katalazy

Przenieś materiał z czystych hodowli szczepów *Staphylococcus aureus* (katalazo dodatni) oraz *Streptococcus pneumoniae* (katalazo ujemne) na szkiełko przedmiotowe. Nałóż kroplę wody utlenionej (3% H₂O₂). Obserwuj reakcję (wydzielanie pęcherzyków tlenu - wynik pozytywny). Opisz uzyskane wyniki testu.

Zadanie 2

Test oksydazy

Nałóż odczynnik oksydazy na pasek bibuły filtracyjnej. Przenieś bakterie *E. coli* oraz *P. aeruginosa* na pasek, rozetrzyj. Obserwuj reakcję: zmiana koloru na fioletowy w ciągu 10 sekund - wynik pozytywny. Brak zmiany barwy – wynik negatywny. Opisz uzyskane wyniki.



Zadanie 3

Testy API

Demonstracja – zastosowanie testów API 20E w identyfikacji bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae*. Interpretacja wyników.

Zadanie 4

Test IMViC

Demonstracja – zastosowanie szeregu w identyfikacji bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae*. Interpretacja wyników.

Zadanie 5

Fermentacja glukozy, laktozy i redukcja tiosiarczanu

Igłą inokulacyjną pobierz niewielką ilość hodowli poszczególnych szczepów bakterii *E.coli*, *S.aureus* oraz *S. Typhimurium* i wykonaj posiew kłuty i powierzchniowy na podłożu Kliglera.



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

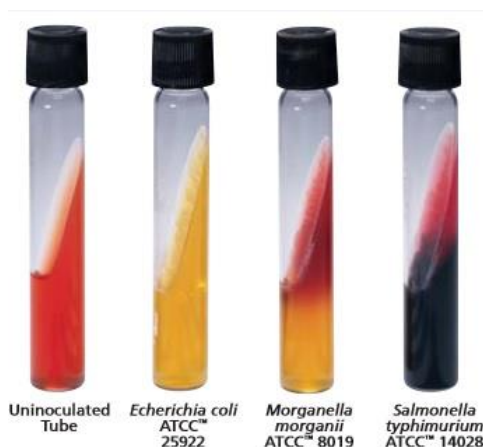
Dofinansowane przez
Unię Europejską



	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

Inkubuj hodowle przez 24 godziny w temperaturze 37°C. Oceń wyniki testu na podstawie zmiany barwy podłoża:

- niezmieniona barwa podłoża - brak fermentacji laktozy i glukozy,
- żółty skos i żółty słupek - fermentacja laktozy i glukozy,
- czerwony skos i żółty słupek - fermentacja glukozy, brak fermentacji laktozy,
- zaczernienie podłoża - wytwarzanie siarkowodoru,
- powstawanie gazu wewnątrz podłoża (niekiedy rozerwanie) - wytwarzanie gazu.



TESTY SEROLOGICZNE

Materiały i odczynniki:

- Hodowle bakterii: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*,
- Lateksowy zestaw aglutynacyjny dla *S. pneumoniae*.
- Mikropłytki ELISA.

Zadanie 1

Test aglutynacji lateksowej:

Przeprowadź test aglutynacji dla próbki zawierającej *S. pneumoniae* zgodnie z instrukcją producenta (Wellcogen *S. pneumoniae* Kit):

- Wytrząsnąć odczynniki lateksowe



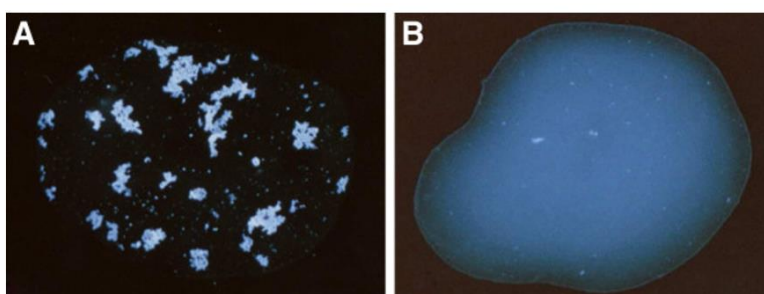
	Nr projektu	FERS.01.05-IP.08-0335/23
	Tytuł projektu	„STUDENCI HIPOKRATESA - kompleksowy program utworzenia i wdrożenia kierunku lekarskiego na Politechnice Bydgoskiej”
	Beneficjent:	Politechnika Bydgoska im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich

- Dla każdej badanej próbki umieść 1 kroplę lateksu testowego w jednym kółku na karcie reakcyjnej i 1 kroplę lateksu kontrolnego w oddzielnym kółku (butelki z zakraplaczem - trzymane pionowo)
- Używając jednorazowego zakraplacza, odmierz 1 kroplę (około 40 µl) próbki testowej obok każdej kropli lateksu.
- Wymieszaj zawartość każdego kółka za pomocą patyczka do mieszania i rozprowadź tak, aby pokryć cały obszar kółka (użyj osobnego patyczka dla każdego kółka).
- Powoli poruszaj kartą i obserwuj aglutynację przez 3 minuty, trzymając kartę w normalnej odległości (25 do 35 cm) od oczu.

Zużyta karta reakcyjna powinna być bezpiecznie zutylizowana!

Opisz uzyskane wyniki testu:

Pozytywna reakcja (A) - pojawienie się aglutynacji (ziarnistości) w ciągu 3 minut od zmieszania lateksu z badaną próbką. Szybkość pojawienia się i jakość aglutynacji - od dużych grudek, które pojawiają się w ciągu kilku sekund od wymieszania, do małych grudek pojawiających się później. Wyrażna aglutynacja lateksu testowego, której towarzyszy brak aglutynacji lateksu kontrolnego, wskazuje na obecność antygeny pneumokokowego w badanej próbce.



Negatywna reakcja (B) - lateks nie ulega aglutynacji, a mleczna barwa mieszaniny utrzymuje się przez cały czas trwania testu. Brak aglutynacji w obu odczynnikach oznacza, że w badanej próbce nie wykryto antygeny pneumokokowego.

Zadanie 2

Test ELISA:

Obejrzenie gotowych płytek z odczynem ELISA i analiza wyników.



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

Materiały graficzne:

<http://laboratoria.net/artukul/22954.html>

https://fr.linkedin.com/posts/adel-tigrine-84b4b1229_microbiologie-microbiologiste-bact%C3%A9riologie-activity-7100383234026258432-x-QD

Ortika, Belinda & Habib, Maha & Dunne, Eileen & Porter, Barbara & Satzke, Catherine. (2013). Production of latex agglutination reagents for pneumococcal serotyping. BMC research notes. 6. 49. 10.1186/1756-0500-6-49.