



МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – ПЛЕВЕН

ФАКУЛТЕТ „МЕДИЦИНСКИ КОЛЕЖ“ – ЦЕНТЪР ЗА ДИСТАНЦИОННО ОБУЧЕНИЕ

КАТЕДРА “МЕДИКО-ДИАГНОСТИЧНИ ДЕЙНОСТИ”

ТЕЗИСИ НА ПРАКТИЧЕСКИ УПРАЖНЕНИЯ

ЗА РЕДОВНО ЗАНЯТИЕ И САМОСТОЯТЕЛНА ДИСТАНЦИОННА ПОДГОТОВКА ПО

„МИКРОБИОЛОГИЯ”

ЗА СТУДЕНТИ ОТ МУ – ПЛЕВЕН, РЕДОВНО ОБУЧЕНИЕ, СПЕЦИАЛНОСТ

„МЕДИЦИНСКИ ЛАБОРАНТ”

I КУРС, I СЕМЕСТЪР

МОДУЛ «ОБЩА МИКРОБИОЛОГИЯ»

РАЗРАБОТИЛИ: Петринка Лачовска,
Маргарита Моллова, Красимира Лисаева

**Гр. Плевен
2020 год.**

УПРАЖНЕНИЕ № 1

Тема: “Основни групи бактерии. Наблюдение на бактериите в нативно състояние.”

I. Основни групи бактерии, в зависимост от формата.

1. Коки.
2. Пръчици.
3. Извити.

II. Белези за описване на морфологията на бактериите.

1. Форма и взаимно разположение на бактериалните клетки.
2. Големина.
3. Отнасяне по Грам.
4. Наличие на капсули, спори и ресни.

III. Видове микроскопски методи за проучване на морфологията и структурата на бактериите.

1. Нативни /неоцветени/- предимства, недостатъци.
2. Оцветителни методи – видове, предимства недостатъци.

IV. Демонстрации.

1. Свеж покривен препарат.
2. Препарат “висяща капка”.
3. Мокър тушов препарат по Бури.

V. Практически задачи за самостоятелна работа на студентите.

4. Свеж покривен препарат.
5. Препарат “висяща капка”.
6. Мокър тушов препарат по Бури.

УПРАЖНЕНИЕ № 2

Тема: “ Прости методи за оцветяване на бактериите”

I. Видове оцветителни методи – определение.

1. Прости методи – предимства, недостатъци.
2. Сложни /диференциращи/ методи – предимства, недостатъци.

II. Видове оцветителни разтвори и механизъм на оцветяване на бактериите.

1. Основни.
2. Кисели.
3. Неутрални.

III. Приготвяне на оцветителни разтвори.

1. Приготвяне на основни /изходни разтвори/.
2. Приготвяне на работни разтвори на:
 - Метиленово синьо по Льофлер;
 - Карболфуксин по Пфайфер.
3. Изготвяне на микроскопски препарати за оцветяване.
 - от течна микробна култура;
 - от биологични материали;
 - от агарова микробна култура.

IV. Демонстрации.

1. На изготвяне на микроскопски препарати за оцветяване от течна и агарова микробни култури.
2. Оцветяване на микроскопски препарат по Пфайфер и микроскопиране.
3. Оцветяване на микроскопски препарат по Льофлер и микроскопиране.

V. Практически задачи за самостоятелна работа на студентите.

1. Изготвят на микроскопски препарати за оцветяване от течна и агарова микробни култури.

2. Оцветяване на микроскопски препарат по Пфайфер и микроскопиране.
3. Оцветяване на микроскопски препарат по Льофлер и микроскопиране

УПРАЖНЕНИЕ № 3

Тема: “Оцветяване на бактериите по метода на Грам “

I. Принцип на оцветяване по метода на Грам.

II. Необходими оцветителни разтвори.

1. Карбол-генцианвиолет – състав, приготвяне, съхранение.
2. Луголов разтвор – състав, приготвяне, съхранение.
3. 95% етилов алкохол.
4. Карбол-фуксин – състав, приготвяне, съхранение.

IV. Демонстрации.

1. Изготвяне на микроскопски препарат за оцветяване.
2. Оцветяване на микроскопски препарат.
3. Диференциране на бактериите по Грам.

4. V. Практически задачи за самостоятелна работа на студентите.

1. Изготвяне на микроскопски препарат за оцветяване.
2. Оцветяване на микроскопски препарат по Грам.
3. Диференциране на бактериите по Грам.
4. Характеризиране на бактериите по форма, големина, разположение, отнасяне по Грам.

УПРАЖНЕНИЕ № 4

Тема:” Оцветяване на бактериите по метода на Цил-Нелсен”

I. Предназначение на оцветяването.

II. Определение за киселино и спиртоустойчивост при бактериите.

1. Обусловеност на киселино и спиртоустойчивостта при бактериите.
2. Видове киселино и спирто устойчиви бактерии.

III. Принцип на оцветяването Цил-Нелсен.

IV. Оцветителни разтвори.

1. Карболфуксин.
2. 5% сярна киселина.
3. 96% етилов алкохол.
4. Льофлерово метиленово синьо.

V. Демонстрации.

1. Изготвяне на микроскопски препарат за оцветяване от BCG ваксина.
2. Оцветяване на микроскопски препарат по Цил- Нелсен.

VI. Практически задачи за самостоятелна работа на студентите.

1. Изготвят микроскопски препарат за оцветяване от BCG ваксина.
2. Оцветяват микроскопски препарат по Цил- Нелсен.
3. Описват характерните морфологични белези на наблюдаваните бактерии.

УПРАЖНЕНИЕ № 5

Тема: “ Оцветяване на бактериите по метода на Найсер “

I. Предназначение на оцветяването по Найсер.

II. Принцип на оцветяването по Найсер.

III. Оцветителни разтвори – състав, приготвяне, съхранение.

1. Найсер I.
2. Найсер II.

V. Демонстрации.

1. Изготвяне на микроскопски препарат за оцветяване от кисело мляко.
2. Оцветяване на микроскопски препарат по Найсер.
3. Морфология на млечно кисели бактерии оцветени по Найсер.

VI. Практически задачи за самостоятелна работа на студентите.

1. Изготвят микроскопски препарат за оцветяване от кисело мляко.
2. Оцветяват микроскопски препарат по Найсер.
3. Описват характерните морфологични белези на наблюдаваните бактерии.

УПРАЖНЕНИЕ № 6

Тема: “ Доказване на спори по метода на Пешков “

I. Предназначение на оцветяването по Пешков.

II. Принцип на оцветяването по Пешков.

III. Оцветителни разтвори – състав, приготвяне, съхранение.

1. Льофлерово метиленово синьо.
2. 2% метилрот.

V. Демонстрации.

1. Изготвяне на микроскопски препарат за оцветяване от агарова култура на *B.subtilis*.
2. Оцветяване на микроскопски препарат по Пешков.
3. Морфология на *B.subtilis*.

VI. Практически задачи за самостоятелна работа на студентите.

1. Изготвят микроскопски препарат за оцветяване от агарова микробна култура на *B.subtilis*.
2. Оцветяват микроскопски препарат по Пешков.
3. Описват характерните морфологични белези на наблюдаваните бактерии.

УПРАЖНЕНИЕ № 7

Тема: СЕМИНАР – “ Морфология и структура на бактериите “

I. Таксономия на бактериите.

1. Класификация на бактериите – съвременни методи.
2. Номенклатура на бактериите.

II. Морфология на бактериите.

III. Структура на бактериите.

1. Задължителни клетъчни органели.
2. Незадължителни клетъчни органели.

IV. Демонстрации.

1. Филм – морфология и структура на бактериите.

V. Задачи за самостоятелна работа на студентите.

1. Оцветяват самостоятелно различни микроскопски препарати.
2. Описват характерните морфологични белези на бактериите на изготвените от тях микроскопски препарати.
3. Решават самостоятелно тест – морфология и структура на бактериите.

УПРАЖНЕНИЕ № 8

Тема: “ Стерилизация “

I. Определяне на понятието “стерилизация”

II. Подготовка на съдове и пособия за стерилизация.

1. Подготовка за стерилизация на микробни култури.
2. Подготовка за стерилизация на лабораторна посуда и пособия: - Петриев панички, пипети, колби, епруветки, памучни тампони.

III. Методи за стерилизация.

1. Стерилизация с физични средства.
А/ Стерилизация с топлина: -стерилизация чрез опламеняване;стерилизация със сух горещ въздух;стерилизация с влажна топлина – чрез изваряване, Пастьоризация, Тиндализация;
Б/ Стерилизация с водни пори:-стерилизация с течащи водни пари; стерилизация с водни пари под налягане;
2. Студена стерилизация.
А/ Стерилизация с лъчения: стерилизация с нейонизиращи лъчения – ултразвук, радиочестотно облъчване.
Б/ Стерилизация с йонизиращи лъчения: стерилизация с β -частици и електрони; γ -лъчи;
В/ Стерилизация с бактериални филтри: стъклени филтри; филтри на Зайц;
Г/ Стерилизация с химични средства – хлороформ, формалин : газова; аерозолна;
Д/ Физико-химични методи.

IV. Демонстрация.

1. На изброените методи на стерилизация.
2. На подгоновка на изброените съдове и пособия за стерилизация.

V. Задачи за самостоятелна работа на студентите.

1. Подготвят за стерилизация: пипети; епруветки; Петриев панички; Памучни тампони;

УПРАЖНЕНИЕ № 9

Тема: “ Хранителни среди “

I. Предназначение на хранителните среди.

II. Изисквания към хранителните среди – към съставаим, рН, стерилност.

III. Видове хранителни среди:

1. В зависимост от консистенцията: - течни; полутвърди /полусолидни/; твърди /агарови/;
2. В зависимост от състава и условията, които предоставят за развитие на бактериите: - обикновени; специални – елективни, селективни, диференциращи, синтетични.

IV. Изготвяне на хранителни среди:

1. Обикновени хранителни среди: -месо-пептонов бульон; месо-пептонов агар; алкална пептонна вода; трипсинов бульон.
2. Специални хранителни среди: - глюкозов бульон; среди на Хис; кръвен агар; шоколадов агар; асцитен бульон; асцитен агар; серумен бульон; серумен агар.

V. Демонстрации.

1. На различни обикновени и специални хранителни среди.
2. На приготвяне на : обикновен бульон, обикновен агар, кръвен агар, шоколадов агар.
3. На разливане на: обикновен бульон, обикновен агар в Петриев панички и в епруветки на прав и полегат слой, на кръвен агар, на шоколадов агар.

VI. Задачи за самостоятелна работа на студентите.

1. Изчисляват нужното количество суха субстанция за приготвяне на зададено от преподавателя количество обикновен бульон.
2. Измерват нужното количество суха субстанция необходимо за приготвяне на средата.
3. Разливат обикновен агар в Петриев панички, в епруветки на прав и полегат слой.

УПРАЖНЕНИЕ № 10

Тема: “ Посявки върху различни течни и агарови хранителни среди “

I. Определяне на понятията посявка и пресявка.

II. Техника на посевки върху различни течни и агарови хранителни среди.

1. Техника на посевка върху агарова хранителна среда в Петриева паничка.
2. Техника на посевка върху агарова хранителна среда в епруветка на прав агар.
3. Техника на посевка върху агарова хранителна среда в епруветка на полегат агар.
4. Техника на посевка в течна хранителна среда.
5. Техника на посевка в политропна среда на Клиглер.

III. Изолиране на чиста микробна култура върху: - полегат агар, течна хранителна среда, в Петриева паничка, в среда на Клиглер.

IV. Демонстрация.

1. На техника на посевка върху агарова хранителна среда в Петриева паничка.
2. На техника на посевка върху агарова хранителна среда в епруветка на прав агар.
3. На техника на посевка върху агарова хранителна среда в епруветка на полегат агар.
4. На техника на посевка в течна хранителна среда.
5. На техника на посевка в политропна среда на Клиглер.

V. Задачи за самостоятелна работа на студентите.

1. Посевка върху агарова хранителна среда в Петриева паничка.
2. Посевка върху агарова хранителна среда в епруветка на прав агар.
3. Посевка върху агарова хранителна среда в епруветка на полегат агар.
4. Посевка в течна хранителна среда.
5. Посевка в политропна среда на Клиглер.

УПРАЖНЕНИЕ № 11

Тема: “ Методи за култивиране на бактериите “

I. Методи за култивиране на бактериите:

1. Култивиране на аеробни и факултативни анаеробни бактерии.
2. Култивиране на микроанаерофилни бактерии.
3. Култивиране на облигатни анаеробни бактерии.

II. Методи за култивиране на облигатни анаеробни бактерии и микроанаерофили.

1. Физични методи.
2. Химични методи.
3. Биологични методи.
4. Апаратни системи за култивиране на облигатни анаероби и микроанаерофили.

III. Хранителни среди за култивиране на облигатни анаеробни бактерии.

1. Течни.
2. Агарови, разляти в епруветки или Петриев панички.

IV. Демонстрации.

1. Физични методи.
2. Химични методи.
3. Биологични методи.
4. Апаратни системи за култивиране на облигатни анаероби и микроанаерофили.
5. Различни хранителни среди за култивиране на строги анаероби.

V. Задачи за самостоятелна работа на студентите.

1. Химичен метод за анаеробно култивиране.
2. Биологичен метод.

УПРАЖНЕНИЕ № 12

Тема: “ Изолиране и проучване на чиста микробна култура – проучване на културелните белези на бактериите, бързи тестове за биохимична идентификация. “

I. Проучване на културелните свойства на бактериите.

1. В течна хранителна среда.
2. В агарова хранителна среда в Петриева паничка.

3. В епруветка на прав агар.

II. Бързи тестове за биохимична идентификация.

1. Доказване на принадлежност по Грам с 3,5% КОН.
2. Доказване на каталазна активност.
3. Доказване на ензима оксидаза.
4. Доказване на индол – индол СПОТ.

III. Демонстрация.

1. На културелните белези в течна хранителна среда: - ципа на повърхността на средата, равномерна мътнина, утайка на дъното на епруветката, памукообразна утайка.
2. На културелните белези в агарови хранителни среди в Петриеви панички – на кръвен агар / *S. aureus*, *S. pyogenes*, *S. pneumoniae*, *E. faecalis*, *P. mirabilis* /; на Левин / *E. coli*, *E. faecalis* /; на АЦА / *Salmonella*, *Shigella*, *E. coli* /; на обикновен агар / *S. marcescens*, *P. aeruginosa* /
3. На растеж на подвижни и неподвижни бактерии при посявка на бод в епруветка.
4. На бързи тестове за биохимична идентификация – 3,5% КОН/ Gr/-/и Gr+/;/ каталазен тест /+/-/ и /-/-/; оксидазен тест /+/-/ и /-/-/; индол СПОТ тест /+/-/ и /-/-/.

IV. Практически задачи за самостоятелна работа на студентите.

1. Описват културелните белези на предоставени и микробни култури на различни хранителни среди.
2. Правят бързи тестове за биохимична идентификация – 3,5% КОН/ Gr/-/и Gr+/;/ каталазен тест /+/-/ и /-/-/; оксидазен тест /+/-/ и /-/-/; индол СПОТ тест /+/-/ и /-/-/ с предоставени и микробни култури и реактиви.

УПРАЖНЕНИЕ № 13

Тема: “ Изолране и проучване на чиста микробна култура – проучване на биохимичната производителност на бактериите.”

I. Принцип на проучване на биохимичната активност на бактериите.

II. Хранителни среди за проучвани на биохимичната активност на бактериите – състав, предназначение, начин на отчитане.

/ Бульон на Хотингер, политропна среда на Клиглер, среда за доказване на ФАД, среда на Симонс, среда за подвижност, Среди на Мьолер за доказване декарбоксилаза на L-лизин и L-орнитин, среда на Хю Лайфсон, желатиназна активност. /

III. Демонстрация

1. На стерилни хранителни среди за биохимична идентификация на бактерии / Бульон на Хотингер, политропна среда на Клиглер, среда за доказване на ФАД, среда на Симонс, среда за подвижност, Среди на Мьолер за доказване декарбоксилаза на L-лизин и L-орнитин, среда на Хю Лайфсон, желатиназна активност. /
2. На позитивни и негативни тестове за биохимична идентификация / Бульон на Хотингер, политропна среда на Клиглер, среда за доказване на ФАД, среда на Симонс, среда за подвижност, Среди на Мьолер за доказване декарбоксилаза на L-лизин и L-орнитин, среда на Хю Лайфсон, желатиназна активност. /
3. Закапване на пъстра редица за биохимична идентификация.
4. Интерпретация на биохимичната активност на бактериите по алгоритъм

IV. Задачи за самостоятелна работа на студентите.

1. Закапват пъстра редица за биохимична идентификация на бактерии.
2. Отчитат по алгоритъм предоставена им пъстра редица.

УПРАЖНЕНИЕ № 14

Тема: “ Методи за определяне на броя на бактериите ”

I. Определяне на понятията: - растеж, размножаване, концентрация на бактериите, плътност на бактериите, генерационно време, жизнеспособност на бактериите, умирање.

II. Методи за определяне на броя на бактериите.

1. Преки методи: -камерни; електронни; кръвни натривки; мембранни методи;
2. Косвени методи.
 - визуално оптични методи
3. Определяне на броя на живите бактерии:
 - определяне на микробно число на микробна суспензия;
 - метод на най-вероятен брой на бактериите;
4. Определяне на бактериалната биомаса: тегловни; азотометрични; измерване на белтъчното съдържание.

III. Демонстрации.

1. Камерни методи за определяне на броя на бактериите.
2. Мембранни методи.
3. Визуално оптични методи за определяне на общия брой на бактериите.
4. Определяне на микробно число на микробна суспензия.

IV. Практически задачи за самостоятелна работа на студентите.

1. Определят общият брой на бактериите, чрез сравняване с химичен стандарт на Мак Фарлан.
2. Правят посявка с разреждане, за определяне на микробно число на бактериална суспензия.
3. Определят микробно число на предоставени им култури.

УПРАЖНЕНИЕ № 15

Тема: “ Дезинфекция “

I. Определяне на понятието дезинфекция.

II. Изисквания към дезинфекционните средства.

III. Видове дезинфектанти.

IV. Приготвяне на дезинфекционни разтвори.

V. Работа с дезинфекционни разтвори.

1. Дезинфекция на повърхности.
2. Дезинфекция на съдове и инструменти.
3. Дезинфекция на лабораторен инструментариум.
4. Хигиенна дезинфекция на ръце.
5. Дезинфекция на работно облекло.

VI. Демонстрация.

1. Дезинфекция на повърхности.
2. Дезинфекция на съдове и инструменти.
3. Дезинфекция на лабораторен инструментариум.
4. Хигиенна дезинфекция на ръце.

VII. Задачи за самостоятелна работа на студентите.

1. Правят дезинфекция на повърхности.
2. Дезинфекцират на съдове и инструменти.
3. Дезинфекция на лабораторен инструментариум.
4. Хигиенна дезинфекция на ръце.
5. Приготвят дезинфекционни разтвори.

УПРАЖНЕНИЕ № 16

Тема: “ Контрол на стерилизация и дезинфекция “

I. Контрол по време на стерилизация.

1. Контрол при автоклавиране.
 - химични индикатори за контрол;
 - биологични тестове за контрол;
2. Контрол на стерилизация в сух стерилизатор.

II. Контрол след приключване на стерилизацията.

1. На превързочни материали.
2. На хирургични и зъболекарски инструменти.
3. Контрол на стерилизация на хранителни среди.

III. Контрол на дезинфекция.

1. Контрол на дезинфекция на повърхности: директен метод; индиректен метод;
2. Контрол на дезинфекция на бельо.
3. Контрол на въздух.

IV. Демонстрации.

1. На биологични и химични тестове за контрол на автоклавиране, и индикатори за контрол в сух стерилизатор.
2. На превързочни материали. На хирургични и зъболекарски инструменти.
3. Контрол на стерилизация на хранителни среди.
4. Контрол на дезинфекция на повърхности: директен метод; индиректен метод;
5. Контрол на въздух.

V. Задачи за самостоятелна работа на студентите.

1. Извършват контрол на стерилността на повърхности, чрез отпечатъков метод.
2. Анализират резултати от индиректния метод за контрол на стерилизация.

УПРАЖНЕНИЕ № 17

Тема: “ Семинар – физиология на бактериите. Влияние на физичните, химичните и биологични фактори. ”

I. Химичен състав на бактериите.

II. Култивиране на бактериите.

III. Растеж и размножаване на бактериите.

IV. Производителност на бактериите.

V. Стерилизация и дезинфекция.

VI. Задачи за самостоятелна работа на студентите.

1. Правят самостоятелно посявки върху различни хранителни среди.
2. Осигуряват подходящи условия за култивиране.
3. Проучват биохимичната производителност на бактериите, използвайки алгоритъм.

УПРАЖНЕНИЕ № 18

Тема: “ Бактериофаги. Фаготипизиране на бактериите. “

I. Механизми на взаимодействие между бактерии и фаги.

1. Литичен тип.
2. Лизогенетичен тип инфекция / умерени фаги /
3. Инфекция с филаментозни фаги.

II. Изолиране на фаги от различни материали.

III. Определяне на броя /титриране/ на бактериофаги по метода на Грация.

IV. Фаготипизиране на бактериите.

V. Демонстрация.

1. Фаготипизиране на *S. aureus*.

УПРАЖНЕНИЕ № 19

Тема: “ Определяне на антимикробната чувствителност на бактериите. Агар-дифузионен метод на Бауер-Кърби. “

I. Принцип на дифузните методи за определяне на антимикробната чувствителност на бактериите.

II. Стандартни изисквания на метода на Бауер-Кърби.

III. Демонстрация.

1. Изготвяне на стандартна суспензия по Мак Фарлан от чиста мисробна култура.
2. Посявка на микробната суспензия върху средата на Мюлер Хинтон.
3. Налагане на антимикробните дискове.
4. Отчитане на готова антибиограма.
5. Интерпретация на отчетените резултати по таблица на Бауер-Кърби.
6. Растежен метод.

IV. Задачи за самостоятелна работа на студентите.

1. Правят самостоятелно антибиограма с предоставена чиста микробна култура.
2. Отчитат и интерпретират отчетените резултати по таблица на Бауер-Кърби.

УПРАЖНЕНИЕ № 20

Тема: “ Методи със серийни разреждания на антибиотици, за определяне на антимикробната чувствителност на бактериите. “

I. Предимства и недостатъци на метода със серийни разреждания.

II. Принцип на метода със серийни разреждания.

III. Определяне на МПК, МБК и МАК.

IV. Демонстрация.

1. Определяне на чувствителността на бактериите чрез разреждане на антибиотик в течна хранителна среда.
2. Отчитане на показателите МПК, МБК и МАК.

Литература:

1. Медицинска микробиология и техника на микробиологичните изследвания – Ю. Тягуненко, Т. Саркисян, 1994.
2. Микробиология, учебник, под редакцията на проф. Г. Митов, София, 1997, 1999.
3. Микробиология: Учебник за студенти по медицина, стоматология и фармация / под ред. На Герго Митов, Юлиана Дочева-София: ПИ АРСО, 2000.
4. Ръководство за практически упражнения по микробиология, под редакцията на проф. д-р Г. Капрелян и доц. д-р Ю. Дочева, София, 1994, 2000.

Март 2020 год.
Гр. Плевен

Изготвили:

Петринка Лачовска,
Маргарита Моллова,
Красимира Лисаева