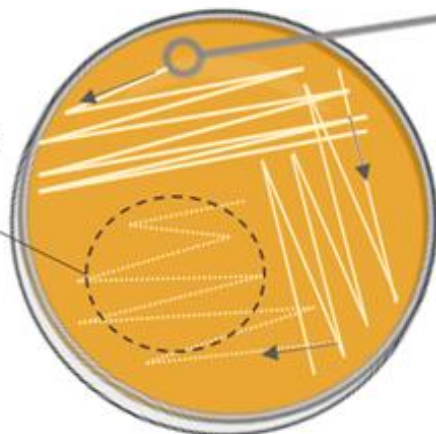











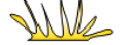





Wykład wprowadzający	Liczba osób:	Czy konieczny jest podział na grupy? (podać liczebność grup)
Nie		Ze względu na wielkość sal dydaktycznych konieczny jest podział grup (10-15 osób)
Temat:		Mikroorganizmy wokół Nas
Opis tematu (3 zdania):		Zajęcia laboratoryjne, podczas których Uczestnicy mają okazje przyjrzeć się z bliska mikroorganizmom; tym które zagrażają naszemu życiu i zdrowiu, jak i tym pożytecznym, które wykorzystujemy do produkcji antybiotyków czy biopolimerów.
Opis rozszerzony:		
<p>Mikrobiologia – nauka biologiczna zajmująca się zagadnieniami związanymi z mikroorganizmami oraz wirusami, dział biologii. Do organizmów, którymi zajmuje się mikrobiologia, należą: bakterie (zobacz też bakteriologia), grzyby (zobacz też mykologia) oraz niektóre protisty.</p> <p>W czasie zajęć praktycznych Uczestnicy w pierwszym etapie zapoznają się z zasadami BHP panującymi w laboratorium mikrobiologicznym. Aby zachować bezpieczeństwo wszyscy Uczestnicy będą pracować w jednorazowych rękawiczkach oraz jednorazowych fartuchach laboratoryjnych.</p> <p>W pierwszym etapie warsztatów Uczestnicy zapoznają się z metodami izolacji mikroorganizmów ze środowiska. Wykorzystując jałową wymazówkę pobiorą materiał z wybranego przez siebie miejsca np. z powierzchni telefonu, klamki, wnętrza toalety, jamy ustnej czy skóry. Następnie posieją mikroorganizmy na odpowiednie stałe (agarowe) podłoża ogólnowzrostowe.</p>		

Obszar
uzyskania
pojedynczych
kolonii



Schemat wykonania posiewu redukcyjnego

Kolejnym etapem będzie **identyfikacja mikroorganizmów na podstawie morfologii kolonii (metoda makroskopowa)**. Przy opisie morfologii kolonii mikroorganizmów najważniejsze są następujące cechy:

Wielkość kolonii	duże, średnie, małe, drobne, średnica kolonii podana w milimetrach.
Kształt kolonii:	 okrągły  owalny  nieregularny  gwiazdkowaty  promienisty
Brzeg kolonii:	 równy  falisty  zatokowaty  postrzępiony  nitkowaty
Powierzchnia kolonii:	gładka, szorstka, pomarszczona, nitkowata, ziarnista, matowa, błyszcząca.
Wyniosłość kolonii ponad powierzchnię podłoża:	 płaska  lekko wzniesiona  wypukła  stożkowata  kraterowata
Kolor kolonii:	barwa samej kolonii np. biała, kremowa, beżowa, żółta; zabarwienie podłoża wokół kolonii, strefa przejaśnienia wokół kolonii itp.
Przejrzystość kolonii:	przejrzysta, mętna, opalizująca, nieprzejrzysta.
Zapach kolonii:	mydlany, kwaśny, piwa, miodu, kasztanów, gnilny;
Zawieszalność kolonii w płynie fizjologicznym	zdolność tworzenia jednolitej zawiesiny w roztworze płynu fizjologicznego (0,85% NaCl) - łatwa lub nie, zawiesina grudkowata, niejednorodna.
Konsystencję kolonii	sprawdza się za pomocą ezy i określa jako: suchą, lepłą, śluzowatą.

Uczestnicy poznają cechy kolonii bakteryjnych charakterystycznych dla konkretnych mikroorganizmów: **kolor** np. czerwony kolor kolonii *Serratia marcescens* (pałeczka krwawa, pałeczka cudowna), żółty kolor *Staphylococcus aureus* (gronkowiec złocisty), zielony fluorescencyjnych połysek kolonii *Pseudomonas aeruginosa* (pałeczka ropy błękitnej); **powierzchnia**: chropowata kolonii *Bacillus cereus* (laseczka woskowa), gładka kolonii *Staphylococcus epidermidis* (gronkowiec skórny), śluzowata kolonii *Klebsiella pneumoniae* (pałeczka zapalenia płuc), **zapach** drożdżowy zapach *Saccharomyces cerevisiae* (drożdże piekarnicze).

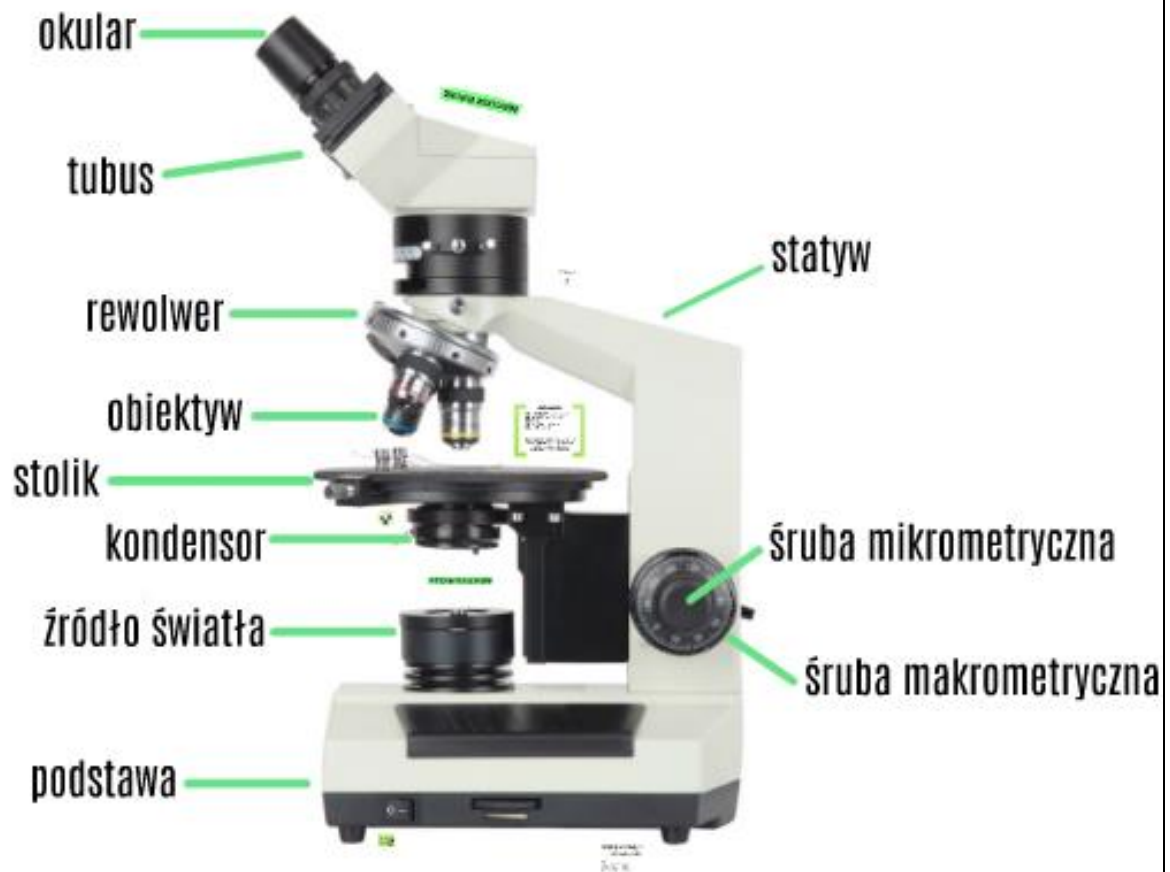
Kolejnym etapem analizy będzie wykonanie preparatów mikroskopowych. Uczestnicy zapoznają się z różnymi **metodami barwienia mikroorganizmów**. Ze względu na to, co podlega barwieniu, wyróżnia się:

- barwienie negatywne – polegające na barwieniu tła, a bakterie pozostają niezabarwione, np. czerwienią kongo, nigrozyną, tuszem chińskim oraz
- barwienie pozytywne – polegające na barwieniu bakterii, z których przygotowany jest preparat np. błękitem metylenowym, zielenią malachitową, fuksyną, safraniną.

Ze względu na ilość barwników zastosowanych przy barwieniu, wyróżnia się barwienie proste (z użyciem jednego barwnika) oraz barwienie złożone (stosuje się kolejno kilka barwników). Barwienie złożone ma większe znaczenie, gdyż umożliwia określenie nie tylko kształtu bakterii, ale także pozwala ocenić jej niektóre cechy morfologiczne. Przykładem barwienia złożonego jest barwienie według metody Grama, metody Ziehl-Neelsena, metody Schaeffera-Fultona.

Technika każdego barwienia polega na pokrywaniu szkiełka podstawowego (z naniesionym i utrwalonym preparatem) barwnikiem na określony czas, a następnie splukiwaniu poszczególnych barwników wodą przed nalaniem następnych. Czasami w zależności od przepisu stosuje się także takie substancje jak alkohol, czy płyn Lugola, a także podgrzewanie preparatu nad palnikiem. Preparat po wysuszeniu obserwuje się pod imersją.

Po przygotowaniu preparatów Uczestnicy zapoznają się z **budową mikroskopu świetlnego**.



Budowa mikroskopu świetlnego.

Częściami mechanicznymi mikroskopu są:

1. Statyw. Składa się on z podstawy i ramienia tubusu. Podtrzymuje on stolik przedmiotowy i system optyczny oraz oświetleniowy.
2. Tubus z urządzeniem rewolwerowym. Obejmuje on część górną z nasadkami okularów i część dolną, urządzenie rewolwerowe z gniazdami na 3-6 obiektywów.
3. Stolik przedmiotowy. Służy on do przemieszczania preparatu. W zależności od typu mikroskopu, stolik przedmiotowy może być prosty i składać się tylko z prostokątnej podstawy z otworem w środku, przez który przechodzi światło. Stolik bardziej złożony zawiera również uchwyty do preparatu, pokrętła umożliwiające przemieszczanie preparatu i skale pionową oraz poziomą pozwalające ustalić umiejscowienie określonego fragmentu badanego okazu.

Częściami optycznymi mikroskopu są:

1. Obiektywy. Obiektywy w zasadniczy sposób decydują o jakości mikroskopu. Umożliwiają one powiększone i wyraźne oglądanie obiektów. Są one zbudowane z soczewek. Na obudowie obiektywu zwykle znajdują się liczby informujące o:

- sile powiększającej, np. 60x,
- aperturze, od której zależy zdolność rozdzielcza obiektywu, np. 1,40,
- maksymalnej grubości szkiełka nakrywkowego, które może być użyte, np. 0,17,
- mechanicznej długości tubusu.

2. Okulary. Zawierają one co najmniej dwie soczewki, które:

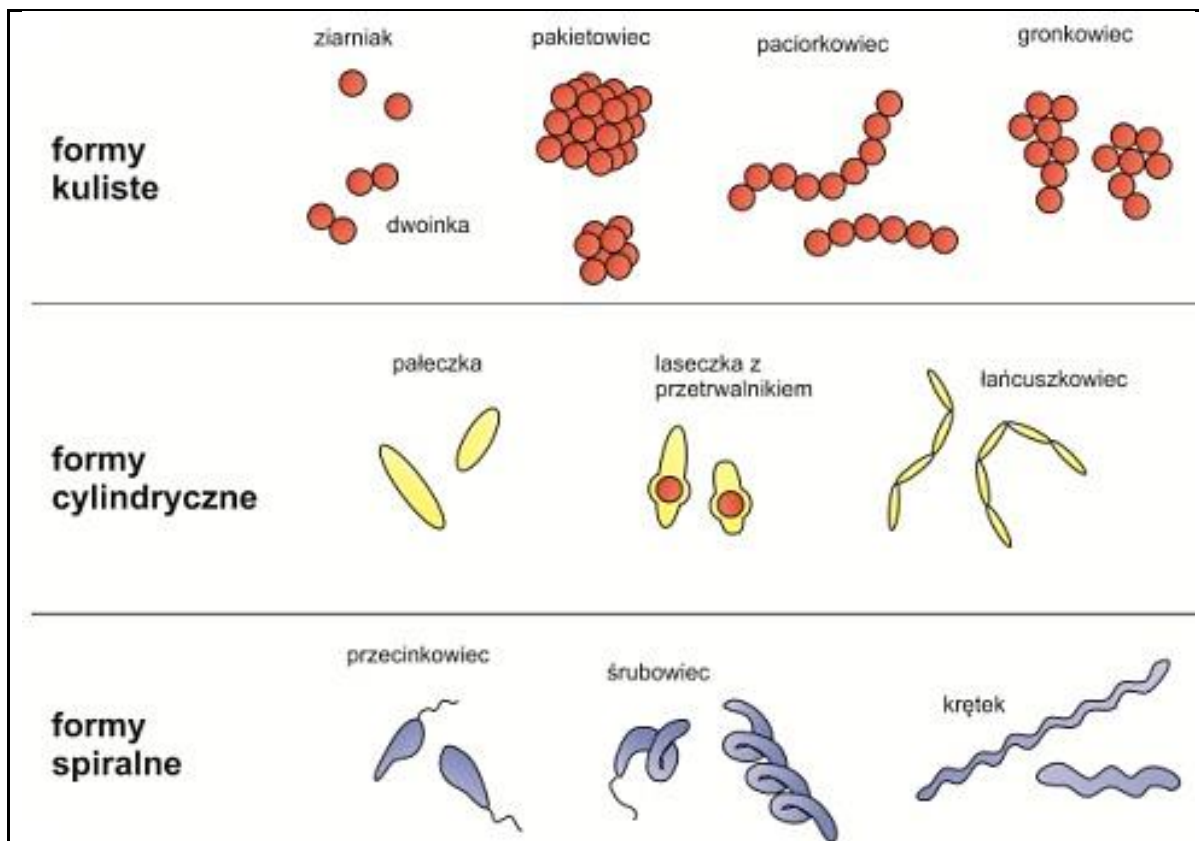
- przekazują w powiększeniu do oka obserwatora obraz pośredni preparatu, tworzony przez obiektyw,
- umożliwiają przeprowadzenie różnych pomiarów mikroskopowych. Liczba umieszczona na obudowie okularu informuje o łącznej sile powiększającej soczewek.

Częściami oświetleniowymi mikroskopu są:

1. Źródło światła, składające się z lusterka lub żarówki elektrycznej. Lusterko służy do skierowania światła na badany obiekt. Starsze mikroskopy nie posiadają własnego źródła światła. Są wyposażone w lusterko odbijające światło emitowane ze stojącej z boku lampy.

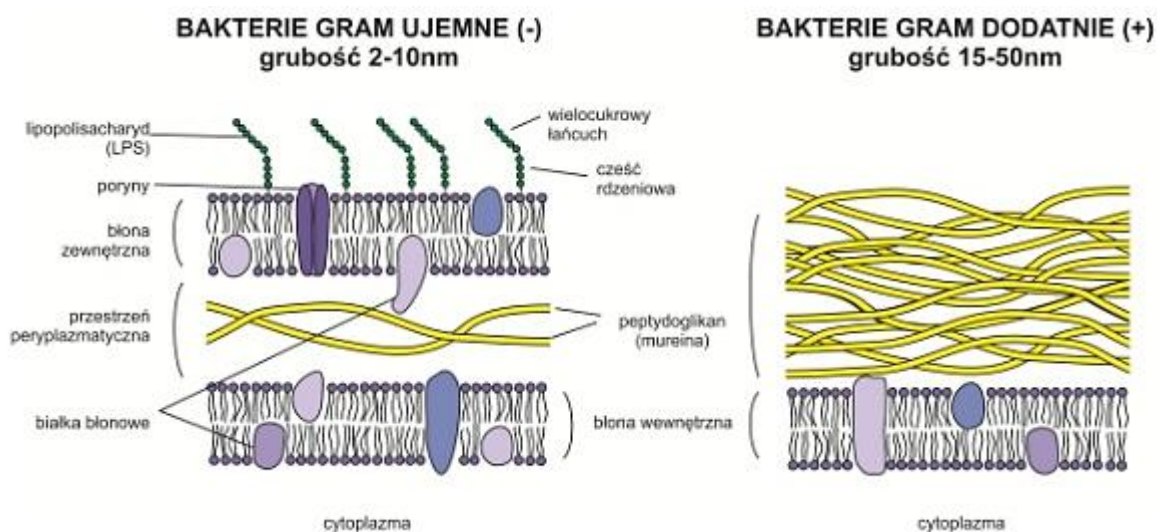
2. Kondensator. Najczęściej używa się dwusoczewkowego kondensora Abbego. Kondensator jest układem optycznym ściśle współpracującym z obiektywem mikroskopu. Kondensator składa się z soczewek skupiających promienie świetlne w miejscu położenia badanego obiektu. A więc rolą kondensora jest intensywne oświetlenie obiektu. Z obudową kondensora jest związana przysłona irysowa, spełniająca rolę przysłony aperturowej. Przysłona ta reguluje wielkość oświetlanego pola.

Wykorzystując mikroskop świetlny Uczestnicy zapoznają się z różnymi **kształtami komórek mikroorganizmów** jak ziarniaki, pałeczki, laseczki oraz formą ich ułożenia jak dwoinki, pakietowce, gronkowce, paciorkowce.



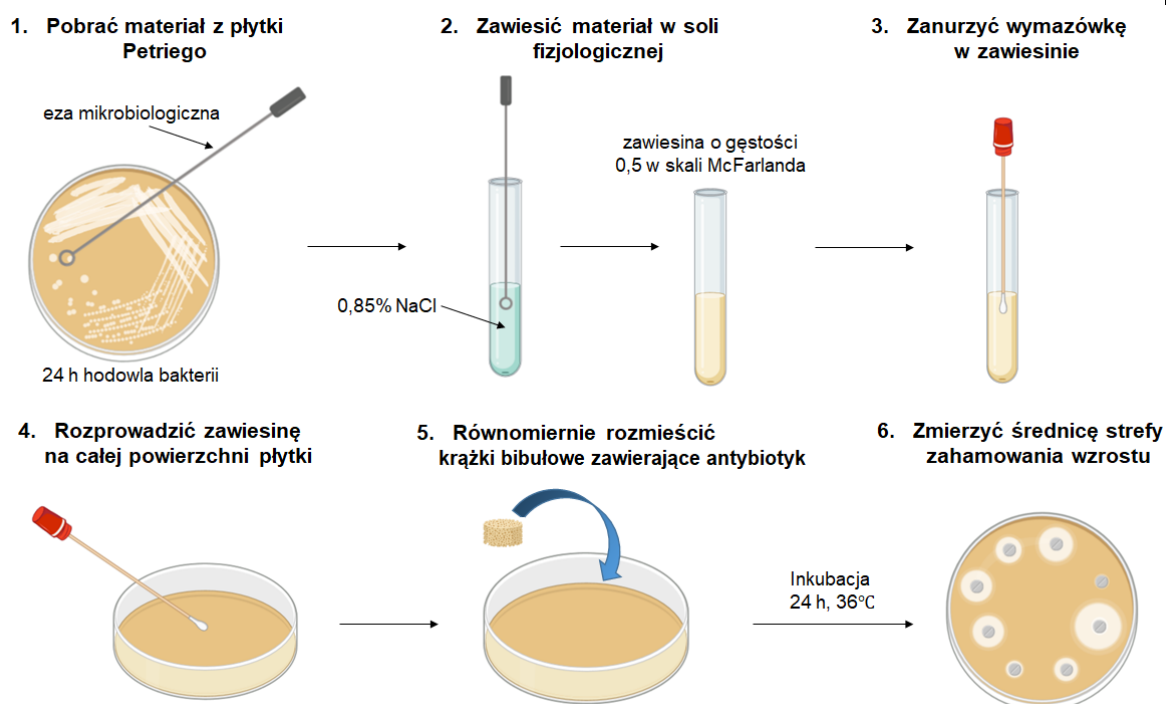
Różnice w kształcie i ułożeniu komórek bakteryjnych.

Wykorzystując barwienie pozytywne, złożone Grama będą mogli również określić czy identyfikowane mikroorganizmy należą do grupy Gram pozytywnych (G+) czy gram negatywnych bakterii (G-).



Różnice w budowie ściany komórkowej bakterii gram dodatnich i gram ujemnych.

Uczestnicy zapoznają się z **metodą oceny lekowrażliwości mikroorganizmów (antybiogramy/metoda dyfuzyjno-krażkowa)**. Metoda ta jest jednym z najstarszych sposobów badania lekowrażliwości drobnoustrojów i pozostaje jedną z najszerzej stosowanych metod oceny lekowrażliwości w laboratoriach klinicznych. Jest odpowiednia do badania większości patogenów bakteryjnych, w tym najczęściej izolowanych bakterii wymagających, umożliwia badanie szerokiej gamy antybiotyków i nie wymaga specjalnego wyposażenia.



Schemat wykonania antybiogramu metodą dyfuzyjno-krażkową.

Uczestnicy zajęć poznają również mikroorganizmy o wysokim potencjalnie biotechnologicznym, które wykorzystuje się do produkcji biopolimerów, antybiotyków czy alkoholi. Poznają metody ich namnażania i oceny efektywności procesu biotechnologicznego w którym są wykorzystywane. Zapoznają się z budową różnych rodzajów fermentorów stosowanych w procesach biotechnologicznych.

Weryfikacja wiedzy na wejściu:

Weryfikacja wiedzy nie jest konieczna. Zajęcia dotyczą podstawowych zagadnień z biologii i mikrobiologii. Preferowani są jednak uczniowie klas o profilu przyrodniczym.

Cel zajęć:	Celem zajęć jest zapoznanie uczestników z metodami izolacji oraz identyfikacji mikroorganizmów izolowanych ze środowiska, a także możliwości ich wykorzystania.
Materialy Dydaktyczne:	<p>Plastiki laboratoryjne jednorazowego użytku m.in. szalki petriego do hodowli mikroorganizmów, ezy mikrobiologiczne, wymazówki.</p> <p>Szkiełka podstawowe oraz barwniki do przygotowania preparatów mikroskopowych.</p> <p>Podłoża mikrobiologiczne (pożywki stałe i płynne do namnażania mikroorganizmów).</p> <p>Na zajęciach wykorzystuje się również komputer, rzutnik oraz telewizor do lepszego zaprezentowania omawianych zagadnień.</p>
Program zajęć – prezentacji / wykładu:	<ol style="list-style-type: none"> 1. Zapoznanie się z zasadami bezpieczeństwa w laboratorium mikrobiologicznym. 2. Izolacja mikroorganizmów ze środowiska oraz posianie ich na odpowiednie podłoża ogólnowzrostowe. 3. Identyfikacja mikroorganizmów na podstawie morfologii kolonii (analiza makroskopowa). 4. Przygotowania preparatów mikroskopowych. 5. Ocena morfologii komórki, wykorzystując mikroskop świetlny. 5. Ocena lekowrażliwości różnych mikroorganizmów (wykonanie antybiogramów). 6. Zapoznanie się z metodami hodowli mikroorganizmów o wysokim potencjale biotechnologicznym w różnych typach bioreaktorów.
Efekt Kształcenia:	<p>Wiedza</p> <p>Posiada wiedzę dotyczącą zachowania bezpieczeństwa w laboratorium mikrobiologicznym. Posiada wiedzę na temat różnorodności, funkcjonowania oraz znaczenia</p>

	<p>mikroorganizmów dla człowieka oraz środowiska przyrodniczego.</p> <p>Umiejętności</p> <p>Posiada umiejętności pozwalające izolację oraz identyfikację różnych grup makroorganizmów. Posiada umiejętności pozwalające na ocenę wrażliwości mikroorganizmów na substancje przeciwdrobnoustrojowe.</p> <p>Kompetencje</p> <p>Uczestnik jest zdolny do wyboru odpowiednich metod wykorzystywanych w badaniach mikroorganizmów oraz jest świadomy zarówno zagrożeń z ich strony jak i możliwości ich wykorzystania w przemyśle.</p>
<p>Kosztorys:</p>	<p>1. Podłoża mikrobiologiczne m.in.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Podłoże ogólnowzrostowe Brain Heart Infusion LAB-AGAR™ / BROTH Podłoże dla drożdzy i pleśni Sabouraud Dextrose LAB-AGAR™ / BROTH • Podłoże wybiórczo-różnicujące MacConkey LAB-AGAR™/ BROTH Mannitol Salt acc. to Chapman LAB-A-GAR™ / BROTH • Podłoże do oznaczanie antybiotykowrażliwości Mueller Hinton LAB-AGAR™ / BROTH <p>Koszt ok. 2000 zł</p> <p>2. Materiały jednorazowego użytku do przeprowadzenia wszystkich analiz mikrobiologicznych m.in.</p> <ul style="list-style-type: none"> • szalki petriego; • głaszczki; • ezy jednorazowe; • wymazówek; • tipsy jednorazowe 1000 ul, 200 ul, 10 ul; • probówki typu falkon 50 ml, 15 ml; • probówki typu eppendorf; • płytki wielodołkowe, • jednorazowe faktuchy labolatoryjne,

	<ul style="list-style-type: none">• jednorazowe rękawiczki lateksowe. <p>Koszt ok. 3000 zł</p>
	<p>3. Szkło laboratoryjne do namnażania mikroorganizmów</p> <p>Koszt ok. 1000 zł</p>