میکروب شناسی عملی

جلسه اول: معارفه و مقدمات آزمایشگاه میکروب شناسی

- نکات ایمنی و مقررات کار در آزمایشگاه

- آشنایی و کار با بعضی وسایل و دستگاهها که شامل موارد زیر می باشد.

الف) لام یا اسلاید ب) لوله آزمایش ج) پلیت یا پتری دیش د) چراغ گازی بنسون

ه) ظرف یا تشک رنگ آمیزی و) پیپت سمپلر و سر سمپلر م) فلیدو پلاتین یا آنس

ت) اتوو یا بن ماری ظ) فور ط) اتوکلاو ن) میکروسکوپ خ) جار بیهو ازی

جلسه دوم: روش های ضد عفونی و استریلیزاسیون

سترون کردن: استریلیزاسیون یعنی حذف کامل تمامی میکرو ارگانیزمها در هر شکلی که باشند.

استریل کردن شامل دو روش است فیزیکی و شیمیایی

استریل بر روش فیزیکی: ۱- گرما دادن: خود بر دو نوع است گرمای خشک و گرمای مرغوب

الف) گرمای خشک: شامل موارد زیر است ۱- سوزاندن ۲- حرارت مستقیم

۳- شعله پاشیدن ۴- استفاده از دستگاه فور

ب) گرمای مرطوب: شامل موارد زیر است ۱- جوشاندن ۲- تندالیزاسیون

۳- پاستوریزه کردن ۴- اتوکلاو کردن

۲- استفاده از صافی ها ۳- سترون به وسیله پرتوها ۴- استریل کردن به وسیله مواد شیمیایی

جلسه سوم: محیط های کشت و روش های کشت و جداسازی باکتریها

مقدمه: میکروارگانیزمها همانند سایر موجودات زنده برای ادامه زندگی به محیط زیستی نیاز دارند.

انواع محیط کشت شامل موارد زیر است الف) انواع محیط کشت شامل موارد زیر است.

الف) انواع محیط کشت از نظر منشاء:

۱- محیط کشت طبیعی

۲- محیط کشت مصنوعی

ب) انواع محیط کشت از نظر حالت:

۱- محیط کشت مایع

۲- محیط کشت نیمه جامد

۳- محیط کشت جامد

- انواع محیط کشت از نظر کاربرد و متمایز سازی:

۱- محیط کشت کامل

۲- محیط کشت غنی شده

۳- محیط کشت افتراقی

۴- محیط کشت اختصاصی

۵- محیط انتقال دهنده

مواد لازم: ۱- آب مقطر استریل ۲- پودر آماده ۳- خون استریل ۴- ارلن ۵- ترازو ۶- اتوکلاو

روش کار: در مورد انواع محیط کشت ها که بروش های مختلف انجام می گیرد.

جلسه چهارم: نحوه تهیه گسترش و رنگ آمیزی باکتریها

مقدمه: یکی از مشخصات مهم باکتری ها که به شناسایی آنها کمک می کند رنگ پذیری آنها با رنگهای مختلف است.

تقسیم بندی رنگها: ۱- رنگ های مثبت

۲- رنگهای منفی

رنگهای اصلی از نظر گرایش به اجزاء یاخته یا رنگ دوستی به سه دسته تقسیم می شود.

۱- رنگ های بازی

۲- رنگهای اسیدی

۳- رنگهای خنثی

رنگ آمیزیها از نظر ترتیب مواد به دو دسته رنگ آمیزی ساده و مرکب تقسیم می شوند.

الف) رنگ آمیزی ساده

ب) رنگ آمیزی مرکب: شامل موارد زیر است:

۱- رنگ آمیزی گرم

۲- رنگ آمیزی اسید فاست

مواد لازم:

۱- نمونه باکتری

۲- کریستال و یوله

۳- لوگل

۴- الکل اتیلیک

۵- تشتک رنگ آمیزی، لام و میکروسکوپ

جلسه پنجم: تشخیص آزمایشگاهی استافیلووکوک ها و کشت بینی:

مقدمه: استافیلووکوک ها سلول های کروی گرم مثبت به اندازه حدود یک میکرون هستند که اغلب شبیه

خوشه های انگور آرایش می یابند.

مواد لازم: ۱- آب اکسیژنه ۲- لام ۳- اپلیکاتور ۴- پلیت بلاد اگار ۵- سرم فیزیولوژی

۶- پلاسمای خرگوش ۷- محیط کشت مانیتول سالت آگار ۸- سواب

عناوین کارهای عملی

۱- تهیه نمونه از بینی و تلقیح و کشت خطی در محیط کشت MSA

۲- رنگ آمیزی گرم

۳- مشاهده و بررسی پتری DNase

۴- مشاهده و بررسی پتری MSA

۵- مشاهده و بررسی پتری اگار خوندار

۶- انجام تست کاتالاز

۷- انجام تست کواگولاز

جلسه ششم: تشخیص آزمایشگاهی استرپتوکوک ها و کشت گلو

مقدمه: استرپتوکوک ها کوکسی های گرم مثبت به شکل کروی یا بیضی به قطر کمتر از ۳ میکرون هستند.

مواد لازم: ۱- محیط کشت بلاد اگار ۲- محیط کشت بایل اسکولین اگار ۳- آب اکسیژنه

۴- آسبلانگ ۵- لام ۶- سواب استریل

عناوین کارهای عملی

۱- کشت از گلو در محیط آگار خوندار

۲- تست کاتالاز

۳- تلقیح انتروکوک در بایل اسکولین اگار

۴- تست تحمل نمک انتروکوک

۵- رنگ آمیزی گرم

۶- مطالعه لام آماده در آزمایشگاه

جلسه هفتم: تشخیص آزمایشگاهی انتروباکتر یاسه:

مقدمه: باکتری های روده ای باسیل گرم منفی کوتاه و بدون اسپور هستند.

مواد لازم: ۱- محیط کیگلر آیرون اگار ۲- محیط SIM

۳- دیسک اکسیداز ۴- معرف کواکس ۵- آب اکسیژنه ۶- رنگ آمیزی گرم

عناوین کارهای عملی

۱- تست سیترات ۴- تست وژ

۲- تست اندول ۵- کشت در محیط کلیگرآیرون اگار

۳- تست متیل رد ۶- رنگ آمیزی گرم

جلسه هشتم: تشخیص آزمایشگاهی باسیل های گرم منفی و غیر تخمیری

مقدمه: یک باسیل گرم منفی، بی هوازی اختیاری، بدون اسپور، بدون کپسول، بدون کپسول و متحرک می باشد.

مواد لازم:

۱- محیط کشت مولر هینتون آگار

۲- محیط کشت کلیگرون آبروی آگار

۳- محیط کشت SIM

۴- محیط کشت سیترات

۵- دیسک ۶- اپلیکاتور ۷- لام ۸- وسایل رنگ آمیزی گرم

عناوین کارهای عملی:

۱- آزمایش اکسیداز

۲- تهیه اسمیر

۳- کشت در محیط مولر هینتون اگار

۴- کشت در محیط بلاد اگار

۵- کشت در محیط کیلگر آیرون اگار

۶- تست of گلولز

جلسه نهم: باکتری های بی هوازی

مقدمه:

باکتری های بی هوازی مورفولوژی مختلفی داشته و شامل انواع باسیل، کوکسی، کاما و مارپیچی شکل اند.

مواد لازم: ۱- پلیت بلاد اگار ۲- جار بی هوازی ۳- گاز پک ۴- پلیت مولر هینتوت اگار ۵- سواب استریل

۶- سرم فیزیولوژی ۷- دیسک های آنتی بیوتیکی

عناوین کارهای عملی

۱- انجام کشت با روش جار بی هوازی

۲- نحوه کاربرد گاز پک

۳- تکنیک کشت بی هوازی با استفاده از پارافین

جلسه دهم: شناسایی باسیل های اسید فاست (مایکو باکتریوم)

مقدمه: مایکوباکتریوم گرم مثبت ضعیفی می باشد و به شکل میله ای باریک، مستقیم و یا خمیده، با انتهایای مدور است.

مواد لازم: ۱- محیط کشت بلاد اگار

۲ - محیط کشت زرده تخم مرغ

۳ - محیط کشت آبگوشت مغذی

۴- لام آماده

۵- رنگ آمنیزی به روش ذیل فلسون

عناوین کارهای عملی

۱- انجام تست توبرکولین

۲- رنگ آمیزی به روش ذیل نلسون

۳- مشاهده لام های آماده

۴- بررسی محیط های کشت مایکو باکتریوم

جلسه یازدهم: نگهداری و انتقال نمونه بالینی و کشت ادرار:

مجاری ادراری در انسان دو قسمت دارد: مجاری ادراری فوقانی شامل کلیه ها و حالب و مجاری ادراری تحتانی که شامل مثانه و اورترا می باشد. عفونت های ادراری (UTI) دو نوع هستند: عفونت قسمت های تحتانی و عفونت قسمت های فوقانی

مواد لازم: ۱- ظروف استریل ۲- پنبه ۳- گاز استریل ۴- صابون ۵- آب ولرم ۶- لام

۷- وسایل رنگ آمیزی گرم ۸- محیط گشت بلادآگار

جلسه دوازدهم

نگهداری و انتقال نمونه های بالینی و کشت خون

مقدمه: خون از جمله مایعات استریل و عاری از هرگونه میکروارگانیسم می باشد. عفونت خون، یک عفونت جدی و خطرناک بوده و سپس (Sepsis) یک اوژانس پزشکی مصوب می شود.

مواد لازم: ۱- شیشه های کشت خون هوازی و بی هوازی ۲- پنبه ۳- سرسوزن ۴- سرنگ

۵- گارو ۶- برچسب

عناوین کارهای عملی

۱- مشاهده ماکروسکوپیک ویال های کشت خون

۲- ساب کالچر از ویال کشت خون

۳- تهیه اسمیر و رنگ آمیزی گرم

جلسه سیزدهم

روشهای سنجش حساسیت آنتی بیوتیکی

مواد لازم: یک پلیت (محیط کشت) مولر هینتون آگار – سواب استریل – سرم فیزیولوژی – سوسپانسیون باکتریایی – دیسکهای آنتی بیوتیک.