

بسمه تعالی



دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دانشکده پزشکی، گروه میکروب شناسی
راهنمای مطالعات دانشجویان

عنوان درس:
باکتری شناسی عملی
(۰.۶ واحد)

مشخصات کلی:

گروه: میکروب شناسی
تعداد واحد: ۰.۶ واحد
نوع واحد: عملی
رده دانشجویی: پزشکی
مقطع: علوم پایه
تعداد دانشجویان: ...

پیشنیاز: بیوشیمی، بافت شناسی، فیزیولوژی ۱
سال تحصیلی: ...

زمان ارائه درس: ترم سوم

مدت زمان ارائه درس: ۱ ترم (۳۴ ساعت) که با توجه به تعداد دانشجویان به گروههای مختلف تقسیم میشوند
اساتید گروه میکروب شناسی (دکتر خرم روز - دکتر دهبانی - دکتر شریفی)
امتحان پایان ترم: ...

مقدمه:

درس شامل شرح اصول کلی باکتری شناسی عملی است. همچنین دانشجویان با روش های تشخیص و تعیین هویت عوامل بیماریهای عفونی باکتریال (نمونه گیری، آماده سازی، کشت و ...) آگاهی می یابند.

سرفصل کلی درس به شرح زیر است:

الف) بخش اول: اصول کلی باکتری شناسی

جلسه اول (دکتر خرم روز)

الف - آشنایی با مواد و وسایل آزمایشگاه باکتری شناسی، تمرین کار با میکروسکوپ (اصول کار و روش کار با میکروسکوپ نوری، بررسی شکل باکتری ها، اندازه باکتری ها)

ب - آشنایی با انواع محیط های کشت و طرز تهیه آنها، آشناسازی دانشجویان با فرم ماکروسکوپی (کلنی) باکتری ها و مشاهده انواع مختلف کلنی ها بر روی محیط های کشت مختلف، اصول جداسازی و خالص سازی باکتری ها ؛ روش استریک کردن روی پلیت، تمرین کشت بر روی آگار.

الف - دانشجو باید بتواند:

- ۱- ابزار و وسایل مهم در باکتری شناسی عملی را نام برده و عملکرد هر کدام را بداند.
- ۲- میکروسکوپ را روشن کند.
- ۳- نمونه را در زیر میکروسکوپ قرار دهد.
- ۴- تصویر را تنظیم نماید.
- ۵- شکل و مشخصات میکروسکوپی باکتری را یادداشت نماید.

ب - دانشجو باید بتواند:

- ۱- محیط های اصلی کشت باکتری ها را با دیدن محیط تشخیص داده و نام ببرد:

الف - Blood agar

ب - Thioglycolate

ج- Nutrient agar

د- EMB

ه- Nutrient Broth

- ۲- با استفاده از Loop از نمونه مورد نظر بر روی محیط جامد کشت تهیه کند، (روش استریک پلیت).
- ۳- با استفاده از Loop یا وسیله مناسب دیگر در محیط مایع باکتری را کشت دهد.
- ۴- اهمیت کشت خالص را بیان کند.
- ۵- روش استریک پلیت را انجام دهد.
- ۶- شکل و مشخصات ماکروسکوپی باکتری را یادداشت نماید.

جلسه دوم (دکتر شریفی)

الف - رنگ آمیزی گرم و مکانیسم آن ، واکنش باکتری ها در برابر رنگ آمیزی گرم، تمرین رنگ آمیزی گرم

دانشجو باید بتواند:

- ۱- از نمونه مورد نظر لام تهیه کند.
- ۲- لام را رنگ آمیزی کند.
- ۳- لام را در زیر میکروسکوپ مشاهده کند.
- ۴- نتیجه را گزارش کند. (مثلاً " بنویسد باکتری گرم مثبت یا منفی)

ب - مطالعه تاثیر عوامل فیزیکی و شیمیایی روی باکتری ها توسط خود دانشجویان شامل: کشت باکتریهای مختلف (انواع اسپوردار و بدون اسپور) و بررسی اثر عوامل شیمیایی (الکل ها، پاک کننده ها، صابون، ید و مواد ضد عفونی کننده دیگر) و عوامل فیزیکی (اشعه ماوراء بنفش، گرمای مرطوب، گرمای خشک و صافی های باکتریولوژی) بر باکتری ها

دانشجو باید بتواند:

- ۱- اثر الکل ۷۵٪ را بر روی باکتری های فاقد اسپور مشاهده و نتیجه را بنویسد.
- ۲- اثر الکل ۳۰٪ را بر روی باکتری های فاقد اسپور مشاهده و نتیجه را بنویسد.
- ۳- اثر ید را بر روی باکتری های فاقد اسپور مشاهده و نتیجه را بنویسد.
- ۴- اثر یک دترجنت معمول را بر روی باکتری فاقد اسپور مشاهده و نتیجه را بنویسد.
- ۵- اثر هر یک از مواد فوق را بر روی باکتری اسپوردار مشاهده و نتیجه را بنویسد.
- ۶- اثر گرما را بر روی باکتری های فاقد اسپور و باکتری های دارای اسپور مقایسه کند و نتیجه را بنویسد.
- ۷- اثر اشعه ماوراء بنفش را بر روی باکتری های فاقد اسپور و باکتری دارای اسپور مقایسه کند و نتیجه را بنویسد.
- ۸- تفاوت اثر عوامل فیزیکی را بر باکتری های مختلف شرح دهد.
- ۹- تفاوت اثر عوامل شیمیایی را بر باکتری های مختلف شرح دهد.

بخش دوم:

برای هر جنس یا خانواده باکتری اصول کشت و جداسازی و تشخیص مورد بحث قرار گرفته و انواع تست های معمول تشخیصی مربوط به هر خانواده به طور مجزا و کامل آموزش داده میشود و در نهایت توسط دانشجوین تمرین به عمل می آید. در صورتیکه تمرین در عمل ممکن نباشد نتایج آزمایش بصورت نمایشی ارائه میشوند (مانند آزمایش الک در تشخیص سم زایی کورینه باکتریوم ها) در هر مورد از اسلایدهای میکروسکوپی و پروژکتوری کمک گرفته میشود.

جنس و خانواده های باکتری مورد آزمایش شامل:

استافیلوکوک ها ، استرپتوکوک ها و نایسریاها (دکتر شریفی)

دانشجو باید بتواند:

- ۱- کلنی استافیلوکوک را روی محیط آگار خون دار تشخیص دهد.
- ۲- کلنی استرپتوکوک را روی محیط آگار خون دار تشخیص دهد.
- ۳- آزمایش های تکمیلی برای تشخیص استافیلوکوک را نام ببرد.
- ۴- آزمایش های تکمیلی برای تشخیص استرپتوکوک را نام ببرد.
- ۵- آزمایش های تکمیلی برای تشخیص انواع استافیلوکوک از یکدیگر را نام ببرد.
- ۶- آزمایش های تکمیلی برای تشخیص انواع استرپتوکوک را از یکدیگر نام ببرد.
- ۷- آزمایش های لازم جهت تشخیص نایسریاهای بیماری زا را نام ببرد.
- ۸- استافیلوکوک را با توجه به نتایج آزمایش تکمیلی شناسایی کند.
- ۹- استرپتوکوک را با توجه به نتایج آزمایش تکمیلی شناسایی کند.
- ۱۰- نمونه گیری از گلو و کشت بر روی آگار خون دار
- ۱۱- نایسریا را با توجه به نتایج آزمایش تکمیلی شناسایی کند.

باسیلوس ها و کلستریدیوم ها - مایکوباکتریوم ها (دکتر خرم روز)

دانشجو باید بتواند:

- ۱- کلنی باسیلوس ها را روی محیط کشت جامد بشناسد.
- ۲- آزمایش های تکمیلی جهت تشخیص باسیلوس آنتراسیس را نام ببرد.
- ۳- با در اختیار داشتن نتایج آزمایش های تکمیلی و مشخصات کلنی، باکتری باسیلوس آنتراسیس را از سایر باسیلوس ها تفکیک و گزارش کند.
- ۴- آزمایشگاههای تکمیلی جهت تشخیص کلستریدیوم ها را نام ببرد.
- ۵- رنگ آمیزی اسپور را انجام دهد.

- ۶- اصول کشت بی هوازی را شرح دهد.
- ۷- با توجه به نتایج آزمایش های تکمیلی، شکل کلنی و شکل باکتری کلستریدیوم را شناسایی کند.
- مایکوباکتریوم :**
- ۱- رنگ آمیزی اسید _ فاست را انجام دهد.
 - ۲- باکتری اسید فاست را در لام رنگ آمیزی شده در زیر میکروسکوپ مشاهده و گزارش کند.
 - ۳- محیط کشت مناسب جهت میکوباکتریوم ها را نام ببرد.
 - ۴- کلنی باکتری را در روی محیط کشت با توجه به نتایج آزمایش های تکمیلی بصورت فرضی تشخیص دهد.
 - ۵- لام رنگ آمیزی شده با روش اسید _ فاست را در زیر میکروسکوپ بررسی و باکتری اسید فاست را از سایر باکتری ها مشخص نماید.
 - ۶- باکتری اسید-فاست را با توجه به ویژگی های میکروسکوپی و نتایج کشت شناسایی کند.

انتروباکتریاسه ها شامل: (دکتر خرم روز)

شیگلا، اشرشیا کلی، سالمونلا، کلبسیلا، پروتئوس، سراشیا و ...

دانشجو باید بتواند:

- ۱- محیط اختصاصی جهت تشخیص شیگلا و سالمونلا را نام ببرد.
- ۲- محیط اختصاصی جهت تشخیص شیگلا و سالمونلا را با مشاهده آن تشخیص دهد.
- ۳- شکل و رنگ کلنی های شیگلا و سالمونلا را توصیف کند.
- ۴- کلنی های شیگلا و سالمونلا را در روی محیط مناسب تشخیص دهد.
- ۵- آزمایش های تکمیلی جهت تشخیص نهایی شیگلا و سالمونلا را نام ببرد.
- ۶- نتایج آزمایش های تکمیلی جهت تشخیص نهایی شیگلا و سالمونلا را تفسیر کند.
- ۷- معنی تغییر رنگ در محیط کشت TSI را توصیف کند.
- ۸- فرمول TSI را بنویسید.
- ۹- با توجه به نتایج تکمیلی و ویژگی های کشت سالمونلا و شیگلا را بصورت غیر قطعی تشخیص دهد.
- ۱۰- آزمایش های تکمیلی جهت تشخیص نهایی باکتری را از جدول مشخصات باکتری استخراج و لیست نماید.
- ۱۱- شکل و ویژگی های کلنی پروتئوس را روی محیط کشت توصیف کند.
- ۱۲- آزمایش های تکمیلی جهت تشخیص نهایی پروتئوس را نام ببرد.
- ۱۳- به کمک نتایج آزمایش و ویژگی های کلنی نام پروتئوس را از جدول مشخصات استخراج کند.
- ۱۴- یک ویژگی مهم که پروتئوس را از سایر باکتری های گرم منفی تفکیک می کند نام ببرد.
- ۱۵- به کمک مشخصات کشت و نتایج آزمایش های تکمیلی از جدول مشخصات نام پروتئوس را به صورت غیر قطعی استخراج نماید.

- ۱۶- کلنی های اشرشیاکولی را روی محیط های اختصاصی به صورت غیر قطعی شناسایی کند.
- ۱۷- آزمایش های تکمیلی برای تشخیص اشرشیاکولی را از جدول مشخصات باکتری استخراج نماید.
- ۱۸- با توجه به نتایج آزمایش و مشخصات کشت باکتری اشرشیاکولی را تشخیص دهد.
- ۱۹- دو آزمایش جهت تشخیص قطعی اشرشیاکولی از باکتری های مشابه را نام ببرد.
- ۲۰- اشرشیاکولی را به کمک آزمایش های تکمیلی و مشخصات مندرج در جدول شناسایی کند.

سودوموناس و باکتری های غیر تخمیری - کورینه باکتریوم ها و لیستریا

دانشجو باید بتواند:

- ۱- شکل و ویژگی های کلنی سودوموناس را روی محیط کشت توصیف کند.
- ۲- فرمول TSI سودوموناس را بداند.
- ۳- یک ویژگی مهم که سودوموناس را از سایر باکتری های گرم منفی تفکیک می کند نام ببرد.
- ۴- سودوموناس را به کمک آزمایش های تکمیلی و مشخصات مندرج در جدول شناسایی کند.

کورینه باکتریوم ها و لیستریا

- ۱- رنگ آمیزی متاکروماتیک را در آزمایشگاه انجام دهد.
- ۲- شکل کورینه باکتریوم را در زیر میکروسکوپ بصورت غیر قطعی شناسایی کند.
- ۳- برای شناسایی کورینه باکتریوم آزمایش های تکمیلی را نام ببرد.
- ۴- کلنی های مشکوک به لیستریا را از روی پلیت انتخاب نماید.
- ۵- باکتری لیستریا را به کمک آزمایش های تکمیلی و جدول شناسایی نماید.

* یادآوری و مشاهده موارد مهم جلسات پیشین (دکتر شریفی - دکتر خرم روز)

پس از اتمام جلسات آزمایشگاه دانشجو باید بتواند:

- ۱- میکروسکوپ را جهت دیدن باکتری تنظیم کند.
 - ۲- لام از نمونه های مورد نظر تهیه نماید.
 - ۳- لام را به روش مطلوب رنگ آمیزی نماید.
 - ۴- شکل و مشخصات باکتری را در زیر میکروسکوپ مشاهده و نتایج را گزارش نماید.
- الف) شکل باکتری را شرح دهد.
- ب) واکنش رنگ پذیری را بیان کند (مثلاً "بگوید گرم منفی یا گرم مثبت).
- ۵- محیط کشت مناسب برای تشخیص هر باکتری را نام ببرد.

- ۶- نمونه را روی محیط کشت مناسب کشت دهد.
- ۷- نتایج حاصل از کشت را توصیف کند.
- الف (شکل کلنی و مشخصات دیگر آن
- ب) وجود همولیز یا عدم آن
- ج) ارگانیزم احتمالی حاصل از کشت
- ۸- آزمایش های تکمیلی جهت تشخیص نهایی باکتری را نام ببرد.
- ۹- آزمایش های تکمیلی جهت تشخیص نهایی را انجام دهد.
- ۱۰- نتایج آزمایش نهایی را بررسی کند.
- ۱۱- نتایج کلی را تفسیر نماید.
- ۱۲- تشخیص نهایی خود را به صورت نام جنس و گونه باکتری گزارش نماید. (مثلاً " گزارش کند نتیجه کشت (*Salmonella typhi*).

❖ آموزش دهندگان

- اعضاء هیئت علمی بخش میکروب شناسی

❖ روش آموزش

در قالب کنفرانس های کوتاه (Lab. Lecture) برگزار می گردد. بعد از هر جلسه کنفرانس که در محل آزمایشگاه برگزار خواهد شد، گروه های دو نفری دانشجو بکارگیری ابراز و موادی که در اختیار آنان قرار داده شده است اقدام به تمرین و یادگیری مراحل تشخیص باکتری ها می نمایند.

❖ امکانات آموزشی بخش

- وسایل و تسهیلات کمک آموزشی (اسلاید ، ویدیو پروژکتور و اورهد)

❖ نحوه ارزشیابی

- ارزشیابی به صورت امتحان کتبی است که بخشی از آن به صورت کوییز و تکالیف مربوط به سوالات و مباحث مطرح شده در کلاس و ونیز ارائه گزارش آزمایشگاه و فعالیت آزمایشگاهی انجام می پذیرد.
- امتحان کتبی در پایان دوره به صورت امتحان چرخشی که سئوالات عملی از آزمایشاتی که در طول دوره برای آنها انجام گرفته است برگزار میگردد.

❖ نحوه محاسبه نمره کل

- آزمون کتبی ۷۰٪ کل نمره
- کوئیز و تکالیف کلاسی (گزارش کار آزمایشگاه) ۳۰٪ کل نمره

❖ مقررات

- پوشیدن روپوش در همه جلسات آزمایشگاه اجباری است.
- غیبت در جلسه آزمایشگاه و یا جابجایی ممنوع است.
- دو جلسه غیبت یا چهار جلسه تاخیر سبب محرومیت از شرکت در امتحان آزمایشگاه می شود.

منابع اصلی درسی (Reference):

- ۱- Forbes B.A, F.Sahm D and S. Weissfeld A. Bailey & Scott's. Diagnostic Microbiology. Mosby. ۱۱th ed. ۲۰۰۲.
- ۲- Winn W, Allen SD, Janda WM, Koneman EW, Procop GW, Schreckenberger P, et al. Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, ۶th ed., Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; ۲۰۰۶.