

Podręczniki obowiązujące na ćwiczeniach:

1. "Zarys parazytologii lekarskiej" pod redakcją R. Kadłubowskiego, PZWL, Warszawa 1999.
2. "Mikologia Medyczna" pod red. A. Kurnatowskiej i P. Kurnatowskiego, Promedi, Łódź, 2006

Literatura uzupełniająca:

1. "Diagnostyka chorób pasożytniczych człowieka". Zbigniew Kozar, Maria Kozar - Warszawa, PZWL, 1972.
2. "Parazytologia kliniczna w ujęciu wielodyscyplinarnym" pod red. Z. Pawłowskiego i J. Stefaniaka, PZWL Warszawa, 2004.

Ćwiczenie 1

Temat: Wykrywanie grzybów i pasożytów w różnych materiałach biologicznych cz.1

1. Zasady pobierania, transportu i przechowywania materiałów biologicznych do badań mikologicznych i parazytologicznych – omówienie.
2. Metody hodowli - rodzaje podłoży – omówienie:
 - podłoża płynne i stałe;
 - podłoże namnażające, wybiórcze-selektywne, wybiórczo-różnicujące.
3. Posiew na podłoże stałe Sabourauda hodowli *Saccharomyces cerevisiae* (z podłoży stałego i płynnego):
 - posiew na skos - wykonuje 2 studentów z grupy;
 - posiew w postaci murawy - wykonuje 2 studentów z grupy;
 - posiew redukcyjny - wykonuje 2 studentów z grupy;
4. Obserwacja makroskopowa i opis wzrostu kolonii szczepów wzorcowych na podłożach stałych (płytki) i płynnych: *Mucor racemosus*, *Rhizopus nigricans*, *Aspergillus niger*, *Penicillium notatum*, *Geotrichum candidum*, *Candida albicans*, *Microsporum canis*.
6. Obserwacja mikroskopowa:
 - a. wykonanie preparatów:
 - bezpośrednich w 0,85 % NaCl z hodowli grzybów na podłożach stałych, pow. 100, 400x;
 - bezpośrednich z hodowli grzybów na podłożach płynnych: niebarwione i barwione błękitem metylenowym, pow. 100, 400x;
 - bezpośrednich z hodowli grzybów pleśniowych na podłożach stałych metodą odciskową wg Gerlacha w błękie anilinowym z laktofenolem, pow. 100, 400x;
 - w kropli ksylenu, płynu prześwietlającego (KOH+DMSO) lub 20 % KOH, pow. 100, 400x;
 - b. obserwacja mikrohodowli grzybów – preparaty utrwalone i barwione, pow. 100, 400x.
7. Posiew różnych materiałów biologicznych:
 - treści jamy ustnej na podłoże płynne Sabourauda (wymaz, popłuczyny);
 - treści jamy ustnej na podłoże Simiça;
 - moczu na stałe podłoże Sabourauda z antybiotykami (gentamycyną i chloramfenikolem);
 - zeszkobin skóry i ścinków paznokci na podłoża: płynne Sabourauda i Mycoline;
 - kału na podłoże stałe Sabourauda.

Ćwiczenie 2

Temat: **Wykrywanie grzybów i pasożytów w różnych materiałach biologicznych cz.2**

1. Ocena posiewów z materiałów biologicznych wykonanych na poprzednim ćwiczeniu – prep. bezpośrednie z podłoży płynnych i z kolonii wyrosłych na podłożach stałych - pow. 100x, 400x.
2. Posiewy grzybów w celu uzyskania szczepów aksenicznych - pasażowanie szczepów.
3. Bezpośrednie badanie kału - metody koproskopowe:
 - a. rozmaz kału:
 - w soli fizjologicznej - prep. mikr. pow. 100x, 400x;
 - podbarwiony płynem Lugola - prep. mikr. pow. 100x, 400x;
 - b. gruby rozmaz kału - metoda Kato-Miura – wykonanie, opis, prep. mikr. pow. 100x, 400x.
4. Różnicowanie form rozwojowych pasożytów jelitowych – prep. mikr. jaj helmintów, pow. 100x, 400x.
5. Artefakty różnego pochodzenia w preparatach bezpośrednich kału - prep. mikr. pow. 100x, 400x.
6. Wykrywanie inwazji *Trichinella spiralis*:
 - trychinoskopia, metoda kompresorowa – wykonanie, opis;
 - wytrawianie w sztucznym soku żołądkowym – pokaz fotografii;
 - larwy *Trichinella* sp. w przeponie myszy – prep. mikr. pow. 100x, 400x.
7. Wykrywanie inwazji *Enterobius vermicularis*:
 - zestaw do wykrywania jaj metodą Halla (NIH) i Grahama - pokaz.

Ćwiczenie 3

Temat: **Wykrywanie grzybów i pasożytów w różnych materiałach biologicznych (cz.3) oraz ocena parazytologiczna i mikrobiologiczna prób środowiskowych**

1. Pasażowanie szczepów grzyba - przesiewanie kolonii na świeże podłoże (hodowla akseniczna).
2. Wykrywanie i różnicowanie form rozwojowych pasożytów jelitowych w kale metodami zagęszczającymi - wykonanie i opis:
 - a. metody flotacyjne:
 - Fülleborna;
 - Fecalyzer test;
 - b. metody sedymentacyjne:
 - dekantacji;
 - MINI PARASEP.
3. Wykrywanie koproantygeny *Giardia lamblia* w kale testem GiardiaK-set – wykonanie i opis.
2. Badanie parazytologiczne gleby metodą flotacyjną - wykonanie i opis.
3. Wykrywanie grzybów keratynofilnych w glebie - test przynęty włosowej – wykonanie.
4. Ocena czystości powietrza metodą zderzeniową przy pomocy próbnika mikrobiologicznego powietrza MAS-100® Eco – wykonanie, opis.
5. Ocena czystości powietrza wewnętrznego pomieszczeń metodą sedymentacyjną Kocha – wykonanie, opis.
6. Ocena czystości powierzchni metodą odciskową - wykorzystanie aplikatora Count-Tact – wykonanie, opis.
7. Kontrola kontaminacji powierzchni techniką wymazu –posiew materiału na stałe podłoża mikrobiologiczne.

Ćwiczenie 4

Temat: **Wykrywanie grzybów w różnych materiałach biologicznych cz.4**

1. Mikrobiologiczne próby środowiskowe wykonane na poprzednim ćwiczeniu - ilościowa ocena zanieczyszczenia:
 - a. powietrza
 - b. powierzchni
2. Ocena testu penetracji włosów *in vitro* (test przynęty włosowej) oraz posiewów zeskrabin skóry i ścinków paznokci na podłożach Sabourauda i Mycoline.
3. Różnicowanie aksenicznych szczepów grzybów wyizolowanych na poprzednich zajęciach:
 - a. zakładanie mikrohodowli szkiełkowych na podłożu Sabourauda
 - b. posiewy na podłoża wybiórczo-różnicujące:
 - chrom ID Candida – posiew szczepów *Candida* izolowanych na poprzednich zajęciach i/lub szczepów wzorcowych
 - mikrohodowle na podłożu Nickersona i ryżowym – posiew szczepów *Candida* izolowanych na poprzednich zajęciach i szczepu wzorcowego *Candida albicans*
4. Identyfikacja biochemiczna szczepów grzybów:
 - a. API 20 AUX – wykonanie (dla szczepu izolowanego na poprzednich zajęciach) i opis
 - b. API ZYM – pokaz z opisem.

Ćwiczenie 5

Temat: **Ocena wrażliwości grzybów i pasożytów na leki**

0. Ocena testu penetracji włosów *in vitro* (test przynęty włosowej) oraz posiewów zeskrabin skóry i ścinków paznokci na podłożach Sabourauda i Mycoline.
- I. Ocena wrażliwości grzybów na leki:
 1. Obliczanie najmniejszego stężenia hamującego (MIC) z krzywych działania nystatyny na *Candida albicans* – metoda dyfuzji w żelu agarowym.
 2. Określenie najmniejszego stężenia hamującego (MIC) nystatyny dla *Aspergillus niger* – metoda rozcieńczeń w płynnym podłożu Sabourauda.
 3. Określenie wrażliwości aksenicznych szczepów grzybów na leki:
 - a. mikrotestem ATB FUNGUS firmy bioMérieux (Francja);
 - b. mikrotestem FUNGITEST firmy BIO-RAD (Francja);
 - c. testem dyfuzyjno-krażkowym (antymykogram, DHN PAN Polska).
 4. E-test firmy AB BIODISK – omówienie testu i pokaz fotografii.
- II. Ocena wrażliwości pasożytów na leki:
 - obliczanie CL₅₀ z krzywej działania metronidazolu na *Trichomonas vaginalis*.
- III. Techniki immunologiczne i molekularne stosowane w diagnostyce parazytologicznej i mikologicznej – omówienie.