

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ  
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ  
КАФЕДРА МИКРОБИОЛОГИИ, ВИРУСОЛОГИИ, ИММУНОЛОГИИ

# МИКРОБИОЛОГИЯ, ВИРУСОЛОГИЯ, ИММУНОЛОГИЯ

Практикум для стоматологического факультета



Минск БГМУ 2017

УДК 576.8+612.017+578(076.5)(075.8)

ББК 52.64я73

М42

Рекомендовано Научно-методическим советом университета в качестве практикума 17.05.2017 г., протокол № 9

А в т о р ы: доц. Т. А. Канашкова; канд. мед. наук И. А. Гаврилова; доц. Д. А. Черношей; доц. В. В. Слипень; доц. В. А. Молочко; доц. Н. Ф. Казак; доц. В. В. Кочубинский; доц. Е. Ю. Кирильчик; доц. В. А. Горбунов

Р е ц е н з е н т ы: д-р мед. наук, проф., зав. каф. клинической микробиологии Витебского государственного ордена Дружбы народов медицинского университета И. И. Генералов; канд. мед. наук, доц. каф. биологии Белорусского государственного медицинского университета В. Э. Бутвиловский

**Микробиология**, вирусология, иммунология : практикум для стоматологического факультета / Т. А. Канашкова [и др.]. – Минск : БГМУ, 2017. – 104 с.

М42

ISBN 978-985-567-780-3.

Даны алгоритмы, схемы, некоторые справочные сведения, методики выполнения лабораторных работ по дисциплине «Микробиологии, вирусология, иммунология». Предназначен для студентов 2-го курса стоматологического факультета.

УДК 576.8+612.017+578(076.5)(075.8)

ББК 52.64я73

---

Учебное издание

**Канашкова** Татьяна Александровна  
**Гаврилова** Ирина Александровна  
**Черношей** Дмитрий Александрович и др.

## **МИКРОБИОЛОГИЯ, ВИРУСОЛОГИЯ, ИММУНОЛОГИЯ**

Практикум для стоматологического факультета

Ответственная за выпуск Т. А. Канашкова  
Компьютерный набор И. А. Гавриловой  
Компьютерная верстка Н. М. Федорцовой

Подписано в печать 21.07.17. Формат 60×84/8. Бумага офсетная. Ризография. Гарнитура «Times». Усл. печ. л. 12,09. Уч.-изд. л. 7,0. Тираж 222 экз. Заказ 521.

Издатель и полиграфическое исполнение: учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет». Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя, распространителя печатных изданий № 1/187 от 18.02.2014. Ул. Ленинградская, 6, 220006, Минск.

ISBN 978-985-567-780-3

© УО «Белорусский государственный медицинский университет», 2017

## Введение

Уважаемые студенты стоматологического факультета! Практикум «Микробиология, вирусология, иммунология» предназначен для подготовки к лабораторным занятиям по одноименной дисциплине, выполнения лабораторной работы и оформления протоколов занятий на кафедре микробиологии, вирусологии, иммунологии БГМУ. Каждое занятие в практикуме состоит из двух или трех частей: первая часть включает перечень изучаемых вопросов, вторая часть предназначена для выполнения лабораторной работы во время занятия и подписывается преподавателем, третья – содержит дополнительную теоретическую информацию и задания для самостоятельной работы при подготовке к занятию.

Авторы выражают благодарность всем преподавателям кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии за ценные замечания и предложения по содержанию отдельных разделов практикума. С благодарностью примем все критические отзывы и пожелания по содержанию практикума, которые будут учтены при подготовке последующих его изданий.

*Коллектив авторов*

## Список сокращений:

<b>АПК</b>	– Антигенпрезентирующие клетки	<b>МИК (МПК)</b>	– Минимальная ингибирующая (подавляющая) концентрация
<b>АГ</b>	– Антиген	<b>МПА</b>	– Мясопептонный агар
<b>АТ</b>	– Антитела	<b>МПБ</b>	– Мясопептонный бульон
<b>АТФ</b>	– Аденозинтрифосфорная кислота	<b>Мф</b>	– Макрофаги
<b>ВБИ</b>	– Внутрибольничная инфекция	<b>ПЦР</b>	– Полимеразная цепная реакция
<b>ВИЧ</b>	– Вирус иммунодефицита человека	<b>РГА</b>	– Реакция гемагглютинации
<b>ГКГС (МНС)</b>	– Главный комплекс гистосовместимости (major histocompatibility complex)	<b>РИА</b>	– Радиоиммунный анализ
<b>ГСИ</b>	– Гнойно-септическая инфекция	<b>РИФ</b>	– Реакция иммунофлюоресценции
<b>ДНК</b>	– Дезоксирибонуклеиновая кислота	<b>РН</b>	– Реакция нейтрализации
<b>ЕК (НК)</b>	– Естественные киллеры (Natural killer cells)	<b>РНГА (РПГА)</b>	– Реакция непрямой (пассивной) гемагглютинации
<b>ЖСА</b>	– Желточно-солевой агар	<b>РНК</b>	– Рибонуклеиновая кислота
<b>ИЛ (IL)</b>	– Интерлейкин (Interleukin)	<b>РСК</b>	– Реакция связывания комплемента
<b>ИФА</b>	– Иммуноферментный анализ	<b>РТГА</b>	– Реакция торможения гемагглютинации
<b>ИФН (IFN)</b>	– Интерферон (Interferon)	<b>РТГАдс</b>	– Реакция торможения гемадсорбции
<b>КА</b>	– Контроль антигена (в серологии)	<b>ТКР (TCR)</b>	– Т-клеточный рецептор
<b>КИО</b>	– Клеточный иммунный ответ	<b>Тх (Th)</b>	– Т-хелперы
<b>КОЕ</b>	– Колониеобразующая единица	<b>УПМ</b>	– Условно-патогенный микроорганизм
<b>КС</b>	– Контроль сыворотки (в серологии)	<b>ФНО (TNF)</b>	– Фактор некроза опухолей (Tumor necrosis factor)
<b>ЛПС</b>	– Липополисахарид	<b>ЦПД</b>	– Цитопатическое действие
<b>Лф</b>	– Лимфоциты	<b>ЦТЛ</b>	– Цитотоксические Т-лимфоциты (Т-киллеры)

**ТЕМА: Методы исследования в микробиологии. Бактериоскопический метод исследования. Характеристика основных форм бактерий. Простые методы окраски.**

**Перечень изучаемых вопросов:**

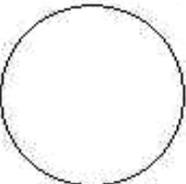
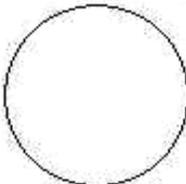
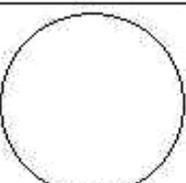
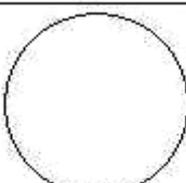
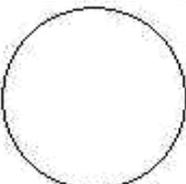
Микробиология как наука: основные этапы развития, разделы микробиологии. Предмет, задачи, методы исследования медицинской микробиологии. Роль стоматологической микробиологии в деятельности врача-стоматолога.

Устройство микробиологической лаборатории, режим работы в ней. Правила работы с заразным материалом и культурами микроорганизмов. Правила работы со спиртовками, электрическими приборами.

Принципы систематики микроорганизмов, таксономические группы. Основные формы бактерий (шаровидные, палочковидные, извитые).

Микроскопический (бактериоскопический) метод исследования, задачи, этапы, оценка. Техника приготовления фиксированных препаратов из культур бактерий и окраска их простыми методами. Техника световой иммерсионной микроскопии.

**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты	
1. Приготовить препарат из агаровой культуры кишечной палочки ( <i>Escherichia coli</i> ), окрасить метиленовым синим <sup>1</sup> , микроскопировать, зарисовать. 2. Приготовить препарат из бульонной культуры стафилококка ( <i>Staphylococcus spp.</i> ), окрасить водным фуксином <sup>1</sup> , микроскопировать, зарисовать.	Препарат _____ _____ Окраска _____ _____ 	Препарат _____ _____ Окраска _____ _____ 
3. Зарисовать демонстрационные препараты: 1) <i>Streptococcus spp.</i> , чистая культура, окраска генцианвиолетом. 2) <i>Vibrio spp.</i> , чистая культура, окраска водным фуксином. 3) <i>Bacillus spp.</i> , чистая культура, окраска генцианвиолетом.	Препарат _____ _____ Окраска _____ _____ 	Препарат _____ _____ Окраска _____ _____ 
<sup>1</sup> – простые методы окраски предполагают использование одного красителя. Как правило, бактерии окрашиваются в цвет красителя. Время экспозиции водного фуксина 2–3 мин; метиленового синего – 5 мин.	Препарат _____ _____ Окраска _____ _____ 	

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

## Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 1.

### ПРАВИЛА

#### работы в микробиологической лаборатории для студентов, проходящих обучение на кафедре микробиологии, вирусологии, иммунологии

1. Студенты допускаются к выполнению лабораторных работ только после проведения инструктажа преподавателем по технике безопасности при работе с микробными культурами, биологическим материалом, электроприборами и спиртовками. Инструктаж проводится в начале каждого семестра и регистрируется в специальном журнале.
2. Студенты должны быть предупреждены об имеющейся биологической опасности при работе с микроорганизмами. Разрешается работа только с микроорганизмами I группы патогенности по классификации ВОЗ (наиболее низкий уровень биобезопасности).
3. Все студенты, находящиеся в лаборатории должны быть в халатах и шапочках.
4. Каждый студент должен пользоваться только закрепленным за ним рабочим местом и содержать его в надлежащем порядке.
5. В каждой группе назначается дежурный, помогающий преподавателю в организации и проведении лабораторных работ, поддерживающий дисциплину и порядок в практикуме в отсутствие преподавателя.
6. Любая манипуляция по теме занятия выполняется только после пояснения и практического показа преподавателем.
7. Во время работы двери практикума должны быть закрыты. Не допускаются излишне громкие разговоры, хождение, прием пищи, применение косметических средств.
8. При работе с культурами и биоматериалом ни в коем случае не прикасаться к ним руками. Необходимо пользоваться специальными инструментами (бактериологические петли, пинцеты, пипетки и др.). Не допускается соприкосновение рук с конденсатом воды в засеянных чашках, переливание инфицированных жидкостей из сосуда в сосуд через край. Запрещается работа с пипеткой при помощи рта.
9. Посев инфекционного материала в пробирки и чашки Петри производят вблизи пламени спиртовки с обжиганием петли, шпателя, краев пробирки.
10. Пробирки, чашки Петри и пр. после проведения посевов обязательно подписываются.
11. По окончании работы запрещается оставлять на рабочих столах нефиксированные мазки, чашки Петри, пробирки и др. посуду с инфекционным материалом.
12. Инструменты, посуда, микробные культуры и биоматериал после окончания работы подлежат обязательной стерилизации в лаборатории (петли, пинцеты) или вне её. В последнем случае их помещают в специальные контейнеры и удаляют из лаборатории.
13. Работа с кровью, заразным материалом ведется в резиновых перчатках.
14. Студент немедленно сообщает преподавателю обо всех нестандартных аварийных ситуациях, создающих угрозу биологической безопасности.
15. После окончания работы студент самостоятельно приводит в полный порядок свое рабочее место. Мытье рук перед уходом из лаборатории является обязательным.
16. Обязательным является соблюдение правил техники безопасности при работе со спиртовками и электрическими приборами.

**Бактериоскопический (микроскопический) метод исследования** – совокупность способов обнаружения и изучения морфологических и тинкториальных<sup>1</sup> свойств бактерий (микроорганизмов) в исследуемом материале (лабораторная культура, патологический материал, пробы из внешней среды) с помощью микроскопии.

#### Цели метода:

1. Установление этиологии инфекционного заболевания.
2. Определение чистоты выделенной культуры.

#### Этапы метода:

1. Забор, хранение и транспортировка материала.
2. Приготовление микропрепарата.

#### Типы микропрепаратов:

- а) Для изучения убитых микроорганизмов: бактериологический (фиксированный) мазок; мазки из жидкого материала (ликвор, моча); мазки из вязкого материала (гной, мокрота); тонкий мазок крови; толстая капля крови; препарат-отпечаток; препарат-соскоб; препарат для электронной микроскопии.
- б) Для изучения микроорганизмов в живом состоянии (нативные): висючая капля; придавленная (раздавленная) капля.

#### 3. Микроскопия

#### Типы микроскопии:

- световая биологическая (суховоздушная);
- световая микробиологическая (иммерсионная);
- темнопольная;
- фазово-контрастная;
- люминесцентная;
- электронная и др.

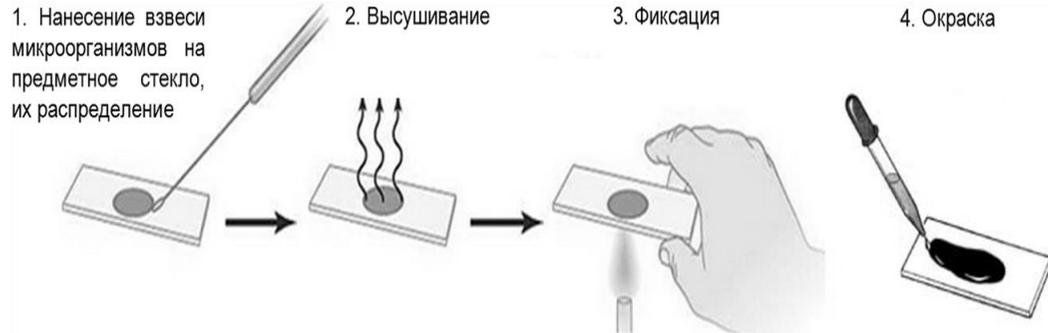
#### 4. Заключение<sup>1</sup>

#### Оценка метода:

- + Метод простой, быстрый, доступный и экономичный;
- Низкая чувствительность ( $10^4$ – $10^5$  микробов в 1 мл), низкая специфичность (из-за схожести морфологии микроорганизмов разных видов), опасность инфицирования.

<sup>1</sup> – при микроскопии мазка изучается морфология (форма, размеры и взаимное расположение микробных клеток) и тинкториальные свойства (способность окрашиваться определенным образом) микроорганизмов.

### Этапы приготовления бактериологического (фиксированного) мазка:

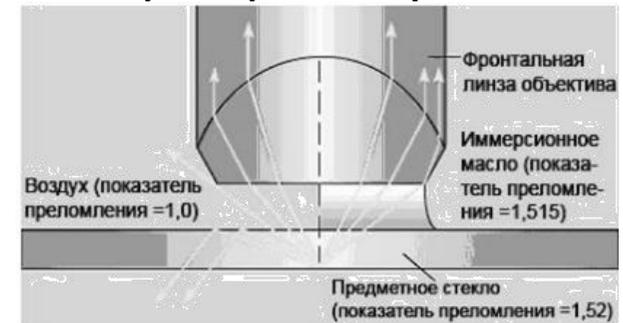


### Устройство светового микроскопа



**Самостоятельная работа:** определить морфологию и взаиморасположение клеток бактерий и записать названия в таблицу


### Схема хода лучей в сухой и иммерсионной системах



**Рассчитать разрешающую способность светового микроскопа при суховоздушной и иммерсионной системах.**

$$\text{Разрешающая способность} = 0,61 \times \lambda / n \times \sin \alpha$$

где:  $\lambda$  (длина световой волны) = 0,55 мкм;

$n$  - показатель среды преломления между препаратом и фронтальной линзой объектива;

$\alpha$  - половина апертурного угла;

$n \times \sin \alpha$  для суховоздушной системы = 0,95

для иммерсионной системы = 1,6

**Результат:**

Разрешение иммерсионного микроскопа \_\_\_\_\_ мкм

Разрешение суховоздушного микроскопа \_\_\_\_\_ мкм

**ТЕМА: Бактериоскопический метод исследования. Структура бактериальной клетки. Сложные методы окраски.**

**Перечень изучаемых вопросов:**

Отличия прокариотов от эукариотов.

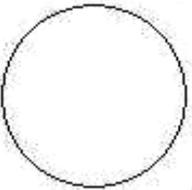
Структура и функции поверхностных образований бактериальной клетки (капсулы, клеточной стенки, жгутиков, фимбрий, цитоплазматической мембраны), методы выявления. Грамположительные и грамотрицательные бактерии. Техника и механизм окраски по Граму.

Строение и функции цитоплазматических органелл (нуклеоид, мезосомы, рибосомы, плазмиды, включения). Методы выявления нуклеоида, волутиновых зерен. Окраска по Нейссеру и Леффлеру.

Кислотоустойчивость бактерий. Техника и механизм окраски по Цилю-Нильсену.

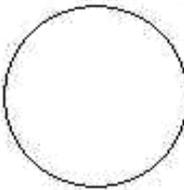
**Лабораторная работа**

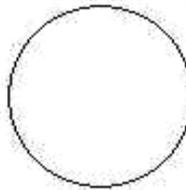
1. Приготовить препарат из смеси грамположительных (*Staphylococcus spp.*) и грамотрицательных (*Escherichia coli*) бактерий, окрасить по Граму, микроскопировать, зарисовать.

Препарат _____ _____ _____ Окраска _____ _____ _____	
---	---

2. Зарисовать демонстрационные препараты:

- 1) Капсула *Klebsiella spp.* Окраска по Бурри-Гинсу.
- 2) Зерна волутина *Corynebacterium diphtheriae*. Окраска по Нейссеру.
- 3) Зерна волутина *Corynebacterium diphtheriae*. Окраска по Леффлеру.
- 4) Смесь *Mycobacterium tuberculosis* и *Sarcina spp.* Окраска по Цилю-Нильсену.

Препарат _____ _____ _____ Окраска _____ _____ _____	
---	---

Препарат _____ _____ _____ Окраска _____ _____ _____	
---	---

**Техника окраски по Граму:**

1. на фиксированный мазок через фильтровальную бумагу наливают раствор генцианвиолета (основной краситель) на 1–2 мин, бумагу снимают, препарат промывают водой (тонкие мазки не промывают);

2. наносят раствор Люголя на 1 мин. Раствор Люголя сливают, водой не промывают;

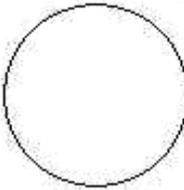
3. на мазок наносят 96% этанол (30–60 сек), промывают водой;

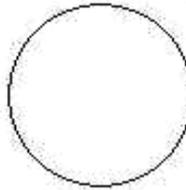
4. наносят водный фуксин (дополнительный краситель) на 2–3 мин, промывают водой;

5. высушивают фильтровальной бумагой, микроскопируют с иммерсионной системой.

Грам+ бактерии прочно фиксируют комплекс генцианвиолета и йода, не обесцвечиваются этанолом, не воспринимают дополнительный краситель (фуксин). У Грам- бактерий этот комплекс легко вымывается этанолом – окрашиваются фуксином в розово-красный цвет.

*Грам+ фиолетовые; Грам– розово-красного цвета*

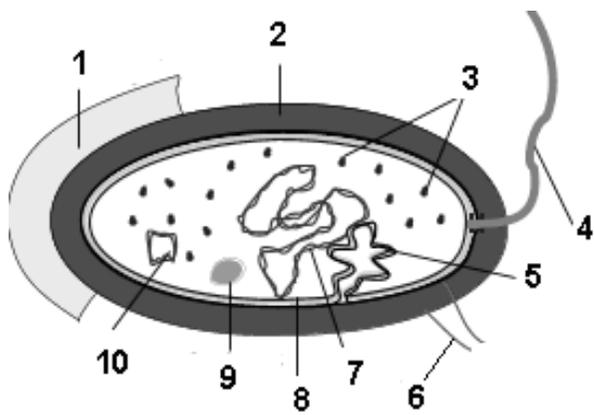
Препарат _____ _____ _____ Окраска _____ _____ _____	
---	---

Препарат _____ _____ _____ Окраска _____ _____ _____	
---	---

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

**Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 2.**

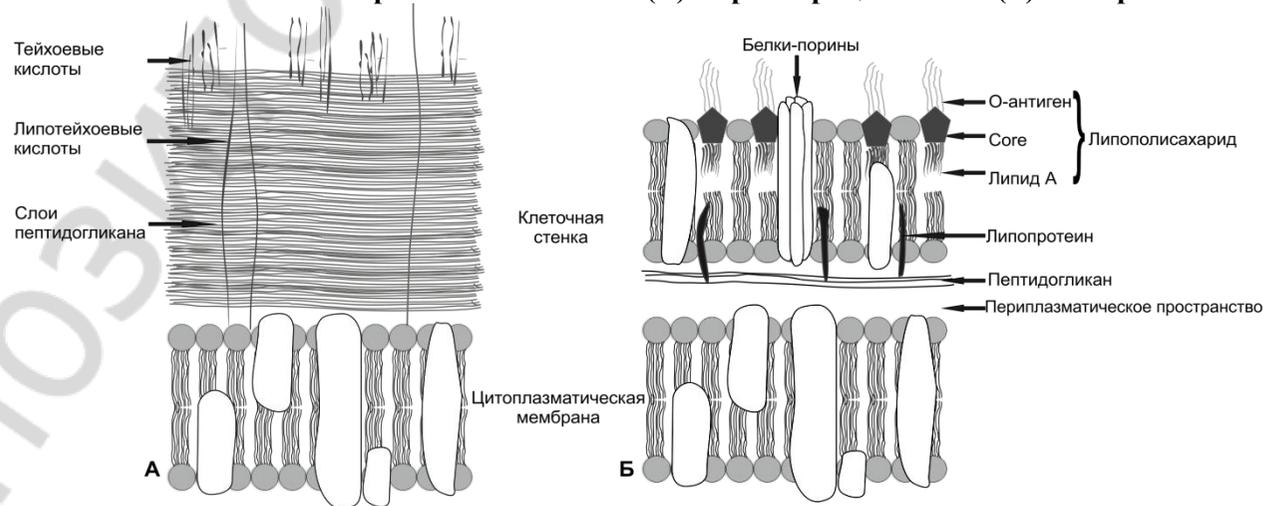
Укажите названия структур бактериальной клетки, их функции, методы выявления

<p>Схема строения бактериальной клетки</p> 	Структура бактерии	Химический состав, строение	Функции	Методы выявления
1.				
2.				
3.				
4.				
5.				
6.				
7.				
8.				
9.				
10.				

Нарисуйте варианты расположения жгутиков бактерий:

<p><i>монотрих</i></p> <p><b>Бактерия</b></p>	<p><i>лофотрих</i></p> <p><b>Бактерия</b></p>
<p><i>амфитрих</i></p> <p><b>Бактерия</b></p>	<p><i>перитрих</i></p> <p><b>Бактерия</b></p>

**Клеточная стенка грамположительных (А) и грамотрицательных (Б) бактерий**



Различия между Грам+ и Грам– бактериями					Дифференциально-диагностические методы окраски бактерий
Признак	Грам+	Грам–			
Толщина клеточной стенки, нм					
Содержание пептидогликана (%)					
Структура пептидогликана			<p><b>Окраска по Бурри-Гинсу</b> (для выявления капсул)</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Смешивают каплю взвеси микроба с каплей туши и при помощи стекла со шлифованным краем готовят препарат так же, как и мазок крови;</li> <li>2. Препарат высушивают и фиксируют в пламени;</li> <li>3. На остывшее стекло наливают водный фуксин на 3-5 минут, промывают водой, высушивают на воздухе, наносят иммерсионное масло, микроскопируют.</li> </ol> <p><i>Бактерии окрашиваются в красный цвет, а неокрашенные капсулы контрастно выделяются на черно-розовом фоне.</i></p> <p><b>Окраска по Леффлеру</b> (для выявления зерен волютина)</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. На фиксированный мазок наносят метиленовый синий щелочной раствор – 5 мин., промывают водой (простой метод окраски);</li> <li>2. Высушивают фильтровальной бумагой, наносят иммерсионное масло, микроскопируют.</li> </ol> <p><u>Механизм окраски.</u> Зерна волютина по химической природе – полифосфаты, они являются запасом питательных и энергетических веществ. Характерная особенность волютина – способность к метахромазии, то есть к окраске в иной цвет, чем краситель.</p> <p><i>Протоплазма окрашивается в голубой, зерна волютина – в фиолетово-красный цвет.</i></p> <p><b>Окраска по Нейссеру</b> (для выявления зерен волютина)</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. На фиксированный мазок наносят ацетат синьки Нейссера – 2 мин., промывают водой («кислый» краситель);</li> <li>2. Наносят раствор Люголя – 30 секунд, промывают водой;</li> <li>3. Везувин (или хризоидин) – 0,5–1 мин (щелочной краситель), промывают водой, высушивают фильтровальной бумагой, наносят иммерсионное масло, микроскопируют.</li> </ol> <p><u>Механизм окраски.</u> Структуры со щелочной рН воспринимают кислый краситель, структуры с кислой рН окрашиваются щелочным красителем.</p> <p><i>Зерна волютина, имеющие щелочную рН, окрашиваются в темно-синий цвет. Цитоплазма (кислая рН) окрашивается в желтый цвет.</i></p> <p><b>Окраска по Цилю-Нильсену</b> (дифференциация кислотоустойчивых и кислотоподатливых)</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. На фиксированный препарат накладывают полоску фильтровальной бумаги, на нее наливают карболовый фуксин Циля и над пламенем спиртовки подогревают препарат 2–3 раза до появления паров (2-3 минуты);</li> <li>2. После остывания мазка бумагу снимают, препарат обесцвечивают 5% р-ром серной кислоты 30 сек., погружая в стаканчик с кислотой 2–3 раза;</li> <li>3. Препарат промывают водой и докрашивают метиленовым синим 3-5 мин;</li> <li>4. Промывают водой, высушивают фильтровальной бумагой, наносят иммерсионное масло, микроскопируют.</li> </ol> <p><u>Механизм окраски.</u> При обработке препарата фуксином Циля все бактерии окрашиваются в красный цвет. При последующем обесцвечивании серной кислотой кислотоустойчивые бактерии, из-за особенностей своего химического состава, удерживают краситель. Кислотоподатливые обесцвечиваются, поэтому при дальнейшем окрашивании метиленовым синим воспринимают краситель и приобретают голубой (синий) цвет.</p> <p><i>Кислотоустойчивые бактерии окрашиваются в рубиново-красный цвет, а кислотоподатливые – в синий.</i></p>		
Наличие тейхоевых кислот					
Периплазматическое пространство					
Наружная мембрана					
Липополисахарид					
Белки-порины					
Спорообразование					
В какие цвета окрашиваются бактерии по этапам проведения окрашивания по методу Грама? <i>Раскрасьте таблицу.</i>					
Бактерии	Окраска генцианвиолетом	Обработка р-ром Люголя	Обработка 96 этанолом	Окраска фуксином	
<b>Грам +</b>					
<b>Грам –</b>					
В какие цвета окрашиваются бактерии по этапам проведения окраски по методу Циля-Нильсена? <i>Раскрасьте таблицу.</i>					
Бактерии	Окраска фуксином Циля	Обработка серной кислотой	Окраска метиленовым синим		
Кислотоустойчивые					
Некислотоустойчивые					

**ТЕМА: Бактериоскопический метод исследования. Дефектные и покоящиеся формы бактерий. Морфология спирохет, актиномицетов, риккетсий, хламидий, микоплазм.**

**Перечень изучаемых вопросов:**

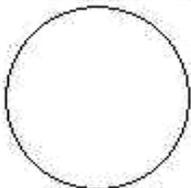
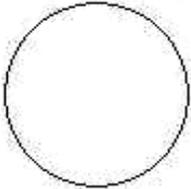
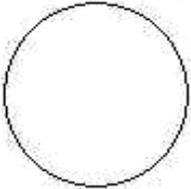
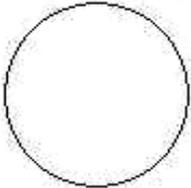
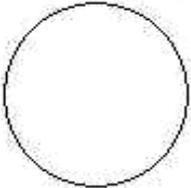
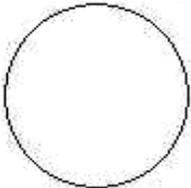
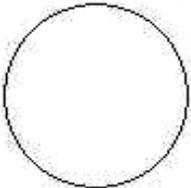
Формы бактерий с дефектами клеточной стенки (протопласты, сферопласты, L-формы).

Покоящиеся формы бактерий. Споры, методы их выявления.

Систематическое положение и морфология спирохет, актиномицетов, риккетсий, хламидий, микоплазм, отличия от истинных бактерий, ультраструктура, формы существования, методы изучения. Окраска по Романовскому-Гимзе.

Методы исследования активной подвижности микробов. Фазово-контрастная микроскопия. Темнопольная микроскопия. Люминесцентная микроскопия.

**Лабораторная работа**

<p>1. Приготовить препарат из взвеси риккетсий, окрасить по Граму, микроскопировать</p>	<p>Препарат _____                  _____                  Окраска _____                  _____</p> 	
<p>2. Зарисовать демонстрационные препараты:                  1) <i>Treponema denticola</i> в зубном налёте, окраска по Граму.                  2) <i>Borrelia recurrentis</i> в крови больного возвратным тифом, окраска по Романовскому-Гимзе.                  3) <i>Rickettsia prowazekii</i>, окраска по Граму                  4) Цитоплазматические включения <i>Chlamydia spp.</i>, окраска по Романовскому-Гимзе.                  5) <i>Actinomyces spp.</i>, чистая культура, окраска по Граму.                  6) Споры <i>Bacillus anthracis</i>, окраска по Ожешко.</p>	<p>Препарат _____                  _____                  Окраска _____                  _____</p> 	<p>Препарат _____                  _____                  Окраска _____                  _____</p> 
	<p>Препарат _____                  _____                  Окраска _____                  _____</p> 	<p>Препарат _____                  _____                  Окраска _____                  _____</p> 
	<p>Препарат _____                  _____                  Окраска _____                  _____</p> 	<p>Препарат _____                  _____                  Окраска _____                  _____</p> 

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

**Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 3.**

**Формы бактерий с дефектами клеточной стенки:**  
**Протопласты** – бактерии полностью лишённые клеточной стенки, не способны к размножению.

**Сферопласты** – бактерии частично лишённые клеточной стенки, не способны к размножению.

**L-формы** – это бактерии, полностью или частично лишённые клеточной стенки, поэтому имеют своеобразную морфологию в виде крупных и мелких сферических клеток. Способны к размножению. Название дано по названию института имени Листера, где этот феномен был впервые обнаружен. L-трансформации могут подвергаться все бактерии, имеющие клеточную стенку. Она может быть обратимой, если генетический контроль синтеза клеточной стенки сохраняется.

L-трансформация происходит под действием различных индуцирующих факторов (антибиотики, угнетающие биосинтез клеточной стенки, а также лизоцим и другие ферменты). Медицинское значение L-форм: устойчивость к антибиотикам (ингибиторам синтеза клеточной стенки), переход острых заболеваний в хронические, (напр., при сепсисе, ревматизме, гонорее, пиелонефрите и др.), форма персистенции бактерий (напр., при брюшном тифе); трудность лабораторной диагностики (морфологически неразличимы). L-формы могут быть нестабильные и стабильные.

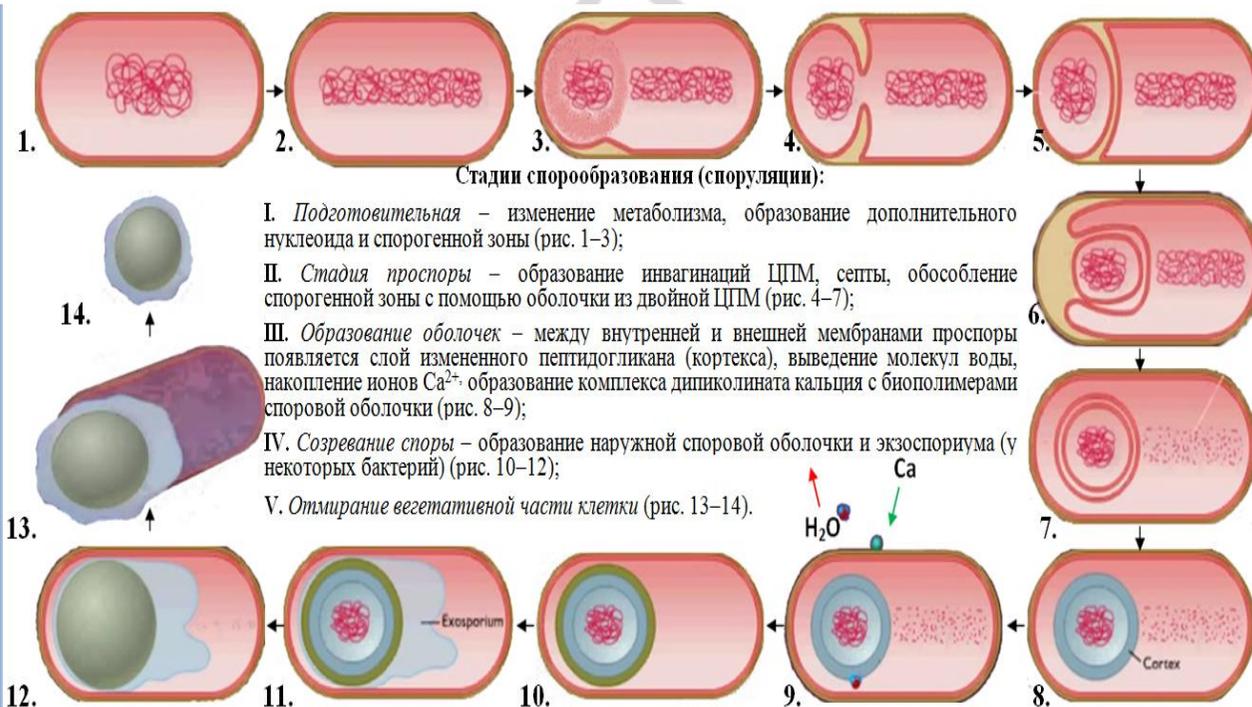
**Окраска по Ожешко (для выявления спор)**

1. На нефиксированный мазок наносят 0,5% соляной к-ты при подогревании, промывание и фиксируют в пламени;
2. Окрашивают по Цилю-Нильсену (см.)

**Механизм окраски.** При обычных способах окраски споры не прокрашиваются, оставаясь бесцветными внутри окрасившихся вегетативных клеток. Поэтому для размягчения оболочки, или «протравливания», их обрабатывают 0,5% раствором серной кислоты. Затем препарат окрашивают по методу Циля-Нильсена.

*Споры (кислотоустойчивы) – рубиново-красного цвета, вегетативные клетки – синего.*

**Спорообразование у бактерий.**



Спорообразование – это способ сохранения вида во внешней среде при неблагоприятных условиях, а не способ размножения. Спора образуется в цитоплазме в течение 18–20 часов и может располагаться у собственн бацилл – центрально, у клостридий – центрально или субтерминально. Прорастание спор длится 4–5 часов.

В какие цвета окрашиваются спора и вегетативная часть бактерии по этапам проведения окраски по методу Ожешко? *Раскройте таблицу.*

Бактерия со спорой и споры без вегетативной части клетки	После обработки соляной кислотой	После окраски фуксином Циля	После обработки серной кислотой	После окраски метиленовым синим

**Окраска по Романовскому-Гимзе** — цитологический метод окраски простейших, бактерий, клеточных структур и тканей различных видов (в том числе крови) для их световой микроскопии.

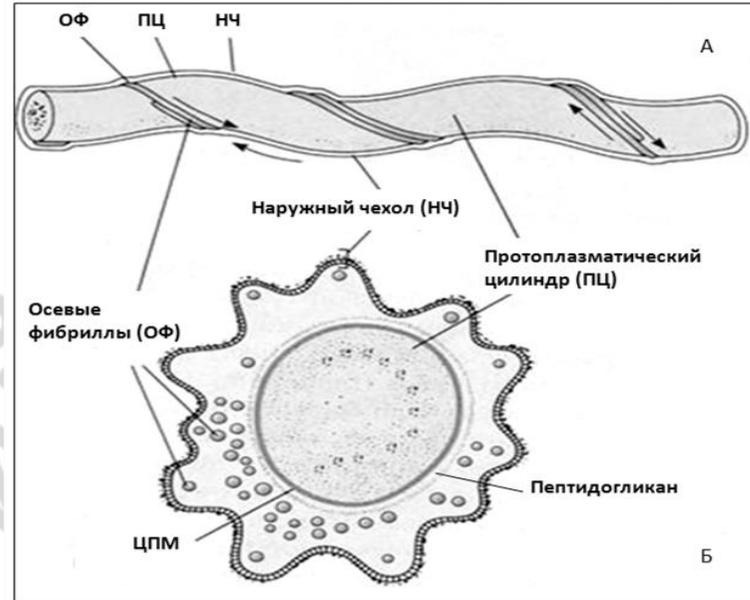
**Механизм окраски.** Краситель состоит из эозина, метиленового синего и азура, растворённых в метаноле или в смеси метанола с глицерином.

**Окрашивает** ацидофильные образования в различные оттенки красного цвета, базофильные — в цвета от пурпурного до синего.

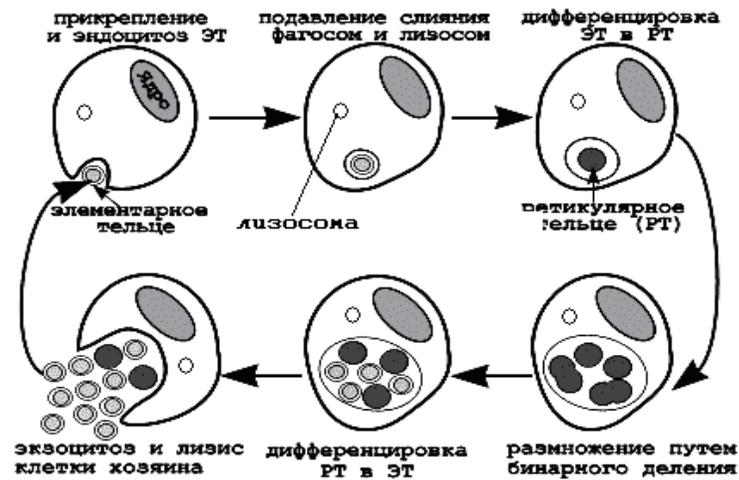
**Дифференциация патогенных спирохет**

Признак		<i>Treponema spp.</i>	<i>Borrelia spp.</i>	<i>Leptospira spp.</i>
Размеры, мкм	Длина			
	Толщина			
Количество завитков				
Характер завитков				
Схематический рисунок				
Окрашивание по Романовскому-Гимзе				

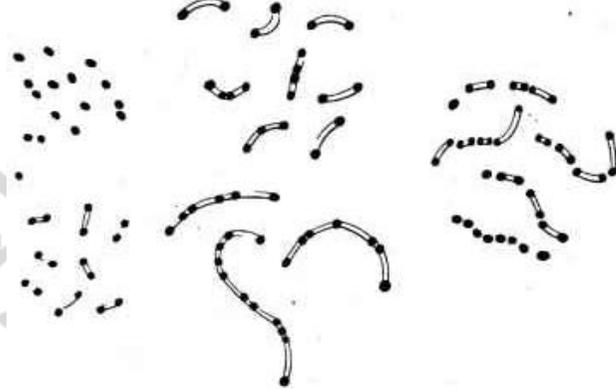
**Клетка спирохеты в продольном (А) и поперечном (Б) разрезе**



**Репликативный цикл хламидий**

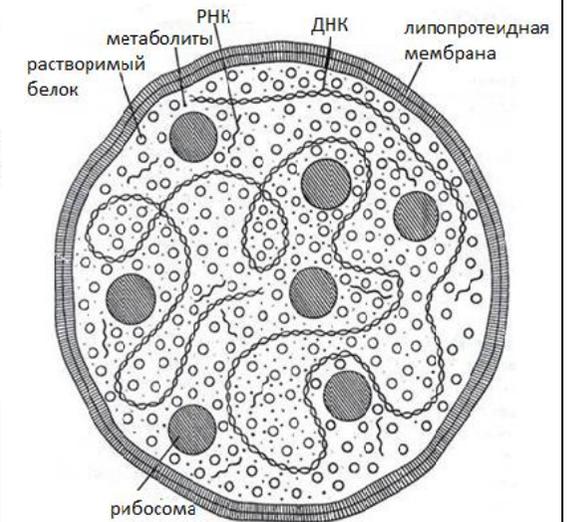


**Морфологические типы риккетсий**



- кокковидные однозернистые
- палочковидные двухзернистые
- удлиненные палочки трех-, четырехзернистые
- нитевидные многозернистые

**Структура клетки микоплазмы**



**ТЕМА: Экология микробов. Противомикробные мероприятия: методы стерилизации и дезинфекции, антисептика, асептика.****Перечень изучаемых вопросов:**

Экология микроорганизмов. Формы экологических связей. Практическое использование микробного антагонизма. Понятие о бактериоциногении.

Противомикробные мероприятия в стоматологической практике. Определение понятий асептики, стерилизации, дезинфекции, антисептики.

Стерилизация: способы и режимы проведения. Контроль качества стерилизации. Отличия стерилизации от дезинфекции.

Дезинфекция: типы, способы проведения. Группы дезинфицирующих средств, применяемых в стоматологии.

Антисептика: определение понятия, типы, способы проведения. Антисептические средства: классификация, механизм действия, побочное действие.

Принципы рациональной антисептики в стоматологической практике.

**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты
1. Поставить опыт по антисептической обработке кожи рук.	<p><b>Опыт по антисептике кожи рук:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Контроль (К) – отпечаток кожи рук без обработки;</li> <li>2. Опыт 1 (O<sub>1</sub>) – отпечаток кожи рук после гигиенического мытья рук с мылом;</li> <li>3. Опыт 2 (O<sub>2</sub>) – отпечаток кожи рук после обработки антисептиком:               <ul style="list-style-type: none"> <li>• Обработка дистальной фаланги пальца 1% раствором йодопирона (антисептик) – 2 мин;</li> <li>• Обработка дистальной фаланги пальца 1% раствором тиосульфата натрия (нейтрализатор) – 2 мин;</li> <li>• Отпечаток пальца.</li> </ul> </li> </ol> <p>Среда с посевом помещается в термостат на 24– 48 ч., 37°C.</p>
	<p><b>Учет опыта по антисептике кожи рук (выполняется на занятии №5)</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Количество колоний бактерий на контрольном отпечатке _____;</li> <li>2. Количество колоний бактерий на отпечатке «опыт 1» _____;</li> <li>3. Количество колоний бактерий на отпечатке «опыт 2» _____.</li> </ol> <p><b>Заключение:</b> _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>

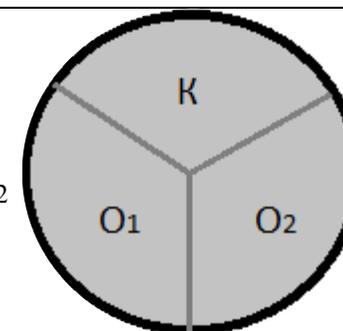
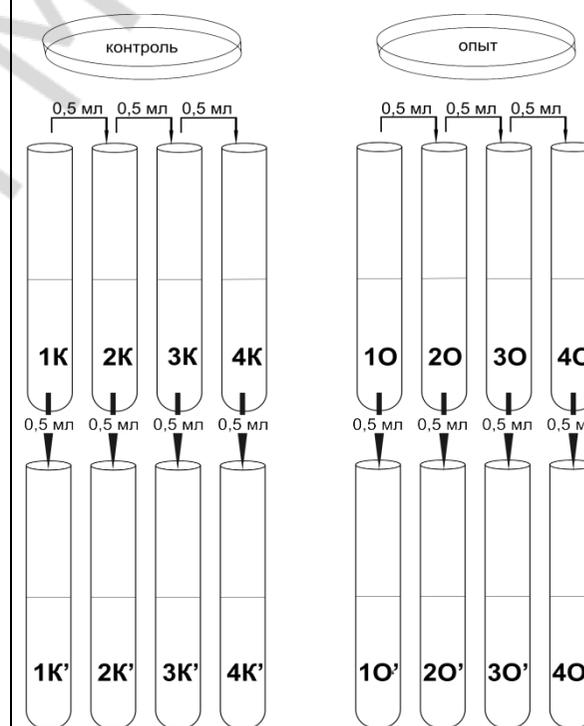


Схема постановки опыта

2. Поставить опыт по антисептической обработке полости рта:

- 1) Подписать чашки Петри («опыт» и «контроль»)
- 2) Прополоскать рот стерильным физраствором и сплюнуть в чашку «контроль»
- 3) Прополоскать рот 1% раствором борной кислоты и сплюнуть в раковину
- 4) Прополоскать рот стерильным физраствором и сплюнуть в чашку «опыт».
- 5) С помощью стерильных пипеток и груши приготовить разведения материалов:
  - 5.1) Приготовление 10-кратных разведений смыва со слизистой рта без обработки:
    - приготовить 4 пробирки с 4,5 мл стерильного физраствора, подписать 1К, 2К, 3К, 4К;
    - набрать 0,5 мл материала из чашки «Контроль» и выпустить в пробирку 1К. Сбросить пипетку в фарфоровый стакан;
    - другой пипеткой перемешать содержимое пробирки 1К, набрать 0,5 мл и выпустить в пробирку 2К. Сбросить пипетку в фарфоровый стакан;
    - новой пипеткой перемешать содержимое пробирки 2К, набрать 0,5 мл и выпустить в пробирку 3К. Сбросить пипетку в фарфоровый стакан;
    - новой пипеткой перемешать содержимое пробирки 3К, набрать 0,5 мл и выпустить в пробирку 4К. Сбросить пипетку в фарфоровый стакан;
  - 5.2) аналогично приготовить разведения материала «опыт».
- 6) С помощью стерильной пипетки и груши произвести посев разведений на сахарный бульон:
  - 6.1) Посев «контроля»:
    - приготовить 4 пробирки с сахарным бульоном, подписать 1К', 2К', 3К', 4К';
    - стерильной пипеткой размешать содержимое пробирки 4К, набрать 0,5 мл разведенного материала и выпустить в пробирку 4К' с бульоном;
    - не меняя пипетку, перенести 0,5 разведенного материала из пробирки 3К в пробирку 3К' с бульоном;
    - не меняя пипетку, перенести 0,5 разведенного материала из пробирки 2К в пробирку 2К' с бульоном;
    - не меняя пипетку, перенести 0,5 разведенного материала из пробирки 1К в пробирку 1К' с бульоном;
  - 6.2) Аналогично провести посев разведений материала «опыт» на сахарный бульон.
- 7) Засеянные бульоны связать лентой, подписать номер группы.

Схема опыта



**Учет опыта по антисептической обработке полости рта** (выполняется на занятии №5)

1. Просмотреть пробирки с сахарным бульоном и определить максимальное разведение, посев из которого дает рост, для «контроля» и «опыта».
2. Сформулировать заключение об эффективности обработки полости рта 1% раствором борной кислоты на основании различий в росте микробов из разных разведений

**Заключение:** \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**Демонстрация:** Аппаратура для стерилизации, растворы для дезинфекции, антисептики.

**Подпись преподавателя** \_\_\_\_\_

#### Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 4.

**Противомикробные мероприятия** – совокупность способов уничтожения, подавления жизнедеятельности, снижения численности и ограничения распространения потенциально патогенных для человека микроорганизмов в целях профилактики и лечения инфекционных заболеваний.

**Противомикробный режим** – совокупность строго регламентированных и обязательных для выполнения противомикробных мероприятий в лечебных, детских или иных учреждениях и производствах.

**Асептика** – совокупность противомикробных мероприятий, направленных на предупреждение развития инфекционного заболевания во время *медицинских вмешательств* или нарушений технологического процесса при *микробиологических исследованиях и производстве* различных материалов.

**Стерилизация** – совокупность физических, химических и механических способов полного освобождения объектов внешней среды от вегетативных и покоящихся форм патогенных, условно-патогенных и непатогенных микроорганизмов.

**Дезинфекция** – комплекс способов полного, частичного или селективного уничтожения потенциально патогенных для человека микроорганизмов на объектах внешней среды с целью разрыва путей передачи возбудителей инфекционных заболеваний от источников инфекции к восприимчивым людям.

**Антисептика** – совокупность способов уничтожения или подавления жизнедеятельности потенциально опасных для здоровья человека микроорганизмов на коже, слизистых оболочках и в полостях с целью профилактики или лечения инфекционных процессов.

Впишите в таблицу возможные способы стерилизации указанных объектов

Стерилизуемые объекты	Способы стерилизации
Бактериологические петли	
Перевязочный материал (марля, вата, бинт)	
Изделия из резины, пластика	
Стеклянные изделия	
Основные питательные среды (МПА, МПБ)	
Питательные среды с нативным белком	
Воздух (в операционных)	
Растворы, содержащие вещества, инактивирующиеся при температуре свыше 60 °С	

#### Аппаратура для проведения стерилизации

Стерилизаторы паровые (автоклавы)		Сухожаровые шкафы
вертикальный	горизонтальные	
		
		

Опишите методы контроля качества стерилизации

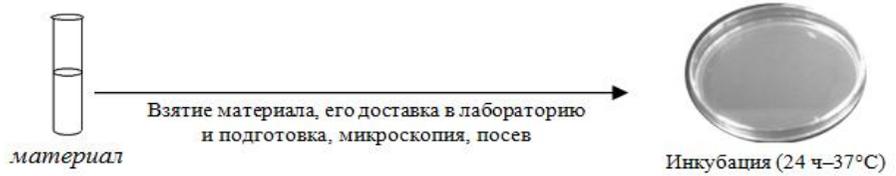
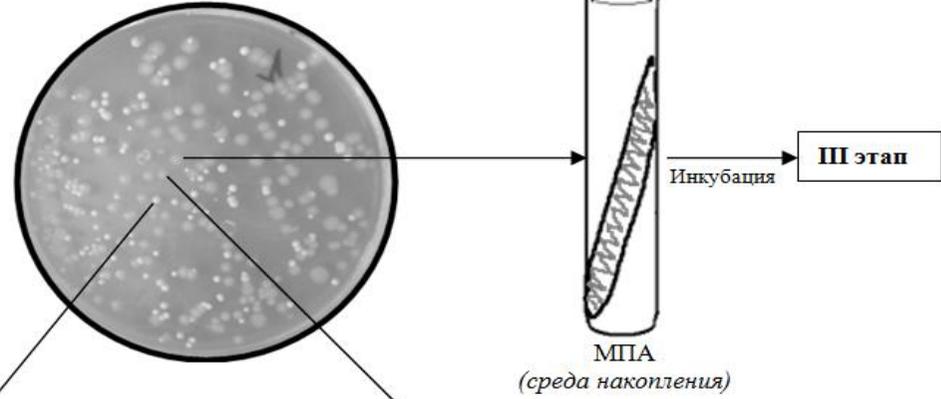
физический	
химический	
бактериологический	

**ТЕМА: Культуральный (бактериологический) метод исследования. Методы выделения чистых культур бактерий.**

**Перечень изучаемых вопросов:**

Методы культивирования бактерий. Питательные среды, общая характеристика и классификация, принципы приготовления. Требования, предъявляемые к питательным средам. Условия выращивания микробов. Термостат. Методы и аппаратура для создания анаэробии. Культуральный (бактериологический) метод исследования, задачи, этапы, оценка. Методы и схема выделения чистых культур аэробных и анаэробных бактерий. Характеристика колоний микроорганизмов.

**Лабораторная работа**

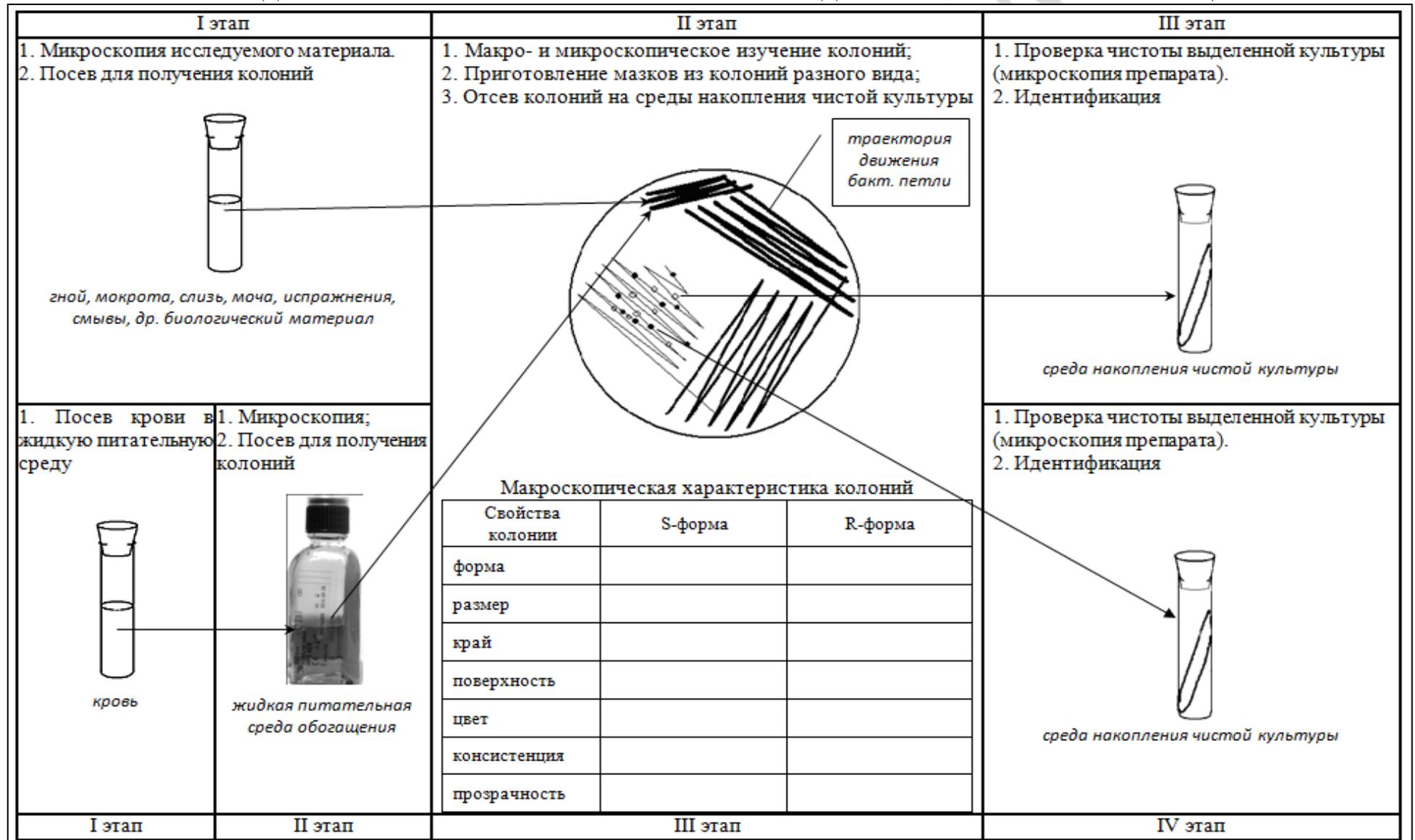
Задание	Методы, результаты																								
<p>1. Учет опытов по антисептике (см. занятие № 4)</p> <p>2. 2-й этап бактериологического исследования (выделение чистой культуры аэробов):</p> <p>1) охарактеризовать колонии,</p> <p>2) приготовить мазки из различных типов колоний, определить морфологию микроорганизмов в мазках,</p> <p>3) произвести посев грамотрицательных бактерий для накопления биомассы чистой культуры.</p>	<p><b>I этап бактериологического исследования:</b></p>  <p><b>II этап бактериологического исследования (выделение чистой культуры):</b></p> <table border="1" style="margin: 0 auto;"> <thead> <tr> <th>Признак</th> <th>Колония №1</th> <th>Колония №2</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>Форма</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Размер</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Поверхность</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Край</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Цвет</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Консистенция</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Прозрачность</td><td></td><td></td></tr> </tbody> </table>  <div style="display: flex; justify-content: space-around; margin-top: 20px;"> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: 45%;"> <p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p> </div> <div style="border: 1px solid black; border-radius: 50%; width: 40%; height: 40%;"></div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-around; margin-top: 20px;"> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: 45%;"> <p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p> </div> <div style="border: 1px solid black; border-radius: 50%; width: 40%; height: 40%;"></div> </div>	Признак	Колония №1	Колония №2	Форма			Размер			Поверхность			Край			Цвет			Консистенция			Прозрачность		
Признак	Колония №1	Колония №2																							
Форма																									
Размер																									
Поверхность																									
Край																									
Цвет																									
Консистенция																									
Прозрачность																									

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

## Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 5.

<p style="text-align: center;"><b>Классификация питательных сред</b></p> <p style="text-align: center;"><b>По происхождению</b></p> <p>1) естественные – натуральные продукты животного или растительного происхождения (мясо, молоко, картофель, сенной отвар);</p> <p>2) искусственные содержат высокомолекулярные органические компоненты естественного происхождения (пептон, мясной экстракт, казеин). Различают простые и сложные (с добавлением факторов роста) питательные среды.</p> <p>3) синтетические питательные среды – растворы строго определенных количеств солей, аминокислот, азотистых оснований, витаминов в дистиллированной воде. Имеют постоянный состав, используются для выращивания микроорганизмов и культур клеток при получении вакцин, иммунных сывороток и антибиотиков;</p> <p style="text-align: center;"><b>По назначению</b></p> <p>1) общего назначения (МПБ, МПА) – для роста большинства микробов;</p> <p>2) элективные – избирательно способствуют росту одного вида микробов из смеси (например, солевой агар для стафилококков);</p> <p>3) дифференциально-диагностические – предназначены для индикации и дифференциации отдельных типов, видов и групп бактерий:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Содержащие белки, дающие характерные изменения под действием ферментов бактерий (напр., кровяной агар, молоко и др.);</li><li>• Содержащие индикаторы, углеводы или многоатомные спирты; ферментативное расщепление приводит к сдвигу pH и изменению окраски среды (напр., среды Гисса, среды Эндо, Левина и др.);</li><li>• Среды для определения редуцирующей способности (напр., среды с красителями, обесцвечивающимися при восстановлении и др.);</li><li>• Среды, включающие вещества, ассимилируемые только определенной группой бактерий (напр., цитратный агар Симмонса и др.).</li></ul> <p style="text-align: center;"><b>По цели использования</b></p> <p>1) Транспортные (для доставки материала в лабораторию);</p> <p>2) Обогащения (подавляют рост микробов, сопутствующих возбудителю, стимулируют рост возбудителя);</p> <p>3) Выделения чистой культуры (для получения изолированных колоний);</p> <p>4) Накопления чистой культуры;</p> <p>5) Консервирующие (для длительного хранения культур в условиях низких температур)</p> <p style="text-align: center;"><b>По консистенции</b></p> <p>1) жидкие;</p> <p>2) полужидкие (при добавлении агар-агара в концентрации 0,5–0,7%);</p> <p>3) плотные – свыше 1% агар-агара.</p>	<p><b>Бактериологический (культуральный) метод исследования</b> – совокупность способов, направленных на выделение и идентификацию чистых культур бактерий (микроорганизмов) с помощью культивирования на питательных средах.</p> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"><p><b>Чистая культура</b> – бактерии одного вида, выращенные в лабораторных условиях, свойства которых находятся в процессе изучения (чаще всего чистую культуру получают путем отбора и культивирования изолированной колонии).</p><p><b>Колония бактерий</b> – изолированное скопление бактерий одного вида на питательной среде (потомство одной микробной клетки).</p></div> <p><b>Цели метода:</b></p> <ol style="list-style-type: none"><li>1. Установление этиологии инфекционного заболевания.</li><li>2. Определение чувствительности микроорганизма к антибиотикам и бактериофагам.</li><li>3. Определение количества микроорганизмов в материале.</li><li>4. Типирование микроорганизмов (определение фаго- и сероваров) в эпидемиологических целях.</li></ol> <p><b>Этапы метода (принципиальная последовательность):</b></p> <ol style="list-style-type: none"><li>1. Забор материала (его транспортировка и хранение при необходимости).</li><li>2. <i>Выделение чистой культуры</i><div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"><ul style="list-style-type: none"><li>• Подготовка материала к исследованию</li><li>• Приготовление микропрепаратов из материала</li><li>• Обогащение материала (при необходимости)</li><li>• Посев на питательные среды для получения изолированных колоний</li></ul></div></li><li>3. <i>Накопление чистой культуры</i><div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"><ul style="list-style-type: none"><li>• Изучение морфотипов колоний (макро- и микроскопическое)</li><li>• Отсев колоний на среду накопления</li></ul></div></li><li>4. <i>Идентификация чистой культуры</i><div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"><ul style="list-style-type: none"><li>• Оценка чистоты выделенной культуры (макро- и микроскопически)</li><li>• Изучение биохимических, серологических, биологических и др. свойств возбудителя для определения его систематического положения</li></ul></div></li><li>5. Заключение: вид (подвид) микроорганизма, его количество в материале (для условно-патогенных), устойчивость к антибиотикам (при определении АБ-резистентности).</li></ol> <p><b>Оценка метода:</b></p> <p>+ высокая чувствительность (около <math>10^2</math> микробов в мл) и специфичность; ранний метод диагностики; возможность определения количества микробов в материале; возможность оценки чувствительности возбудителя инфекции к антибиотикам.</p> <p>– относительная длительность; трудоёмкость; опасность инфицирования; метод дорогостоящий.</p>
--	---

## СХЕМА ВЫДЕЛЕНИЯ ЧИСТЫХ КУЛЬТУР БАКТЕРИЙ МЕТОДОМ МЕХАНИЧЕСКОГО РАЗОБЩЕНИЯ



## Методы выделения чистых культур аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов

### 1. Методы механического разобщения микроорганизмов:

- посев материала на чашки Петри шпателем или петлей;
- посев разведений материала – готовят десятикратные разведения материала в расплавленном и остуженном до 45°C МПА, затем выливают содержимое пробирок в стерильные чашки Петри, дают агару застыть и инкубируют чашки в термостате;
- разобщение на основе подвижности микробов. Материал засевают в каплю конденсационной жидкости скошенного МПА. При этом подвижные микробы как бы «мигрируют» вверх по агаровому скосу и располагаются в верхней части агара. При 2-3-кратном пассировании этих колоний в конденсационную жидкость скошенного агара удается получить чистую культуру подвижного микроба (например, протей);
- разобщение на основе различий в размерах микроорганизмов. Для этого смесь микроорганизмов фильтруют через микро- и миллипористые фильтры. Чистые культуры получают, как правило, в фильтрах. Этот метод используют для получения чистых культур вирусов и микоплазм.

**2. Метод заражения чувствительных лабораторных животных (биологический)** основан на избирательной чувствительности организма животного к микробам различных видов, что выражается в высокой скорости размножения определенного вида при попадании его в кровь и внутренние органы, откуда его и выделяют. В то же время другие виды микробов погибают под действием защитных факторов организма. Таким образом выделяют, например, чистую культуру пневмококков из организма белой мыши, возбудителя туляремии – из организма морской свинки.

### 3. Методы, основанные на избирательной чувствительности микроорганизмов к воздействию внешних факторов:

- температуры: спорообразующие микробы выживают при нагревании смеси микробов до 80°C, неспорообразующие гибнут
- кислоты: при обработке смесей кислотоустойчивых и неустойчивых к кислотам микробов последние гибнут, а кислотоустойчивые остаются, как правило, в чистой культуре. Так выделяют возбудителя туберкулеза
- щелочей: использование щелочной пептонной воды для выделения *V. cholerae*
- солей: рост стафилококка на средах с добавлением 10% NaCl
- антибиотиков: при посеве смеси микробов на среду с добавлением антибиотика вырастают нечувствительные к нему микробы
- красителей: подавление роста Грам+ бактерий добавленным к питательной среде метиленовым синим (среда Левина)
- специфических ингибиторов: среда с теллуридом калия используется для выделения *C. diphtheriae*

## Принципы и методы выделения чистых культур и культивирования облигатно-анаэробных микроорганизмов

- Забор материала в строго анаэробных условиях** (из глубины очага поражения при его вскрытии или пунктировании); кровь засевают во флаконы со средой для анаэробов, не вскрывая их (прокалывая шприцем с кровью резиновую пробку)
- Использование транспортных сред**, предотвращающих токсическое действие кислорода и бескислородных газовых смесей при транспортировке
- Применение специальных сред для культивирования** с добавлением факторов роста (дрожжевой экстракт (0,5%), витамин К, гемин, бараньи эритроциты, лошадиную сыворотку, твин-80, аргинин и др.) и селективных ингибирующих добавок (антибиотики аминогликозиды), имеющих низкий окислительно-восстановительный потенциал
- Культивирование в атмосфере с содержанием кислорода не более 0,1%** - В современной лабораторной практике работу с анаэробами проводят с использованием анаэробных камер (см. рис. Г), микроанаэростатов (А, Б), анаэробных пакетов (В). Возможно выращивание анаэробов в высоком столбике питательной среды после удаления из неё растворенного кислорода длительным кипячением. Среду быстро охлаждают, засевают материал, столбик среды заливают стерильным вазелиновым маслом или парафином. Пробирку закрывают резиновой пробкой.

### Аппаратура для создания анаэробноза



А – микроанаэростат, Б, В – вакуумный контейнер с газогенерирующими пакетами, Г – стационарный анаэробный бокс

**ТЕМА: Культуральный (бактериологический) метод исследования. Методы идентификации чистых культур бактерий.**

**Перечень изучаемых вопросов:**

Идентификация микробов, её принципы и методы. Вид бактерий, критерии вида.

Биохимические свойства микробов и методы их изучения. Ферменты микробов, их значение для идентификации: а) протеолитические (протеазы, пептидазы, дезаминазы, декарбоксилазы, цистиназа, триптофаназа, уреазы); б) сахаролитические (карбогидраза, амилаза); в) липолитические (липаза, лецитиназа); г) окислительно-восстановительные (дегидрогеназы, оксидазы, каталаза); д) гемолизины. Альфа-, бета-, гамма-гемолиз.

Автоматические микробиологические анализаторы, принципы работы, использование в культуральных исследованиях.

**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты
<p>1. Третий этап выделения чистых культур аэробов (идентификация культуры):</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1) определить морфологию и провести контроль чистоты культуры бактерий на МПА,</li> <li>2) произвести посев на среду Клиглера, на среды с сахарозой, мальтозой, маннитом, поставить пробы на индол и на подвижность.</li> </ol>	
<p><b>Демонстрация.</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Среды Гисса с различными индикаторами, жидкие и полужидкие.</li> <li>2. Гемолиз, лецитиназная и оксидазная активность.</li> <li>3. Тест-системы для идентификации микроорганизмов.</li> </ol>	<p>среда Клиглера лактоза глюкоза H<sub>2</sub>S</p> <p>среды Гисса сахароза    мальтоза    маннит</p> <p>МПА с триптофаном индол</p> <p>п/ж МПА подвижность</p>

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

## Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 6.

**Биохимическая идентификация микроорганизмов** основывается на определении ферментов микроорганизмов. Присутствие ферментов определяют по их способности разлагать соответствующие субстраты

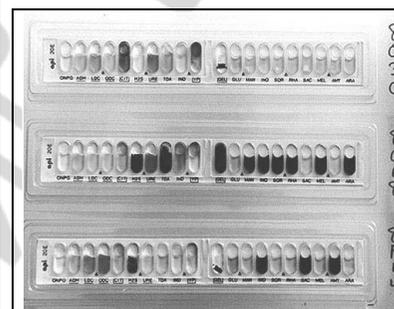
**Дифференциально-диагностические среды** – специальные питательные среды, применяемые для определения видовой принадлежности микробов и изучения их свойств по утилизации или ферментативному расщеплению субстрата, содержащегося в среде

### Определение некоторых биохимических свойств микроорганизмов

ферменты	среда для детекции
<b>САХАРОЛИТИЧЕСКИЕ ФЕРМЕНТЫ</b>	
<b>карбогидразы</b>	Дифференциально-диагностические среды для энтеробактерий (Эндо, Левина, Плоскирева) с лактозой и анилиновыми красителями. Lac+ бактерии образуют окрашенные колонии, Lac-: бледно-розовые или бесцветные колонии
	Полиуглеводные среды (Клиглера, Ресселя, Олькеницкого)
	Жидкие или полужидкие моноуглеводные среды Гисса («пёстрый ряд»)
<b>ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИЕ ФЕРМЕНТЫ</b>	
<b>желатиназа</b>	Посев уколом в столбик желатина. Gel+: разжижение желатина
<b>триптофаназа</b>	МПБ с триптофаном и индикатор на индол (щавелевая кислота). В положительном случае – появление розового окрашивания.
<b>десульфуразы</b>	Среды с цистеином, метионином и реактивом на H <sub>2</sub> S (солями железа, свинца, висмута). H <sub>2</sub> S+: почернение среды из-за образования сульфидов металлов
<b>уреаза</b>	Среда с мочевиной и pH-индикатором (феноловым красным) Ure+: покраснение среды в результате её защелачивания
<b>ЛИПОЛИТИЧЕСКИЕ ФЕРМЕНТЫ</b>	
<b>лецитиназа</b>	Посев на желточный агар. Lec+: появление вокруг колоний опалесцирующих зон («венчики помутнения»)
<b>ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫЕ ФЕРМЕНТЫ</b>	
<b>оксидаза</b>	Индикаторная бумага с тетраметилпарафенилендиамином. Oxi+: появление фиолетового окрашивания
<b>каталаза</b>	Внесение культуры в каплю 3% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> . Cat+: появление пузырьков газа
<b>ФЕРМЕНТЫ-ТОКСИНЫ</b>	
<b>гемолизины</b>	Посев на кровяной агар (5-10%). β-гемолиз (полный гемолиз) – образуются зоны просветления вокруг колоний. α-гемолиз (неполный гемолиз), при наличии зон зеленого цвета вокруг колоний. Отсутствие гемолиза – γ-гемолиз
<b>плазмокоагулаза</b>	Внесение культуры в цитратную плазму крови кролика. В положительном случае – коагуляция плазмы (образование желеобразного сгустка)

Раскрасьте ячейки в соответствии с цветом

Индикатор	Цвет индикатора при pH		
	кислая	нейтральная	щелочная
Андрее	красный	светло-желтый	светло-желтый
Бромтимоловый синий	желтый	травянисто-зеленый	синий
ВР	синий	бесцветный	розовый
Феноловый красный	желтый	красный	малиновый



**Принцип работы тест-систем для биохимической идентификации бактерий:** в лунках планшета находятся сухие субстраты дифференциально-диагностических сред с индикатором pH. После внесения суспензии исследуемой культуры в лунки и инкубации проводят учет ферментации, окисления или ассимиляции субстратов по изменению цвета индикатора или увеличению плотности (мутности) культуры в лунке. Определение видовой принадлежности проводят по каталогу или с помощью компьютерной программы.

**Тест-система для биохимической идентификации бактерий (API-20E)**



**Автоматические микробиологические анализаторы (внешний вид).**

## МЕТОДЫ ИДЕНТИФИКАЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ

### Критерии вида

морфологический	культуральный	биохимический	серологический	биологический	генетический	экологический
<ul style="list-style-type: none"> <li>• форма</li> <li>• размер</li> <li>• взаимное расположение</li> <li>• подвижность</li> <li>• наличие капсулы</li> <li>• спорообразование</li> <li>• наличие включений</li> <li>• тинкториальные свойства</li> <li>• кислотоустойчивость</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• рост на специальных средах</li> <li>• условия роста и размножения</li> <li>• характер роста в жидкой среде (диффузное помутнение, пленка, придонный рост и др.)</li> <li>• характер колоний: (форма, размер, цвет, поверхность, край, консистенция, прозрачность)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ферменты (<i>см. таблицу ниже</i>)</li> <li>• профиль жирных кислот (для анаэробов)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• определение антигенной структуры</li> <li>• определение видо- и типоспецифических антигенов</li> </ul> <p><i>Взаимодействие со специфическими сыворотками</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• вирулентность для животных</li> <li>• токсигенность</li> <li>• чувствительность к бактериофагам (определение фаговара)</li> <li>• чувствительность к антибиотикам</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• содержание Г+Ц (%) в ДНК</li> <li>• последовательность нуклеотидов в ДНК и РНК</li> </ul> <p><i>Применяют молекулярно-генетические методы (ПЦР, гибридизацию, секвенирование)</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• естественное место обитания вида</li> </ul>

**ферменты**

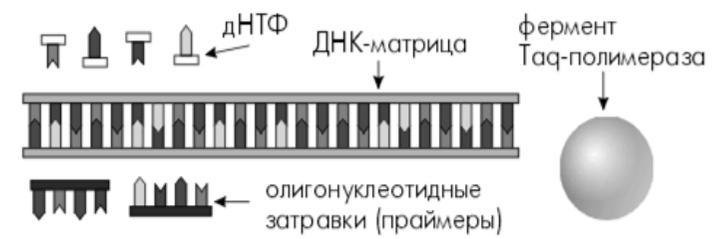
протеолитические	сахаролитические	липолитические	окислительно-восстановительные	ферменты-токсины
<ul style="list-style-type: none"> <li>• протеазы,</li> <li>• протеиназы,</li> <li>• аминопептидазы,</li> <li>• карбоксипептидазы,</li> <li>• декарбоксилазы,</li> <li>• триптофаназа,</li> <li>• десульфуразы,</li> <li>• уреазы</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• амилазы,</li> <li>• целлюлазы,</li> <li>• карбогидразы (сахараза, мальтаза, лактаза и др.)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• липазы,</li> <li>• лецитиназа</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• оксидазы,</li> <li>• каталазы,</li> <li>• дегидразы,</li> <li>• пероксидазы</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• гемолизины,</li> <li>• плазмокоагулаза,</li> <li>• лецитиназа,</li> <li>• гиалуронидаза,</li> <li>• ДНК-азы,</li> <li>• РНК-азы</li> </ul>

**ТЕМА: Методы изучения генетики бактерий. Методы молекулярной диагностики.**

**Перечень изучаемых вопросов:**

Генетический аппарат бактерий (нуклеоид, плазмиды, транспозоны, IS-последовательности, генетические повторы): характеристика, значение. Виды изменчивости микроорганизмов. Практическое значение изменчивости. Генотипическая изменчивость. Мутации. Генетические рекомбинации: трансформация, трансдукция, конъюгация. Принцип генетического анализа. Методы выделения мутантов. Плазмиды и их функции. Молекулярно-генетические методы исследования (молекулярная гибридизация, полимеразная цепная реакция): определение, постановка, учёт и интерпретация результатов, применение в стоматологии.

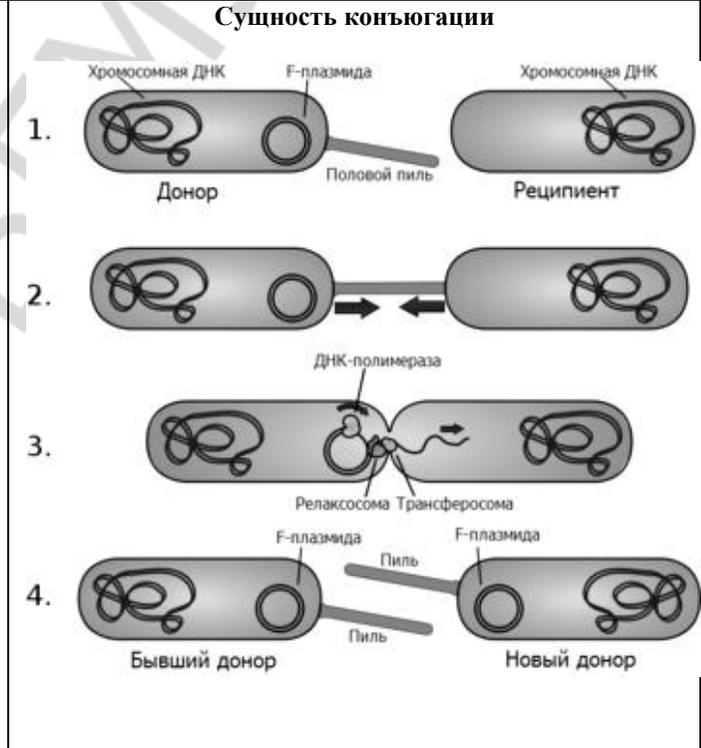
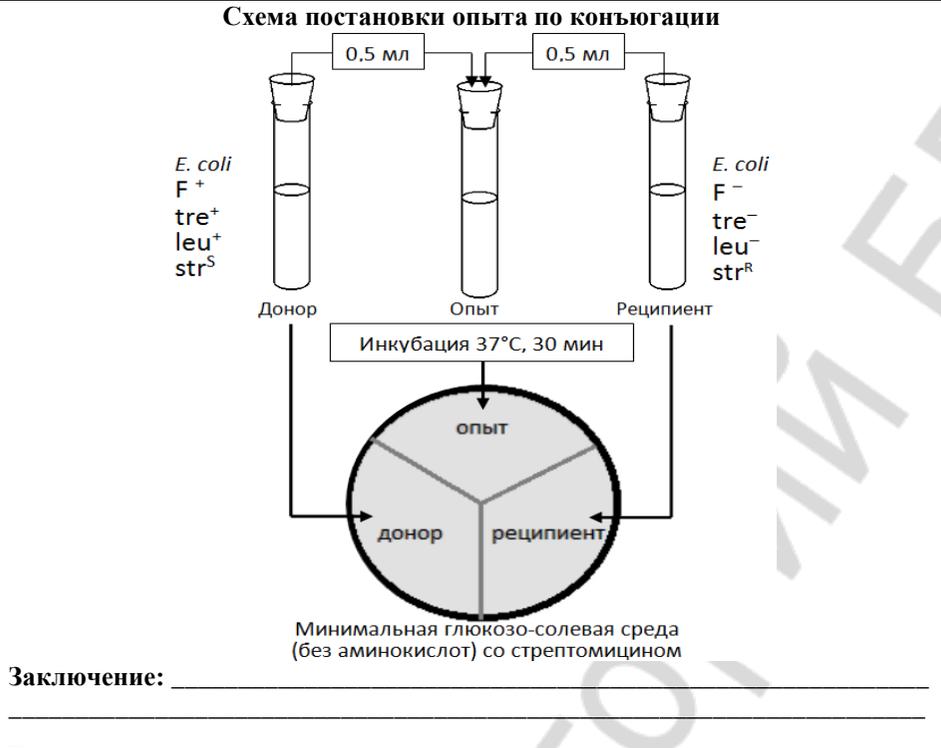
**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты										
1. Идентификация чистой культуры (учёт): 1) провести учет результатов биохимических тестов, 2) осуществить интерпретацию результатов, сделать заключение.	Вид	Морфология	Культуральные свойства	Биохимические и др. признаки							
				глюкоза	лактоза	мальтоза	маннит	сахароза	H <sub>2</sub> S	индол	подвижность
	<i>E. coli</i>	Грам– палочка	S-колонии средних размеров	КГ	КГ	КГ	КГ	-	-	+	+
	<i>S. Typhi</i>	Грам– палочка	S-колонии средних размеров	К	-	К	К	-	+	-	+
	<i>S. Paratyphi A</i>	Грам– палочка	S-колонии средних размеров	КГ	-	КГ	КГ	-	-	-	+
	<i>S. Schottmuelleri</i>	Грам– палочка	S-колонии средних размеров	КГ	-	КГ	КГ	-	+	-	+
X-микроб											
<b>Заключение:</b> по морфологическим, культуральным и биохимическим признакам идентифицирован											
	2. Постановка ПЦР	<b>Схема проведения ПЦР</b>					<b>Состав реакционной смеси</b>				
		1. Экстракция (выделение) ДНК: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Маркировка эппендорфов (микропробирок) на 1,5 мл для выделения ДНК</li> <li>• Внесение 100 мкл биологического материала и 100 мкл отрицательного контроля в пробирки для выделения ДНК</li> <li>• Встряхивание и кипячение 10 мин (в лаборантской)</li> </ul> 2. Постановка ПЦР: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Приготовление реакционной смеси (см. рисунок)</li> <li>• Маркировка пробирок для ПЦР (эппендорфы на 0,5 мл с парафином)</li> <li>• Внесение 10 мкл реакционной смеси и 10 мкл жидкости из пробирок для выделения в ПЦР-пробирки.</li> <li>• Амплификация (демонстраторий), 1 час.</li> </ul> 3. Детекция: электрофорез в геле (20 мин), просмотр на трансиллюминаторе. 4. Учет и оценка результата	 <p><b>Исходные компоненты ПЦР</b></p> <p>* Реакция протекает в буферном растворе (Mg<sup>2+</sup>)</p>								

3. Поставить опыт по конъюгации:

- 1) инкубировать смесь культур *E. coli* донора и реципиента,
- 2) сделать высев на минимальную среду.

Учет результатов (выполняется на занятии №8) после 24 часов инкубации при 37°C



**Демонстрация: Метод реплик**

**Метод реплик** позволяет осуществить одномоментный посев нескольких исследуемых культур бактерий с помощью специальных штампов-репликаторов. Штамп состоит из основания с 25 или 50 лунками для заливки культур и верхней части (крышки), имеющей соответственно 25 или 50 штифтов, которые при накладывании крышки на основание входят в лунки.

Суспензии испытуемых культур последовательно вносят в лунки штампа. Затем накладывают крышку на основание штампа так, чтобы штифты вошли в лунки и смочились культурой. Посев производят путем прикосновения (отпечатывания) нижних концов штифтов к поверхности плотной среды в чашке Петри.



**Характеристика этапов ПЦР**



Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

**ТЕМА: Инфекция. Биологический метод исследования. Методы изучения чувствительности микробов к антибиотикам.**

**Перечень изучаемых вопросов:**

Инфекция: определение понятия, причины и условия возникновения. Отличия инфекционных и неинфекционных заболеваний. Классификация инфекционных процессов. Патогенность и вирулентность микробов. Факторы патогенности, единицы измерения вирулентности. Острова патогенности. Отличие эндотоксинов и экзотоксинов. Типы экзотоксинов и их биологические свойства. Методы определения факторов патогенности  
 Химиотерапия и химиопрофилактика инфекционных заболеваний. Антибиотики: характеристика, классификация, механизмы и спектр действия, побочное действие антибиотиков. Принципы рациональной антибиотикотерапии в стоматологической практике.  
 Резистентность микроорганизмов к антибиотикам: генетические и биохимические механизмы формирования, методы определения.  
 Биологический (экспериментальный) метод исследования: определение, цели, этапы, оценка.

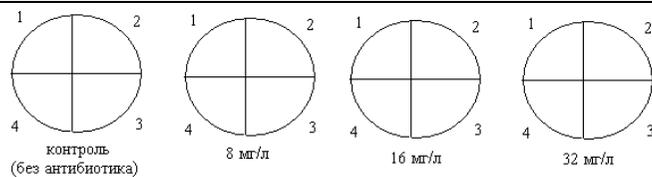
**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты
1. Провести учет опыта по конъюгации (см. занятие № 7)	
2. Поставить опыт по определению чувствительности бактерий к антибиотикам методом бумажных дисков.  <b>Мюллер-Хинтон агар (состав среды):</b> Мясной экстракт – 2,0 Панкреатический гидролизат казеина – 17,5 Крахмал кукурузный – 1,5 Агар-агар – 17,0 Вода дистиллированная – 1 л рН 7,4±0,2	

**Учет результатов опыта по определению чувствительности микробов к антибиотикам методом бумажных дисков (выполняется на занятии № 9):**

Антибиотикограмма:			Критерии интерпретации результатов определения чувствительности бактерий к антибиотикам							
Антибиотик	Диаметр зоны, мм	Интерпретация результата	Антибиотик	устойчивый	умеренно-устойчивый	чувствительный	Антибиотик	устойчивый	умеренно-устойчивый	чувствительный
			<i>Staphylococcus spp.:</i>			<i>Enterobacteriaceae:</i>				
			Бензилпенициллин	≤28	–	≥29	Ампициллин	≤13	14-16	≥17
			Оксациллин	≤10	11-12	≥13	Цефазолин	≤14	15-17	≥18
			Канамицин	≤13	14-17	≥18	Цефотаксим	≤14	15-22	≥23
			Гентамицин	≤12	13-14	≥15	Канамицин	≤13	14-17	≥18
			Ципрофлоксацин	≤15	16-20	≥21	Гентамицин	≤12	13-14	≥15
			Тетрациклин	≤14	15-18	≥19	Ципрофлоксацин	≤15	16-20	≥21
			Эритромицин	≤13	14-22	≥23	Тетрациклин	≤14	15-18	≥19
			Линкомицин	<17	17-20	≥21	Доксициклин	≤12	13-15	≥16
			Хлорамфеникол	≤12	13-17	≥18	Хлорамфеникол	≤12	13-17	≥18

3. Произвести учёт опыта по определению чувствительности микробов к антибиотикам методом количественных разведений в МПА



чашки с разведениями ампициллина

Критерии интерпретации результатов:

Антибиотик	МИК, мг/л		
	устойчивый	умеренно-устойчивый	чувствительный
Ампициллин	≥32	16	≤8

**Заключение:**

Наименование культуры	Величина МИК, мг/л	Интерпретация результата
культура №1		
культура №2		
культура №3		
культура №4		

4. Произвести учёт опыта по определению чувствительности микробов к антибиотикам методом количественных разведений в МПБ



**Заключение:** минимальная ингибирующая концентрация антибиотика составляет \_\_\_\_\_ мкг/мл.

5. Зарисовать демонстрационный препарат:

1) *Bacillus anthracis* в мазке-отпечатке органов мыши, окраска по Граму

Препарат _____ _____ Окраска _____ _____	
---	--

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

## Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 8.

**Биологический (экспериментальный) метод исследования** – совокупность способов искусственного воспроизведения клинической картины инфекционных болезней или их синдромов на лабораторных животных.

### Цели метода:

1. Выделение и идентификация чистой культуры микроорганизмов (при невозможности её получения на питательных средах).
2. Определение вирулентности и патогенности микроорганизмов.
3. Индикация и идентификация экзотоксинов.
4. Изучение патогенеза инфекционных болезней при воспроизведении экспериментальных инфекций.
5. Производство биологических препаратов (профилактических, диагностических и лечебных сывороток, вакцин, культур тканей).
6. Проверка безвредности и эффективности лечебных препаратов (хиоопрепаратов, иммунопрепаратов).

### Этапы метода:

1. Забор и обработка материала
2. Выбор лабораторных животных, исходя из их чувствительности к предполагаемому возбудителю, их стандартизация и маркировка
3. Заражение животных

*Способ заражения* зависит от тропизма микроба, вида материала, вида животного

4. Прижизненный забор материала от животного и проведение бактериологического и серологического исследования, постановка аллергической пробы.
5. Вскрытие, изучение патоморфологической картины, протокольный посев органов павших или убитых животных (для выявления обсемененности и выделения чистой культуры). Приготовление мазков-отпечатков из внутренних органов.
6. Идентификация выделенной культуры.
7. Заключение по результатам исследования.

### Оценка метода:

+ относительно высокая чувствительность, высокая специфичность, ранний метод диагностики.  
– длительность, ограниченная доступность, опасность инфицирования

## КЛАССИФИКАЦИЯ ИНФЕКЦИЙ (ИНВАЗИЙ)

<p><b>По природе возбудителя:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• бактериозы</li> <li>• вирусозы</li> <li>• микозы</li> <li>• протозоозы</li> <li>• гельминтозы</li> <li>• инфестации</li> <li>• прионные болезни</li> </ul>	<p><b>По числу возбудителей:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• моноинфекция</li> <li>• смешанная (микст-инфекция)</li> </ul>	<p><b>По источникам инфекции:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• антропонозы (человек)</li> <li>• зоонозы (животные)</li> <li>• антропозоонозы (чаще человек, реже животное)</li> <li>• зооантропонозы (чаще животное, реже человек)</li> <li>• сапронозы (внешняя среда)</li> </ul>
<p><b>По путям инфицирования:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• экзогенные</li> <li>• эндогенные</li> <li>• аутоинфекция</li> </ul>	<p><b>По механизмам передачи:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• аэрозольный</li> <li>• фекально-оральный</li> <li>• контактный</li> <li>• трансмиссивный</li> <li>• вертикальный (трансплацентарный)</li> </ul>	<p><b>По кратности инфицирования:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• однократная</li> <li>• реинфекция</li> <li>• суперинфекция</li> <li>• вторичная</li> <li>• рецидив</li> </ul>
<p><b>По выраженности:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• абортивная</li> <li>• микробоносительство</li> <li>• инаппарантная</li> <li>• латентная</li> <li>• манифестная</li> </ul>	<p><b>По длительности:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• молниеносные</li> <li>• острые</li> <li>• подострые</li> <li>• первично-хронические</li> <li>• вторично-хронические</li> <li>• медленные.</li> </ul>	<p><b>По распространенности:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• очаговая</li> <li>• системная</li> <li>• генерализованная:                             <ul style="list-style-type: none"> <li>– бактериемия</li> <li>– вирусемия</li> <li>– токсемия</li> <li>– сепсис: септицемия, септикопиемия</li> </ul> </li> </ul>
<p><b>По месту заражения:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• внутрибольничные</li> <li>• внебольничные.</li> </ul>	<p><b>В зависимости от поражаемых систем органов:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• инфекции дыхательных путей;</li> <li>• инфекции ЖКТ;</li> <li>• инфекции крови;</li> <li>• инфекции кожи и др.</li> </ul>	
<p><b>Стадии инфекционного заболевания:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <u>инкубационный период</u> (от момента внедрения возбудителя в макроорганизм до появления первых неспецифических клинических симптомов болезни);</li> <li>• <u>продромальный период</u> (неспецифические симптомы: температура, головная боль, миалгии и др.);</li> <li>• <u>разгар заболевания</u> (специфические диагностические симптомы);</li> <li>• <u>исход заболевания</u> (выздоровление, микробоносительство, хронизация, летальный).</li> </ul>		

## Определение чувствительности-устойчивости бактерий к антибиотикам

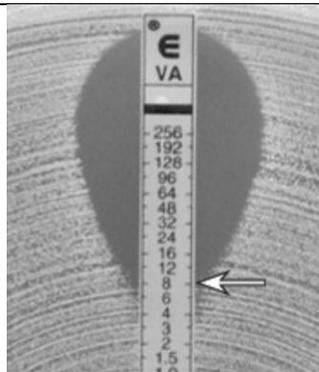
### I. Фенотипические методы:

- 1) Диффузионные методы
  - диско-диффузионный (метод бумажных дисков)
  - эпсилومترический (метод E-тестов)
- 2) Методы серийных разведений антибиотика
  - в бульоне
  - в агаре
- 3) Ускоренные методы – оценка жизнеспособности бактерий проводится с применением индикаторов их метаболической активности (окислительно-восстановительного потенциала)
- 4) Автоматизированный метод с использованием автоматических микробиологических анализаторов

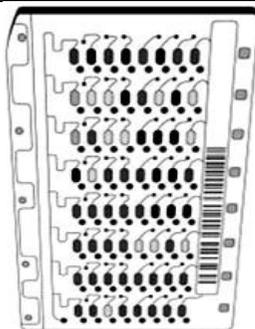
**II. Генотипические методы** – выявление генетических маркеров резистентности с помощью методов молекулярно-биологического анализа (ПЦР, ПЦР-ПДРФ, ДНК-гибридизация, секвенирование)

**Метод E-тестов.** Используют стандартные пластиковые полоски с нанесенным на них экспоненциально убывающим градиентом концентрации антибиотика (напр., 256– 0,016 мкг/мл).

Метод основан на диффузии антибиотиков в агар. Позволяет определять активные препараты и их минимальную ингибирующую концентрацию (МИК). Зона задержки роста имеет форму эллипса, размеры которого увеличиваются от меньшей концентрации антибиотика на полоске к большей. Величина МИК определяется значением концентрации, на уровне которой эллипс пересекается со шкалой полоски (указана стрелкой на рисунке).



**Автоматические микробиологические анализаторы** используют стандартные тест-системы – карты с лунками, заполненными дегидратированными антибиотиками, углеводами, индикаторами pH (рис.). После приготовления исследователем суспензии тест-бактерий прибор автоматически распределяет взвесь микробов по лункам тест-системы, инкубирует при 35°C. Каждые 2 часа прибор проводит нефелометрию и спектрофотометрию образца и по изменению мутности и цвета среды определяет МИК тест-культуры. Сравнивает ее со стандартными величинами МИК и относит тест-культуру к чувствительным, умеренно-устойчивым или резистентным штаммам.



## Классификация антибиотиков

(заполните таблицу)

Химическая группа	Представители	Механизм действия
β-лактамы:		
• пенициллины		
• цефалоспорины		
• карбапенемы		
• монобактамы		
Гликопептиды		
Аминогликозиды		
Тетрациклины		
Линкозамиды		
Макролиды		
Левомецетин		
Фторхинолоны		
Рифамицины		
Полимиксины		
Полиеновые АБ		

## Химиотерапия в стоматологии

(приведите примеры препаратов, наиболее часто применяющиеся в стоматологии)

Препарат	Спектр действия	Примечание

**ИТОГОВОЕ ЗАНЯТИЕ: «Морфология и физиология микроорганизмов. Инфекция».**

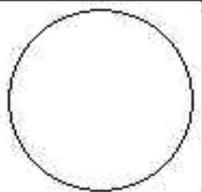
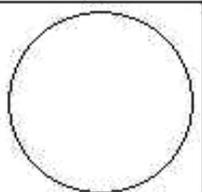
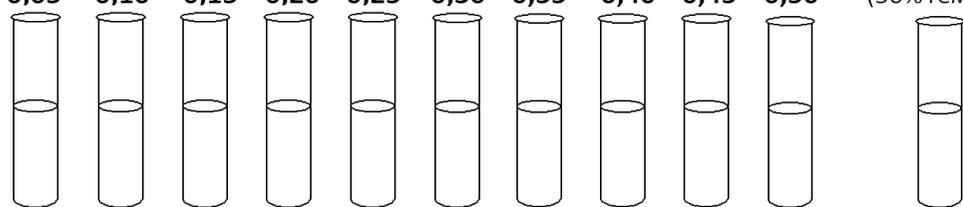
<p><b>Перечень вопросов к итоговому занятию:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Медицинская микробиология: объекты, задачи, методы. Роль стоматологической микробиологии в деятельности врача-стоматолога.</li> <li>2. Принципы систематики микробов. Систематическое положение микробов. Таксономические категории. Понятие и критерии вида.</li> <li>3. Морфология бактерий. Отличия прокариотов от эукариотов. Основные формы бактерий.</li> <li>4. Структура бактериальной клетки. Строение и функции поверхностных образований бактериальной клетки (капсулы, жгутиков, фимбрий), методы выявления.</li> <li>5. Структура и функции клеточной стенки грамположительных и грамотрицательных бактерий. Окраска по Граму, механизм и техника окраски.</li> <li>6. Формы бактерий с дефектами клеточной стенки, значение. Покоящиеся формы микробов. Спорообразование у бактерий, стадии, методы выявления спор.</li> <li>7. Цитоплазматические структуры бактерий, функции, методы выявления. Кислотоустойчивые микробы. Метод окраски.</li> <li>8. Характеристика бактериоскопического метода исследования.</li> <li>9. Типы микроскопических препаратов. Этапы приготовления фиксированного мазка. Методы окраски микроорганизмов (простые и дифференциально-диагностические).</li> <li>10. Световые микроскопы. Принципы устройства простого, фазово-контрастного, темнопольного, люминесцентного микроскопов. Техника иммерсионной микроскопии.</li> <li>11. Систематическое положение, морфология, дифференциация и методы изучения спирохет.</li> <li>12. Систематическое положение и морфология актиномицетов. Роль в патологии человека.</li> <li>13. Хламидии: систематическое положение, особенности биологии, роль в патологии.</li> <li>14. Систематическое положение, особенности биологии, морфология риккетсий.</li> <li>15. Систематическое положение и морфология микоплазм. Методы изучения.</li> <li>16. Питание микробов. Источники углерода, азота, ростовых факторов и зольных элементов. Способы питания и проникновения питательных веществ в клетку через мембрану.</li> <li>17. Дыхательный аппарат бактерий. Пути биологического окисления. Классификация микробов по этому признаку.</li> <li>18. Способы размножения микробов. Механизм и фазы клеточного деления.</li> <li>19. Характеристика культурального (бактериологического) метода исследования.</li> <li>20. Культивирование бактерий, питательные среды: требования, классификации.</li> <li>21. Методы выделения чистых культур аэробов и факультативно-анаэробных бактерий.</li> <li>22. Принципы культивирования и методы выделения чистых культур анаэробов.</li> <li>23. Идентификация микроорганизмов: морфологическая, культуральная, серологическая, биологическая, генетическая. Идентификация микроорганизмов без выделения чистой культуры.</li> <li>24. Биохимическая идентификация бактерий: определение протеолитических, сахаролитических, липолитических свойств, выявление гемолитических и оксидоредуктаз. Использование автоматических микробиологических анализаторов.</li> <li>25. Генетический аппарат бактерий (нуклеоид, плазмиды, мобильные генетические элементы). Биологическая роль плазмид. Характеристика мобильных генетических элементов.</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>26. Виды изменчивости бактерий. Фенотипическая и генотипическая изменчивость. Понятие о популяционной изменчивости.</li> <li>27. Молекулярно-генетические методы исследования (молекулярная гибридизация, полимеразная цепная реакция): определение, принципы проведения, применение в стоматологии.</li> <li>28. Учение об инфекции. Условия возникновения инфекционного процесса. Отличительные признаки инфекционных заболеваний. Типы инфекций.</li> <li>29. Роль микроорганизма в инфекционном процессе. Патогенность и вирулентность, генетический контроль. Факторы патогенности.</li> <li>30. Роль макроорганизма, природных и социальных факторов в инфекционном процессе.</li> <li>31. Биологический (экспериментальный) метод исследования: задачи, оценка, этапы.</li> <li>32. Химиотерапия и химиопрофилактика Группы противомикробных химиотерапевтических лекарственных средств. Особенности применения в стоматологической практике.</li> <li>33. Антибиотики, определение, классификация. Требования к антибиотикам. Механизм действия антибиотиков.</li> <li>34. Принципы рациональной антибиотикотерапии. Побочное действие антибиотиков.</li> <li>35. Врожденная и приобретенная резистентность микроорганизмов к антибиотикам: генетические и биохимические механизмы.</li> <li>36. Методы изучения чувствительности-устойчивости микробов к антибиотикам.</li> <li>37. Экология микроорганизмов. Типы экологических связей. Биологическая роль нормальной микрофлоры.</li> <li>38. Асептика, её значение. Стерилизация: определение понятия, способы проведения, оценка качества проведения. Стерилизация инструментов и изделий медицинского назначения.</li> <li>39. Дезинфекция, определение понятия, способы проведения. Группы дезинфектантов, применяемых в стоматологии.</li> <li>40. Антисептика, определение понятия, способы проведения. Антисептические средства: классификация, механизм действия, побочное действие. Особенности применения антисептиков в стоматологии.</li> </ol> <p><b>Перечень практических навыков:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Приготовить микропрепарат из бульонной культуры бактерий.</li> <li>2. Приготовить микропрепарат из агаровой культуры бактерий.</li> <li>3. Окрасить препарат водным раствором фуксина.</li> <li>4. Окрасить препарат водным раствором метиленовой синьки.</li> <li>5. Окрасить препарат по Граму.</li> <li>6. Техника иммерсионной микроскопии.</li> <li>7. Определить морфологию чистой культуры стафилококка, окраска по Граму.</li> <li>8. Определить морфологию чистой культуры <i>E. coli</i>, окраска по Граму.</li> <li>9. Определить морфологию грам+ и грам- микроорганизмов в смеси, окраска по Граму.</li> <li>10. Определить морфологию культуры в мазке, окрашенном по Гинсу-Бурри.</li> <li>11. Определить морфологию чистой культуры стрептобацилл, окраска по Граму.</li> </ol>
<p><b>Лабораторная работа:</b> Учесть результаты опыта по определению чувствительности микробов к антибиотикам методом бумажных дисков (см. занятие № 8)</p>	

**ТЕМА: Методы клинической и инфекционной иммунологии. Иммунная система. Методы изучения врожденного иммунитета.**

**Перечень изучаемых вопросов:**

Иммунная система организма человека: органы, клетки, молекулы (CD-антигены, молекулы I, II, III классов ГКГС, цитокины, адгезины и др.).  
 Иммуитет, определение понятия, виды иммуитета.  
 Врожденный иммунитет. Факторы иммунной и неиммунной природы. Система комплемента: состав, пути активации, функции. Лизоцим. Бета-лизины.  
 Естественные киллеры (NK): маркеры, функции. Система полиморфноядерных и мононуклеарных фагоцитов. Фагоцитарная реакция: фазы, механизмы внутриклеточной бактерицидности, исходы. Toll-рецепторы, их роль в распознавании  
 Антигенпрезентирующие клетки (АПК).  
 Методы определения активности комплемента и показателей фагоцитоза.

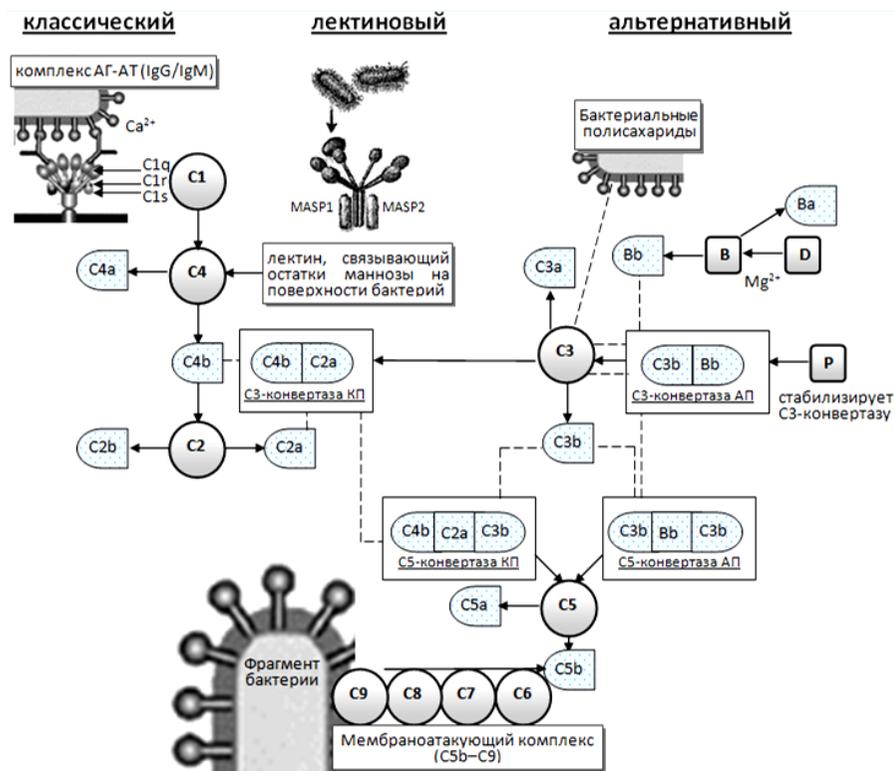
**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты																							
<p>1. Определить показатели фагоцитоза в готовых препаратах, окрашенных по Романовскому-Гимзе.</p> <p>2. Зарисовать демонстрационные препараты:                      1) Незавершенный фагоцитоз <i>Neisseria gonorrhoeae</i> нейтрофилами гноя                      2) Незавершенный фагоцитоз <i>Klebsiella rhinoscleromatis</i> макрофагами</p>	<p>Микробы смешивают с фагоцитами в пробирке или в организме лабораторных животных, через 15-120 мин из смеси готовят микропрепараты, окрашивают по Романовскому-Гимзе, подсчитывают число фагоцитирующих фагоцитов и число фагоцитированных микробов. Рассчитывают фагоцитарный показатель (ФП), фагоцитарное число (ФЧ), показатель завершенности фагоцитоза (ПЗФ)</p> $\text{ФП} = \frac{\text{количество фагоцитирующих фагоцитов}}{\text{количество всех фагоцитов}} \times 100\%, N = 40-60\%$ $\text{ФЧ} = \frac{\text{количество фагоцитированных микробов}}{\text{количество фагоцитирующих фагоцитов}}, N = 4-7$ $\text{ПЗФ} = \frac{\text{ФЧ (через 15 мин)} - \text{ФЧ (через 120 мин)}}{\text{ФЧ (через 15 мин)}} \times 100\%$	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 10px;"> <p>Препарат _____</p> <p>Окраска _____</p>  </div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> <p>Препарат _____</p> <p>Окраска _____</p>  </div>																						
<p>3. Учесть активность комплемента по 50% гемолизу.</p> <p>Определяют объем сыворотки, содержащий такое кол-во комплемента, которое вызывает лизис 50% сенсibilизированных эритроцитов (условную гемолитическую единицу – CH<sub>50</sub>).</p> <p>Рассчитывают количество CH<sub>50</sub> в 1 мл цельной сыворотки.</p>	<p>Сыворотку разводят физ. р-ром и вносят в пробирки от 0,05 до 0,5 мл. Объем проб доводят до 1,5 мл физ. р-ром. Вносят гемолитическую систему (сенсibilизированные эритроциты бараны и гемолитическая сыворотка кролика). Инкубируют (37°C–45 мин), осаждают эритроциты центрифугированием, измеряют оптическую плотность надосадочной жидкости, сравнивают со стандартом</p> <p>Количество сыворотки (1/10), мл</p> <table style="width: 100%; text-align: center;"> <tr> <td>0,05</td><td>0,10</td><td>0,15</td><td>0,20</td><td>0,25</td><td>0,30</td><td>0,35</td><td>0,40</td><td>0,45</td><td>0,50</td><td>стандарт</td> </tr> <tr> <td colspan="10"></td> <td>(50% гемолиз)</td> </tr> </table> 	0,05	0,10	0,15	0,20	0,25	0,30	0,35	0,40	0,45	0,50	стандарт											(50% гемолиз)	<p>1 CH<sub>50</sub> – в _____ мл сыворотки (1/10)                      X CH<sub>50</sub> – в 1 мл сыворотки (1/10)</p> <p>В цельной сыворотке _____ CH<sub>50</sub></p> <p>N = 40 – 60 CH<sub>50</sub></p>
0,05	0,10	0,15	0,20	0,25	0,30	0,35	0,40	0,45	0,50	стандарт														
										(50% гемолиз)														

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 10.

Пути активации комплемента



Методы оценки функции фагоцитов

Стадия фагоцитоза	Метод
Хемотаксис	Хемотаксис лейкоцитов под агарозой
Адгезия	Определяют экспрессию поверхностных антигенов CD11a/CD18 и др. с помощью проточной цитофлуориметрии
Поглощение	Прямые методы: фагоцитоз стафилококка, кандид (расчет фагоцитарного индекса и числа). Непрямые методы: фагоцитоз красителей, частиц латекса, карбопильного железа и т.д.
Разрушение микробов	Прямые методы: показатель завершенности фагоцитоза, определение индекса бактерицидности. Непрямые методы: НСТ (МТТ) тест, определение активности миелопероксидазы, катионных белков и др.
Презентация АГ	

TOLL-подобные рецепторы

ТЛР	Лиганды
TLR-1	Триацил-липopeпиды бактерий
TLR-2	Липотейхоевая кислота Пептидогликан Липоарабидоманнан Липopeпиды микоплазм Клеточная стенка дрожжей (зимозан)
TLR3	Двучепочечная РНК
TLR-4	ЛПС Липотейхоевая кислота Белки теплового шока
TLR-5	Флагеллин
TLR-6	Полипептиды микоплазм, дрожжей (зимозан)
TLR-7	РНК вирусов
TLR-8	РНК вирусов
TLR-9	Бактериальные CpG олигонуклеотиды

Система комплемента (заполнить таблицу)

Путь активации	Классический	Альтернативный	Лектиновый
Вещества-активаторы			
C3-конвертаза			
C5-конвертаза			

Естественные киллеры

Маркер	Функция
CD56	Молекула адгезии
CD57	Олигосахарид клеточной поверхности
CD16	Рецептор к Fc-фрагменту IgG

**Основные маркеры клеток иммунной системы (номенклатура CD-АГ)**

Антиген	Клетки, несущие антиген	Функции антигена
CD1	Кортикальные тимоциты, ДК	Связан с b2-микроглобулином, участвует в представлении антигена незрелым Т-Лф, презентация липидных АГ
CD3	Зрелые Т-Лф	Связан с антигенраспознающим рецептором Т-Лф (TCR), участвует в их активации
CD4	Т-хелперы	Рецептор к МНС II, обеспечивает взаимодействие Т-Лф с макрофагами. Рецептор к ВИЧ.
CD8	Т-киллеры	Рецептор к МНС I, обеспечивает взаимодействие цитотоксических лимфоцитов с клетками-мишенями
CD28	Часть Т-Лф и В-Лф	Активация Т-Лф, костимуляторный рецептор, молекула адгезии, связывается с CD80, CD86
CD19	В-Лф	Присутствует на пре-В-лимфоцитах и на всех зрелых В-лимфоцитах, участвует в активации В-лимфоцитов
CD20	Зрелые В-Лф	Присутствует на всех В-лимфоцитах. Кальциевый канал, регуляция активации В-Лф
CD21	В-Лф	Рецептор к комплементу и вирусу Эпштейна-Барр
CD40	В-Лф	Индукцирует пролиферацию В-лимфоцитов, активирует синтез цитокинов макрофагами, является молекулой адгезии (рецептор CD40L)
CD11a-c	Лейкоциты (CD11a) и моноциты и гранулоциты (CD11b,c)	Участвуют в межклеточной адгезии
CD 16	НК, макрофаги (МФ), гранулоциты	Низкоаффинный рецептор IgG (компонент рецептора к Fc-фрагменту IgG)
CD56	НК, часть Т-Лф	Участвует в межклеточных взаимодействиях
CD57	НК и Т-Лф	Присутствует на части лимфоцитов CD8, при некоторых вирусных инфекциях увеличивается число лимфоцитов, несущих одновременно CD8 и CD57
CD117	Гемопоэтические клетки	Рецептор фактора стволовых клеток

**Биологические эффекты некоторых цитокинов**

Цитокин	Клетки-продуценты	Эффекты
ИЛ-1	Макрофаги, моноциты	Повышает температуру тела, стимулирует стволовые клетки, Лф, нейтрофилы. На пике иммунного ответа усиливает продукцию АКГГ, запускает ограничение иммунного ответа
ИЛ-2	Активированные Th-1	Пролиферация и дифференцировка Т-Лф, активация макрофагов, препятствует ИЛ-4 зависимому синтезу IgE
ИЛ-3	Th-2, базофилы, тучные клетки	Мультиколониестимулирующий фактор гемопоэза, фактор роста стволовых полипотентных кроветворных клеток, стимулирует рост и дифференцировку тучных клеток и базофилов
ИЛ-4	Активированные Th-2	Фактор роста В-Лф. Ростовой фактор для Th-2, базофилов. Переключение В-Лф на синтез IgE
ИЛ-5	Th-2, тучные клетки	Дифференцировка и пролиферация эозинофилов. Переключение В-Лф на синтез IgA и IgG2
ИЛ-6	Th-2, макрофаги	Остановка пролиферации и дифференцировка В-Лф в плазматические клетки, стимулятор антителопродукции, эндогенный пироген, провоспалительный эффект,
ИЛ-7	стромальные клетки костного мозга, фибробласты	Дифференцировка и созревание пре-В-клеток и про-В-клеток, комитоген Т-клеток
ИЛ-10	Моноциты, Th-2, В-Лф, тучные клетки, макрофаги	ингибитор воспаления и цитокинового каскада, подавляет образование ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6, ФНО и синтез ИФН $\gamma$
ИЛ-12	Макрофаги, ДК, В-Лф	Пролиферация активированных Т-Лф, естественных киллеров. Усиливает действие ИЛ-2, индукция Th-1 и продукции ИФН $\gamma$ . Ингибирует синтез IgE
ФНО $\alpha$	Макрофаги, моноциты, Th-1, тучные клетки	Активирует острое воспаление: индуктор цитотоксичности, гранулоцитов, продукции эндогенных окислителей, апоптоза опухолевых и других клеток, кахексия, гиперкатаболизм, фактора активации тромбоцитов
ИФН $\gamma$	Th-1, НК-клетки, ЦТЛ, возможно, макрофаги и фибробласты (в ответ на ИЛ-2)	Активатор макрофагов (индукция экспрессии МНС, синтез цитокинов, генерация активных форм кислорода). Ингибирует Th-2 и синтез IgE. Более слабый, чем у других ИФН, противовирусный эффект
ИФН $\beta$	фибробласты, эпителиоциты	Аналогичны ИФН $\gamma$ , но индуцирует только МНС I. Сильный противовирусный и антипролиферативный эффект на лимфоидные и некоторые соматические клетки. Стимулятор НК
ИФН $\alpha$	макрофаги (в ответ на вирусы, двуспиральные РНК)	Аналогичны ИФН $\beta$ . Сильный противовирусный и антипролиферативный эффект на лимфоидные и некоторые соматические клетки. Противоопухолевое действие
ТФР $\beta$ , семейство	Т-клетки, мегакариоциты, макрофаги, эпителии тимуса	Ингибитор пролиферации гемопоэтических стволовых и тимусных эпителиальных клеток, подавляет экспрессию рецепторов ИЛ на лимфоцитах, регулятор экспрессии онкогенов, индуктор тромбоцитарных факторов роста, ингибитор макрофагов

**ТЕМА: Методы клинической и инфекционной иммунологии. Иммунный ответ организма.**

**Перечень изучаемых вопросов:**

Иммунный ответ организма, определение, условия развития.

Антигены: строение, свойства, классификация.

В-система лимфоцитов. В-клеточный рецептор.

Гуморальный иммунный ответ.

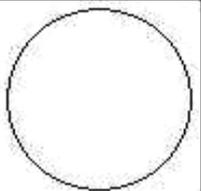
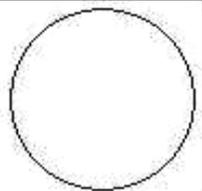
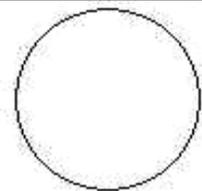
Антитела: структура молекулы, классы, функции. Моноклональные антитела, принципы получения, применение.

Т-система лимфоцитов. Маркёры Т-клеток. Т-клеточный рецептор. Характеристика субпопуляций Т-лимфоцитов: супрессоров, хелперов, киллеров, эффекторов ГЗТ. Т-хелперы 1-го и 2-го типов.

Клеточный тип иммунного ответа и его проявления.

Методы оценки Т- и В-системы лимфоцитов: количественные и функциональные тесты.

**Лабораторная работа**

<p>1. Определить количественное содержание В-лимфоцитов методом иммунных розеток в готовых препаратах.</p>	<p>2. Реакция бласттрансформации лимфоцитов</p>	<p>3. Определить количественное содержание CD3+ Т-лимфоцитов методом иммунных розеток в готовых препаратах</p>
<p><b>Принцип метода:</b> Метод выявляет маркер CD20 на поверхности В-лимфоцитов; N В-лимфоцитов (CD20+) = 8–20% от общего числа лимфоцитов.</p>	<p><b>Принцип метода:</b> Лимфоциты под воздействием митогенов в культуре <i>in vitro</i> способны превращаться в большие бластоподобные клетки с «разрыхленным» ядром и базофильной цитоплазмой, активно синтезирующие ДНК.</p>	<p>У взрослых уровень общих Т-лимфоцитов в норме составляет 55–70%, при инфекционных заболеваниях он может снижаться до 40–50%. Сохранение количества CD3+ Т-лимфоцитов на уровне 40% и ниже в течение месяца и более расценивается как состояние Т-клеточного иммунодефицита.</p>
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> <p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p>  </div>	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> <p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p>  </div>	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> <p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p>  </div>

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 11.

### Строение молекулы иммуноглобулина

Легкая цепь (L)	
Варибельный домен легкой цепи	
Константный домен легкой цепи	
Тяжелая цепь (H)	
Варибельный домен тяжелой цепи	
Константные домены тяжелой цепи	
Шарнирный участок	
Fc-фрагмент	
Fab-фрагмент	
Активный центр (КДО)	
Клеточный рецептор	

*Впишите цифры, обозначающие элементы молекулы Ig*

### Строение В-клеточного рецептора IgM

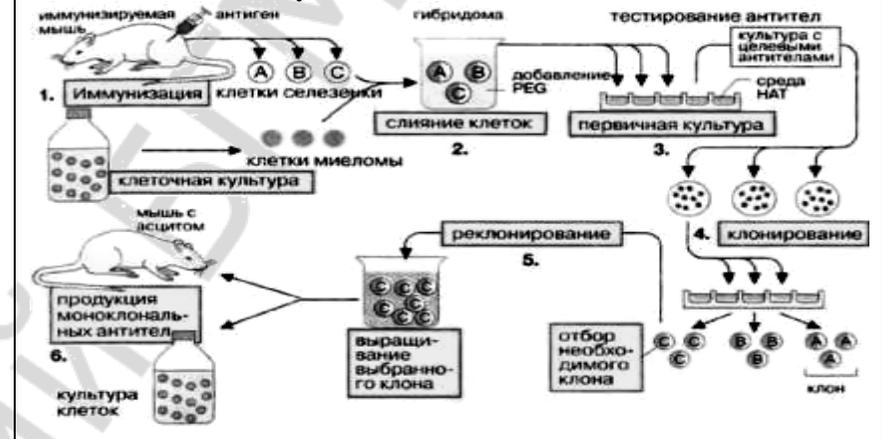
### Характеристика иммуноглобулинов

Структура	Молекулярная масса	Концентрация в сыворотке (% от всех Ig)	Характеристика	Класс Ig
	154 кДа	7–18 г/л (85%)	Четыре субкласса. Мономер. Проникает через плаценту. Высокоэффективны в противоинфекционной защите. Специфичность высокая.	Ig__
	900 кДа	0,4-2,2 г/л (5-10%)	Пентамер. Образуются преимущественно при первичном иммунном ответе. Специфичность невысокая.	Ig__
	160 кДа.	0,5-3,5 г/л (5-15%)	Два субкласса. Моно-, ди-, тримерные. Сывороточный является мономером, а секреторный (экзокринный) – ди- или тримером. Секреторный выделяется на внешнюю сторону слизистой, обеспечивая местный иммунитет.	Ig__
	190 кДа	0,25 мг/л (1%)	Мономер. Высокая цитотоксичность. Участвуют в аллергических реакциях немедленного типа; в противопаразитарном иммунитете	Ig__
	185 кДа	0,03 мг/мл (0,2%)	Мономер. Экспрессируются в основном на мембране В-лимфоцитов, участвуют в их дифференцировке, выполняют рецепторную функцию.	Ig__

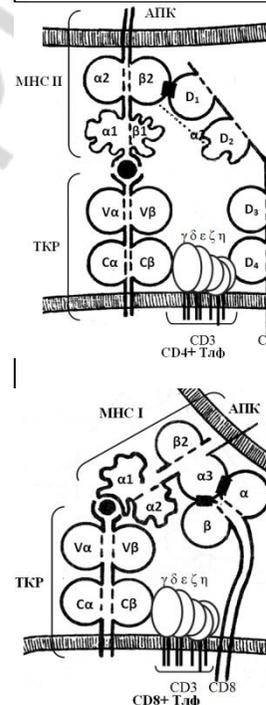
## Схема развития гуморального иммунного ответа

локализация	этапы
<b>I. Презентация АГ и индукция Т-Лф</b>	
Ткани	1. Антиген (белки, бактерии) захватывается АПК (клетки Лангерганса), процессируется и транспортируется в регионарные лимфоузлы.
Вторичные лимфоидные органы	2. АПК процессируют и презентуют антигены <u>по эндосомному пути</u> CD4+ наивным Т-лимфоцитам (Th-0) (см. схему). <div style="text-align: center;"> </div>
Кровь, ткани	3. Т-лимфоциты активируются, пролиферируют и дифференцируются в эффекторные клетки (Th1, Th2, Th3, Tr1, Tr2, CD4+CD25+ и др.).
<b>II. Индукция В-Лф</b>	
Ткани	1. Антиген захватывается фолликулярными ДК и транспортируется во вторичные лимфоидные органы (лимфоузлы, пейеровы бляшки и др.). Антиген не процессируется, сохраняется на мембране (например, в составе иммунных комплексов) в течение длительного времени (до года и более).
Вторичные органы лимфоидной системы, красный костный мозг, кровь	2. В-Лф захватывает антиген, процессирует и презентует его Т-эффектору (Th2). Специфический эффектор активируется и активирует В-лимфоцит с помощью контактных (молекулы адгезии) и дистантных (цитокины) взаимодействий (см. схему). <div style="text-align: center;"> </div>
3. В-лимфоцит пролиферирует, выходит в кровь и перемещается во вторичные лимфатические органы и костный мозг.	
4. В-лимфоциты превращаются в плазмциты и синтезируют иммуноглобулины в течение ограниченного времени (до 3 месяцев).	
5. Отдельные В-лимфоциты возвращаются в состояние покоя и превращаются в клетки памяти.	
<b>III. Реализация функции антител</b>	

## Схема получения моноклональных антител



## Т-клеточный рецептор и ко-рецепторы Т-Лф.



**Т-клеточный рецептор (ТКР)** – гетеродимер, состоящий из двух различных цепей. Обе цепи являются трансмембранными белками суперсемейства иммуноглобулинов. Внеклеточная часть содержит один варибельный и один константный домен. Эта часть молекулы вместе со второй цепью образует агрегет (антигенспецифический участок) и отвечает за распознавание и связывание антигена. Мембранная часть молекул стабилизирует структуру рецептора при отсутствии антигена. Клеточная часть участвует в проведении сигнала активации к ядру лимфоцита.

**Ко-рецепторы.** ТКР ассоциирован с молекулами CD3 и CD4/CD8. CD3 – гетерополимер, состоящий как минимум из пяти полипептидных цепей, которые расположены на мембране как единый кластер, распознаются моноклональными антителами как CD3-специфичность и участвуют в передаче сигнала о распознавании и связывании АГ. Ко-рецепторы CD4 и CD8 тесно связаны с ТКР и распознают молекулы гистосовместимости соответственно II и I классов. Эти рецепторы экспрессируются в соответствии с субпопуляционной принадлежностью Т-Лф и обеспечивают рестрикцию распознавания Т-Лф, поскольку АГ, ассоциированные с молекулами МНС II – это продукты переработки экзоантигенов, а ассоциированные с молекулами МНС I – продукты переработки эндоантигенов (АГ, синтезированных внутри клетки).

### Характеристика этапов клеточного иммунного ответа

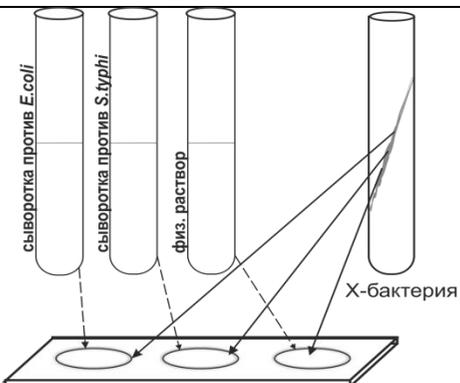
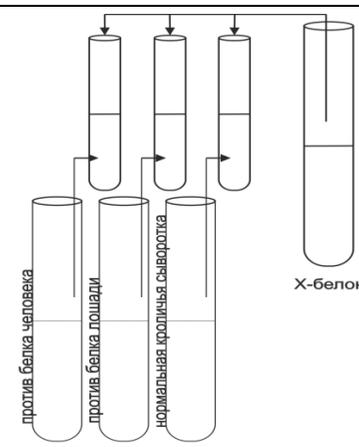
I. Индукция CD4+ Т-эффекторов	II. Индукция CD8+ Т-эффекторов
<p>1. Антиген (белки, бактерии) захватывается АПК (клетки Лангерганса), процессируется и транспортируется в регионарные лимфоузлы.</p> <p>2. АПК процессируют и презентуют антигены <u>по эндосомному пути</u> CD4+ наивным Th</p> <p>3. Т-Лф активируются, пролиферируют и дифференцируются в CD4+эффекторные клетки (Th1, Th2, Th3, Tr1, Tr2, CD4+CD25+ и др.):</p> <p>а) Т-лимфоцит и АПК сближаются (LFA1+ICAM1 и др.);</p> <p>б) Происходит распознавание антигена (ТКР+ ГКГС II-Ag);</p> <p>в) Происходит костимуляция (CD28 – CD80, 86);</p> <p>г) на Т-клетках появляется альфа цепь ИЛ2-рецептора (формируется полный ИЛ2Р) и начинается <u>синтез ИЛ2</u>; после аутокринной стимуляции ИЛ2 Т-Лф начинает пролиферировать;</p> <p>д) дифференцировка в Th1 происходит под влиянием <u>ИЛ12</u>, выделяемого АПК. Этому способствуют внешние цитокины (ИФН-γ). Дифференцировка в Th2 происходит по умолчанию. Этому способствует внешний ИЛ4. Дифференцировка в Th3 в лабораторных условиях происходит под влиянием больших количеств ИЛ10 и/или ТФР-β;</p> <p>е) зрелые Т-эффекторы поступают в циркуляцию.</p>	<p>1. Индукция CD4+ Т-эффекторов (см. выше).</p> <p>2. АПК захватывают антиген и транспортируют его во вторичные лимфоидные органы:</p> <p>а) АПК инфицируются вирусами (маловероятно);</p> <p>б) АПК захватывают клетки, погибшие от внутриклеточной инфекции, опухолевые клетки, клетки трансплантата и т.д. путем фагоцитоза, а также молекулы белков путем макропиноцитоза.</p> <p>3. АПК презентуют антиген CD8+ наивным Т-Лф <u>по цитоплазматическому пути</u>:</p> <p>а) АПК презентуют захваченные антигены по цитоплазматическому пути благодаря механизму перекрестной презентации (т.е. происходит передача антигенов из эндосомного пути в цитоплазматический);</p> <p>б) считается, что наивный CD8+ Т-Лф не обладает цитотоксичностью и не убивает АПК при первоначальной активации.</p> <p>4. CD8+ лимфоциты пролиферируют, дифференцируются, выходят в кровь и рециркулируют по организму:</p> <p>а) CD8+ лимфоциты нуждаются в ИЛ2 от CD4+ Т-эффекторов;</p> <p>б) необходимость одновременной активации CD4+ и CD8+ Лф свидетельствует в пользу <u>трех-компонентной модели (АПК+Th+ЦТЛ)</u> и перекрестной презентации.</p>
<p style="text-align: center;"><b>Т-эффекторы характеризуются:</b></p> <p>а) способностью активироваться при взаимодействии с непрофессиональными АПК;</p> <p>б) способностью синтезировать цитокины различного профиля;</p> <p>в) способностью к рециркуляции в тканях в нормальных условиях (кожа, слизистые респираторного, желудочно-кишечного, мочеполового трактов, полостей и т.д.);</p> <p>г) способностью выходить в любые ткани при воспалении;</p> <p>д) быстрой гибелью от апоптоза без активации</p> <p>е) отсроченным апоптозом при активации (в течение короткого времени);</p> <p>ж) способностью переходить в состояние покоя (клетки памяти, незначительное кол-во).</p>	<p style="text-align: center;"><b>CD8+ Т-эффекторы выполняют следующие функции:</b></p> <p>а) киллинг. Активированные Т-киллеры не нуждаются в дополнительных сигналах и при распознавания антигена на клетке-мишени немедленно ее лизируют. Активированный Тк способен лизировать несколько клеток-мишеней. Спустя короткое время Тк подвергается апоптозу. Отдельные возвращаются в состояние покоя и превращаются в клетки памяти;</p> <p>б) секреция цитокинов (уступают CD4+ Т-эффекторам). Выделяют CD8+ Т-эффекторы I и II типов;</p> <p>в) регулирование иммунного ответа (уничтожение АПК, синтез про- и противовоспалительных цитокинов).</p>
<p><b>CD4+ Т-эффекторы могут быть идентифицированы по:</b> а) набору адресных молекул для миграции в определенные ткани; б) спектру синтезируемых цитокинов; в) набору рецепторов для хемокинов; г) набору молекул контактного взаимодействия.</p>	<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="width: 45%;"> <p style="text-align: center;"><b>Схема дифференцировки Т-хелпера</b></p> </div> <div style="width: 45%;"> <p style="text-align: center;"><b>Схема активации Т-киллера (ЦТЛ)</b></p> </div> </div>
<p style="text-align: center;"><b>CD4+ Т-эффекторы выполняют функции:</b></p> <p>а) Т-хелперов: помощь В-лимфоцитам в синтезе антител: активация и пролиферация В-лимфоцитов (ИЛ6, 2); переключение изотипа иммуноглобулинов, дифференцировка в плазмоциты; помощь наивным CD8+ Т-Лф: активация и пролиферация (ИЛ2), дифференцировка</p> <p>б) Т-эффекторов ГЗТ: выделение цитокинов (провоспалительные цитокины, хемокины, факторы роста сосудов, фибробластов);</p> <p>в) Т-регуляторов: выделение супрессорных цитокинов ИЛ10, ТФР-β, контактная супрессия;</p> <p>г) Т-киллеров (незначительная часть): киллинг клеток мишеней путем апоптоза при герпетических инфекциях.</p>	

**ТЕМА: Методы клинической и инфекционной иммунологии. Серологический метод исследования.**

**Перечень изучаемых вопросов:**

Серологический метод исследования, характеристика. Титр антител. Диагностический титр. Диагностикумы. Диагностические сыворотки. Реакция агглютинации (РА), пассивной гемагглютинации и обратной пассивной гемагглютинации (РПГА, РОПГА), латексагглютинации. Реакция преципитации. Варианты реакции преципитации: а) кольцепреципитации; б) двойной диффузии в агаре; в) простой радиальной иммунодиффузии в агаре по Манчини; г) иммуноэлектрофорез; д) встречный иммуноэлектрофорез. Реакции иммунного лизиса, применение. Реакция связывания комплемента: характеристика ингредиентов, постановка, учёт, оценка. Реакция иммунофлюоресценции (РИФ). Прямой и непрямой варианты. Иммуноферментный анализ (ИФА). Радиоиммунный анализ (РИА).

**Лабораторная работа**

<p>1. Поставить реакцию агглютинации на стекле для идентификации X-микроба.</p> <div style="display: flex; align-items: center;">  <div style="margin-left: 20px;"> <p><b>Заключение:</b> _____</p> </div> </div>	<p>2. Учесть реакцию агглютинации в пробирках.</p> <table style="width: 100%; text-align: center; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="border: 1px solid black; padding: 5px;"><b>1/50</b></td> <td style="border: 1px solid black; padding: 5px;"><b>1/100</b></td> <td style="border: 1px solid black; padding: 5px;"><b>1/200</b></td> <td style="border: 1px solid black; padding: 5px;"><b>1/400</b></td> <td style="border: 1px solid black; padding: 5px;"><b>1/800</b></td> <td style="border: 1px solid black; padding: 5px;"><b>КС</b></td> <td style="border: 1px solid black; padding: 5px;"><b>КА</b></td> </tr> <tr> <td style="border: 1px solid black; height: 100px;"></td> </tr> </table> <p><b>Заключение:</b> _____</p>	<b>1/50</b>	<b>1/100</b>	<b>1/200</b>	<b>1/400</b>	<b>1/800</b>	<b>КС</b>	<b>КА</b>											
<b>1/50</b>	<b>1/100</b>	<b>1/200</b>	<b>1/400</b>	<b>1/800</b>	<b>КС</b>	<b>КА</b>													
<p>3. Учесть реакцию пассивной гемагглютинации.</p> <table style="width: 100%; text-align: center; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="border: 1px solid black; padding: 5px;"><b>1/10</b></td> <td style="border: 1px solid black; padding: 5px;"><b>1/20</b></td> <td style="border: 1px solid black; padding: 5px;"><b>1/40</b></td> <td style="border: 1px solid black; padding: 5px;"><b>1/80</b></td> <td style="border: 1px solid black; padding: 5px;"><b>1/160</b></td> <td style="border: 1px solid black; padding: 5px;"><b>1/320</b></td> <td style="border: 1px solid black; padding: 5px;"><b>1/640</b></td> <td style="border: 1px solid black; padding: 5px;"><b>КС</b></td> <td style="border: 1px solid black; padding: 5px;"><b>КА</b></td> </tr> <tr> <td style="border: 1px solid black; height: 40px;"></td> </tr> </table> <p><b>Заключение:</b> _____</p>	<b>1/10</b>	<b>1/20</b>	<b>1/40</b>	<b>1/80</b>	<b>1/160</b>	<b>1/320</b>	<b>1/640</b>	<b>КС</b>	<b>КА</b>										<p>4. Поставить реакцию кольцепреципитации для идентификации X-антигена.</p> <div style="display: flex; align-items: center;">  </div> <p><b>Заключение:</b> _____</p>
<b>1/10</b>	<b>1/20</b>	<b>1/40</b>	<b>1/80</b>	<b>1/160</b>	<b>1/320</b>	<b>1/640</b>	<b>КС</b>	<b>КА</b>											

5. Учет реакции связывания комплемента (РСК) с целью определения титра антител в сыворотке крови

1/20

1/40

1/80

1/160

1/320

КС

КА

Заключение: \_\_\_\_\_

**Протокол постановки и учета ИФА для обнаружения HBs-Ag в сыворотке крови**

6. Поставить и учесть ИФА для определения HBs-антигена в донорской сыворотке:

а) раскапать контроли и образцы по 100 мкл согласно карте постановки;

б) раскапать конъюгат (анти-HBs-антитела, меченные ферментом) по 50 мкл в каждую лунку;

в) инкубировать 1 час при 37° С;

г) промыть стрип 5 раз;

д) раскапать хромоген по 100 мкл в каждую лунку;

е) инкубировать 30 минут при 37°С;

ж) раскапать стоп-реагент по 50 мкл в каждую лунку;

з) учесть ИФА на ридере, распечатать результаты;

и) заполнить протокол постановки, провести оценку верности анализа и интерпретацию результатов.

**Карта постановки:**

	1	2	3
A	Отрицательный контроль		
B	Отрицательный контроль		
C	Слабopоложительный контроль		
D	Положительный контроль		
E	Образец № 1		
F	Образец № 2		
G	Образец № 3		
H	Образец № 4		

*(фрагмент иммунологического планшета)*

**Учет ИФА:**

**Оценка достоверности теста:**

а) средняя ОП отрицательных контролей (ОПК<sup>-</sup>) должна быть < 0,15  
ОПК<sup>-</sup> =

б) ОПК<sup>-</sup> должны находиться в пределах от 0,6 до 1,4 средней ОПК<sup>-</sup>  
средняя ОПК<sup>-</sup> =  
0,6 средней ОПК<sup>-</sup> =  
1,4 средней ОПК<sup>-</sup> =

в) средняя ОП положительного контроля (ОПК<sup>+</sup>) должна превышать среднюю ОПК<sup>-</sup> более чем в 4 раза:  
ОПК<sup>+</sup>/ средняя ОПК<sup>-</sup> =

г) значение ОП слабopоложительного контроля должно превышать уровень cut-off (ОП критической)

**Расчет уровня cut-off:** ОП cut-off = средняя ОПК<sup>-</sup> + 0,04

**Интерпретация результатов:**

Номер образца	ОП образца	Заключение
1		
2		
3		
4		

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

**Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 12.**

**Схема иммуноферментного анализа (ИФА)**

Выявление антигена

Выявление антител

**Схема реакции иммунофлуоресценции (РИФ)**

Прямой метод

Непрямой метод

**ТЕМА: Иммунопрофилактика и иммунотерапия. Иммунопатология и клиническая иммунология. Аллергия.**

**Перечень изучаемых вопросов:**

Иммунопрофилактика и иммунотерапия. Вакцины, виды, требования, предъявляемые к вакцинам. Поствакцинальный иммунитет, факторы, влияющие на его формирование. Методы оценки поствакцинального иммунитета. Пассивная иммунопрофилактика. Иммунные сыворотки и сывороточные препараты. Способы получения, применение.

Аллергия, стадии, типы аллергических реакций. Механизмы ГНТ: медиаторный (I тип), цитотоксический (II тип), иммунотоксический (III тип). Механизмы ГЗТ (IV тип). Лекарственная аллергия. Аллергены в стоматологии. Методы диагностики аллергических состояний.

Клиническая иммунология: определение, задачи. Иммунный статус организма, Уровни оценки иммунного статуса, иммунограмма.

Первичные и вторичные иммунодефициты. Методы коррекции нарушений иммунного статуса. Иммуносупрессия. Иммуностимуляция. Иммуномодуляторы. Препараты тимуса, селезенки, костного мозга. Интерлейкины, интерфероны.

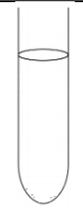
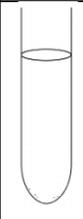
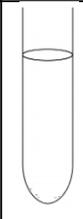
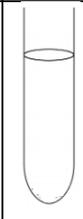
Аутоиммунные болезни, причины возникновения, проявления. Аутоантитела, диагностическое значение, методы определения.

Противоопухолевый иммунитет.

**Лабораторная работа**

1. Учёт РА для определения напряжённости иммунитета к коклюшу.

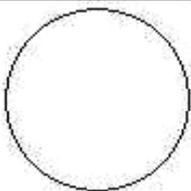
Защитный титр – 1/100

1/50	1/100	1/200	1/400	1/800	КС	КА
						

Заключение: \_\_\_\_\_

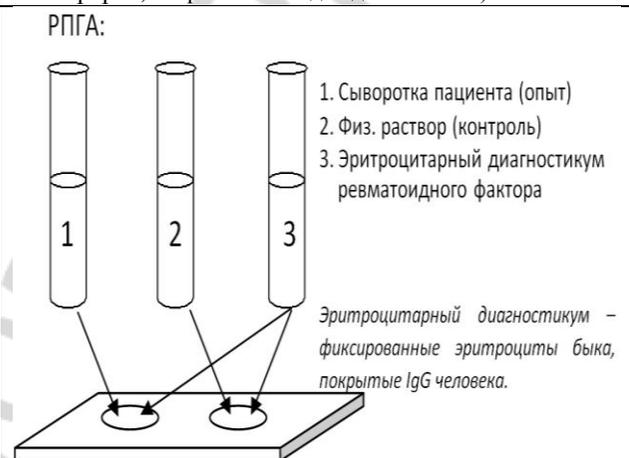
4. Зарисовать демонстрационный препарат:

Реакция дегрануляции тучных клеток.

Препарат _____	
_____	
Окраска _____	

2. Постановка и учет РПГА для определения ревматоидного фактора

Ревматоидный фактор – аутоантитела IgM против IgG человека (обнаруживается при некоторых аутоиммунных заболеваниях (системная красная волчанка, ревматоидный артрит) и применяется для диагностики).



Заключение: \_\_\_\_\_

3. Постановка и учет реакции латекс-агглютинации для обнаружения антител к тиреоглобулину



Заключение: \_\_\_\_\_

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 13.

АЛЛЕРГИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ (заполните таблицу)				
Тип реакции	Аллергены	Фактор патогенеза	Механизм патогенеза	Клинические проявления
<b>I тип ГНТ</b> _____				
<b>II тип ГНТ</b> _____				
<b>III тип ГНТ</b> _____				
<b>IV тип (ГЗТ)</b> _____				

**МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ АЛЛЕРГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**

Аллергодиагностические тесты <i>in vivo</i>	<i>in vitro</i> -методы диагностики аллергических заболеваний		
	Назначение теста	Принцип теста	Методы
<p><b>1. Кожные пробы:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Аппликационные (в настоящее время в основном применяют для диагностики контактной ГЗТ)</li> <li>• Скарификационные пробы и прик-тесты (с применением индивидуального одноразового аппликатора, в который устанавливают иглы с ограничителем, который не дает сделать укол на глубину более 0,1 см). Позволяют выявить аллергенспецифическую сенсибилизацию при ГНТ I типа к ряду аллергенов.</li> <li>• Внутрикожные пробы (в основном применяется для диагностики ГЗТ, а также для выявления дефицитов Т-клеточного звена иммунитета)</li> </ul> <p><b>2. Провокационные пробы</b> (назальная, ингаляционная, конъюнктивальная, сублингвальная). Позволяют выявить аллергию немедленного типа к определенному аллергену. Основаны на введении аллергена в орган-мишень.</p>	Определение уровня общего IgE в сыворотке крови	При ГНТ, как правило, отмечается повышение общего уровня IgE в сыворотке крови	ИФА, иммунохемилюминесцентный анализ, РИА
	Обнаружение специфического IgE	Выявление сенсибилизации к определенным аллергенам	РАСТ (радиоаллергосорбентный тест), МАСТ (множественный аллергосорбентный тест), микроэррей, иммуноблот
	Выявление медиаторов аллергического воспаления	Обнаружение: гистамина; триптазы; лейкотриенов и простагландинов; медиаторов эозинофилов	UniCap, ИФА
	Выявление активации клеток-эффекторов ГНТ по медиаторному типу (поздняя фаза ГНТ)	Продукция лейкотриенов и простагландинов Экспрессия маркеров активации (CD63, CD203)	CAST (FAST) Цитофлуориметрия

**Серотерапия. Антисыворотки и иммуноглобулины**

**Уровни оценки иммунного статуса**

<i>По направленности</i>		<i>I уровень (ориентировочный) - иммунологический скрининг</i>
<p>1. Противoinфекционные:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• антимикробные</li> <li>• антитоксические</li> <li>• антивирусные</li> </ul>	<p>2. Для лечения неинфекционных заболеваний:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• антиоксические (против яда змей)</li> <li>• антилимфоцитарные</li> <li>• антицитоклиновые</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• абсолютное и относительное количество лейкоцитов;</li> <li>• абсолютное и относительное количество Т-лимфоцитов (CD3+, проточная цитометрия);</li> <li>• абсолютное и относительное количество В-лимфоцитов (CD19+, проточная цитометрия);</li> <li>• концентрация IgG, IgM, IgA (радиальная иммунодиффузия);</li> <li>• фагоцитоз частиц латекса (фагоцитарный показатель, поглотительная активность);</li> <li>• микробицидная активность кислородозависимых систем нейтрофилов (НСТ-тест);</li> <li>• уровень циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК, преципитация с ПЭГ-6000);</li> <li>• общая активность комплемента (по 50% гемолизу сенсibilизированных БЭР).</li> </ul>
<i>По происхождению</i>		<i>II уровень (аналитический) – детальное исследование отдельных звеньев иммунитета по показаниям</i>
<p>1. Ксеногенные:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>сыворотки лошадиные:</b> противодифтерийная, противогангренозная, противоботулиническая (поливалентная А+С+Е, моновалентные В и F), противостолбнячная, против яда кобры, эфы, поливалентная (против ядов гюрзы, кобры, эфы и каракурта) и др.</li> <li>• <b>иммуноглобулины лошадиные:</b> противосинегнойный, антирабический и др.</li> <li>• <b>мышинные моноклональные антитела:</b> антилимфоцитарные (против отдельных CD), антицитоклиновые и др.</li> <li>• <b>гибридные антитела</b> (мышинные F(ab)+человеческие Fc фрагменты): <ul style="list-style-type: none"> <li>- против отдельных вирусов (РС);</li> <li>- против CD4 (терапия ревматоидного артрита, аутоиммунных заболеваний);</li> <li>- против цитокинов воспаления (ФНО-альфа) (терапия эндотоксинемического шока, аутоиммунных заболеваний);</li> <li>- против IgE (лечение тяжелых аллергий, бронхиальной астмы);</li> <li>- против отдельных хемокинов и рецепторов хоуминга (лечение органоспецифических аутоиммунных заболеваний); другие.</li> </ul> </li> </ul> <p>2. Аллогенные:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• донорская плазма, донорский нормальный иммуноглобулин (применяется для профилактики/лечения кори, гепатита А(Е), коклюша, менингококковой инфекции, полиомиелита).</li> <li>• чигаин (препарат молонива, обогащенный IgA).</li> <li>• донорские гипериммунные иммуноглобулины: <ul style="list-style-type: none"> <li>- антистафилококковый (донорский и плацентарный; применяют для лечения стафилококковой инфекции, резистентной к противомикробным препаратам);</li> <li>- противогепатитный (для профилактики гепатита В у новорожденных от матерей-носительниц HBs-Ag, а также в случаях вероятного инфицирования);</li> <li>- противогриппозный (для лечения токсических форм гриппа); противостолбнячный;</li> <li>- противоцитомегаловирусный (для лечения острой ЦМВ инфекции у недоношенных и грудных детей, лиц с первичными и вторичными ИДС, реципиентов трансплантатов).</li> </ul> </li> </ul> <p>13. иммуноглобулины для внутривенного введения (пентаглобин, октагам, сандоглобулин, интраглобин)</p>		<p><b>II уровень (аналитический) – детальное исследование отдельных звеньев иммунитета по показаниям</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Т-лимфоциты (CD3+, проточная цитометрия); их субпопуляции (CD4+ и CD8+);</li> <li>• соотношение CD4+/CD8+</li> <li>• В-лимфоциты (CD19+, CD22+/-, CD72+, проточная цитометрия);</li> <li>• NK- лимфоциты (CD16+, CD56+, проточная цитометрия);</li> <li>• моноциты (CD14+, проточная цитометрия);</li> <li>• IgE, определение субклассов IgG, IgM, IgA (ИФА);</li> <li>• антитела к тиреоглобулину (ИФА);</li> <li>• ревматоидный фактор (ИФА);</li> <li>• пролиферативный ответ Т- и В- лимфоцитов на митогены;</li> <li>• компоненты комплемента (С1, С3 и др., ИФА);</li> <li>• цитокины (ИЛ2, ИЛ4, ИЛ6, γ-ИФН и др., ИФА).</li> </ul> <p><b>Механизмы ускользания опухолей из-под контроля иммунной системы:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1) низкая экспрессия опухолевых антигенов (шеддинг);</li> <li>2) низкая степень экспрессии МНС;</li> <li>3) модуляция мембранных антигенов опухолевых клеток – связывание антител с мембранным антигеном и погружение его внутрь клетки без ресинтеза;</li> <li>4) опухолевые клетки выделяют растворимые формы мембранных антигенов, которые могут «перехватывать» антитела в циркуляции и блокировать антителозависимую клеточную цитотоксичность;</li> <li>5) отсутствие экспрессии костимулирующих молекул CD80, CD86, что приводит к анергии ЦТЛ;</li> <li>6) экспрессия ингибиторных молекул (ФНО, ТФРβ, ИЛ10, PGE2) и снижение экспрессии рецепторов к ингибирующим факторам роста;</li> <li>7) нарушение экспрессии рецепторов к цитокинам на малигнизированных клетках;</li> <li>8) усиление экспрессии адгезивных молекул (ICAM-1, VCAM-1) и рецепторов к хемокинам на опухолевых клетках приводит к усилению риска метастазирования;</li> <li>9) способность опухолевых клеток экспрессировать Fas-L (при этом опухолевые клетки запускают апоптоз ЦТЛ, вступающих с ними в контакт);</li> <li>10) нарушение ответа иммунокомпетентных клеток на цитокины.</li> </ol>

**ИТОГОВОЕ ЗАНЯТИЕ ПО ТЕМЕ: «Иммунология. Иммуитет. Аллергия».****Перечень вопросов:**

1. Иммунология. Определение, задачи, методы.
2. Иммунная система организма, характеристика. Органы, клетки, биомолекулы. Взаимодействие и контроль в иммунной системе.
3. Цитокины. Определение. Классификация. Клетки-продуценты. Биологическая роль.
4. Иммуитет, виды иммуитета. Характеристика противоинокционного иммуитета. Хемотаксины, опсоины, происхождение и роль в противоинокционном иммуитете.
5. Врожденный иммуитет: факторы неиммунной и иммунной природы, характеристика. Толл-рецепторы, их роль в распознавании. Естественные киллеры.
6. Система комплемента, пути активации, функции, значение в противоинокционной защите. Методы определения активности комплемента.
7. Фагоцитоз. Фагоциты. Фазы фагоцитоза. Исходы. Механизмы внутриклеточной бактерицидности. Методы определения показателей фагоцитоза.
8. Иммуитный ответ и факторы, определяющие его выраженность. Антигенпрезентирующие клетки.
9. В-система лимфоцитов. Характеристика, маркеры. В-клеточный-рецептор. Методы определения содержания и функциональной активности В-лимфоцитов.
10. ГИО, этапы. Отличительные черты первичного и вторичного иммуитного ответа.
11. Антигены: структура, классификация, характеристика.
12. Антигенная структура бактерий. Перекрестнореагирующие антигены. Антигенная формула.
13. Антитела, структурно-функциональная организация молекулы, свойства. Моноклональные антитела. Антиидиотипические антитела.
14. Классы иммуноглобулинов, характеристика. Методы определения концентрации иммуноглобулинов.
15. Механизмы взаимодействия антигенов и антител. Специфичность. Фазы. Проявления. Аффинность. Авидность.
16. Серологический метод исследования. Задачи, этапы, оценка. Основные понятия, применяемые в серологии.
17. Реакция агглютинации. Цели и методы постановки, учёт, оценка. Применение.
18. РПГА, ингредиенты. Методика постановки, учёт, оценка. Применение. Реакция обратной пассивной гемагглютинации. Реакция латексагглютинации.
19. Реакция преципитации. Цели и методы постановки, учёт, оценка. Применение.
20. РИФ, прямой и непрямой методы. Применение.
21. ИФА. Ингредиенты, постановка, учёт, оценка, области применения. РИА.
22. Реакции иммуитного лизиса, применение. РСК. Ингредиенты, постановка, учёт, оценка. Применение.
23. Т-система лимфоцитов, развитие, основные маркеры, субпопуляции. Методы определения количества и функциональной активности Т-лимфоцитов.
24. Т-клеточный рецептор. Активация Т-лимфоцитов. Костимуляция. Модель двух сигналов. Анергия. Апоптоз.
25. КИО, его проявления, этапы. Иммунологическая память.
26. Аллергия. Стадии аллергии. Типы аллергических реакций.
27. Аллергены, определение, классификация, характеристика. Аллергены в стоматологии.
28. Медиаторный (I) тип ГНТ, механизмы, клинические проявления. Способы предупреждения.
29. Цитотоксический (II) и иммунокомплексный (III) типы ГНТ, механизмы развития, проявления.
30. Гиперчувствительность замедленного типа (ГЗТ IV типа). Виды, клинические проявления.
31. Методы диагностики ГНТ и ГЗТ (in vivo и in vitro).
32. Иммунологическая толерантность. Определение, механизмы, биологическое значение.
33. Трансплантационный иммуитет. Антигены гистосовместимости. Типы трансплантационных реакций. Механизмы отторжения трансплантата. Предупреждение.
34. Противоопухолевый иммуитет. Опухолевые антигены. Механизмы ускользания опухолей от иммуитного надзора.
35. Клиническая иммунология, определение, цели, задачи.
36. Иммуитный статус организма, уровни и принципы оценки, методы. Иммуограмма.
37. Иммунодефицитные состояния: врожденные и приобретенные.
38. Аутоиммунные болезни. Аутоантигены. Механизмы аутоиммуитета.
39. Иммунопрофилактика и иммуитотерапия инфекционных болезней. Достижения и проблемы.
40. Вакцины, требования к вакцинам. Виды вакцин, характеристика, методы приготовления. Новые подходы к созданию вакцин.
41. Поствакцинальный иммуитет. Факторы, влияющие на его развитие. Методы определения напряженности поствакцинального иммуитета. Значение коллективного иммуитета, методы его оценки.
42. Пассивная иммунопрофилактика. Показания к проведению. Лечебно-профилактические иммуитные сыворотки и сывороточные препараты, способы получения, области применения.
43. Иммунокоррекция. Показания к проведению. Методы подавления и стимуляции иммуитного ответа, препараты для иммунокоррекции.

**Перечень практических навыков.**

1. Учесть результаты реакции агглютинации.
2. Учесть результаты реакции иммунопреципитации в агаре.
3. Учесть результаты реакции связывания комплемента.
4. Учесть результаты РПГА.
5. Проставить реакцию агглютинации на стекле.
6. Определить концентрацию иммуноглобулинов.
7. Определить количество Т-лимфоцитов в препаратах иммуитных розеток.
8. Рассчитать показатели фагоцитоза в готовых препаратах.

**ТЕМА: Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых стафилококками, стрептококками, нейссериями.**

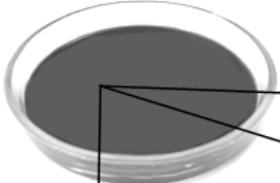
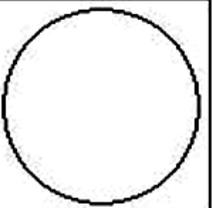
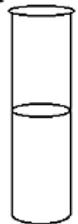
**Перечень изучаемых вопросов:**

Стафилококки, систематика, общая характеристика, факторы патогенности. Стафилококковые инфекции: патогенез, иммунитет, микробиологическая диагностика, принципы профилактики, этиотропной и иммунотерапии. Стафилококковое носительство: диагностика, значение. Больничные стафилококки: MRSA, антибиотики выбора для их терапии.

Стрептококки, систематика, общая характеристика, антигенная структура, факторы патогенности. Пиогенный стрептококк. Пневмококки. Стрептококки полости рта, роль в норме и патологии. Стрептококковые инфекции и постстрептококковые заболевания: патогенез, микробиологическая диагностика, профилактика, антибиотики выбора.

Нейссерии, систематика, общая характеристика, дифференциация патогенных и непатогенных нейссерий. Менингококковые инфекции: патогенез, иммунитет, микробиологическая диагностика, профилактика. Патогенез, иммунитет, микробиологическая диагностика острой и хронической гонореи. Гонококковый стоматит.

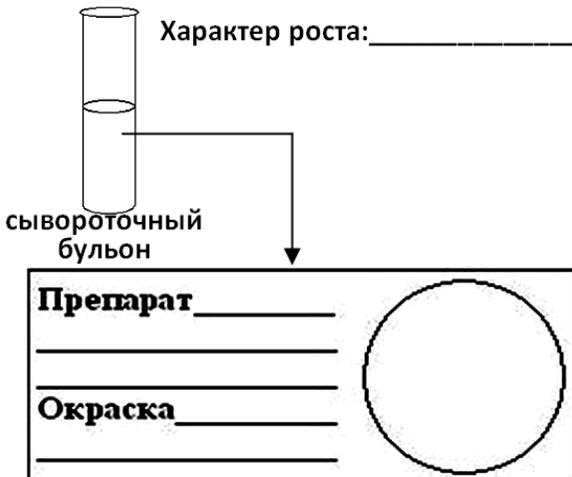
**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты																		
<p>1. Микробиологическая диагностика стафилококковой инфекции (II этап):</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1) макро- и микроскопическое изучение колоний на ЖСА;</li> <li>2) постановка пробы на плазмокоагулазу.</li> </ol>	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  <p>ЖСА</p> </div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: 200px;"> <p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p> </div> <div style="text-align: center;">  </div> <div style="text-align: center;">  <p>Цитратная кроличья плазма, 37°C, 2-4-24 ч. (коагуляция)</p> </div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 50%;">Признак</th> <th style="width: 50%;">Колонии стафилококка</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>Форма</td><td></td></tr> <tr><td>Размер</td><td></td></tr> <tr><td>Поверхность</td><td></td></tr> <tr><td>Край</td><td></td></tr> <tr><td>Цвет</td><td></td></tr> <tr><td>Консистенция</td><td></td></tr> <tr><td>Прозрачность</td><td></td></tr> <tr><td>Лецитиназа</td><td></td></tr> </tbody> </table> </div> </div> <p><b>Заключение:</b> по морфологическим, культуральным и биохимическим признакам идентифицирован _____</p>	Признак	Колонии стафилококка	Форма		Размер		Поверхность		Край		Цвет		Консистенция		Прозрачность		Лецитиназа	
Признак	Колонии стафилококка																		
Форма																			
Размер																			
Поверхность																			
Край																			
Цвет																			
Консистенция																			
Прозрачность																			
Лецитиназа																			

2. Микробиологическая диагностика стрептококковых инфекций (III этап):

- 1) описание характера роста в сыровороточном бульоне;
- 2) определение морфологии культуры в мазке, окраска по Граму;
- 3) постановка реакции кольцепреципитации для определения серогруппы стрептококка.

Характер роста: \_\_\_\_\_

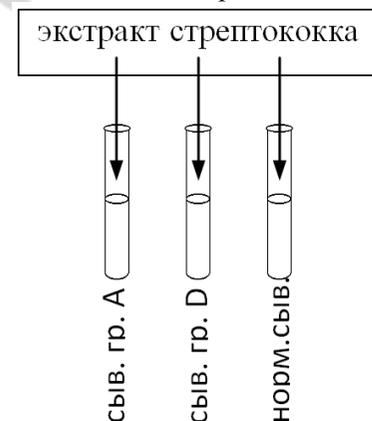


сывороточный бульон

Препарат \_\_\_\_\_

Окраска \_\_\_\_\_

Реакция кольцепреципитации:



Заключение: по морфологическим, культуральным и антигенным свойствам идентифицирован

3. Зарисовать демонстрационные препараты\*:

- 1) Стафилококк в гное, окраска по Граму;
- 2) Стрептококк в чистой культуре, окраска по Граму;
- 3) Пневмококк в чистой культуре, окраска по Граму;
- 4) Пневмококк в органах белой мыши, окраска по Граму;
- 5) Гонококк в гное больного гонореей, окраска по Граму;
- 6) Препарат из ликвора больного менингитом, окраска метиленовым синим.

\*название видов бактерий записываются на латинском языке

**Демонстрация:**

- 1) Рост стафилококков на ЖСА, кровяном агаре, бульоне.
- 2) Рост стрептококков на кровяном агаре и сыровороточном бульоне.
- 3) Фаготипирование стафилококков.
- 4) Препараты для специфической профилактики и лечения стафилококковых инфекций.

Препарат \_\_\_\_\_

Окраска \_\_\_\_\_

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 15.

Характеристика кокков-возбудителей заболеваний человека					
Микроорганизм	Стафилококки	Стрептококки		Нейссерии	
<b>Виды</b>	<i>S. aureus</i> <i>S. epidermidis</i> , <i>S. saprophyticus</i>	<i>S. pyogenes</i> <i>S. agalactiae</i> , <i>S. mutans</i> , <i>S. mitis</i>	<i>S. pneumoniae</i>	<i>N. meningitidis</i>	<i>N. gonorrhoeae</i>
<b>Морфология:</b> - Форма и расположение - Тинкториальные свойства - Капсула (микро-/макро) - Подвижность - Споры					
<b>Антигены</b>					
<b>Культуральные свойства</b> - Пит. среды - Условия роста - Характер роста, колонии					
<b>Биохимические свойства</b> - Сахаролитические - Протеолитические - Липолитические - ОВ-ферменты					
<b>Патогенность</b> - Заболевания - Факторы патогенности - Патогенез инфекций					
<b>Специфическая профилактика и терапия</b> - Активная профилактика - Пассивная профилактика - Антибиотики					

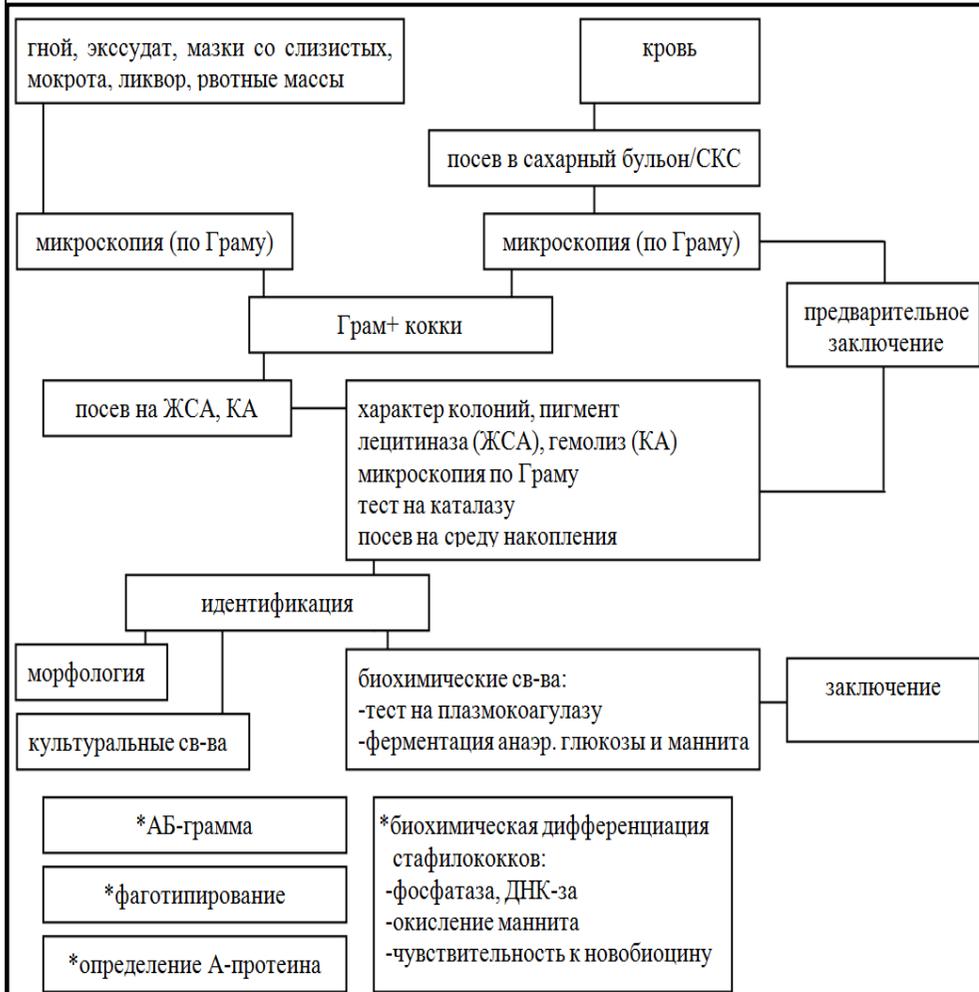
**Характеристика методов диагностики инфекций, вызываемых патогенными кокками**

Краткая характеристика метода	Стафилококки	Стрептококки		Нейссерии	
	<i>S. aureus</i> <i>S. epidermidis</i> , <i>S. saprophyticus</i>	<i>S. pyogenes</i>	<i>S. pneumoniae</i>	<i>N. meningitidis</i>	<i>N. gonorrhoeae</i>
<b>Бактериоскопический</b> -Цель использования -Диагностическое значение					
<b>Бактериологический</b> -Материал для исследования -Этапы метода -Идентификация					
<b>Серологический</b> -Цель использования -Диагностическое значение -Методы исследования					
<b>Биологический</b> -Цель использования -Диагностическое значение					
<b>Молекулярно-генетический</b> -Методы исследования					

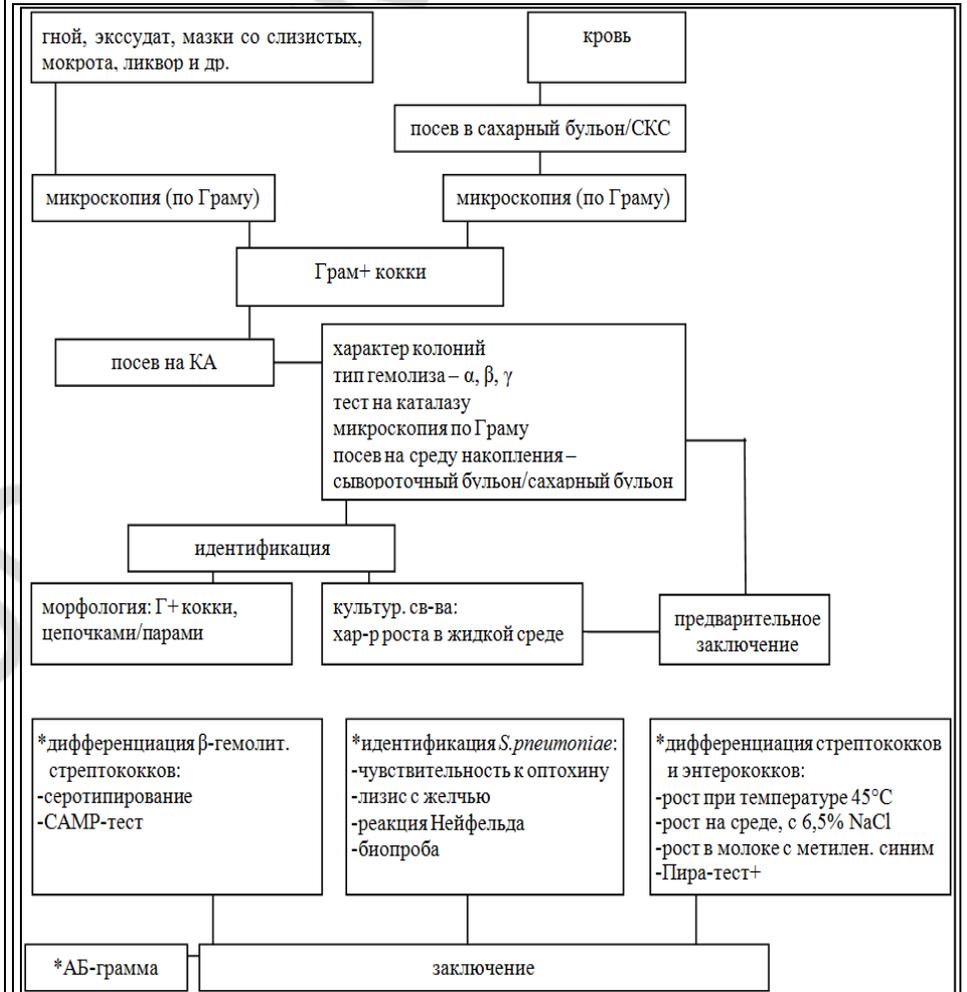
**Дифференциальные признаки стафилококков, стрептококков, нейссерий**

Стафилококки	летициназа	коагулаза	анаэр. фермент. маннита	ДНК-за	фосфатаза	новобиоцин	А-белок	каталаза	оксидаза
<i>S. aureus</i>	+	+	+	+	+	±	+	+	-
<i>S. epidermidis</i>	-	-	-	-	+	+	-		
<i>S. saprophyticus</i>	-	-	-	-	-	-	-		
Стрептококки	гемолиз	серогруппа	набухание капсулы	САМР-тест	лизис желчью	Тест с оптохином	Рост при 6% NaCl	каталаза	оксидаза
<i>S. pyogenes</i>	β	A	-	-	-	Уст.	-	-	+
<i>S. agalactiae</i>	β	B	-	+	-	Уст.	-		
<i>S. pneumoniae</i>	α	-	+	не прим.	+	Чувств.	-		
Нейссерии	рост на МПА	рост на сыв. агаре при 22°C	пигмент	глюкоза	мальтоза	рост с желчью		каталаза	оксидаза
<i>N. meningitidis</i>	-	-	-	+	+	-		+	+
<i>N. gonorrhoeae</i>	-	-	-	+	-	-			
УП нейссерии	+	+	+	+	+	+			

## Бактериологическая диагностика стафилококковых инфекций



## Бактериологическая диагностика стрептококковых инфекций



Сокращения и обозначения:

Знаком «\*» помечены дополнительные тесты и исследования

СКС – среда для контроля стерильности, ЖСА – желточно-солевой агар, КА – кровяной агар

**ТЕМА: Методы микробиологической диагностики острых кишечных инфекций (ОКИ), вызываемых энтеробактериями. Принципы диагностики пищевых отравлений.**

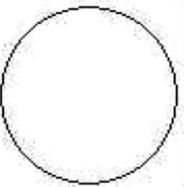
**Перечень изучаемых вопросов:**

Общая характеристика представителей семейства энтеробактерий.  
 Эшерихии, общая характеристика, роль в норме и патологии.  
 Сальмонеллы, классификация и общая характеристика. Роль в патологии, патогенез заболеваний. Проявления брюшного тифа в полости рта.  
 Шигеллы, классификация, общая характеристика. Патогенез шигеллезов.  
 Общие принципы диагностики острых кишечных инфекций, вызываемых патогенными энтеробактериями. Дифференциально-диагностические среды для энтеробактерий.  
 Этиология пищевых отравлений микробной природы, принципы диагностики.

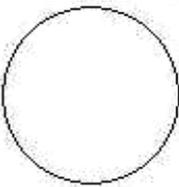
**Лабораторная работа**

**1. Зарисовать демонстрационные препараты:**

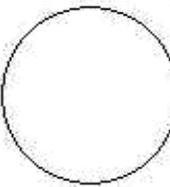
1) *Escherichia coli*, окраска по Граму

Препарат _____ _____ _____ Окраска _____ _____ _____	
---	---

2) *Salmonella spp.*, окраска по Граму

Препарат _____ _____ _____ Окраска _____ _____ _____	
---	---

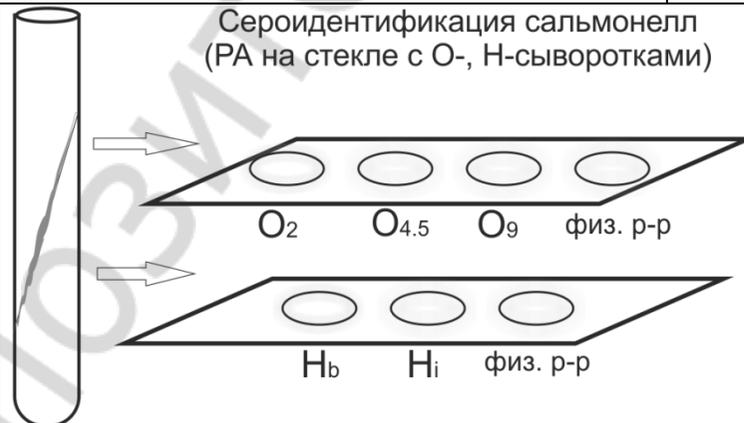
3) *Shigella spp.*, окраска по Граму

Препарат _____ _____ _____ Окраска _____ _____ _____	
---	---

**2. Постановка и учет реакции агглютинации на стекле для идентификации сальмонелл.**

**Демонстрация:**

1. Питательные среды для энтеробактерий: Эндо, Левина, Плоскирева, висмут-сульфит агар, среда Раппопорт, магниевая, селенитовая среда, среда Клигелера. Рост энтеробактерий на этих средах.
3. Биохимическая активность эшерихий и сальмонелл.
4. Дендрограммы молекулярного типирования сальмонелл.
5. Развернутая реакция агглютинации с живой и убитой культурами эшерихий.



**Заключение:** по антигенным свойствам идентифицирован \_\_\_\_\_

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 16.

Характеристика сем. <i>Enterobacteriaceae</i> (заполняется к занятиям №№16-17)				
Роды	<i>Escherichia</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Shigella</i>	<i>Klebsiella</i>
Виды	<i>E. coli</i>	<i>S. typhi</i> , <i>S. paratyphi A</i> <i>S. schottmuelleri</i> <i>S. enteritidis</i> , <i>S. typhimurium</i>	<i>S. dysenteriae</i> , <i>S. flexneri</i> , <i>S. boydii</i> , <i>S. sonnei</i>	<i>K. pneumoniae</i> (подвиды: <i>ozaenae</i> , <i>rhinoscleromae</i> , <i>pneumoniae</i> ), <i>K. oxytoca</i>
<b>Морфология:</b> - Форма и расположение - Тинкториальные свойства - Капсула (микро-/макро) - Подвижность				
<b>Антигены</b>				
<b>Культуральные свойства</b> - Питательные среды - Условия роста - Характер роста, колонии				
<b>Биохимические свойства</b> - Сахаролитические - Протеолитические				
<b>Патогенность</b> - Заболевания - Факторы патогенности - Патогенез инфекций				
<b>Специфическая профилактика и терапия</b>				
<b>Методы диагностики</b>				

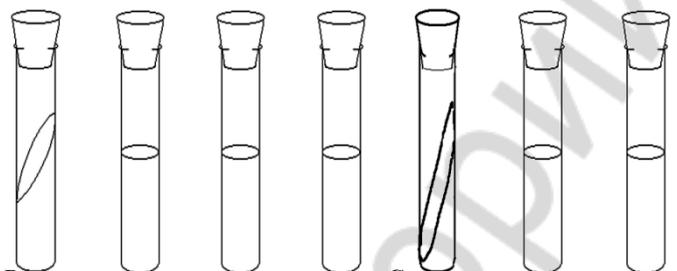
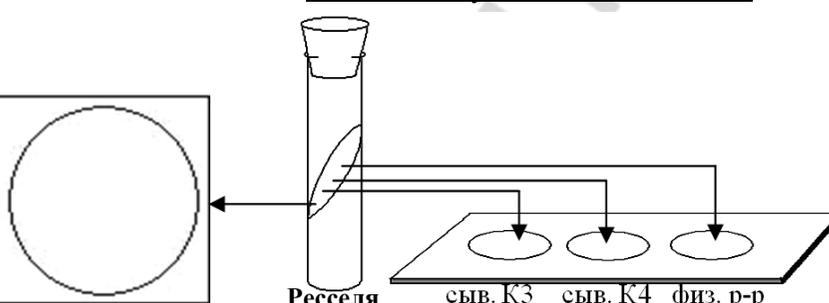
<p align="center"><b>Дифференциально-диагностические среды для энтеробактерий</b></p> <p><b>1. Среда с лактозой («чашечные»)</b>  <b>Среда Левина.</b> Метиленовый синий и эозин, содержащиеся в среде, подавляют рост грам+ бактерий и служат индикаторами ферментации лактозы.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Lac+: темно-фиолетовые колонии;</li> <li>• Lac-: бесцветные/бледно-розовые колонии</li> </ul> <p><b>Среда Эндо.</b> Сульфит натрия и основной фуксин подавляют рост грам+ бактерий. Лактоза разлагается микроорганизмами до альдегида и кислоты. Альдегид высвобождает фуксин из фуксин-сульфитного комплекса, усиливая красное окрашивание колоний.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Lac+: малиново-красные с металлическим блеском колонии;</li> <li>• Lac-: бледно-розовые колонии</li> </ul> <p><b>Среда Плоскирева.</b> Дифференциально-селективная среда для выделения сальмонелл и шигелл. Желчные кислоты подавляют рост грам+ и колиформных бактерий. Содержат лактозу, рН-индикатор, индикатор на H<sub>2</sub>S.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Lac+: красные;</li> <li>• Lac-: бесцветные колонии;</li> <li>• H<sub>2</sub>S+: в центре колоний появляется почернение</li> </ul> <p><b>2. Полиуглеводные среды</b>  <b>Среда Ресселя.</b> Среда с лактозой и глюкозой. Образование кислоты в ходе инкубирования определяют по изменению цвета рН-индикатора на скосе (аэробная ферментация) и в столбике среды. На образование газа в ходе ферментации сахаров указывают пузырьки и разрывы среды в столбике. По мере расхода глюкозы в аэробных условиях выделяющиеся амины снова защелачивают среду. В анаэробных условиях (в столбике) среда остается кислой.</p> <p><b>Среда Клиглера.</b> Содержит лактозу (10 г/л), глюкозу (1 г/л), рН-индикатор (феноловый красный) и индикатор на H<sub>2</sub>S. Ферментация сахаров определяется по изменению цвета среды (пожелтение) в столбике и скошенной части. Ферментация только глюкозы определяется в столбике (желтый столбик). По мере расхода глюкозы в аэробных условиях выделяющиеся амины снова защелачивают среду. При одновременной ферментации глюкозы и лактозы происходит постоянное «закисление» всей среды большим количеством кислот. На образование газа (CO<sub>2</sub>) при ферментации углеводов указывают пузырьки или разрывы в среде. Образование сероводорода проявляется почернением в толще среды.</p> <p><b>3. Моноуглеводные среды</b>  <b>Среды Гисса.</b> Жидкие или полужидкие среды, содержащие углевод и рН-индикатор. При ферментации сахаров среды изменяют цвет за счет изменения рН («пестрый ряд»).</p> <p><b>Среда Рапопорта.</b> Элективная жидкая среда, используемая для выделения и дифференциации гемокультур бактерий тифопаратифозной группы. Содержит желчь, стимулирующую рост сальмонелл, глюкозу и индикатор; в среду введен стеклянный поплавочек для улавливания газообразных продуктов ферментации глюкозы. При росте возбудителей появляется помутнение среды, ферментация глюкозы приводит к покраснению среды, образование CO<sub>2</sub> визуализируется по накоплению пузырьков газа в поплавке.</p>	<p align="center"><b>Диагностика пищевых отравлений бактериальной природы</b></p> <p><b>Пищевые отравления</b> – острые системные заболевания, возникающие в результате приема в пищу продуктов, массивно обсемененных микроорганизмами или содержащих микробные экзотоксины. Пищевые отравления бактериальной природы подразделяются на пищевые токсикоинфекции и пищевые интоксикации (токсикозы), а также отравления смешанной этиологии.</p> <table border="1"> <tr> <td data-bbox="1146 331 1659 715"> <p><b>Пищевые токсикоинфекции:</b> ОКИ, возникающие в результате употребления в пищу массивно обсемененных некоторыми бактериями продуктов. Возбудители: условно-патогенные представители семейства <i>Enterobacteriaceae</i> – <i>E. coli</i>, <i>Proteus</i> (<i>P. vulgaris</i>, <i>P. mirabilis</i>), <i>Morganella morganii</i>, <i>Citrobacter</i>, <i>Enterobacter</i>, <i>Hafnia</i>, <i>Klebsiella pneumoniae</i>; сем. <i>Vibrionaceae</i> – <i>V. parahaemolyticus</i>; сем. <i>Bacillaceae</i> – <i>B. cereus</i>; сем. <i>Streptococcaceae</i> – <i>E. faecalis</i>; сем. <i>Pseudomonadaceae</i> – <i>P. aeruginosa</i> и др.</p> </td> <td data-bbox="1659 331 2098 715"> <p><b>Пищевые микробные токсикозы (интоксикации):</b> острые заболевания, возникающие при употреблении в пищу продуктов, в которых в результате массивного размножения микробов содержится большое количество экзотоксина. К ним относят ботулизм, токсикозы, вызванные стафилококковым энтеротоксином, токсинами <i>S. perfringens</i> серовара А, реже – Е, F; и токсинами микроскопических грибов.</p> </td> </tr> <tr> <td data-bbox="1146 715 1659 975"> <p><b>Патогенез.</b> Возбудитель размножается в тонком кишечнике, проникает в лимфоидный аппарат, где происходит его массовая гибель с выделением эндотоксина, который вызывает поражение интрамурального нервного аппарата кишечника и клеток ЦНС, сосудов, а бактерии вызывают воспалительный процесс в кишечной стенке.</p> </td> <td data-bbox="1659 715 2098 975"> <p><b>Патогенез.</b> Действие микробного экзотоксина, который не разрушается при кипячении, пищеварительными ферментами, устойчив к кислому содержимому желудка.</p> </td> </tr> </table> <p><b>Материалы для исследования:</b> рвотные массы, промывные воды желудка, испражнения, моча, кровь, секционный материал (в случае летального исхода), остатки подозреваемой пищи (употребленной заболевшим), исходных продуктов и полуфабрикатов, которые использовались при её приготовлении, суточные пробы пищи, смывы и соскобы с кухонного инвентаря.</p> <p><b>Лабораторная диагностика:</b> выделение облигатно-патогенных или условно-патогенных энтеробактерий и вибрионов, стафилококков и их токсинов, стрептококков, бацилл, а также (по показаниям) – возбудителей и токсинов ботулизма. Для оценки этиологической роли УПМ главным критерием является количественный. Этиологически значимое количество УПМ 10<sup>5</sup>–10<sup>6</sup> и более КОЕ в 1 г. Диагноз более достоверный при одновременном обнаружении тех же микробов или токсинов в пищевых продуктах, явившихся причиной заболевания. Этиологическую роль микроба подтверждает его повторное выделение из материала больного, идентичность штаммов.</p>	<p><b>Пищевые токсикоинфекции:</b> ОКИ, возникающие в результате употребления в пищу массивно обсемененных некоторыми бактериями продуктов. Возбудители: условно-патогенные представители семейства <i>Enterobacteriaceae</i> – <i>E. coli</i>, <i>Proteus</i> (<i>P. vulgaris</i>, <i>P. mirabilis</i>), <i>Morganella morganii</i>, <i>Citrobacter</i>, <i>Enterobacter</i>, <i>Hafnia</i>, <i>Klebsiella pneumoniae</i>; сем. <i>Vibrionaceae</i> – <i>V. parahaemolyticus</i>; сем. <i>Bacillaceae</i> – <i>B. cereus</i>; сем. <i>Streptococcaceae</i> – <i>E. faecalis</i>; сем. <i>Pseudomonadaceae</i> – <i>P. aeruginosa</i> и др.</p>	<p><b>Пищевые микробные токсикозы (интоксикации):</b> острые заболевания, возникающие при употреблении в пищу продуктов, в которых в результате массивного размножения микробов содержится большое количество экзотоксина. К ним относят ботулизм, токсикозы, вызванные стафилококковым энтеротоксином, токсинами <i>S. perfringens</i> серовара А, реже – Е, F; и токсинами микроскопических грибов.</p>	<p><b>Патогенез.</b> Возбудитель размножается в тонком кишечнике, проникает в лимфоидный аппарат, где происходит его массовая гибель с выделением эндотоксина, который вызывает поражение интрамурального нервного аппарата кишечника и клеток ЦНС, сосудов, а бактерии вызывают воспалительный процесс в кишечной стенке.</p>	<p><b>Патогенез.</b> Действие микробного экзотоксина, который не разрушается при кипячении, пищеварительными ферментами, устойчив к кислому содержимому желудка.</p>
<p><b>Пищевые токсикоинфекции:</b> ОКИ, возникающие в результате употребления в пищу массивно обсемененных некоторыми бактериями продуктов. Возбудители: условно-патогенные представители семейства <i>Enterobacteriaceae</i> – <i>E. coli</i>, <i>Proteus</i> (<i>P. vulgaris</i>, <i>P. mirabilis</i>), <i>Morganella morganii</i>, <i>Citrobacter</i>, <i>Enterobacter</i>, <i>Hafnia</i>, <i>Klebsiella pneumoniae</i>; сем. <i>Vibrionaceae</i> – <i>V. parahaemolyticus</i>; сем. <i>Bacillaceae</i> – <i>B. cereus</i>; сем. <i>Streptococcaceae</i> – <i>E. faecalis</i>; сем. <i>Pseudomonadaceae</i> – <i>P. aeruginosa</i> и др.</p>	<p><b>Пищевые микробные токсикозы (интоксикации):</b> острые заболевания, возникающие при употреблении в пищу продуктов, в которых в результате массивного размножения микробов содержится большое количество экзотоксина. К ним относят ботулизм, токсикозы, вызванные стафилококковым энтеротоксином, токсинами <i>S. perfringens</i> серовара А, реже – Е, F; и токсинами микроскопических грибов.</p>				
<p><b>Патогенез.</b> Возбудитель размножается в тонком кишечнике, проникает в лимфоидный аппарат, где происходит его массовая гибель с выделением эндотоксина, который вызывает поражение интрамурального нервного аппарата кишечника и клеток ЦНС, сосудов, а бактерии вызывают воспалительный процесс в кишечной стенке.</p>	<p><b>Патогенез.</b> Действие микробного экзотоксина, который не разрушается при кипячении, пищеварительными ферментами, устойчив к кислому содержимому желудка.</p>				

**ТЕМА: Методы микробиологической диагностики клебсиеллезов. Диагностика заболеваний, вызываемых кампилобактериями и хеликобактериями. Микробиологическая диагностика синегнойной инфекции.**

**Перечень изучаемых вопросов:**

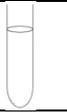
Клебсиеллы, видовой состав, общая характеристика, вызываемые заболевания. Микробиологическая диагностика клебсиеллезов.  
 Кампилобактерии и хеликобактер, общая характеристика, роль в патологии человека. Принципы микробиологической диагностики заболеваний.  
 Синегнойная палочка, общая характеристика, факторы патогенности, роль в патологии человека. Микробиологическая диагностика синегнойной инфекции.

**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты																																																						
<p>1. Самостоятельная работа по теме «Микробиологическая диагностика клебсиеллезов»:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1) Изучить рост клебсиелл на модифицированной среде Ресселя.</li> <li>2) Определить наличие капсулы.</li> <li>3) Произвести учет биохимических свойств клебсиелл.</li> <li>4) Поставить реакцию капсульной агглютинации на стекле для определения К-антигена и установления сероварианта.</li> </ol>	<p><b>Учет биохимических свойств:</b></p>  <p><b>Дифференциальные питательные среды</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Модифицированная среда Ресселя содержит глюкозу, лактозу и бромтимоловый синий индикатор. Клебсиелла склеромы дает пожелтение только столбика, клебсиелла пневмонии – пожелтение и разрыв всей среды, клебсиелла озены – различные варианты.</li> <li>2. Среды с лактозой, глюкозой, сахарозой (с индикатором бромтимоловым синим). Исходный цвет сред – зеленый (оливковый). При ферментации углевода – желтый цвет. При ферментации до кислоты и газа – желтый цвет среды и пузырек газа в поплавке.</li> <li>3. Среда Симмонса для изучения утилизации цитрата натрия (индикатор бромтимоловый синий). В положительном случае появляется рост, и среда синее, в отрицательном – роста нет, цвет не изменяется.</li> <li>4. Среда с малонатом натрия (тот же принцип, что и среда Симмонса).</li> <li>5. Среда с мочевиной. При гидролизе мочевины (фермент уреазы) происходит защелачивание среды (индикатор Андрее) – красное окрашивание. При отсутствии продукции уреазы – цвет не изменяется (желтый).</li> </ol>																																																						
<p>Препарат _____</p> <p>Окраска _____</p> 	<p><b>Реакция капсульной агглютинации:</b></p> <table border="1" data-bbox="1366 981 2083 1292"> <thead> <tr> <th rowspan="2">Биохимические свойства</th> <th colspan="3"><i>K. pneumoniae</i></th> <th rowspan="2"><i>K. oxytoca</i></th> </tr> <tr> <th><i>s. rhinoscleromatis</i></th> <th><i>s. ozaenae</i></th> <th><i>s. pneumoniae</i></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Глюкоза с газом</td> <td>-</td> <td>+/-</td> <td>+</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td>Лактоза</td> <td>-</td> <td>+/-</td> <td>+</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td>Сахароза</td> <td>- (4 сутки +)</td> <td>+/-</td> <td>+</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td>Цитрат аммония</td> <td>-</td> <td>+/-</td> <td>+</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td>Мочевина</td> <td>-</td> <td>-/+</td> <td>+</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td>Малонат натрия</td> <td>+</td> <td>-</td> <td>+</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td>Индол</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td>Рост при 10°C</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td>О и К антигены</td> <td>O2a:K3</td> <td>O2b:K4</td> <td>O1,O3-5:K1-3</td> <td>O1, O3-5:K7-82</td> </tr> </tbody> </table>		Биохимические свойства	<i>K. pneumoniae</i>			<i>K. oxytoca</i>	<i>s. rhinoscleromatis</i>	<i>s. ozaenae</i>	<i>s. pneumoniae</i>	Глюкоза с газом	-	+/-	+	+	Лактоза	-	+/-	+	+	Сахароза	- (4 сутки +)	+/-	+	+	Цитрат аммония	-	+/-	+	+	Мочевина	-	-/+	+	+	Малонат натрия	+	-	+	+	Индол	-	-	-	+	Рост при 10°C	-	-	-	+	О и К антигены	O2a:K3	O2b:K4	O1,O3-5:K1-3	O1, O3-5:K7-82
Биохимические свойства	<i>K. pneumoniae</i>			<i>K. oxytoca</i>																																																			
	<i>s. rhinoscleromatis</i>	<i>s. ozaenae</i>	<i>s. pneumoniae</i>																																																				
Глюкоза с газом	-	+/-	+	+																																																			
Лактоза	-	+/-	+	+																																																			
Сахароза	- (4 сутки +)	+/-	+	+																																																			
Цитрат аммония	-	+/-	+	+																																																			
Мочевина	-	-/+	+	+																																																			
Малонат натрия	+	-	+	+																																																			
Индол	-	-	-	+																																																			
Рост при 10°C	-	-	-	+																																																			
О и К антигены	O2a:K3	O2b:K4	O1,O3-5:K1-3	O1, O3-5:K7-82																																																			
<p><b>Заключение:</b> по морфологическим, культуральным, биохимическим и антигенным свойствам идентифицирован _____</p>																																																							

2. Учет РСК для серологической диагностики склеромы

**Учет РСК по схеме**

Вариант	Разведения сыворотки			КС	КА	Оценка
	1:5	1:10	1:20			
1	++++	++++	++++	-	-	Резко положительная
2	++++	++++	-	-	-	Положительная
3	+++	-	-	-	-	Слабо положительная
4	-	-	-	-	-	Отрицательная
Учет результата:						

**Демонстрация.**

1. Рост клебсиелл на дифференциально-диагностических средах.
2. Рост *P. aeruginosa* на цетримидном агаре. Проба на оксидазу.

**Заключение:** \_\_\_\_\_

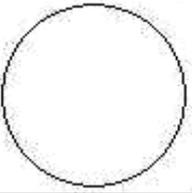
3. Зарисовать демонстрационные препараты:

1) Капсула клебсиеллы склеромы, окраска по Бурри-Гинсу.

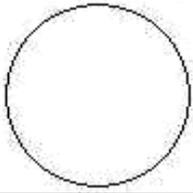
2) Синегнойная палочка, окраска по Граму.

3) Возбудитель кампилобактериоза, окраска по Граму.

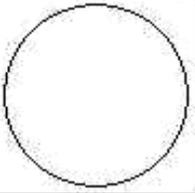
Препарат \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 Окраска \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_



Препарат \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 Окраска \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_



Препарат \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 Окраска \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_



Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 17.

**Характеристика кампило- и хеликобактерий, синегнойной палочки**

Виды	<i>S. jejuni</i>	<i>H. pylori</i>	<i>P. aeruginosa</i>
Морфология			
Культуральные и биохимические свойства			
Патогенность			
Специфическая профилактика и терапия			

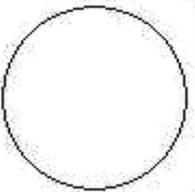
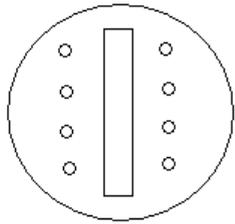
Перечень вопросов:	
<p>1. Микробиология: определение, разделы, методы исследования. Стоматологическая микробиология: цели, задачи, роль в деятельности врача-стоматолога.</p> <p>2. Основные этапы развития микробиологии. Работы Л. Пастера, Р. Коха, И. И. Мечникова. Эволюция микроорганизмов и инфекционных заболеваний.</p> <p>3. Общие с другими организмами и специфические особенности микроорганизмов. Принципы систематики, классификация, номенклатура микроорганизмов. Вид, критерии вида.</p> <p>4. Морфология бактерий. Формы бактерий. Структура бактериальной клетки. Функции поверхностных и цитоплазматических образований бактерий. Окраска по Граму. Формы бактерий с дефектом клеточной стенки, значение.</p> <p>5. Особенности метаболизма у прокариотов. Способы питания микроорганизмов. Питательные вещества и механизмы их проникновения в бактериальную клетку. Питательные среды.</p> <p>6. Дыхание микроорганизмов, его типы. Ферменты и структуры клетки, участвующие в процессе дыхания. Классификация бактерий по отношению к кислороду воздуха.</p> <p>7. Рост и способы размножения бактерий. Механизм и фазы простого деления. Покоящиеся формы микроорганизмов: причины образования, значение.</p> <p>8. Материал для микробиологического исследования: виды, правила забора, хранения, транспортировки. Режим работы в микробиологических лабораториях.</p> <p>9. Микроскопический (бактериоскопический) метод исследования: определение, цели, этапы, оценка. Типы микроскопических препаратов. Методы окраски. Виды микроскопов.</p> <p>10. Культуральный (бактериологический) метод исследования: задачи, этапы, оценка.</p> <p>11. Методы выделения и идентификации чистых культур аэробных и анаэробных бактерий. Идентификация микроорганизмов без выделения чистой культуры.</p> <p>12. Генетический аппарат бактерий (нуклеоид, плазмиды, транспозоны, IS-элементы): характеристика, функции, значение. Понятие о геномной инженерии и биотехнологии.</p> <p>13. Наследственность и изменчивость микроорганизмов. Типы изменчивости, практическое значение. Мутации. Генетические рекомбинации. Фенотипическая изменчивость.</p> <p>14. Молекулярно-генетические методы исследования (молекулярная гибридизация, полимеразная цепная реакция): принципы проведения, применение в стоматологии.</p> <p>15. Дисмикриоз: причины, следствия, профилактика. Гнотобиология.</p> <p>16. Экология микробов. Типы экологических связей. Концепция микробной доминанты.</p> <p>17. Инфекция (инфекционный процесс): определение, причины возникновения, периоды, исходы. Отличия инфекционных и неинфекционных заболеваний.</p> <p>18. Роль микроорганизмов в инфекционном процессе. Патогенность и вирулентность. Факторы патогенности микроорганизмов, генетический контроль. Типы токсинов бактерий.</p> <p>19. Роль макроорганизма, факторов внешней среды в инфекционном процессе.</p> <p>20. Биологический метод исследования: определение, цели, этапы, оценка.</p> <p>21. Асептика, её значение. Стерилизация: определение понятия, способы проведения, оценка качества проведения. Стерилизация инструментов и изделий медицинского назначения.</p> <p>22. Дезинфекция, определение, способы. Дезинфектанты, применяемые в стоматологии.</p> <p>23. Антисептика, определение понятия, способы проведения. Антисептические средства. Особенности применения антисептиков в стоматологии.</p> <p>24. Химиотерапия и химиопрофилактика Группы противомикробных химиотерапевтических лекарственных средств. Особенности применения в стоматологической практике.</p> <p>25. Антибиотики, определение, классификация, требования к АБ. Механизм действия АБ. Принципы рациональной антибиотикотерапии. Побочное действие антибиотиков.</p>	<p>26. Врожденная и приобретенная резистентность микроорганизмов к антибиотикам: генетические и биохимические механизмы. Изучение чувствительности микроорганизмов к антибиотикам.</p> <p>27. Иммунология: задачи, методы, направления. Иммунитет: определение, виды иммунитета.</p> <p>28. Иммунная система организма: органы, клетки, молекулы.</p> <p>29. Врожденный иммунитет, факторы. Механизмы распознавания патогенов.</p> <p>30. Система комплемента: состав, пути активации, методы определения активности.</p> <p>31. Естественные киллеры и механизмы цитотоксичности. Классификация фагоцитов. Фагоцитарная реакция. Методы изучения фагоцитоза.</p> <p>32. Антигены: строение, свойства, классификация. Т-зависимые и Т-независимые АГ. СуперАГ.</p> <p>33. Антигены микроорганизмов. Перекрестно-реагирующие антигены, значение.</p> <p>34. Гуморальный иммунный ответ: определение, этапы развития. Проявления ГИО.</p> <p>35. В-лимфоциты: развитие, маркеры, В-клеточный рецептор. Методы определения количества и функциональной активности В-лимфоцитов.</p> <p>36. Антитела: структура, свойства, классификация. Аффинность и авидность. Методы определения концентрации иммуноглобулинов. Моноклональные АТ.</p> <p>37. Серологический метод исследования: определение, задачи, основные понятия (диагностикум, диагностическая сыворотка, титр, диагностический титр, парные сыворотки), оценка метода.</p> <p>38. Реакция прямой и пассивной агглютинации: способы постановки, учёт т, применение.</p> <p>39. Реакции иммунопреципитации: способы постановки, учёт т, применение. Реакции иммунного лизиса. Реакция связывания комплемента: ингредиенты, механизм, учёт т.</p> <p>40. Реакция иммунофлюоресценции, иммуноферментный анализ: ингредиенты, механизмы, способы постановки, учёт т, применение. Иммуноблоттинг. Радиоиммунный анализ.</p> <p>41. Т-лимфоциты: развитие, маркеры, субпопуляции. Т-хелперы 1-го и 2-го типов, спектр цитокинов. Методы определения количества и функциональной активности Т-Лф.</p> <p>42. Т-клеточный рецептор: строение, типы. Т-клеточные эпитопы. Т-клеточная рестрикция.</p> <p>43. Клеточный иммунный ответ: определение, этапы развития. Модель двух сигналов, ответ, апоптоз, энергия. Проявления КИО. Иммунологическая память.</p> <p>44. Противовирусный иммунитет. Противоопухольевый иммунитет.</p> <p>45. Иммунопрофилактика и иммунотерапия инфекционных заболеваний. Активная иммунопрофилактика. Вакцины: требования, виды. Поствакцинальные реакции и осложнения.</p> <p>46. Поствакцинальный иммунитет: механизмы и факторы, влияющие на его формирование. Показания и противопоказания к вакцинации. Календарь прививок. Коллективный иммунитет.</p> <p>47. Пассивная иммунопрофилактика и иммунотерапия инфекционных заболеваний: показания к применению, препараты, принципы проведения, осложнения.</p> <p>48. Аллергология: определение, задачи. Аллергия: определение, стадии развития, типы реакций. Классификация аллергенов. Аллергены в стоматологии.</p> <p>49. Гиперчувствительность немедленного типа (ГНТ). Медиаторный (I) тип ГНТ: аллергены, механизм развития, проявления в полости рта, способы предупреждения анафилаксии.</p> <p>50. Цитотоксический (II) тип ГНТ: аллергены, механизмы развития. Иммунокомплексный (III) тип ГНТ: аллергены, механизмы развития. Проявления аллергии II и III типов в полости рта.</p> <p>51. Гиперчувствительность замедленного типа (ГЗТ): аллергены, механизм развития, проявления, значение в патологии полости рта.</p> <p>52. Лекарственная аллергия: основные аллергены, механизмы и типы аллергических реакций, способы диагностики и предупреждения. Пищевая аллергия. Пищевые продукты, обладающие сенсибилизирующим действием. Идиосинкразия.</p> <p>53. Аутоантитела: причины образования, роль в патологии. Аутоиммунные заболевания: определение, классификация, причины развития, механизмы повреждения тканей, проявления.</p> <p>54. Клиническая иммунология: определение, задачи. Иммунный статус, методы оценки.</p> <p>55. Иммунодефицитные состояния: классификация, причины, диагностика, принципы коррекции.</p>

**ТЕМА: Методы микробиологической диагностики дифтерии и коклюша.**

**Перечень изучаемых вопросов:**

Коринебактерии дифтерии, общая характеристика. Типы коринебактерий дифтерии. Патогенез дифтерии, проявления дифтерии в полости рта. Микробиологическая диагностика дифтерии. Принципы терапии и профилактики дифтерии. Возбудитель коклюша, свойства, факторы патогенности, дифференциация с возбудителем паракоклюша. Патогенез коклюша, иммунитет, диагностика. Принципы терапии и профилактики коклюша.

**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты																																															
<p>1. Бактериологическая диагностика дифтерии:</p> <p>1) изучение роста колоний коринебактерий на теллуритовой среде,</p> <p>2) отсев колоний на «пёстрый ряд» (глюкоза, сахароза, крахмал), тесты на уреазу, цистиназу.</p>	<p><u>Морфология</u></p> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 10px;"> <p>Препарат _____</p> <p>Окраска _____</p> </div>  <p>Волутин _____</p> <p><u>Культуральные свойства</u></p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; margin-top: 10px;"> <thead> <tr> <th colspan="2">Характеристика колоний</th> </tr> <tr> <th>Признак</th> <th>Сыв. агар с теллуридом калия</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Форма</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Размер</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Поверхность</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Край</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Цвет</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Консистенция</td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	Характеристика колоний		Признак	Сыв. агар с теллуридом калия	Форма		Размер		Поверхность		Край		Цвет		Консистенция		<p><u>Тест на токсигенность</u></p> 	<p><u>Биохимическая идентификация</u></p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; margin-bottom: 10px;"> <thead> <tr> <th></th> <th>глюкоза</th> <th>сахароза</th> <th>крахмал</th> <th>уреаза</th> <th>цистиназа</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td rowspan="2" style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">посев</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table> <p style="text-align: center;"><i>инкубация, 37°C–24 часа</i></p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tbody> <tr> <td rowspan="2" style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">учет</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>		глюкоза	сахароза	крахмал	уреаза	цистиназа	посев											учет											
Характеристика колоний																																																
Признак	Сыв. агар с теллуридом калия																																															
Форма																																																
Размер																																																
Поверхность																																																
Край																																																
Цвет																																																
Консистенция																																																
	глюкоза	сахароза	крахмал	уреаза	цистиназа																																											
посев																																																
учет																																																
<p><i>Выполняется на занятии № 2</i></p> <p>1) Учет биохимической активности коринебактерий, пробы на токсигенность; идентификация.</p>	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th rowspan="3">Вид коринебактерий</th> <th colspan="5">Расщепление</th> </tr> <tr> <th colspan="3">с образованием кислоты</th> <th rowspan="2">цистеина с образованием H<sub>2</sub>S</th> <th rowspan="2">мочевинны</th> </tr> <tr> <th>глюкозы</th> <th>сахарозы</th> <th>крахмала</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td><i>C. diphtheriae gravis mitis</i></td> <td>+</td> <td>-</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td><i>C. pseudodiphtheriae (hofmani)</i></td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td><i>C. xerosis</i></td> <td>+</td> <td>+</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td><i>C. ulcerans</i></td> <td>+</td> <td>-</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td><b>X-бактерия</b></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>				Вид коринебактерий	Расщепление					с образованием кислоты			цистеина с образованием H <sub>2</sub> S	мочевинны	глюкозы	сахарозы	крахмала	<i>C. diphtheriae gravis mitis</i>	+	-	+	+	-	<i>C. pseudodiphtheriae (hofmani)</i>	-	-	-	-	+	<i>C. xerosis</i>	+	+	-	-	+	<i>C. ulcerans</i>	+	-	+	+	+	<b>X-бактерия</b>					
Вид коринебактерий	Расщепление																																															
	с образованием кислоты			цистеина с образованием H <sub>2</sub> S		мочевинны																																										
	глюкозы	сахарозы	крахмала																																													
<i>C. diphtheriae gravis mitis</i>	+	-	+	+	-																																											
<i>C. pseudodiphtheriae (hofmani)</i>	-	-	-	-	+																																											
<i>C. xerosis</i>	+	+	-	-	+																																											
<i>C. ulcerans</i>	+	-	+	+	+																																											
<b>X-бактерия</b>																																																
<p><b>Заключение:</b> на основании морфологических, культуральных и биохимических свойств идентифицирован _____</p>																																																

<p>2. Зарисовать демонстрационные препараты:</p> <p><b>Демонстрация.</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Проба на токсигенность коринебактерий дифтерии;</li> <li>2. РПГА для оценки напряжённости противодифтерийного иммунитета.</li> <li>3. Препараты для специфической профилактики и лечения дифтерии и коклюша.</li> <li>4. Рост бордетелл коклюша и паракоклюша на казеиново-угольном агаре, МПА с тирозином, проба на уреазу.</li> </ol>	<p>1) Возбудитель дифтерии, окраска по Нейссеру;</p> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-top: 10px;"> <p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p> </div>	<p>2) Возбудитель дифтерии, окраска по Леффлеру;</p> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-top: 10px;"> <p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p> </div>	<p>3) Возбудитель коклюша, окраска по Граму.</p> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-top: 10px;"> <p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p> </div>
--	--	--	--

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

**Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 1 (19).**

**Характеристика коринебактерий и бордетелл**

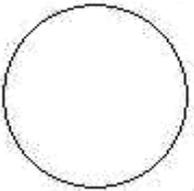
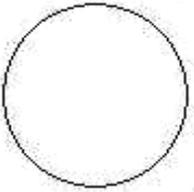
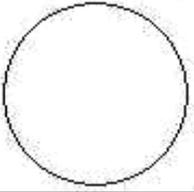
Микроорганизм	Морфология	Культуральные и биохимические свойства	Патогенность	
			Фактор патогенности	Биологический эффект
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>			Белковый экзотоксин (состоит из А и В субъединиц)	Нарушает синтез белка, поражая клетки миокарда, надпочечников, нервных ганглиев
			Гликолипид (6-б'-диэфир-трегалозы)	Нарушает фагоцитоз
			Гиалуронидаза	Нарушают проницаемость тканей
			Нейраминидаза	
<i>Bordetella pertussis</i> <i>Bordetella parapertussis</i>			Филаментозный гемагглютинин	Связывается с гликолипидами мембран клеток мерцательного эпителия дыхательных путей, связывается с R3 - гликопротеиновым рецептором поверхности ПМЯЛ и инициирует фагоцитоз
			Коклюшный токсин (токсин пертуссин)	S1 - субъединица пертуссина рибозилирует мембранный белок Gi; токсин подавляет активность фагоцитов и миграцию моноцитов. S2 - субъединица связывается с гликолипидом поверхности клеток респираторного тракта; S3 - субъединица связывается с ганглиозидами поверхности фагоцитов
			Пили	Адгезия к мерцательному эпителию дыхательных путей
			Пертактин	Адгезия к мерцательному эпителию дыхательных путей
			Аденилатциклаза	Подавляет киллинг-активность фагоцитов и миграцию моноцитов
			Дерматонекротоксин	Повреждает кожу и является летальным фактором для лабораторных животных
			Трахеальный токсин	Пептидогликановый фрагмент, разрушающий реснитчатые клетки дыхательных путей; стимулирует реализацию интерлейкина-1 (лихорадка)
			Эндотоксин (ЛПС)	Активирует комплемент и стимулирует выработку цитокинов

**ТЕМА: Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых актиномицетами и микобактериями.****Перечень изучаемых вопросов:**

Актиномицеты, систематическое положение, общая характеристика, роль в стоматологической патологии. Микробиологическая диагностика актиномикоза челюстно-лицевой области.

Возбудители туберкулеза, общая характеристика, факторы патогенности. Патогенез туберкулеза, проявления туберкулеза в полости рта. Методы микробиологической диагностики туберкулеза, проба Манту, Диаскинтест. Принципы терапии и профилактики туберкулеза.

**Лабораторная работа**

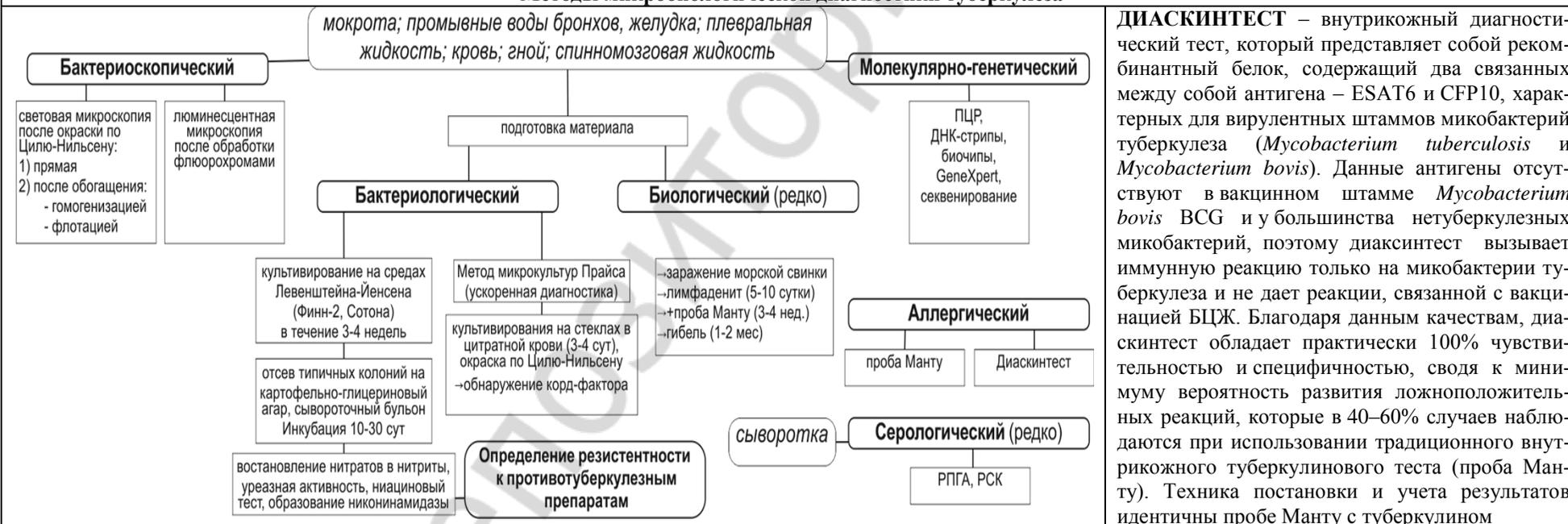
Задание	Методы, результаты
1. Учет сахаролитической активности коринебактерий, идентификация.	См. занятие № 1 (19).
<p>2. Зарисовать демонстрационные препараты:</p> <p>1) Микобактерии туберкулёза в мокроте больного, окраска по Цилю-Нильсену;</p> <p>2) Корд-фактор микобактерий туберкулёза, окраска по Цилю-Нильсену;</p> <p>3) Актиномицеты, чистая культура, окраска по Граму;</p> <p><b>Демонстрация.</b></p> <p>1. Рост микобактерий на питательных средах.</p> <p>2. Метод флотации.</p> <p>3. Определение лекарственной устойчивости микобактерий туберкулёза.</p>	<div data-bbox="1317 547 1818 751"> <p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p>  </div> <div data-bbox="1317 783 1818 987"> <p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p>  </div> <div data-bbox="1317 1019 1818 1224"> <p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p>  </div>

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 2 (20).

Характеристика актиномицетов и микобактерий				
Микроорганизм	морфология	культуральные свойства	Патогенность: заболевания	
			Фактор патогенности	Биологический эффект
<i>Mycobacterium spp.</i>  - <i>M. tuberculosis</i> , - <i>M. bovis</i> , - <i>M. africanum</i>			1. Токсические липиды: - корд-фактор – гликолипид (трегалозы димиколат)	разрушает митохондрии клеток, нарушает функцию дыхания. Участвует в адгезии, препятствует фагоцитозу.
			- миколовая кислота	обеспечивает кислотоустойчивость, антифагоцитарные свойства
			- фосфатиды (фтионовая кислота)	образование гранулем
			- свободные жирные кислоты	обеспечивают цитотоксическое поражение клеток гранулемы (творожистое перерождение).
			- сульфатиды (серосодержащие гликолипиды)	усиливают действие корд-фактора, ингибируют слияние фагосомы с лизосомой
			2. Нуклеопротеиды	Вызывают сенсибилизацию организма (ГЗТ), в инфицированном организме дают положительную кожную пробу
<i>Actinomyces spp.</i>				

Методы микробиологической диагностики туберкулеза



**ТЕМА: Методы микробиологической диагностики анаэробных инфекций.**

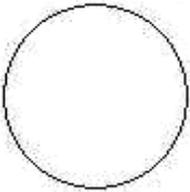
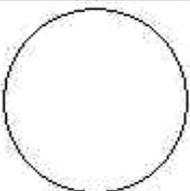
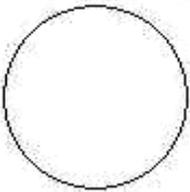
**Перечень изучаемых вопросов:**

Экологическая группа анаэробных бактерий, классификация, общая характеристика. Возбудители газовой гангрены, столбняка: общая характеристика, экзотоксины клостридий.

Неспорообразующие анаэробы полости рта (вейлонеллы, бактероиды, пептококки, фузобактерии, превотеллы), характеристика, роль в патологии.

Общие принципы и методы диагностики анаэробных инфекций.

**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты
<p>1. Зарисовать демонстрационные препараты:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1) Клостридии, окраска по Граму;</li> <li>2) Бактероиды, окраска по Граму;</li> <li>3) Вейлонеллы, окраска по Граму.</li> </ol> <p><b>Демонстрация.</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Рост анаэробов на питательных средах.</li> </ol>	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 10px;"> <p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p>  </div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 10px;"> <p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p>  </div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> <p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p>  </div>

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 3 (21).

Экологическая группа облигатно-анаэробных бактерий

Группы анаэробных бактерий		Вызываемые заболевания
<b>Грамотрицательные неспорообразующие палочки</b>		
Бактероиды	<i>Bacteroides species</i>	ГСИ
Фузобактерии	<i>Fusobacterium species</i>	
Лептотрихии	<i>Leptotrichia bucalis</i>	
Превотеллы	<i>Prevotella species</i>	
Порфиромонады	<i>Porphyromonas species</i>	
Билофилы	<i>Bilophila wadsworthia</i>	
<b>Грамположительные спорообразующие палочки</b>		
Клостридии	<i>Clostridium tetani</i>	Столбняк
	<i>Clostridium perfringens</i> , <i>C. novyi</i> , <i>C. ramosum</i> , <i>C. histolyticum</i> , <i>C. septicum</i>	Газовая гангрена, некротизирующий энтерит, пищевая интоксикация
	<i>Clostridium botulinum</i>	Ботулизм
	<i>Clostridium difficile</i>	Псевдомембранозный колит
<b>Грамотрицательные кокки</b>		
Вейлонеллы	<i>Veillonella</i>	ГСИ
<b>Грамположительные кокки</b>		
Пептококки	<i>Peptococcus species</i>	ГСИ
Пептострептококки	<i>Peptostreptococcus spp.</i>	

**Клинические признаки анаэробной инфекции:**

- 1) неприятный запах отделяемого вследствие продукции анаэробами летучих жирных кислот (описывают как фекальный, для клостридий характерен запах прогорклого масла);
- 2) гнилостный характер поражения (мёртвые ткани в виде бесструктурного детрита серого или серо-зелёного цвета);
- 3) экссудат серо-зелёный или чёрный, содержит маленькие капельки жира;
- 4) наличие газа в тканях (синдром крепитации);
- 5) развитие инфекции на фоне лечения антибиотиками;
- 6) близость очага к местам естественного обитания анаэробов;
- 5) преобладание симптомов общей интоксикации над местными воспалительными явлениями.

**Факторы патогенности *Clostridium perfringens***

Факторы патогенности		Биологический эффект
Токсины (главные)	альфа-токсин (лецитиназа)	расщепляет лецитин клеточных мембран; увеличивает сосудистую проницаемость, разрушает эритроциты; некротизирующая активность
	бета-токсин	некротизирующая активность; индукция гипертензии в результате образования катехоламинов
	эпсилон-токсин	усиливает сосудистую проницаемость ЖКТ
	йота-токсин	Некротизирующая активность и усиление сосудистой проницаемости
	энтеротоксин	нарушает проницаемость слизистой тонкого кишечника
Токсины (второстепенные)	дельта-токсин	гемолиз
	тета-токсин	гемолиз, цитолиз
	каппа-токсин	коллагеназа, желатиназа, некротизирующая активность
	лямбда-токсин	протеаза
	мю-токсин	гиалуронидаза: увеличивает проницаемость тканей
	ню-токсин	дезоксирибонуклеаза; гемолитическая, некротизирующая активность
	нейраминидаза	повреждает ганглиозиды клеточных рецепторов, способствует тромбозу в капиллярах

**Факторы патогенности бактероидов**

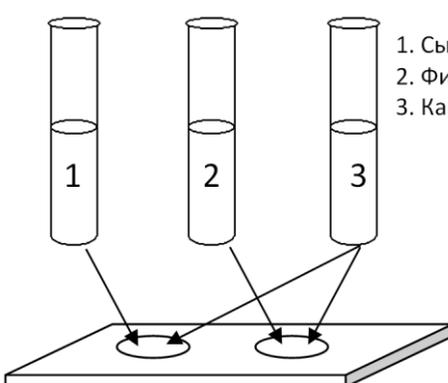
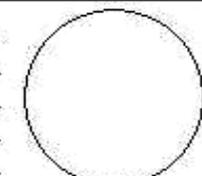
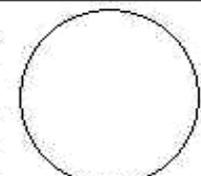
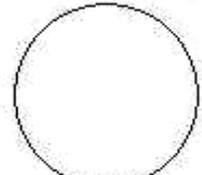
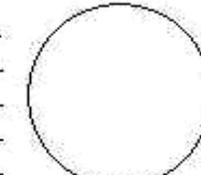
Факторы патогенности		Биологический эффект
Токсины	эндотоксин	общетоксическое действие
	лейкоцидин	повреждает лейкоциты
Ферменты	коллагеназа	разрушает коллагеновые волокна соединительной ткани - распространение гнойного процесса
	ДНК-аза, гепариназа	вызывают внутрисосудистые изменения из-за повышенной свертываемости крови
	фибринолизин	растворяет тромбы
	бета-лактамаза	разрушает бета-лактамы антибиотиков
Поверхностные структуры клетки	пили	адгезия к субстрату
	капсула	защищает бактерии от фагоцитоза
Метаболиты	летучие жирные кислоты	угнетают хемотаксис и кислородозависимую цитотоксичность лейкоцитов

**ТЕМА: Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых спирохетами, риккетсиями, хламидиями, микоплазмами.**

**Перечень изучаемых вопросов:**

Спирохеты, классификация, общая характеристика.  
 Трепонема, систематика. Возбудитель сифилиса, характеристика, факторы патогенности. Патогенез и проявления в полости рта сифилиса. Методы микробиологической диагностики сифилиса. Принципы терапии и профилактики сифилиса.  
 Трепонема полости рта, общая характеристика, роль в патологии. Фузоспирохетозы: этиология, характеристика возбудителей, патогенез, клинические формы.  
 Лептоспиры, боррелии, Роль в патологии человека. Возбудители Лайм-боррелиоза.  
 Риккетсии: систематическое положение, общая характеристика и экология, роль в патологии человека.  
 Хламидии: классификация, особенности биологии, роль в патологии человека. Микробиологическая диагностика хламидиозов.  
 Микоплазмы: систематическое положение, общая характеристика, роль в патологии человека.

**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты
<p>1. Постановка реакции микропреципитации на стекле (VDRL*) с целью серодиагностики сифилиса.</p>  <p>1. Сыворотка пациента 1:20                  2. Физ. раствор (контроль)                  3. Кардиолипиновый антиген</p>	<p>2. Зарисовать демонстрационные препараты:</p> <p>1) Трепонема в зубном налёте, окраска по Граму</p> <p>2) Боррелии в крови больного, окраска по Романовскому-Гимзе.</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div data-bbox="1030 813 1523 1021"> <p>Препарат _____</p> <p>Окраска _____</p>  </div> <div data-bbox="1568 813 2060 1021"> <p>Препарат _____</p> <p>Окраска _____</p>  </div> </div> <p>3) Риккетсии Провачека в чистой культуре, окраска по Граму</p> <p>4) Хламидии, окраска по Романовскому-Гимзе</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div data-bbox="1030 1149 1523 1356"> <p>Препарат _____</p> <p>Окраска _____</p>  </div> <div data-bbox="1568 1149 2060 1356"> <p>Препарат _____</p> <p>Окраска _____</p>  </div> </div>
<p>*VDRL (Venereal Disease Research Laboratory) – реакция микропреципитации для выявления антител к неспецифическому кардиолипину трепонем (липопротеиду). Поскольку липопротеиды трепонем сходны с липопротеидами тканей животных и человека, результаты нетрепонемных реакций часто бывают ложноположительными. Ложноположительные результаты возможны во время беременности, при аутоиммунных, инфекционных заболеваниях и у наркоманов. Окончательно подтверждают диагноз сифилиса только положительные трепонемные реакции (со специфическим трепонемным антигеном).</p>	

<p>3. Учет РСК с целью диагностики сыпного тифа.</p> <p>*Диагностический титр – 1:160</p>	<table style="margin: auto;"> <tr> <td style="text-align: center;">1/20</td> <td style="text-align: center;">1/40</td> <td style="text-align: center;">1/80</td> <td style="text-align: center;">1/160</td> <td style="text-align: center;">1/320</td> <td style="width: 20px;"></td> <td style="text-align: center;">КС</td> <td style="text-align: center;">КА</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;"></td> <td></td> <td style="text-align: center;"></td> <td style="text-align: center;"></td> </tr> </table> <p>Заключение: _____</p>	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320		КС	КА																						
1/20	1/40	1/80	1/160	1/320		КС	КА																								
<p>4. Учет РПГА для дифференциальной диагностики эпидемического и рецидивного сыпного тифа.</p>	<table style="margin: auto; text-align: center;"> <tr> <td style="width: 40%;"></td> <td style="text-align: center;">1/10</td> <td style="text-align: center;">1/20</td> <td style="text-align: center;">1/40</td> <td style="text-align: center;">1/80</td> <td style="text-align: center;">1/160</td> <td style="text-align: center;">1/320</td> <td style="text-align: center;">1/640</td> <td style="text-align: center;">КС</td> <td style="text-align: center;">КА</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">I _____</td> <td><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">II _____</td> <td><input type="checkbox"/></td> </tr> </table> <p>Заключение: _____</p>		1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	КС	КА	I _____	<input type="checkbox"/>	II _____	<input type="checkbox"/>																
	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	КС	КА																						
I _____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																						
II _____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																						

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

**Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 4 (22).**

Заболевания, вызываемые спирохетами		Основные признаки патогенных для человека спирохет			
Основные виды	Вызываемые заболевания	Признак	Роды спирохет		
			<i>Treponema</i>	<i>Borrelia</i>	<i>Leptospira</i>
		Размеры	Длина 5-20 мкм	3-20- мкм	7-14 мкм
			Толщина 0,09-0,5 мкм	0,2-0,5 мкм	0,1-0,15 мкм
		Количество завитков	8-12	2-8	12-24
		Форма завитков	Равномерные, правильные	Неравномерные, неправильные	Равномерные, правильные; вторичные завитки
		Форма клетки (нарисуйте)			
		Окрашивание по Романовскому-Гимзе	Розовый цвет	Сине-фиолетовый цвет	Розовый, красный цвет
		Культуральные свойства			
		Антигены			
		Факторы патогенности			

<b>Патогенез сифилиса</b>			
Стадии болезни	Патогенез	Проявления в челюстно-лицевой области и полости рта	Диагностика (метод, материал для исследования)
Ранний врожденный сифилис			
Поздний врожденный сифилис			
Приобретенный первичный сифилис			
Приобретенный вторичный сифилис			
Приобретенный третичный сифилис			
<p><b>Лабораторная диагностика болезни Лайма (Лайм-боррелиоза)</b></p> <p><b>Микроскопический метод:</b> темнопольная микроскопия материала (соскобы кожных поражений, центрифугат плазмы, СМЖ, мочи), микроскопия мазков, импрегнированных серебром, РИФ, электронная микроскопия.</p> <p><b>Бактериологический метод:</b> в 80% случаев удается выделить культуру <i>B. burgdorferi</i> из кожных поражений (1 стадия болезни) на специальных питательных средах.</p> <p><b>Молекулярно-генетический метод:</b> ПЦР позволяет идентифицировать ДНК возбудителя в образцах кожи, крови, спинномозговой жидкости.</p> <p><b>Серологический метод:</b> ИФА, непрямая РИФ, иммуноблоттинг. Иногда наблюдаются ложно-положительные результаты из-за перекрестных реакций у пациентов с сифилисом, мононуклеозом, ревматоидным артритом и др. В связи с замедленным иммунным ответом антиборрелиозные антитела выявляются на поздних стадиях болезни.</p>		<p style="text-align: center;"><b>Серологическая диагностика сифилиса</b></p> <p>Применяют комплекс серологических реакций – скрининговые (отборочные) тесты и диагностические (подтверждающие) тесты.</p> <p><u>Скрининг-диагностика:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ «нетрепонемные» тесты (определяют АТ к кардиолипиновому (неспецифическому) АГ);</li> <li>▪ положительны на ранних этапах заболевания;</li> <li>▪ в количественном варианте используются также для контроля эффективности лечения;</li> <li>▪ используются реакции микропреципитации (РМП) – RPR (Rapid Plasma Reagin) и VDRL; РПГА с кардиолипиновым антигеном.</li> </ul> <p><u>Для подтверждения диагноза:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ «трепонемные» тесты - определяют АТ к трепонемному (специфическому) АГ;</li> <li>▪ высокочувствительны и высокоспецифичны;</li> <li>▪ для контроля излеченности не используются;</li> <li>▪ применяются: ИФА, РПГА, РИФ со специфическим ультразвуковым экстрактом трепонем.</li> <li>▪ Реакция иммобилизации трепонем (РИТ) отменена.</li> </ul>	

**Диагностика и характеристика возбудителей риккетсиозов, хламидиозов и микоплазмозов**

		<b>риккетсиозы</b>	<b>хламидиозы</b>	<b>микоплазмозы</b>
<b>Характеристика возбудителя</b>	Виды микроорганизмов			
	Морфология и особенности физиологии			
	Культивирование			
	Заболевания, патогенез			
<b>Диагностика</b>	Материал для исследования			
	Микроскопический метод			
	Культуральный метод			
	Серологический метод			
	Аллергический метод			
	Молекулярно-генетический метод			

**ТЕМА: ИТОГОВОЕ ЗАНЯТИЕ: «Частная микробиология».**

1. Стафилококки, классификация, общая характеристика, роль в патологии. Стафилококковые инфекции, патогенез, иммунитет. Методы диагностики стафилококковых инфекций. Больничные стафилококки. Принципы терапии и профилактики.

2. Стрептококки, классификация, общая характеристика, антигенная структура. Острые и хронические стрептококковые инфекции. Роль стрептококков в патологии полости рта. Методы диагностики стрептококковых инфекций. Принципы терапии и профилактики. Пневмококк: свойства, роль в патологии.

3. Менингококки, общая характеристика. Менингококковые инфекции, патогенез, иммунитет, методы диагностики, принципы терапии и профилактики.

4. Гонококки, общая характеристика. Патогенез, иммунитет, диагностика острой и хронической гонореи, принципы терапии и профилактики. Гонококковый стоматит.

5. Общая характеристика семейства энтеробактерий. Общие принципы микробиологической диагностики острых кишечных инфекций.

6. Кишечная палочка, общая характеристика. Патогенные и условно-патогенные эшерихии. Заболевания, вызываемые эшерихиями, патогенез, диагностика

7. Сальмонеллы. Общая характеристика и классификация. Заболевания, вызываемые сальмонеллами: патогенез, микробиологическая диагностика.

8. Шигеллы: классификация, характеристика. Бактериальная дизентерия: патогенез, микробиологическая диагностика.

9. Этиология пищевых интоксикаций и токсикоинфекций бактериальной природы. Материалы и методы диагностики.

10. Клебсиеллы, общая характеристика. Роль в патологии человека. Методы диагностики клебсиелл зов.

11. Кампилобактерии, хеликобактер: характеристика, роль в патологии.

12. Синегнойная палочка, общая характеристика. Роль в патологии человека. Микробиологическая диагностика синегнойной инфекции.

13. Возбудитель дифтерии, общая характеристика. Патогенез дифтерии. Проявления дифтерии в полости рта. Иммунитет при дифтерии. Диагностика дифтерии, принципы терапии и профилактики.

14. Возбудитель коклюша, общая характеристика. Дифференциация с возбудителем паракоклюша. Патогенез, иммунитет, диагностика, принципы терапии и профилактики коклюша.

15. Актиномицеты, общая характеристика. Роль в патологии полости рта. Актиномикоз, характеристика возбудителя, методы диагностики.

16. Классификация микобактерий. Общая характеристика возбудителей туберкулеза. Патогенез, иммунитет, методы диагностики, принципы терапии и профилактики туберкулеза. Проявления туберкулеза в полости рта.

17. Классификация анаэробов, общая характеристика. Неспорообразующие анаэробы. Роль в патологии полости рта.

18. Возбудитель столбняка, общая характеристика. Патогенез и иммунитет, принципы терапии и профилактики столбняка.

19. Возбудители газовой гангрены, общая характеристика. Патогенез, принципы терапии и профилактики газовой гангрены.

20. Неспорообразующие анаэробы: классификация, характеристика, роль в патологии полости рта.

21. Принципы микробиологической диагностики анаэробных инфекций.

22. Классификация и общая характеристика спирохет.

23. Возбудители боррелиозов и лептоспирозов. Лайм-боррелиоз: этиология, патогенез, иммунитет, микробиологическая диагностика, профилактика.

24. Классификация трепонем и трепонематозов. Характеристика возбудителя сифилиса. Патогенез, иммунитет, принципы терапии и профилактики сифилиса, проявления в полости рта. Методы диагностики сифилиса.

25. Спирохеты полости рта. Фузоспирохетозы.

26. Риккетсии: систематическое положение, общая характеристика и экология, роль в патологии человека.

27. Хламидии: классификация, особенности биологии, роль в патологии. Микробиологическая диагностика хламидиозов.

28. Микоплазмы: систематическое положение, общая характеристика, роль в патологии человека.

**Практические навыки:**

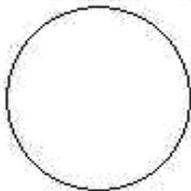
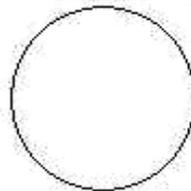
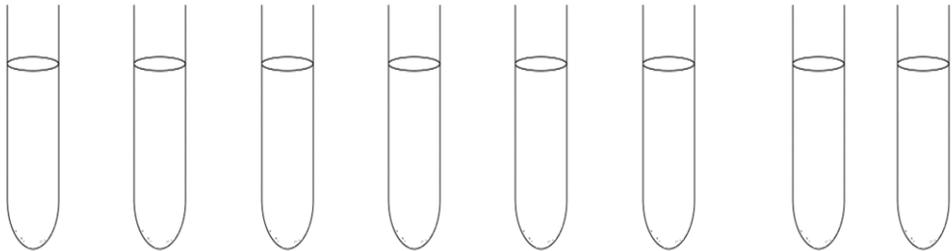
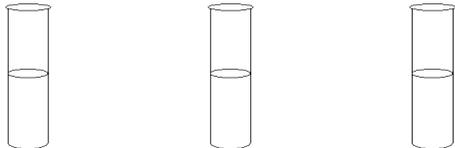
1. Определить морфологию стафилококка, чистая культура, окраска по Граму.
2. Определить морфологию стрептококка, чистая культура, окраска по Граму.
3. Определить морфологию гонококка в гное, окраска по Граму.
4. Определить морфологию энтеробактерий, чистая культура, окраска по Граму.
5. Определить морфологию смеси стафилококка и кишечной палочки, окраска по Граму.
6. Определить морфологию бактероидов, чистая культура, окраска по Граму.
7. Определить морфологию коринебактерий, чистая культура, окраска по Леффлеру.
8. Определить морфологию клебсиелл, чистая культура, окраска по Гинсу-Бурри.
9. Определить морфологию микобактерий в мокроте, окраска по Цилю-Нильсену.

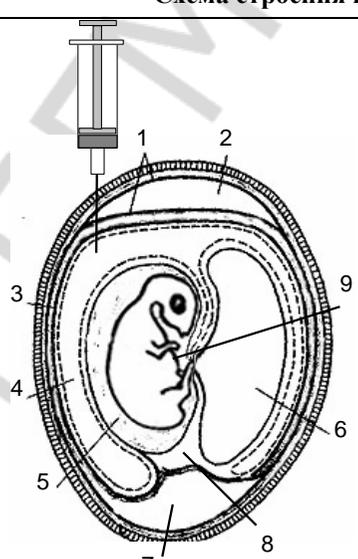
**ТЕМА: Методы вирусологических исследований. Бактериофаги.**

**Перечень изучаемых вопросов:**

Вирусы. Систематика и морфология вирусов. Взаимодействие вирусов с чувствительными клетками. Строгий паразитизм и цитотропизм вирусов. Механизм репродукции вирусов. Типы вирусной инфекции. Механизмы противовирусного иммунитета. Принципы терапии и профилактики. Общие принципы диагностики вирусных инфекций. Вирусы бактерий (бактериофаги). Свойства и практическое использование бактериофагов. Фагодиагностика и фаготипирование.

**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты		
<p>1. Зарисовать демонстрационные препараты:</p> <p>1) Культура клеток куриных фибробластов, эозин;                      2) Культура Нер-2;                      3) ЦПД (цитопатическое действие вируса)                      4) Реакция гемадсорбции.</p>	<p>Препарат _____</p>  <p>Окраска _____</p>	<p>Препарат _____</p>  <p>Окраска _____</p>	<p><i>ЦПД</i> – деструктивные изменения отдельных клеток и клеточного монослоя культуры, возникающие в результате продуктивной вирусной инфекции клеток, метод индикации вирусов в культуре клеток.</p> <p><i>РГАдс</i> – метод индикации вирусов в культуре клеток. Феномен гемадсорбции заключается в способности эритроцитов человека или животных адсорбироваться на поверхности клеток культуры, инфицированных рядом вирусов (например, орто- и парамиксовирусов и др.) в ранние сроки их репродукции (до развития ЦПД) в результате встраивания гемагглютининов вируса в мембрану клеток.</p>
<p>2. Титрование вируса по цветной пробе.</p> <p>Ингредиенты:                      - культура клеток,                      - разведения вируса</p>	<p>10<sup>-1</sup>    10<sup>-2</sup>    10<sup>-3</sup>    10<sup>-4</sup>    10<sup>-5</sup>    10<sup>-6</sup>    КК    КВ</p>  <p>Закключение: _____</p>	<p><b>Цветная проба</b></p>  <p>Исходный цвет среды      Изменение цвета в результате метаболизма клеток      Сохранение цвета среды в результате гибели клеток под действием вируса</p>	

<p>3. Заражение куриных эмбрионов вирусом гриппа в аллантоисную полость</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Изучить схему строения куриного эмбриона (8–11 дней)</li> <li>2. Изучить куриный эмбрион в овоскопе и установить его жизнеспособность:             <ol style="list-style-type: none"> <li>а) по размеру тени эмбриона</li> <li>б) наличию развитого сосудистого рисунка</li> <li>в) активной подвижности эмбриона</li> <li>г) очертить границу воздушного мешка</li> </ol> </li> <li>3. Установить эмбрион на подставку и провести обработку скорлупы по схеме:             <ol style="list-style-type: none"> <li>а) 70% спирт</li> <li>б) 5% спиртовой раствор йода</li> <li>в) 70% спирт</li> </ol> </li> <li>4. Произвести заражение эмбриона в следующей последовательности:             <ol style="list-style-type: none"> <li>а) фламбировать бранши ножниц;</li> <li>б) осторожно пробить скорлупу на 3–5 мм выше границы воздушного мешка;</li> <li>в) набрать в одноразовый «инсулиновый шприц» 0,2 мл материала (живая вакцина против гриппа);</li> <li>г) ввести иглу шприца по канюлю (25 мм) в прокол перпендикулярно плоскости стола и выпустить материал.</li> </ol> </li> <li>5. Провести повторную обработку скорлупы в зоне прокола согласно пункту 3.</li> <li>6. Герметизировать эмбрион лейкопластырем, маркировать эмбрион (номер группы, инициалы исследователя).</li> </ol>	<p style="text-align: center;"><b>Схема строения куриного эмбриона:</b></p>  <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Подскорлуповая оболочка</li> <li>2. Воздушный мешок</li> <li>3. Хорион-аллантоисная оболочка</li> <li>4. Хорион-аллантоисная полость</li> <li>5. Полость амниона</li> <li>6. Желточный мешок</li> <li>7. Белок</li> <li>8. Экстраэмбриональная полость</li> <li>9. Эмбрион</li> </ol>
---	--	---

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

### Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 6 (24)

**Лабораторная диагностика вирусных инфекций** складывается из 4-х методических направлений:

1) вирусоскопический метод: визуальное обнаружение вируса, его компонентов, вирусиндуцированных изменений клеток непосредственно в исследуемом материале с помощью электронной и световой микроскопии. К нему примыкают иммунная электроноскопия (ИЭМ) и иммунофлюоресценция (ИФ).

2) вирусологический метод: выделение вируса из клинического материала путём заражения клеточной системы (культуры клеток, куриных эмбрионов, лабораторных животных) с последующей индикацией и идентификацией вируса. Идентификацию выделенного вируса проводят, как правило, с помощью серологических реакций (сероидентификация), либо молекулярно-генетическими методами (молекулярная гибридизация, ПЦР). Применяют как специальные серологические реакции, использующиеся только в вирусологии (РТГА, РН, РТГАдс), так и общепринятые серологические реакции (РСК, РПГА, ИФА, ИФ и др.).

3) серологический метод (серодиагностика): обнаружение вирусных АГ в материале или противовирусных АТ в сыворотке пациентов. Однократно проведенное серологическое исследование лишь в редких случаях позволяет диагностировать вирусное заболевание (например, при ВИЧ-инфекции). В большинстве случаев серодиагностика носит ретроспективный характер: требуются парные сыворотки, взятые в острой фазе заболевания и спустя 2–4 недели.

4) молекулярно-генетический метод: обнаружение вирусспецифических фрагментов генома вирусов в материале (методы МГ, ПЦР).

По срокам различают методы быстрой (экспресс-диагностики), ранней и ретроспективной диагностики.

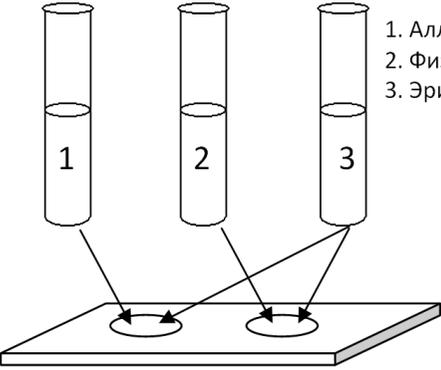
**ТЕМА: Методы вирусологической диагностики заболеваний, вызываемых орто-, парамиксовирусами. Вирус краснухи.****Перечень изучаемых вопросов:**

Вирусы гриппа: классификация, характеристика, антигенная структура и изменчивость. Грипп: патогенез, иммунитет, этиологическая диагностика, профилактика, химиотерапия.

Парамиксовирусы: классификация, характеристика, роль в патологии. Профилактика парамиксовирусных инфекций.

Вирус краснухи. Общая характеристика. Роль в патологии. Проявления краснухи в челюстно-лицевой области. Профилактика краснухи.

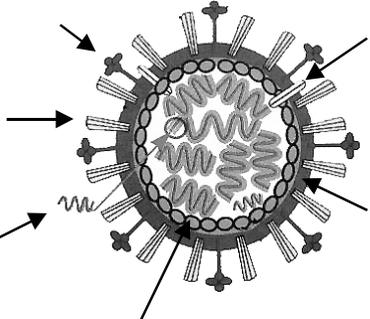
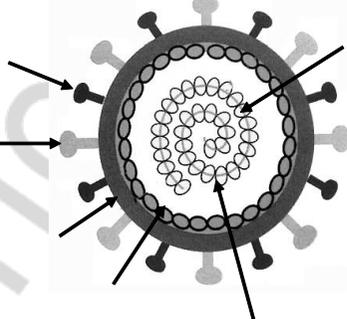
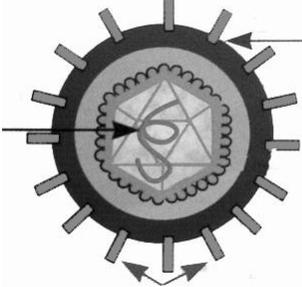
**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты	
1. Вскрытие куриных эмбрионов.	<p>1. Куриные эмбрионы инкубируют 3-4 суток. Перед вскрытием их на 2-3 ч помещают в холодильник при 4–6°C. При охлаждении кровеносные сосуды сжимаются, что предупреждает кровотечение и возможность адсорбции вирусов на эритроцитах в процессе вскрытия эмбриона и забора материала.</p> <p>2. Скорлупу в месте воздушной камеры обрабатывают 70%-ным спиртом, обжигают на пламени, снова обрабатывают спиртовой настойкой йода и опять обжигают.</p> <p>3. Чтобы получить аллантоисную и амниотическую жидкости, скорлупу стерильными ножницами обрезают на 2–3 мм выше границы воздушной камеры. Яйцо слегка наклоняют, удаляют оставшуюся подскорлуповую оболочку и пастеровской пипеткой, избегая повреждения сосудов, отбирают 6-10 мл аллантоисной жидкости.</p> <p>4. После этого забирают амниотическую жидкость (0,5-1,5 мл).</p> <p>5. Эмбрион извлекают в чашку Петри. Оставшуюся хорион-аллантоисную оболочку тщательно расправляют и макроскопически исследуют на темном фоне. Отделяют и помещают в отдельную чашку желточный мешок.</p> <p>6. Материал, взятый из куриных эмбрионов, обязательно проверяют на стерильность (присутствие бактерий).</p> <p>7. Как правило, ортомиксовирусы не вызывают видимых повреждений тканей эмбриона. Для быстрого обнаружения гемагглютинирующего вируса в исследуемой эмбриональной жидкости (содержимое аллантоисной и амниотической полостей) ставят реакцию гемагглютинации на стекле.</p>	
2. Постановка РГА для индикации вируса	<p><b>Постановка реакции гемагглютинации:</b></p> <p>На поверхность предметного стекла наносят каплю исследуемой жидкости и каплю 5%-ной взвеси эритроцитов кур и перемешивают.</p> <p>В положительном случае реакция наступает через 3–5 мин. Если в жидкости находится гемагглютинирующий вирус, то при взаимодействии его с эритроцитами образуется агглютинат (происходит агглютинация эритроцитов), а надосадочная жидкость становится прозрачной. Если вирус отсутствует или не обладает гемагглютинирующими свойствами, эритроциты остаются во взвешенном состоянии, жидкость остается мутной.</p>	<p><b>РГА:</b></p>  <p>1. Аллантоисная жидкость (опыт) 2. Физ. раствор (контроль) 3. Эритроциты куриные</p> <p><b>Заключение:</b></p>

3. Учёт РТГА для определения типа вируса гриппа (сероидентификация).	<table border="1"> <tr> <td></td> <td colspan="9">диагностическая сыворотка против вируса</td> </tr> <tr> <td></td> <td>A(H1N1)</td> <td>A(H3N2)</td> <td>A(H5N1)</td> <td>КС-1</td> <td>КС-2</td> <td>КС-3</td> <td>КЭ</td> <td>КВ1</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Вирус, выделенный у больного Ф. (КВ1)</td> <td><input type="radio"/></td> </tr> <tr> <td>Вирус, выделенный у больного Н. (КВ2)</td> <td><input type="radio"/></td> <td><input type="radio"/></td> <td><input type="radio"/></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td><input type="radio"/></td> <td><input type="radio"/></td> </tr> <tr> <td colspan="11">Заключение: _____</td> </tr> </table>		диагностическая сыворотка против вируса										A(H1N1)	A(H3N2)	A(H5N1)	КС-1	КС-2	КС-3	КЭ	КВ1			Вирус, выделенный у больного Ф. (КВ1)	<input type="radio"/>	Вирус, выделенный у больного Н. (КВ2)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>						<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	Заключение: _____																			
	диагностическая сыворотка против вируса																																																						
	A(H1N1)	A(H3N2)	A(H5N1)	КС-1	КС-2	КС-3	КЭ	КВ1																																															
Вирус, выделенный у больного Ф. (КВ1)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>																																													
Вирус, выделенный у больного Н. (КВ2)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>						<input type="radio"/>	<input type="radio"/>																																													
Заключение: _____																																																							
4. Учет РТГА с парными сыворотками для серодиагностики гриппа.	<table border="1"> <tr> <td></td> <td>1/10</td> <td>1/20</td> <td>1/40</td> <td>1/80</td> <td>1/160</td> <td>1/320</td> <td>КС1</td> <td>КЭ</td> <td>КВ</td> </tr> <tr> <td>С1 (1 неделя болезни)</td> <td><input type="radio"/></td> </tr> <tr> <td>С2 (3 неделя болезни)</td> <td><input type="radio"/></td> <td><input type="radio"/></td> <td><input type="radio"/></td> <td><input type="radio"/></td> <td><input type="radio"/></td> <td><input type="radio"/></td> <td>КС2</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td colspan="10">Заключение: _____</td> </tr> </table>		1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	КС1	КЭ	КВ	С1 (1 неделя болезни)	<input type="radio"/>	С2 (3 неделя болезни)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	КС2			Заключение: _____																															
	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	КС1	КЭ	КВ																																														
С1 (1 неделя болезни)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>																																														
С2 (3 неделя болезни)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	КС2																																																
Заключение: _____																																																							
<b>Демонстрация.</b> Препараты для специфической профилактики и терапии гриппа, кори.																																																							

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

**Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 7 (25).**

Структура _____ вирусов	Структура _____ вирусов	Структура _____ вирусов
 <p>Размеры _____            Геном _____            1. Гемагглютинин            2. Нейраминидаза            3. Суперкапсид            4. Матриксный белок М1            5. Белок М2            6. Рибонуклеопротеид</p>	 <p>Размеры _____            Геном _____            1. Гликопротеин F            2. Гликопротеин HN, H, G            3. Суперкапсид            4. Матриксный белок            5. Нуклеокапсид            6. РНК</p>	 <p>Размеры _____            Геном _____            1. Суперкапсид            2. РНК            3. Гликопротеины</p>

Репозиторий БГМУ

Возбудители острых респираторных вирусных инфекции (ОРВИ)					Лабораторная диагностика гриппа					
Клинические проявления (симптомы)	Основные возбудители	Другие возбудители			<p><b>Вирусологический метод:</b> носоглоточное отделяемое в первые три дня болезни забирают с помощью тампонов. Тампоны прополаскивают в физиологическом растворе, отжимают и утилизируют, а жидкость отстаивают на холоде и средний слой используют для исследования. Вирус можно концентрировать с помощью эритроцитов морской свинки. В любом случае перед заражением эмбрионов материал обрабатывают антибиотиками (по 500 ед пенициллина+стрептомицина/мл), выдерживают 1 час при комнатной температуре, проверяют на стерильность и используют для заражения. Заражают куриные эмбрионы, инкубируют их 3-4 дня при 35°C и проводят вскрытие эмбриона. Постановка реакции гемагглютинации для индикации вируса. Идентификация вируса в реакции РТГА с набором диагностических сывороток (к эталонным штаммам вирусов соответствующих серологических типов).</p> <p><b>Серологическая диагностика:</b> обычно применяют РСК и РТГА. При этом РСК выявляет антитела к серотипам вируса гриппа А, а РТГА позволяет дифференцировать штаммы вирусов в пределах определенного серотипа. Как РСК, так и РТГА ставят с набором типовых штаммов (со стандартным диагностикумом). Тем не менее, иногда требуется применение набора свежeweделенных штаммов.</p> <p><b>Лабораторная диагностика эпидемического паротита</b></p> <p>Обычно не требуется, поскольку симптоматика достаточно характерна и показательна. Применяется при атипичном течении с поражением внутренних органов и желез (панкреатит, тиреоидит, орхит), при необходимости дифференциальной диагностики с поражениями слюнных желез другого генеза.</p> <p><b>Серологическая диагностика:</b> определяют прирост антител в ИФА (РСК, РТГА).</p> <p><b>Вирусологический метод:</b> исследуют слюну (до 3 дня), ликвор (до 6 дня) и мочу (до 9 дня с момента заболевания):</p> <p>а) выделение вирусов паротита на 7-8 дневных куриных эмбрионах. Заражение производят в полость амниона. Эмбрионы инкубируют 6-7 дней при 35°C. Для индикации вируса используют РГА с эритроцитами кур или морских свинок и амниотической жидкостью. Если агглютинирующая активность слабая (отсутствует), проводят пассажи на эмбрионах. В качестве материала используют гомогенат амниотической оболочки. После третьего отрицательного пассажа делают отрицательное заключение;</p> <p>б) выделение вируса на культуре клеток. Заражают культуры клеток почек эмбриона человека, HELA и инкубируют при 35°C. Индикация по ЦПД: через 48-72 часа в культуре появляются гигантские многоядерные клетки и симпласты с цитоплазматическими включениями. Позже наблюдается полное разрушение клеточного монослоя;</p> <p>в) для идентификации вирусов, выделенных на эмбрионах и культурах клеток, используют РИФ, РН, РТГАдс, РТГА, РСК.</p> <p><b>Молекулярно-генетический метод (ПЦР).</b></p>					
Бронхиолиты (длительный непродуктивный кашель, одышка, обструкция бронхов)	Респираторно-синцитиальный вирус (РС-вирус)	Вирусы гриппа Вирусы парагриппа Аденовирусы Риновирусы								
Простуда (катаральные явления, субфебрильная лихорадка)	Риновирусы Коронавирусы	Вирусы гриппа Вирусы парагриппа Энтеровирусы (EV68-71) Вирусы Коксаки А Аденовирусы Метапневмовирус РС-вирус								
Круп ложный (хриплый «лающий» кашель, затрудненное дыхание, обструкция дыхательных путей)	Вирусы парагриппа	Вирусы гриппа РС-вирус								
Гриппоподобный синдром (фебрильная или высокая лихорадка, озноб, недомогание, боли в мышцах (суставах), головная боль, сухой кашель)	Вирусы гриппа	Вирусы парагриппа Аденовирусы								
Пневмония	Вирусы гриппа РС-вирус Аденовирусы	Вирусы парагриппа Вирусы Коксаки В Риновирусы Метапневмовирус Коронавирус								
Рецепторы орто-, парамиксовирусов и пневмовирусов					Лабораторная диагностика кори					
		H	N	F	G	<p>Обычно не требуется, поскольку клинические проявления достаточно характерны. Необходима для диагностики атипичных случаев; диагностики массовых заболеваний; расследования летальных случаев.</p> <p><b>Экспресс методы:</b> выявление антигенов вируса в РИФ, обнаружение характерных многоядерных клеток в окрашенных препаратах. Материалом служат отпечатки слизистой носоглотки, соскобы с элементов сыпи.</p> <p><b>Вирусологический метод:</b> вирус выделяют из крови и носоглоточного смыва (в период продрома и 1 сутки после появления сыпи). Заражают культуры клеток почек эмбриона человека, Vero и др. Индикация по ЦПД: через 3-4 суток инкубации при 35°C обнаруживают характерное ЦПД – гигантские вакуолизированные многоядерные клетки и синцитий с включениями в цитоплазме; через 7-9 дней появляются внутриядерные включения. Кроме того, наблюдается круглоклеточная дегенерация и образование веретеновидных клеток с цитоплазматическими и внутриядерными включениями. Идентификацию проводят в РИФ, РН и РТГА.</p> <p><b>Серологический метод:</b> ИФА, РНГА в парных сыворотках.</p> <p><b>Молекулярно-генетический метод (ПЦР).</b></p>				
вирусы гриппа		+	+	-	-					
вирусы парагриппа		+	+	+	-					
вирус эпидемического паротита		+	+	+	-					
вирус кори		+	-	+	-					
респираторно-синцитиальный вирус		-	-	+	+					
<p>H – гемагглютинин, N - нейраминидаза, F - белок слияния (образование симпластов, синцития), G – связь с рецепторами клетки.</p>										

**ТЕМА: Методы вирусологической диагностики энтеровирусных заболеваний и вирусных гепатитов.**

**Перечень изучаемых вопросов:**

Энтеровирусы: классификация, характеристика. Энтеровирусные инфекции: патогенез, проявления в полости рта. Патогенез, иммунитет, специфическая профилактика и диагностика полиомиелита.

Вирусы гепатитов А, В, С, D, E, G, F, систематическое положение, общая характеристика. Пути заражения. Патогенез, иммунитет, методы диагностики гепатита В. Профилактика вирусных гепатитов в стоматологической практике.

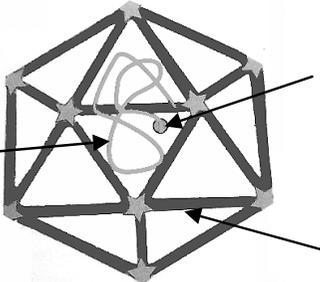
**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты																																																									
<p><b>Демонстрация.</b> 1. Титрование вируса полиомиелита в культуре клеток по цветной пробе.</p>	<p style="text-align: center;">Определение титра цитопатических доз вируса (ТЦД)</p> <table style="width: 100%; text-align: center;"> <tr> <td><math>10^{-1}</math></td> <td><math>10^{-2}</math></td> <td><math>10^{-3}</math></td> <td><math>10^{-4}</math></td> <td><math>10^{-5}</math></td> <td><math>10^{-6}</math></td> <td>КК</td> <td>КВ</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </table> <p style="text-align: right;"><b>Заключение:</b> ТЦД = _____</p>		$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	КК	КВ																																																
$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	КК	КВ																																																			
																																																										
<p>2. Учет реакции нейтрализации в культуре клеток с парными сыворотками для серодиагностики полиомиелита.</p> <p>С1 – сыворотка, взятая при поступлении С2 – сыворотка, взятая на 3-ей неделе болезни</p> <p>КВ1 – <i>Human poliovirus 1</i> КВ2 – <i>Human poliovirus 2</i></p>	<p style="text-align: center;">Реакция нейтрализации (РН) в культуре клеток с парными сыворотками для серодиагностики полиомиелита</p> <table style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 50%; vertical-align: top;"> <p><i>Вариант РН №1</i></p> <table style="width: 100%; text-align: center;"> <tr> <td></td> <td>1/10</td> <td>1/20</td> <td>1/40</td> <td>1/80</td> <td>1/160</td> <td>КС1</td> <td>КЭ</td> <td>КВ1</td> </tr> <tr> <td><b>С1</b></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td><b>С2</b></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </table> <p>Титр АТ первой сыворотки в РН равен _____ Титр АТ второй сыворотки в РН равен _____</p> </td> <td style="width: 50%; vertical-align: top;"> <p><i>Вариант РН №2</i></p> <table style="width: 100%; text-align: center;"> <tr> <td></td> <td>1/10</td> <td>1/20</td> <td>1/40</td> <td>1/80</td> <td>1/160</td> <td>КС1</td> <td>КЭ</td> <td>КВ2</td> </tr> <tr> <td><b>С1</b></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td><b>С2</b></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </table> <p>Титр АТ первой сыворотки в РН равен _____ Титр АТ второй сыворотки в РН равен _____</p> </td> </tr> </table>		<p><i>Вариант РН №1</i></p> <table style="width: 100%; text-align: center;"> <tr> <td></td> <td>1/10</td> <td>1/20</td> <td>1/40</td> <td>1/80</td> <td>1/160</td> <td>КС1</td> <td>КЭ</td> <td>КВ1</td> </tr> <tr> <td><b>С1</b></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td><b>С2</b></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </table> <p>Титр АТ первой сыворотки в РН равен _____ Титр АТ второй сыворотки в РН равен _____</p>		1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	КС1	КЭ	КВ1	<b>С1</b>									<b>С2</b>									<p><i>Вариант РН №2</i></p> <table style="width: 100%; text-align: center;"> <tr> <td></td> <td>1/10</td> <td>1/20</td> <td>1/40</td> <td>1/80</td> <td>1/160</td> <td>КС1</td> <td>КЭ</td> <td>КВ2</td> </tr> <tr> <td><b>С1</b></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td><b>С2</b></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </table> <p>Титр АТ первой сыворотки в РН равен _____ Титр АТ второй сыворотки в РН равен _____</p>		1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	КС1	КЭ	КВ2	<b>С1</b>									<b>С2</b>								
<p><i>Вариант РН №1</i></p> <table style="width: 100%; text-align: center;"> <tr> <td></td> <td>1/10</td> <td>1/20</td> <td>1/40</td> <td>1/80</td> <td>1/160</td> <td>КС1</td> <td>КЭ</td> <td>КВ1</td> </tr> <tr> <td><b>С1</b></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td><b>С2</b></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </table> <p>Титр АТ первой сыворотки в РН равен _____ Титр АТ второй сыворотки в РН равен _____</p>		1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	КС1	КЭ	КВ1	<b>С1</b>									<b>С2</b>									<p><i>Вариант РН №2</i></p> <table style="width: 100%; text-align: center;"> <tr> <td></td> <td>1/10</td> <td>1/20</td> <td>1/40</td> <td>1/80</td> <td>1/160</td> <td>КС1</td> <td>КЭ</td> <td>КВ2</td> </tr> <tr> <td><b>С1</b></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td><b>С2</b></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </table> <p>Титр АТ первой сыворотки в РН равен _____ Титр АТ второй сыворотки в РН равен _____</p>		1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	КС1	КЭ	КВ2	<b>С1</b>									<b>С2</b>											
	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	КС1	КЭ	КВ1																																																		
<b>С1</b>																																																										
<b>С2</b>																																																										
	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	КС1	КЭ	КВ2																																																		
<b>С1</b>																																																										
<b>С2</b>																																																										
<p><b>Заключение:</b> _____</p>																																																										

<p>3. Постановка ИФА для диагностики вирусного гепатита С:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1) раскапать по 100 мкл контролей и образцов согласно карте постановки (см. схему);</li> <li>2) заклеить стрип клейкой лентой и инкубировать в термостате 1 час при 37°C;</li> <li>3) отмыть стрип 5 раз;</li> <li>4) раскапать 100 мкл конъюгата (антитела против Ig человека, меченные ферментом) в каждую лунку;</li> <li>5) инкубировать в термостате 30 минут при 37°C;</li> <li>6) промыть стрип 5 раз;</li> <li>7) раскапать 100 мкл хромогена в каждую лунку;</li> <li>8) инкубировать в термостате 30 минут при 37°C;</li> <li>9) раскапать по 50 мкл стоп-реагента в каждую лунку;</li> <li>10) учесть результаты на спектрофотометре;</li> <li>11) рассчитать показатели и заполнить протокол исследований.</li> </ol>	<p>Предлагаемый метод основан на наборе «РекомбиБест анти-ВГС-спектр» производства «Вектор-Бест», РФ. Метод выявляет в сыворотке крови человека антитела (IgG и IgM) к антигенам ВГС за счет их взаимодействия с рекомбинантными антигенами, сорбированными на поверхности планшета. Образование соответствующих комплексов антиген-антитело выявляют с помощью иммуноферментного конъюгата и последующей ферментативной реакции с образованием окрашенного продукта</p>																																																						
	<b>Схема постановки:</b>																																																						
	<table border="1"> <tr> <td></td> <td></td> <td>1</td> <td>2</td> </tr> <tr> <td>CORE</td> <td>A</td> <td rowspan="5" style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">Отрицат. контроль</td> <td rowspan="5" style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">Сыворотка №1</td> </tr> <tr> <td>NS<sub>3</sub></td> <td>B</td> </tr> <tr> <td>NS<sub>4</sub></td> <td>C</td> </tr> <tr> <td>NS<sub>5</sub></td> <td>D</td> </tr> <tr> <td>CORE</td> <td>E</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td rowspan="5" style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">Положит. контроль</td> <td rowspan="5" style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">Сыворотка №2</td> </tr> <tr> <td>NS<sub>3</sub></td> <td>F</td> </tr> <tr> <td>NS<sub>4</sub></td> <td>G</td> </tr> <tr> <td>NS<sub>5</sub></td> <td>H</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> </tr> </table>			1	2	CORE	A	Отрицат. контроль	Сыворотка №1	NS <sub>3</sub>	B	NS <sub>4</sub>	C	NS <sub>5</sub>	D	CORE	E			Положит. контроль	Сыворотка №2	NS <sub>3</sub>	F	NS <sub>4</sub>	G	NS <sub>5</sub>	H			<p>антигены ВГС сорбированы в лунках стрипов следующим образом:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• в рядах A, E – core</li> <li>• в рядах B, F – NS<sub>3</sub></li> <li>• в рядах C, G – NS<sub>4</sub></li> <li>• в рядах D, H – NS<sub>5</sub></li> </ul>																									
			1	2																																																			
	CORE	A	Отрицат. контроль	Сыворотка №1																																																			
NS <sub>3</sub>	B																																																						
NS <sub>4</sub>	C																																																						
NS <sub>5</sub>	D																																																						
CORE	E																																																						
		Положит. контроль	Сыворотка №2																																																				
NS <sub>3</sub>	F																																																						
NS <sub>4</sub>	G																																																						
NS <sub>5</sub>	H																																																						
<b>Результаты:</b>																																																							
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Антигены</th> <th>Ряд</th> <th>ОП контролей</th> <th>ОП образцов</th> <th>КП</th> <th>Результат</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>CORE</td> <td>A</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>NS<sub>3</sub></td> <td>B</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>NS<sub>4</sub></td> <td>C</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>NS<sub>5</sub></td> <td>D</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>CORE</td> <td>E</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>NS<sub>3</sub></td> <td>F</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>NS<sub>4</sub></td> <td>G</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>NS<sub>5</sub></td> <td>H</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	Антигены	Ряд	ОП контролей	ОП образцов	КП	Результат	CORE	A					NS <sub>3</sub>	B					NS <sub>4</sub>	C					NS <sub>5</sub>	D					CORE	E					NS <sub>3</sub>	F					NS <sub>4</sub>	G					NS <sub>5</sub>	H					<p style="text-align: center;"><b>Учет ИФА</b></p> <p><b>1. Оценка верности постановки:</b>  Среднее значение ОП отрицательного контроля &lt; 0,2  Среднее ОП К- =  Среднее значение ОП положительного контроля &gt; 0,8  Среднее ОП К+ =</p> <p><b>2. Расчет ОП критической для каждого антигена:</b>  ОПкрит (core-Ag) = ОП К- (core) + 0,2 =  ОПкрит (NS3-Ag) = ОП К- (NS3) + 0,2 =  ОПкрит (NS4-Ag) = ОП К- (NS4) + 0,2 =  ОПкрит (NS5-Ag) = ОП К- (NS5) + 0,2 =</p> <p><b>3. Расчет коэффициента позитивности для каждого антигена:</b>  КП(core-Ag) = ОП иссл. сыв (core)/ ОПкрит (core) =  КП(NS3-Ag) = ОП иссл. сыв (NS3)/ОПкрит (NS3) =  КП(NS4-Ag) = ОП иссл. сыв. (NS4)/ОПкрит (NS4) =  КП(NS5-Ag) = ОП иссл. сыв. (NS5)/ОПкрит (NS5) =</p> <p><b>4. Интерпретация результатов:</b>  а) если КП для каждого антигена менее 1, исследуемый образец считают отрицательным;  б) результат следует считать положительным, если КП больше 1 для: core-Ag или любых двух антигенов;  в) результат следует считать неопределенным, если КП больше 1 только для одного неструктурного белка.</p>
Антигены	Ряд	ОП контролей	ОП образцов	КП	Результат																																																		
CORE	A																																																						
NS <sub>3</sub>	B																																																						
NS <sub>4</sub>	C																																																						
NS <sub>5</sub>	D																																																						
CORE	E																																																						
NS <sub>3</sub>	F																																																						
NS <sub>4</sub>	G																																																						
NS <sub>5</sub>	H																																																						

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 8 (26).

Структура _____ вирусов		Заболевания, вызываемые энтеровирусами	
 <p>Размеры _____ Геном _____</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>Капсид</li> <li>РНК</li> <li>Кэппирующий белок VPg</li> </ol>	<b>Вирус</b>	<b>Заболевания</b>	
	Полиомиелита	Полиомиелит - острое лихорадочное заболевание, сопровождающееся поражением нейронов серого вещества (греч. polios - серый) спинного мозга и ствола головного мозга, в результате чего развиваются вялые атрофические параличи и парезы мышц ног, туловища, рук	
	Коксаки А	Полиорганный тропизм. Герпангина (герпетиформные высыпания на задней стенке глотки, дисфагия, лихорадка), пузырьчатка в полости рта и конечностей, серозный менингит, полиомиелитоподобные заболевания. Респираторные и кишечные инфекции (особенно у детей)	
	Коксаки В	Полиорганный тропизм. Более высокая нейротропность, чем у Коксаки А. Серозный менингит, энцефалит, миокардит, полиомиелитоподобные заболевания, плевродиния (болезненные приступы в области груди, лихорадка, иногда плеврит). Респираторные и кишечные инфекции (особенно у детей)	
	ЕКХО	ОРВИ, асептический менингит, полиомиелитоподобная инфекция	
	Энтеровирус 70	геморрагический конъюнктивит	
	Энтеровирус 71	полиомиелитоподобные заболевания.	

**Характеристика вирусных гепатитов (заполните таблицу)**

Вирус	Семейство, род	Геном	Морфология вириона	Антигены	Механизм заражения	Носительство, хронизация, осложнения
HAV	<i>Picornaviridae</i> , род <i>Hepatovirus</i>					
HBV	<i>Hepadnaviridae</i> , род <i>Orthohepadnavirus</i>					
HCV	<i>Flaviviridae</i> , род <i>Hepacivirus</i>					
HDV	Неклассифицир. вирус-сателлит					
HEV	<i>Hepeviridae</i> , род <i>Orthohepevirus</i>					
HGV	<i>Flaviviridae</i> , род <i>Pegivirus</i>					

**Диагностические маркеры гепатита В**

Маркер	Клиническое значение
HBsAg	маркирует инфицированность HBV
HBеAg	указывает на репликацию HBV в гепатоцитах, высокую инфекционность крови и высокий риск перинатальной передачи вируса
HBcAg	маркирует репликацию HBV в гепатоцитах, обнаруживается только при морфологическом исследовании биоптатов печени и на аутопсии, в крови не выявляется
анти-HBc (total)	важный диагностический маркер, особенно при отрицательных результатах индикации HBsAg, используется для ретроспективной диагностики гепатита В и при неверифицированных гепатитах, определяют HBcAg без разделения на классы
IgM анти-HBc	один из наиболее ранних сывороточных маркеров гепатита В, наличие его в крови указывает на острую инфекцию (фазу болезни), при хроническом гепатите В маркирует репликацию HBV и активность процесса в печени
анти-HBe	может указывать на начало стадии реконвалесценции (исключение – мутантная форма HBV)
анти-HBs	указывают на перенесенную инфекцию или наличие поствакцинальных антител (их защитный титр от HBV-инфекции >10 МЕ/л); обнаружение же антител в первые недели гепатита В прогнозирует развитие гипериммунного варианта фульминантного гепатита В
HBV-DNA	маркер наличия и репликации HBV

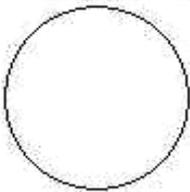
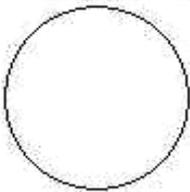
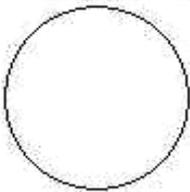
**ТЕМА: Методы вирусологической диагностики ВИЧ-инфекции. Вирус бешенства.**

**Перечень изучаемых вопросов:**

Ретровирусы. Классификация и характеристика семейства. Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ-1, ВИЧ-2). Морфология вириона ВИЧ, геном ВИЧ. ВИЧ-инфекция: эпидемиология, патогенез. СПИД-ассоциированные заболевания. Проявления ВИЧ-инфекции в полости рта. Методы диагностики и профилактики ВИЧ-инфекции.

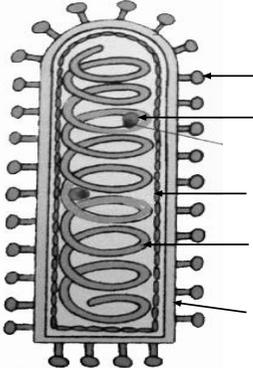
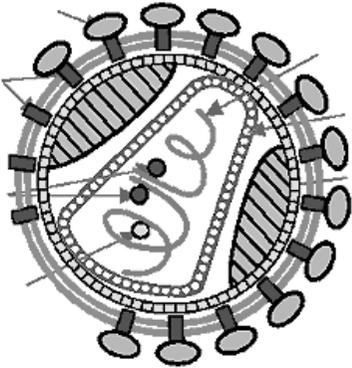
Вирус бешенства: таксономическое положение, характеристика. Бешенство: патогенез, диагностика, профилактика.

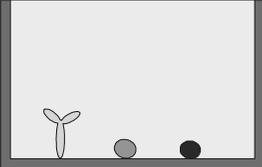
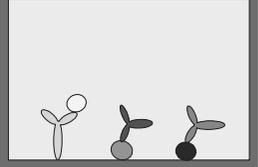
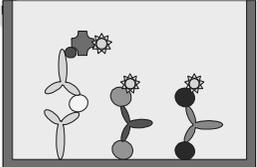
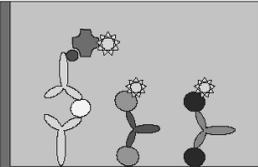
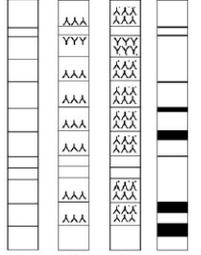
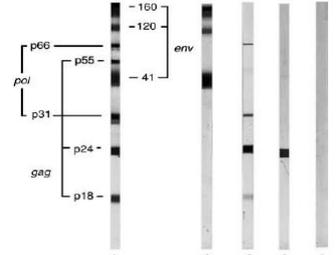
**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты		
<p>1. Зарисовать демонстрационные препараты: 1) Тельца Бабеша-Негри, окраска по Муромцеву.</p>	<table border="1" style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 50%; vertical-align: top;"> <p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p> </td> <td style="width: 50%; text-align: center; vertical-align: middle;">  </td> </tr> </table> <p>Диагностика бешенства основывается на обнаружении телец Бабеша-Негри в срезах, мазках-отпечатках или препаратах гомогената мозга. При окраске по Муромцеву фон препарата и цитоплазма нейронов голубая, тельца Бабеша-Негри четко очерчены, фиолетово-розовые, с внутренней структурой (зернистостью). Ядра нейронов фиолетово-синие.</p> <p>Выявление телец Бабеша-Негри (размеры и частота) зависит от продолжительности инфекционного процесса (инкубационного периода). При типичном течении бешенства (буйная форма) максимальное количество телец обнаруживается в клетках Аммонова рога. При паралитической форме – в продолговатом и спинном мозге. Обнаружение телец имеет абсолютное диагностическое значение. Отсутствие телец не исключает бешенства.</p>	<p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p>	
<p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p>			

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

**Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 9 (27).**

Структура _____ вирусов	Структура _____ вирусов
<div style="display: flex; align-items: center;">  <div style="margin-left: 20px;"> <p>Размеры _____</p> <p>Геном _____</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Суперкапсид</li> <li>2. Нуклеокапсид</li> <li>3. Гликопротеины</li> <li>4. РНК-полимераза</li> <li>5. Матриксный белок</li> </ol> </div> </div>	<div style="display: flex; align-items: center;">  <div style="margin-left: 20px;"> <p>Размеры _____</p> <p>Геном _____</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Капсид (p24)</li> <li>2. Нуклеокапсид (p6, 9)</li> <li>3. Матриксный белок (p17)</li> <li>4. Обратная транскриптаза (p55, 63)</li> <li>5. Интеграза (p11)</li> <li>6. gp120</li> <li>7. gp41</li> </ol> </div> </div>

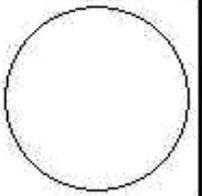
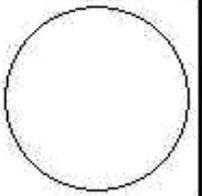
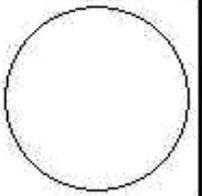
Семейство <b>RETROVIRIDAE</b> , около <b>150</b> видов		ВИЧ – сферическая форма, 100 нм, суперкапсид формируется при почковании через плазматическую мембрану. Сердцевина похожа на усеченный цилиндр																			
<ul style="list-style-type: none"> <li>плюс-однонитевые диплоидные (две молекулы) РНК-вирусы, обратнотранскрибирующиеся (РНК-зависимая ДНК-полимераза), сложные, 80-130 нм</li> <li>В патологии человека значение имеют 4 вида: ВИЧ-1, ВИЧ-2 и вирусы Т-клеточных лейкозов (HTLV-1 и HTLV-2)</li> </ul>		<table border="1"> <thead> <tr> <th>Белок,</th> <th>место локализации, химическая природа, функция</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>gp120, gp41 (продукты расщепления gp160)</td> <td>поверхностные (суперкапсидные) групповые гликопротеины, рецепторная функция; gp120 находится на поверхности вириона, gp41 пронизывает его липидную оболочку</td> </tr> <tr> <td>p6, p17</td> <td>матриксные белки</td> </tr> <tr> <td>p24, p25</td> <td>капсидные белки</td> </tr> <tr> <td>p7, p9</td> <td>нуклеокапсидные белки</td> </tr> <tr> <td>p10, p11</td> <td>белки протеазы</td> </tr> <tr> <td>p32</td> <td>интеграза</td> </tr> <tr> <td>p15</td> <td>РНКаза</td> </tr> <tr> <td>p51/p66</td> <td>обратная транскриптаза</td> </tr> </tbody> </table>		Белок,	место локализации, химическая природа, функция	gp120, gp41 (продукты расщепления gp160)	поверхностные (суперкапсидные) групповые гликопротеины, рецепторная функция; gp120 находится на поверхности вириона, gp41 пронизывает его липидную оболочку	p6, p17	матриксные белки	p24, p25	капсидные белки	p7, p9	нуклеокапсидные белки	p10, p11	белки протеазы	p32	интеграза	p15	РНКаза	p51/p66	обратная транскриптаза
Белок,	место локализации, химическая природа, функция																				
gp120, gp41 (продукты расщепления gp160)	поверхностные (суперкапсидные) групповые гликопротеины, рецепторная функция; gp120 находится на поверхности вириона, gp41 пронизывает его липидную оболочку																				
p6, p17	матриксные белки																				
p24, p25	капсидные белки																				
p7, p9	нуклеокапсидные белки																				
p10, p11	белки протеазы																				
p32	интеграза																				
p15	РНКаза																				
p51/p66	обратная транскриптаза																				
Геном ВИЧ – три структурных гена и семь регуляторных генов																					
Гены		Функция																			
<i>gag</i> (group specific antigen) структурный	Групповой антиген, кодирует матриксные, капсидные, нуклеокапсидные и белки протеазы																				
<i>pol</i> (polimerase) структурный	кодирует обратную транскриптазу (РНК-зависимая ДНК-полимераза), протеазу, интегразу (p51/p66, p32-интегразу, p15-РНКазу)																				
<i>env</i> (envelope – оболочка) структурный (геном ВИЧ-2 отличается от генома ВИЧ-1 структурой гена <i>env</i> )	кодирует образование гликопротеиновой оболочки (трансмембранный белок - gp41, поверхностный белок - gp120)																				
<i>tat, rev, net, vif, vpr, vpr</i> (имеется у ВИЧ-1), <i>vpx</i> (имеется у ВИЧ-2) – регуляторные и функциональные	Выполняют регуляторные функции ( <i>tat, rev, nef</i> ), обеспечивают процессы репродукции и участие вируса в инфекционном процессе ( <i>vif, vpr, vpr, vpx</i> )																				
<b>ИФА для скрининга ВИЧ-инфекции:</b> в настоящее время применяются тест-системы для ИФА четвертого поколения (рекомбинантные антигены, моноклональные антитела, одновременное определение антигенов ВИЧ (обычно p24) и антител против антигенов ВИЧ (поверхностных гликопротеинов))																					
 <p>В лунках 96-луночного планшета для серологических реакций сорбированы:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- моноклональные антитела к p24;</li> <li>- рекомбинантные эпитопы gp41;</li> <li>- рекомбинантные эпитопы gp120.</li> </ul>		 <p>При добавлении сыворотки пациента происходит связывание p24 и антител против гликопротеинов ВИЧ на сорбированных лигандах</p>																			
 <p>При добавлении конъюгатов:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- биотина* (антитела против гликопротеинов ВИЧ, анти-p24) и пероксидазы хрена (gp41, gp120) происходит фиксация их на иммунных комплексах, пропорциональная количеству выявляемых антител и антигена.</li> </ul>		 <p>При добавлении субстрата происходит дозозависимая ферментация с образованием окрашенного продукта</p>																			
<p>*Биотин и авидин (стрептавидин) - представляют собой пару рецептор-лиганд, характеризующуюся высокими аффинностью и специфичностью. Характер и размеры молекул позволяют эффективно использовать их для мечения антител/антигенов. Молекула авидина способна связать четыре молекулы биотина (т.о. сигнал о связывании усиливается в четыре раза).</p>																					
Иммуноблоттинг для диагностики ВИЧ-инфекции																					
 <ol style="list-style-type: none"> <li>Изготовление блотов: электрофоретическое разделение белков ВИЧ по их молекулярной массе и заряду и перенос на мембрану.</li> <li>Инкубация с исследуемой сывороткой</li> <li>Инкубация с антителами против человеческих антител, мечеными ферментом</li> <li>Появление окрашенных полос на мембране после инкубации в присутствии субстрата.</li> </ol>		 <ol style="list-style-type: none"> <li>Положительный результат у инфицированного ВИЧ-1</li> <li>Результат здорового, вакцинированного белками внешней оболочки ВИЧ-1</li> <li>Сомнительный результат у инфицированного ВИЧ-2</li> <li>Сомнительный результат при наличии в сыворотке антител, перекрестно реагирующих с p24 антигеном</li> <li>Отрицательный результат</li> </ol>																			

**ТЕМА: Методы вирусологической диагностики герпетических и аденовирусных заболеваний полости рта.**

**Перечень изучаемых вопросов:**

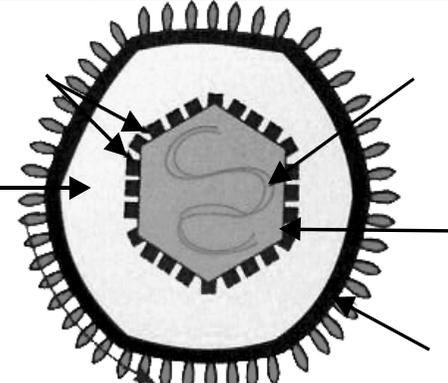
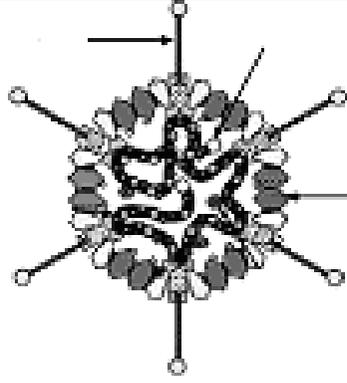
Герпесвирусы. Характеристика и состав семейства. Вирусы простого герпеса 1 и 2 типов, свойства, роль в патологии человека, патогенез инфекций. Герпетический стоматит, кератоконъюнктивит, поражения кожи лица и красной каймы губ. Вирус ветряной оспы и опоясывающего герпеса. Цитомегаловирус, свойства, формы инфекции. Цитомегаловирусный паротит. Вирус Эпштейна-Барр, свойства, роль в патологии человека. Инфекционный мононуклеоз. Герпесвирусы человека 6, 7, 8 типов, роль в патологии человека. Иммуниет, диагностика, химио- и иммунотерапия герпетических инфекций. Аденовирусы. Общая характеристика. Аденовирусная инфекция (формы, патогенез, проявления в полости рта, диагностика).

**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты		
1. Зарисовать демонстрационные препараты: 1) ЦПД аденовирусов	<table border="1" style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 50%;">                             Препарат _____                              _____                              _____                              Окраска _____                              _____                              _____                         </td> <td style="width: 50%; text-align: center;">  </td> </tr> </table>	Препарат _____ _____ _____ Окраска _____ _____ _____	
Препарат _____ _____ _____ Окраска _____ _____ _____			

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

**Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 10 (28).**

Структура _____ вирусов	Структура _____ вирусов
 <p>                             Размеры _____                              Геном _____                              1. Суперкапсид                              2. Гликопротеины                              3. Икосаэдрический капсид                              4. Капсомеры                              5. Тегумент                              6. ДНК вируса                         </p>	 <p>                             Размеры _____                              Геном _____                              1. Фибриллярная нить                              2. ДНК                              3. Капсид                         </p>

Характеристика вирусов семейства <i>Herpesviridae</i>					Вирусологическая диагностика герпетической инфекции
Подсем.	Род	Тип	Общепринятое название	Клинические проявления	
<i>Alphaherpesvirinae</i>	<i>Simplexvirus</i>	ГВЧ-1	Вирус простого герпеса 1 типа	Лабиальный герпес, герпетический гингивостоматит, офтальмогерпес, герпетический энцефалит	<p>А) Ранняя диагностика: морфологическое исследование материалов из очага поражения и выделение из него вируса. Материалом служит соскоб или мазок-отпечаток с элементов сыпи (герпетические везикулы).</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Мазки окрашивают по Романовскому-Гимзе или гематоксилином-эозином. Для герпетической инфекции характерно наличие в препаратах гигантских клеток с внутриядерными включениями.</li> <li>• Мазки окрашивают антителами, мечеными флуорохромами. Герпетический антиген выявляется в много- и одноядерных клетках, а также внеклеточно. Метод позволяет обнаружить герпетическую инфекцию в головном и спинном мозге и других тканях (печень) в летальных случаях.</li> <li>• Выделение вируса проводят на: <ul style="list-style-type: none"> <li>- 12-дневных куриных эмбрионах. Заражают на хорион-аллantoисную оболочку, инкубируют 48 часов при 37°C. При вскрытии эмбриона на оболочке обнаруживаются макроскопически видимые «оспины». В мазках отпечатках из очагов поражений обнаруживаются одно- и многоядерные клетки с внутриядерными включениями;</li> <li>- различных культурах клеток. Типичное ЦПД включает образование многоядерных синцитиальных клеток с ядерными включениями и круглоклеточная дегенерация с образованием клеточных конгломератов;</li> <li>- мышатах-сосунках. Заражают внутрибрюшинно или в мозг. Заболевание развивается через 3-4 дня и приводит к гибели животных;</li> <li>- кроликах. Кроликов заражают на скарифицированную роговуцу (развивается специфический кератоконъюнктивит) или в мозг (летальный энцефалит).</li> <li>- идентификацию вируса, выделенного на эмбрионах, культурах клеток или животных, проводят в РИФ или РН.</li> </ul> </li> </ul> <p>Б) Методы ретроспективной диагностики: ИФА и РСК в парных сыворотках (возможны перекрестные реакции между различными вирусами группы герпеса).</p>
		ГВЧ-2	Вирус простого герпеса 2 типа	Генитальный герпес, герпетический менингоэнцефалит	
	<i>Varicellovirus</i>	ГВЧ-3	Вирус ветряной оспы и опоясывающего герпеса (варицелла-зостер вирус)	Ветряная оспа, опоясывающий герпес (лишай)	
<i>Betaherpesvirinae</i>	<i>Cytomegalovirus</i>	ГВЧ-5	Цитомегаловирус	ОРВИ, бронхиты, пневмонии, генерализованная форма: поражение ЦНС, печени, почек, надпочечников, поджелудочной железы, слюнных желез, селезенки, мочеполовой системы, ретиниты	<p>Вирусологическая диагностика аденовирусной инфекции</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Материалом служат смывы и соскобы (назофарингеальный, конъюнктивальный и др.), фекалии, моча, биопсийный и аутопсийный материал.</li> <li>2. Ранние методы диагностики включают обнаружение антигенов или ДНК вируса в материале больного или экспресс методы выделения и идентификации вируса: <ul style="list-style-type: none"> <li>• обнаружить и идентифицировать вирус можно в РИФ, ИФА. Антигены аденовирусов выявляются в цитоплазме и ядре пораженной клетки.</li> <li>• выделить вирус можно в различных культурах клеток, однако лучше использовать эпителиальные клетки (HEK, HELA, A-549).</li> <li>• характерное ЦПД: <ul style="list-style-type: none"> <li>- мелкоклеточная дегенерация с образованием конгломератов клеток по типу виноградных гроздьев;</li> <li>- образование отдельных мелких круглых клеток по всей культуре;</li> <li>- образование цитоплазматических и внутриядерных включений;</li> <li>- появление зернистости, вакуолей, изменением ядер (пикноз, распад);</li> </ul> </li> </ul> </li> </ol> <ul style="list-style-type: none"> <li>• вирус идентифицируют (типизируют) в РН, РИФ, РСК;</li> <li>• все большее применение находят ПЦР и др. молекулярно-генетические методы;</li> <li>• электронная микроскопия имеет ограниченное применение.</li> </ul> <ol style="list-style-type: none"> <li>3. Ретроспективная диагностика: антитела выявляют в ИФА, РТГА, РСК, в парных сыворотках.</li> </ol>
	<i>Roseolovirus</i>	ГВЧ-6	Герпес вирус человека 6 типа	Внезапная детская экзантема, розовый лишай (?), синдром хронической усталости (?)	
		ГВЧ-7	Герпес вирус человека 7 типа	Розовый лишай (?), внезапная экзантема	
<i>Gammaherpesvirinae</i>	<i>Lymphocryptovirus</i>	ГВЧ-4	Вирус Эпштейна-Барр	Инфекционный мононуклеоз, синдром хронической усталости (?), лимфома Беркитта, назофарингеальная карцинома, В-клеточная лимфома	
	<i>Rhadinovirus</i>	ГВЧ-8	Герпес вирус человека 8 типа	Саркома Капоши	

**ТЕМА: Стоматологическая микробиология. Методы изучения нормальной микрофлоры. Микробиология кариеса.**

**Перечень изучаемых вопросов:**

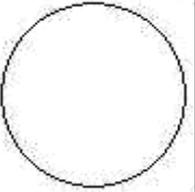
Стоматологическая микробиология, цели и задачи.

Нормальная микрофлора полости рта, характеристика. Онтогенез нормальной микрофлоры. Влияние генетических и негенетических факторов на состав микрофлоры полости рта (регулирующая роль слюны, зубов, мягких тканей, контакта с чужеродными микроорганизмами, диеты, гигиены полости рта). Значение нормальной микрофлоры. Методы изучения.

Этиология и патогенез кариеса. Критерии кариесогенности микроорганизмов. Кариесогенные стрептококки, виды, свойства, механизмы адгезии. Ассоциативные (вспомогательные) микроорганизмы. Условия развития кариеса, роль макроорганизма. Кариесрезистентность. Профилактика кариеса.

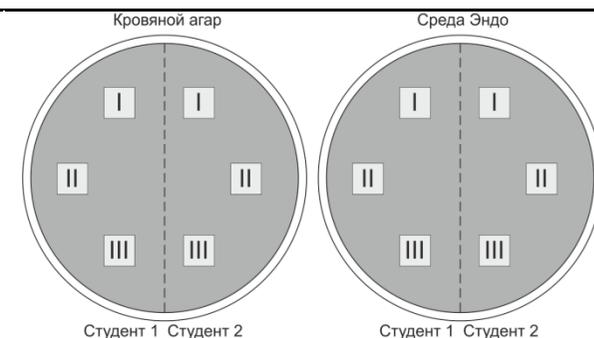
**Лабораторная работа**

1. Приготовить мазок из зубного налета, окрасить по Граму, зарисовать.

<b>Препарат</b> _____	
_____	
<b>Окраска</b> _____	

2 Изучение состава микрофлоры кожи лица, слизистой полости рта, языка

- 1) Стерильные кусочки фильтровальной бумаги 1×1 см в чашке Петри увлажнить стерильным физ. раствором;
- 2) Стерильным пинцетом поместить кусочек бумаги на поверхность кожи и слизистых оболочек в три исследуемых биотопа (I, II, III) – 0,5 мин (в каждый биотоп помещается по 2 квадрата бумаги)
- 3) Поместить бумагу на поверхность плотной питательной среды (отпечаток) – 1 мин;
- 4) Бумагу удалить. Чашки с отпечатками инкубировать при 37°C, 24–48 час.



Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

**Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 11 (29).**

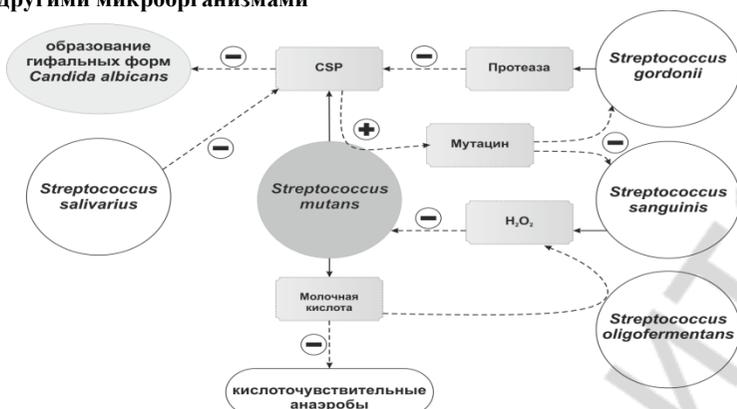
**Представители аутохтонной микрофлоры полости рта (заполните таблицу)**

Морфология		Аэробы и факультативные анаэробы	Облигатные анаэробы	Извитые бактерии	Другие микроорганизмы
Грам+	кокки				
	палочки				
Грам–	кокки				
	палочки				

### Роль нормальной микрофлоры полости рта

Положительная	Отрицательная

Межвидовые взаимодействия между *Streptococcus mutans*, некариесогенными стрептококками полости рта и другими микроорганизмами



CSP (competence-stimulating peptide) – сигнальный пептид (кворум-сенсинг молекула), аутоиндуктор синтеза бактериоцинов и генетической трансформации стрептококков. Продукция молочной кислоты, бактериоцинов (мутацина) и CSP *S. mutans* ингибирует жизнедеятельность других оральных стрептококков и анаэробов, а также формирование гиф кандидами. В то же время лактат служит субстратом для продукции перекиси водорода *S. oligofermentans*.  $H_2O_2$  продуцирует также и *S. sanguinis*. Однако в условиях анаэробииа или при высоких концентрациях глюкозы производство  $H_2O_2$  резко сокращается. *S. salivarius* ингибирует образование биопленки *S. mutans*, воздействуя на CSP. В отличие от других некариесогенных стрептококков, *S. gordonii* ингибирует образование биопленки и синтез мутацина, продуцируя сериновую протеазу (чализин).

### Факторы патогенности *Streptococcus mutans*

Фактор патогенности	Механизм действия
антиген I/II (spaP)	Адгезия к пелликуле в отсутствии сахарозы
Белок A, WaP	
Протеины агрегации, PsaA	Протеины агрегации с глюканом
Глюкозилтрансферазы	Связывание с фибронектином
Декстраназы	Продукция водонерастворимого глюкана
Фруктозилтрансферазы	Синтез декстрана, полимеров глюкозы, производство энергии
Глицеральдегид-3-фосфат дегидрогеназа	Синтез фруктанов, запас энергии
Гликогенсинтазы	Гликолиз с образованием пировиноградной/молочной кислот
Металлосвязывающий белок	Метаболизм гликогена, накопление внутриклеточных полисахаридов
C3-протеаза	Транспорт Mg, Zn в цитоплазму; адгезия
Сериновые протеазы	Деградация C3-компонента комплемента
Капсула	Протеолиз белков, Ig
АТФ-азы	Защита от фагоцитоза, устойчивость к комплементу
	Кислотоустойчивость, энергия

### Микробиоценоз различных биотопов полости рта

Биотоп	Доминирующие микроорганизмы
Слизистая оболочка	
Ротовая жидкость	
Десневой желобок	
Зубная бляшка	

### Колонизация полости рта оральными стрептококками

Биотоп	Вид стрептококков
Зубная бляшка	<i>S. mutans</i> , <i>S. sobrinus</i> , <i>S. sanguinis</i> , <i>S. intermedius</i> , <i>S. mitis</i> , <i>S. gordonii</i>
Преддверие полости рта	<i>S. vestibularis</i>
Слюна	<i>S. salivarius</i> , <i>S. mitis</i> , <i>S. oralis</i>
Язык	<i>S. salivarius</i> , <i>S. mitis</i>
Слизистая щёк	<i>S. mitis</i>
Миндалины	<i>S. sanguinis</i> , <i>S. gordonii</i> , <i>S. mitis</i> , <i>S. mutans</i>

### Методы исследования микрофлоры полости рта

**Микроскопический** метод имеет ориентировочное значение – даёт представление о преобладании тех или иных форм бактерий. Позволяет: 1) при микроскопии зубного налета в нативных препаратах выявить преобладание нитевидных и извитых подвижных микроорганизмов над мелкими кокковыми; 2) при микроскопии фиксированного мазка, окрашенного по Граму установить преобладание Грам- флоры (нитевидных, извитых, палочковидных бактерий) над Грам+ кокковой флорой.

**Культуральный метод** позволяет: 1) выделить и идентифицировать возбудителя; 2) определить его чувствительность к антибиотикам. Однако только 60% микрофлоры зубного налета – культивируемые микроорганизмы; надо соблюдать правила забора и культивирования анаэробов; нужны сложные питательные среды и оборудование; нужно определение количества микроорганизмов.

**Молекулярно-биологический** используется как скрининговый метод для идентификации периодонтопатогенных видов и выявления генов резистентности к антибиотикам, используется как метод индикации и идентификации некультивируемых видов.

### Принципы бактериологического исследования нормальной микрофлоры:

а) использование качественной (видовой состав) и количественной (количественное соотношение разных видов) оценки микрофлоры; б) первичный посев материала без предварительного обогащения, так как обогащение нарушает количественные соотношения видов; в) использование большого набора различных питательных сред, подбор условий культивирования (аэробные, анаэробные, атмосфера CO<sub>2</sub> и т.д.).

Методы взятия материала для исследования:

1. Получение естественных экскретов (слюна, моча и т.д.).
2. Метод реплик; а) отпечатки на поверхности агаровой среды, б) отпечатки марлево-агаровыми пластинами.
3. Метод смывов увлажненным тампоном.
4. Аспирационный метод (из межзубных пространств, периодонтальных карманов, из верхних и средних отделов дыхательных путей, аспирация на фильтры).
5. Введение зондов в кишечник.
6. Метод аппликаций – снятие микроорганизмов с помощью бумажных или тканевых пластинок определенной площади.

### Микробиологическая диагностика дисбиоза полости рта

Диагноз дисбактериоза полости рта и ротоглотки устанавливается повторным (с интервалом в 5–7 дней) бактериологическим исследованием с использованием методик количественного определения видов и вариантов микроорганизмов, входящих в состав микробиоценоза.

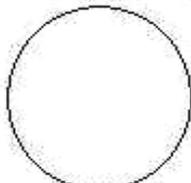
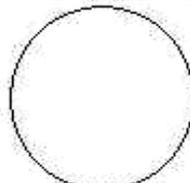
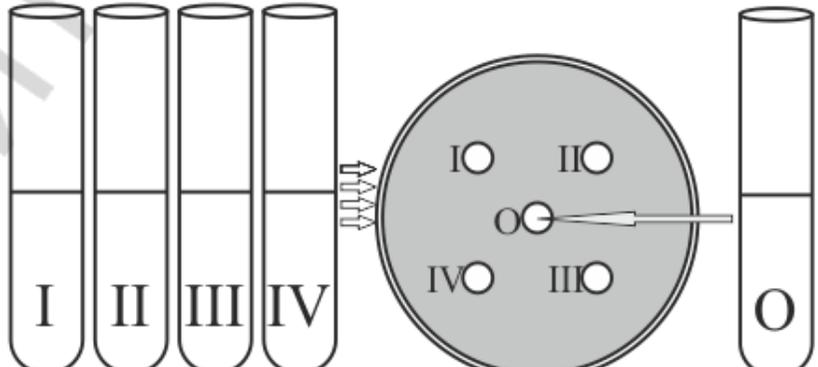
Для этих целей исследуемая слюна, слизь из задней стенки глотки после обработки (гомогенизация) взвешивают в стерильном физиологическом растворе и приготавливают разведения 10<sup>-2</sup>, 10<sup>-4</sup>, 10<sup>-6</sup>. Для получения подсчитываемого числа колоний (КОЕ) по 0,05 мл каждого разведения наносят на сектора чашек с селективными средами: Левина (для энтеробактерий), бромтимоловой среды (для *K. pneumoniae*), желчно-кровяной МПА (для энтерококков), кровяной МПА (для стрептококков и гемолитических штаммов бактерий и кокков), МПА с фурагином (для *P. aeruginosa*), МРС-2 (для лактобацилл), Блаурокка (для бифидобактерий), КАБ (для бактериоидов), Сабуро (для грибов). После инкубации в термостате отдельно подсчитывают на средах колонии фоновых и нехарактерных для данного биотопа микроорганизмов и отсеивают их для дальнейшей идентификации. Затем производят перерасчет изучаемых видов на 1 г исследуемого материала, для чего учитывают степень разведения материала и величину посевной дозы (число КОЕ/г = количество колоний × 20 × фактор разведения). Результаты исследований сопоставляют с данными о нормальном составе микрофлоры биотопа с учетом возраста исследуемого человека. Диагноз дисбактериоза выставляется, основываясь на следующих данных: на фоне снижения, количества негемолитических и α-гемолитических стрептококков, лактобацилл и других грамположительных палочек появляются бактерии фекального происхождения (условно-патогенные энтеробактерии и энтерококки), *P. aeruginosa* (в количествах 10<sup>4</sup> и больше).

**ТЕМА: Стоматологическая микробиология. Методы изучения факторов иммунитета полости рта.**

**Перечень изучаемых вопросов:**

Иммунные и неиммунные механизмы в полости рта. Факторы неспецифической резистентности полости рта: эпителий слизистых оболочек, десневого желобка; эмаль, нормальная микрофлора; система полиморфноядерных лейкоцитов. Защитные факторы слюны: лизоцим, лактоферрин, антимикробные пептиды (дефензины, кателицидин, гистатины, белки богатые пролином), пероксидаза. Местный приобретенный иммунитет полости рта. Функции секреторных иммуноглобулинов А. Клеточный иммунитет. Механизмы антибактериального и антивирусного иммунитета в полости рта.

**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты
<p>1. Провести учет посевов нормальной микрофлоры полости рта и посевов для выявления дисбактериоза (см. занятие № 11).</p>	<p><b>Изучение состава микрофлоры кожи лица, слизистой полости рта, языка:</b> определяется массивность роста бактерий (+ единичные колонии, ++ обильный рост, но колонии не сливаются, +++ сливной рост колоний). Из колоний, различающихся по форме, цвету, поверхности, гемолитической активности, делаются мазки с окраской по Граму и зарисовываются в альбом.</p> <p><b>Диагностика состояния дисбактериоза:</b> изучается рост на среде Эндо с посевами отпечатков с кожи внутренней стороны предплечья и слюны. В случае обнаружения роста малиново-красных с металлическим блеском колоний, в которых при окраске по Граму видны грамотрицательные палочки, подтверждается наличие состояния дисбактериоза.</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div data-bbox="862 662 1366 861"> <p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p>  </div> <div data-bbox="1433 662 1937 861"> <p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p>  </div> </div>
<p>2. Определить содержание лизоцима в слюне:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1) Отобрать 1-1,5 мл слюны в пробирку.</li> <li>2) Промаркировать готовую чашку Петри с лунками, засеянную <i>Micrococcus lysodeikticus</i>, согласно схеме.</li> <li>3) Внести в лунки по 1 капле соответствующих разведений лизоцима (от меньшей концентрации к большей).</li> <li>4) В центральную лунку внести 1 каплю исследуемой слюны.</li> </ol>	<div style="text-align: center;"> <p>разведения лизоцима, мкг/мл</p> <p>6,25    12,5    25,0    50,0</p>  <p>слюна</p> </div>

3. Определить содержание секреторных иммуноглобулинов А в слюне методом простой радиальной иммунодиффузии (РИД) в геле по Манчини (учет результатов).

РИД применяется для определения IgG, IgA, IgM. При постановке реакции иммунную сыворотку (антиIg) вносят в расплавленный агарозный гель, который тонким слоем выливают на стеклянную пластинку (или в чашку Петри). После застывания в геле делают лунки. В лунки помещают раствор исследуемой сыворотки (опыт) и контрольные разведения с известной концентрацией Ig (стандарт), которые, диффундируя в гель, образуют зоны преципитации в виде кольца вокруг лунок. Диаметр кольца преципитации пропорционален количеству Ig.



Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

**Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 12 (30).**

**Противомикробные факторы слюны (заполните таблицу)**

Фактор	Механизм действия	Фактор	Механизм действия	Фактор	Механизм действия
Лизоцим		Кателицидин		Пероксидазная система слюны	
Лактоферрин		Муцины		Белки богатые пролином	
Дефензины		Статерины		Агглютинины	
Гистатины		Сиалин		Секреторный IgA	

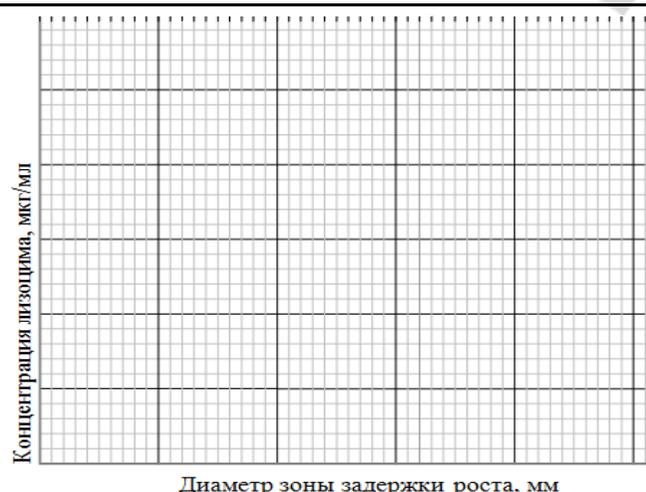
**ТЕМА: Стоматологическая микробиология. Микробиология периодонтитов и периимплантитов.**

**Перечень изучаемых вопросов:**

Зубной налет (зубная бляшка): стадии формирования, микроорганизмы-колонизаторы. Зубной налет как биопленка.  
 Заболевания периодонта: классификация, этиология, факторы риска. Теории патогенеза периодонтитов. Свойства периодонтопатогенных микроорганизмов, механизмы инвазии и персистенции. Микробные комплексы (Socransky, 1998). Иммунные механизмы при заболеваниях тканей периодонта. Принципы профилактики и лечения периодонтитов.  
 Динамика микрофлоры при успешной и осложненной дентальной имплантации.

**Лабораторная работа**

1. Учесть опыт определения содержания лизоцима в слюне (см. занятие № 12).



Стандарты лизоцима, мкг/мл	Диаметр зон задержки роста, мм
6,25	
12,5	
25	
50	

Заключение: содержание лизоцима в слюне пациента составляет \_\_\_\_\_

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

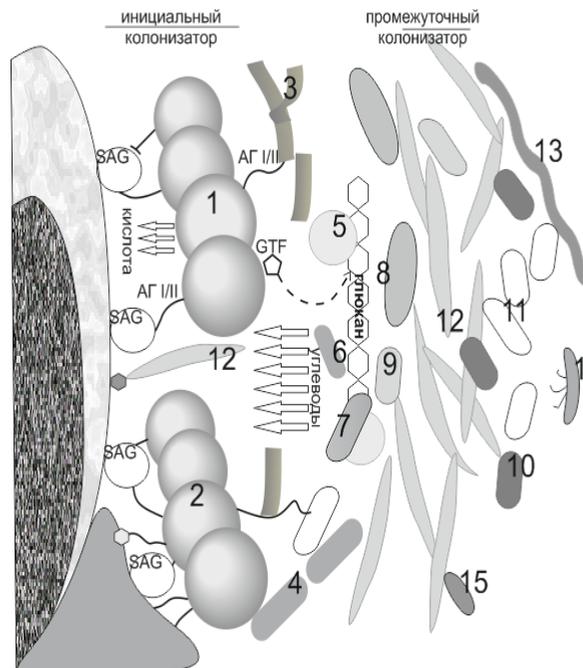
**Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 13 (31).**

**Свойства периодонтопатогенных видов бактерий (заполните таблицу)**

микроорганизм	свойства	микроорганизм	свойства	микроорганизм	свойства
Бактерии «красного комплекса»		Бактерии «зеленого комплекса»		Бактерии «оранжевого комплекса»	
<i>Porphyromonas gingivalis</i>		<i>Agregatibacter actinomycetemcomitans</i>		<i>Prevotella intermedia</i>	
<i>Tannerella forsythia</i>				<i>Fusobacterium nucleatum</i>	
<i>Treponema denticola</i>					

## Структура бактериальной биопленки зубного налета

ранние колонизаторы      поздние колонизаторы



- 1 - *Streptococcus mutans*
  - 2 - *Streptococcus gordonii*
  - 3 - *Actinomyces naeslundii*
  - 4 - *Lactobacillus* spp.
  - 5 - *Veillonella* spp.
  - 6 - *Haemophilus* spp.
  - 7 - *Propionibacterium acnes*
  - 8 - *Carnocytophaga* spp.
  - 9 - *Prevotella intermedia*
  - 10 - *Porphyromonas gingivalis*
  - 11 - *Tannerella forsythia*
  - 12 - *Fusobacterium nucleatum*
  - 13 - *Treponema denticola*
  - 14 - *Selenomonas flueggei*
  - 15 - *Agregatibacter actinomycetemcomitans*
- - статерины  
○ - белки богатые пролином

### Факторы патогенности бактерий-маркеров заболеваний пародонта

Фактор патогенности	Микроорганизмы	Механизм действия
Лейкотоксин	<i>A. actinomycetemcomitans</i>	
Протеазы	<i>P. gingivalis</i> , <i>P. intermedia</i> , <i>T. denticola</i> , <i>T. forsythia</i>	
Липополисахарид	Грам- бактерии	
Короткоцепочечные жирные кислоты, летучие соединения серы, аммиак, индол	<i>P. gingivalis</i>	

### Динамика периодонтальной микрофлоры в норме и при патологии

ЗДОРОВЬЕ	ГИНГИВИТ	ПЕРИОДОНТИТ
Оральные стрептококки: <i>S. oralis</i> , <i>S. mitis</i> , <i>S. gordonii</i> , <i>S. sanguinis</i>	<i>Actinomyces</i> <i>Prevotella intermedia</i> <i>Bacteroides</i> <i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i> <i>Tannerella forsythia</i> <i>Treponema denticola</i> <i>Prevotella intermedia</i> <i>Campylobacter rectus</i> <i>Fusobacterium nucleatum</i> <i>Eikenella corrodens</i> <i>Eubacterium nodatum</i> <i>Selenomonas noxia</i>
Грамм+ аэробы		Грамм- анаэробы

### Микроорганизмы при периимплантитах

<i>Porphyromonas gingivalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Prevotella intermedia</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>Fusobacterium species</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>Agregatibacter actinomycetemcomitans</i>	

### Роль цитокинов при заболеваниях пародонта

Цитокин	Биологический эффект
ИЛ-1	Провоспалительный цитокин. Запускает иммунное воспаление, стимулирует выработку матричных металлопротеиназ, усиливает резорбцию кости
ИЛ-4	Фактор пролиферации В-Лф, угнетает макрофаги
ИЛ-6	Провоспалительный цитокин, запускает иммунное воспаление
ИЛ-8	Хемоаттрактант полиморфноядерных лейкоцитов, моноцитов, Т-Лф
ИЛ-10	Противовоспалительный цитокин. Ингибирует макрофаги и Т-Лф
ИЛ-12	Активирует Th-1. Центральная роль в КИО
ИЛ-17	Провоспалительный цитокин. Усиливает резорбцию кости, активируя остеокласты
ФНО-α	Совместно с ИЛ-1 основной провоспалительный цитокин. Лимфотоксин.
ИФН-γ	Увеличивает экспрессию МНС-II и FcR, активирует макрофаги и ЕК
МСР (macrophage chemotactic protein) и МІР (macrophage inflammatory protein)	Хемоаттрактанты моноцитов, дендритных клеток, Т-Лф, эозинофилов, ЕК

**ТЕМА: Стоматологическая микробиология. Методы микробиологической диагностики стоматитов. Методы микробиологической диагностики микозов полости рта.**

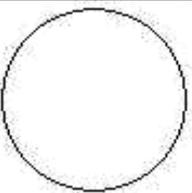
**Перечень изучаемых вопросов:**

Воспалительные заболевания слизистой оболочки полости рта. Бактериальные стоматиты: специфические (гонококковый, брюшнотифозный, сибиреязвенный стоматит, проявления в полости рта сифилиса, туберкулеза, актиномикоза, скарлатины) и неспецифические. Вирусные стоматиты. Морфология и классификация грибов. Микозы, классификация. Методы микробиологической диагностики микозов. Кандиды, общая характеристика, роль в патологии человека. Кандидозные стоматиты. Проявления аллергических и иммунодефицитных состояний в полости рта. Рецидивирующий афтозный стоматит.

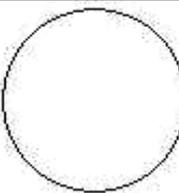
**Лабораторная работа**

1. Зарисовать демонстрационные препараты:

1) Чистая культура кандид, окраска по Граму

Препарат _____ _____ _____ Окраска _____ _____ _____	
---	---

2) Кандиды в мазке-отпечатке слизистой оболочки полости рта, окраска по Граму

Препарат _____ _____ _____ Окраска _____ _____ _____	
---	---

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

**Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 14 (32).**

**Диагностика микозов**

**Микроскопический метод**, который следует рассматривать как основной. Причины – существенные морфологические особенности разных видов грибов, простота и быстрота исполнения исследования. Результат может быть получен через 1-2 часа. Микроскопия может быть проведена в нативных препаратах (висячая или придавленная капля) без окрашивания. Для визуализации возбудителя в малопрозрачном биологическом материале (волосы, кожа, ногти и др.) производится обработка 10-20% щелочью (КОН), которая разрушает кератин и не влияет на морфологию клеток грибов. Фиксированные мазки окрашивают по Граму (грибы грамположительны), Романовскому-Гимзе, специальными методами. Диморфные грибы в биологическом материале находятся в дрожжевой форме. Возможна микроскопия гистологических препаратов, позволяющая помимо изучения морфологии гриба изучить патоморфологические процессы в пораженных тканях макроорганизма.

**Серологический метод:** РИФ, которая рассматривается как экспресс-метод серологической идентификации грибковых антигенов. РПГА, латекс-агглютинация, РП, РСК, ИФА, РИФ. Используется для выявления грибковых антигенов и противогрибковых антител в крови, СМЖ, моче. Серологические реакции не всегда высоко специфичны из-за групповых антител, но дают результаты ранее, чем их можно получить культуральным методом.

**Культуральный (микологический) метод.** Большинство патогенных грибов являются мезофилами (растут в интервале 20–45°C) и не требовательны к питательным средам, pH сред от 4,0 до 6,5. Время выращивания – в зависимости от вида гриба: от несколько суток до 2-3 недель. Наиболее часто используется среда Сауро (пептонный агар с мальтозой или глюкозой). Кислотность среды и высокое содержание углевода ингибирует рост бактерий. На питательных средах диморфные грибы (возбудители подкожных, глубоких микозов) растут в мицелиальной форме при 20–25°C. Идентификация чистой культуры проводится по морфологическим и биохимическим признакам.

**Аллергический метод.** Проводятся кожные пробы с аллергенами грибов (например, кандид), Метод недостаточно специфичен из-за групповых антигенов грибов разных видов.

**Биологический метод.** Биопробы на лабораторных животных позволяют оценить вирулентность патогена, получить культуру гриба в тканевой (дрожжевой) форме.

**Молекулярно-генетический метод.** Используют молекулярную гибридизацию и ПЦР. Достоинство – возможность применения на ранних стадиях болезни.

**ИТОГОВОЕ ЗАНЯТИЕ «Стоматологическая микробиология и вирусология».**

1. Вирусология, задачи, методы. Систематическое положение и классификация вирусов.	27. Зубной налет: этапы формирования, микроорганизмы-колонизаторы. Зубной налет как биопленка, свойства. Зубной камень и его роль в стоматологической патологии.
2. Формы существования вирусов. Морфология вирионов. Взаимодействие вирусов с восприимчивой клеткой.	28. Эпидемиология, этиология, патогенез, профилактика кариеса. Критерии кариесогенности микроорганизмов. Имунные и неимунные механизмы защиты от кариесогенных микроорганизмов. Подходы к созданию противокариозных вакцин.
3. Особенности инфекции и иммунитета при вирусных заболеваниях.	29. Классификация болезней пародонта. Гингивит. Роль микроорганизмов и иммунных факторов в развитии гингивита. Язвенно-некротический гингивит. Подходы к лечению болезней пародонта с использованием механических, химических и физических факторов.
4. Культивирование вирусов. Методы индикации и идентификации вирусов	30. Пародонтит. Факторы риска развития пародонтита. Теории патогенеза заболеваний пародонта. Общие свойства пародонтопатогенных микроорганизмов красного комплекса. Механизмы защиты эпителия от инвазии пародонтопатогенами.
5. Общие принципы диагностики вирусных инфекций.	31. Микроорганизмы красного комплекса в развитии пародонтитов: <i>Porphyromonas gingivalis</i> , <i>Treponema denticola</i> , <i>Tannerella forsythia</i> . Морфология, культивирование, факторы патогенности, обуславливающие развитие пародонтита, идентификация.
6. Вирусы гриппа, характеристика. Патогенез, диагностика, принципы терапии и профилактики гриппа и его осложнений. Проявления гриппа в полости рта.	32. Агрессивный (маргинальный) пародонтит. Роль <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> в развитии агрессивного пародонтита. Морфология, культивирование, факторы патогенности, идентификация. Роль иммунной системы в развитии агрессивного (маргинального) пародонтита.
7. Парамиксовирусы, характеристика. Вирусы кори, эпидемического паротита, парагриппа, пневмовирус. Проявления в полости рта.	33. Иммунологические аспекты болезней пародонта: роль противомикробных факторов ротовой жидкости, фагоцитов, Т- и В-лимфоцитов, эпителиальных клеток и фибробластов. Цитокины ранней и поздней фазы воспаления. Методы определения цитокинов: сбор материала для исследования, методы определения.
8. Энтеровирусы: классификация, характеристика. Энтеровирусные инфекции: патогенез, проявления в полости рта.	34. Одонтогенное воспаление. Пульпит. Пути проникновения микроорганизмов в пульпу. Факторы, препятствующие проникновению микроорганизмов в пульпу. Микроорганизмы зубных каналов: первичных и запломбированных. Антисептики для ирригации каналов зуба.
9. Вирус краснухи. Общая характеристика. Роль в патологии. Профилактика краснухи.	35. Одонтогенное воспаление. Роль микроорганизмов в развитии апикального пародонтита, периадикулярных инфекций (абсцесса, целлюлита, периостита, остеомиелита). Факторы микроорганизмов и иммунной системы, обуславливающие развитие одонтогенного воспаления.
10. Вирус бешенства: характеристика, патогенез бешенства, диагностика, профилактика.	36. Стоматиты, классификация, роль микроорганизмов. Кандидозные стоматиты, условия развития, методы диагностики. Коррекция.
11. Этиология вирусных гепатитов. Характеристика вирусов гепатита А, В, С. Патогенез и иммунитет, серологическая диагностика. Профилактика.	37. Стоматиты и инфекции мягких тканей ротовой полости, вызванные облигатно-патогенными и условно-патогенными бактериями. Основные возбудители, проявления заболеваний в ротовой полости. Диагностика. Лечение. Профилактика.
12. Ретровирусы. Вирусы иммунодефицита человека (ВИЧ). ВИЧ-инфекция: патогенез, иммунитет, этиологическая диагностика, принципы терапии, профилактика СПИД-ассоциированные заболевания, проявления в полости рта.	38. Стоматиты и инфекции мягких тканей ротовой полости, вызванные вирусами. Основные возбудители, проявления заболеваний в ротовой полости. Диагностика. Лечение. Профилактика.
13. Аденовирусы, характеристика, патогенез, диагностика. Проявления в полости рта.	39. Виды, этиология и патогенез стоматогенной инфекции. Эндокардит. Противомикробная химиопрофилактика в процессе инвазивных стоматологических процедур: препараты.
14. Вирусы герпеса, характеристика, заболевания. Герпетический стоматит.	40. Инфекции, связанные с использованием биоматериалов в стоматологии. Микрофлора стабильных имплантатов и осложненных. Подходы к лечению перимплантных инфекций. Нанотехнологии в профилактике инфекций, обусловленных использованием биоматериалов в стоматологии.
15. Бактериофаги, строение, характеристика. Практическое использование.	41. Инфекционный контроль в стоматологии. Возбудители инфекционных заболеваний, присутствующие в слюне и других секретах, мокроте и патологических очагах ротовой полости (везикулах, изъязвлениях, ранах и др.). Специфическая и неспецифическая профилактика инфекционных заболеваний в стоматологии.
16. Стоматологическая микробиология, цели и задачи.	42. Фузоспирохетозы, формы, возбудители.
17. Представители нормальной микрофлоры полости рта: аэробы и факультативные анаэробы, их роль.	
18. Представители нормальной микрофлоры полости рта: анаэробы, их роль	
19. Представители нормальной микрофлоры полости рта: извитые формы бактерий, микоплазмы, простейшие, грибы, вирусы, их роль.	
20. Общие свойства нормальной микрофлоры. Механизмы поддержания постоянства нормальной микрофлоры. Роль нормальной микрофлоры полости рта (положительная и отрицательная). Онтогенез нормальной микрофлоры.	
21. Микробная флора специфических областей полости рта: слюны, спинки языка, зубодесневой кармана, зубного налета (состав микрофлоры желтого, зеленого, оранжевого, пурпурного, красного комплексов).	
22. Методы изучения микрофлоры полости рта и способы сбора материала для исследования. Перспективы использования генетических методов в изучении полимикробных ассоциаций различных областей ротовой полости. Общие принципы микробиологической диагностики стоматологических заболеваний.	
23. Дисбактериоз полости рта, причины, значение, диагностика, коррекция.	
24. Неспецифическая резистентность полости рта: защитные факторы слизистых, эмали зубов, дентина, нормальной микрофлоры. Система полиморфноядерных лейкоцитов.	
25. Слюна и десневая жидкость, свойства, роль в противои инфекционном иммунитете. Противомикробные факторы слюны и десневой жидкости.	
26. Клетки и молекулы приобретенного иммунитета. Цитокиновые сетевые взаимодействия. Местный иммунитет полости рта. Секреторный <i>IgA</i> , методы определения.	

**Лабораторная работа**

1. Исследование крови пациента со стоматогенным сепсисом (I этап): посев материала в среду обогащения

**ТЕМА: Клиническая стоматологическая микробиология. Методы микробиологической диагностики одонтогенных воспалительных заболеваний челюстно-лицевой области и стоматогенных инфекций.**

**Перечень изучаемых вопросов:**

Одонтогенное воспаление. Микрофлора, патогенез, микробиологическая диагностика пульпита, периодонтита, периостита, остеомиелита, одонтогенных абсцессов и флегмон.

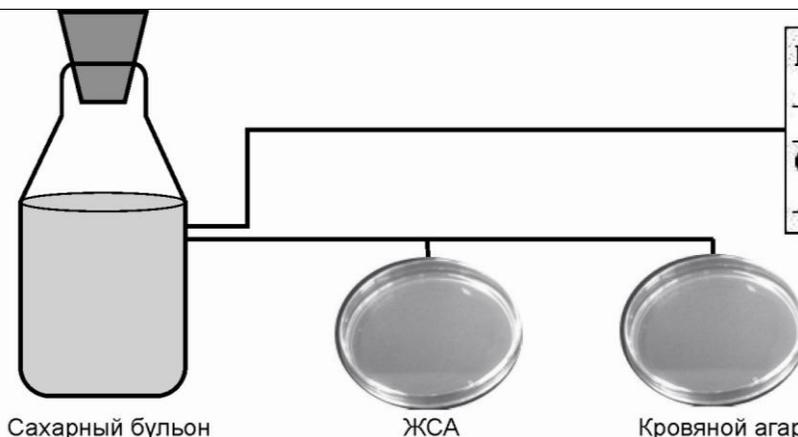
Гнойно-воспалительные стоматогенные заболевания мягких тканей и костей челюстно-лицевой области. Возбудители, патогенез, методы микробиологической диагностики (материал для исследования, правила и методы забора материала, схема бактериологического исследования гноя, критерии этиологической роли выделенных микроорганизмов). Определение чувствительности к антибиотикам.

Стоматогенный сепсис. Возбудители, методы микробиологической диагностики.

**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты
<p>1. Исследование гноя пациента с абсцессом подкожной клетчатки челюстно-лицевой области (I этап):</p> <p>1) приготовление микропрепарата из материала, окраска по Граму, микроскопия;</p> <p>2) количественный посев материала на питательные среды:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Приготовление разведений материала (<math>10^{-2}</math>–<math>10^{-6}</math>);</li> <li>- Количественный посев на сектора</li> </ul>	<p><b>Препарат</b> _____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>0,1 мл → 10<sup>-2</sup> (9,9 мл)    0,1 мл → 10<sup>-4</sup> (9,9 мл)    0,1 мл → 10<sup>-6</sup> (9,9 мл)</p> <p>гноя    стерильный физ. раствор</p> <p>посев на сектора по 0,05 мл (1 капля)</p> <p>ЖСА    Левина    МПА с фурагином</p>

2. Исследование крови пациента со стоматогенным сепсисом(II этап):
- 1) приготовить мазок с окраской по Граму;
  - 2) провести посев на ЖСА и КА для выделения чистой культуры.
  - 3) Инкубация 37°C – 24 часа



Препарат _____	○
Окраска _____	
_____	

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

### Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 16 (34).

#### Методы исследования микрофлоры при воспалительных заболеваниях челюстно-лицевой области и стоматогенных инфекциях

##### Общие принципы забора, хранения и транспортировки материала:

**Виды материала** при воспалительных заболеваниях челюстно-лицевой области:

- гной (при флегмонах и абсцессах челюстно-лицевой области);
- кровь (при подозрении на стоматогенный сепсис). Явление транзитной бактериемии может сопровождать различные стоматологические вмешательства (экстракция зуба, экстирпация пульпы, удаление зубных отложений, проведение кюретажа). У иммунокомпрометированных лиц может перейти в сепсис;
- мокрота. Поражение бронхолегочной системы (при бронхоскопии микрофлора полости рта вносится в дыхательные пути, могут развиваться фузоспирохетозные поражения легких, бактериоиды способны вызывать гангрену легкого);
- моча может забираться при подозрении на стоматогенные уроинфекции.

**Забор материала.** Материал следует забирать до начала лечения, в асептических условиях. Методы забора материала: 1. Аппликационный – материал забирают стерильными квадратами фильтровальной бумаги, при помощи стерильных бумажных штифтов, турунд, тампонов. Определяют количество микроорганизмов в 1 мл или на площади 1 см<sup>2</sup>. 2. Метод микрокапилляров – насасывание жидкости из зубодесневых карманов (или после введения в карман стеклянного шарика) и из протоков слюнных желез. 3. Метод соскоба – при проведении кюретажа, заборе материала из зубной бляшки, кариозных полостей, со слизистой оболочки. При заболеваниях полости рта инфекция эндогенная, поэтому брать материал необходимо непосредственно из очага (гингивит – из зубодесневой борозды; кариес – из кариозной полости; периодонтит – из гранулемы или патологического кармана; периостит, остеомиелит – гной). С целью предотвращения контаминации посторонней микрофлорой необходимо прополоскать рот стерильным физ. раствором, изолировать очаг стерильными тампонами.

**Хранение и транспортировка материала** нецелесообразны. Лучше проводить исследование сразу, т.к. нет специальных сред для подавления сопутствующей микрофлоры, а при хранении материала может наступить подавление патологической микрофлоры сапрофитами. При заболеваниях периодонта необходимо соблюдать правила забора и транспортировки при работе с анаэробными микроорганизмами.

**Предварительная обработка материала:** ткань, гной – механическое удаление, промывание, гомогенизация; слюна – фракционирование (центрифугирование в течение 15 мин. при 2000 об/мин) и исследование осадка.

##### Критерии оценки:

1. Повышение количества этиологически значимых микроорганизмов (кандиды, *S. mutans*, актиномицеты, вейлонеллы, превотеллы и др.).
2. Качественные показатели: обнаружение микробов в неестественном биотопе (кишечная палочка и другие энтеробактерии в полости рта).
3. Выделение ассоциаций микроорганизмов. Преобладают фузобактерии + трепонемы, кандиды + актиномицеты, анаэробы.
4. Обнаружение в стерильных жидкостях факторов патогенности (эндотоксинов). Выявление особых вариантов (сероваров *S. mutans*, чаще серовара С).

**Доминирующие микроорганизмы при различных типах одонтогенного воспаления**

Микроорганизм	Тип воспаления				
	Эксудативное			Альтеративное	Пролиферативное
	серозное	гнойное	гнилостное		
α-гемолитические стрептококки	+	+			+
γ-гемолитические стрептококки	+	+			+
Энтерококки	+				+
Лактобациллы	+	+		+	
Золотистый стафилококк		+		+	+
β-гемолитические стрептококки группы F и G		+		+	
Пептострептококки			+	+	+
Вейлонеллы		+	+	+	+
Бактероиды			+	+	+
Протей			+	+	
Клостридии			+	+	
Фузобактерии					+
Спирохеты				+	+
Вибрионы				+	+
Коринебактерии		+			
Кандиды		+			

**Дайте характеристику следующих типов одонтогенного воспаления**

Эксудативное	
Альтеративное	
Пролиферативное	

**Основные возбудители гнойно-воспалительных стоматогенных инфекций мягких тканей и костей, стоматогенного сепсиса**

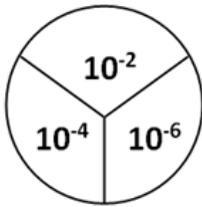
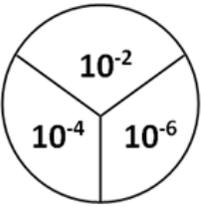
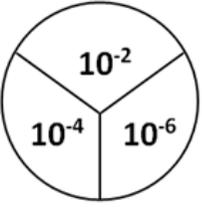
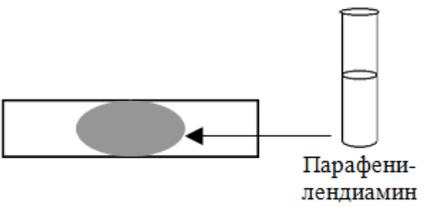
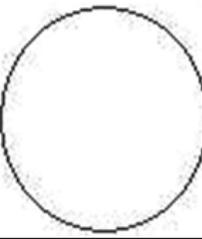

**ТЕМА: Клиническая стоматологическая микробиология (продолжение). Методы микробиологической диагностики стоматогенных бронхолегочных инфекций. Внутрибольничные инфекции в стоматологической практике.**

**Перечень изучаемых вопросов:**

Стоматогенные бронхолегочные заболевания. Возбудители. Патогенез. Условия возникновения. Методы микробиологической диагностики (материалы для исследования, правила и методы забора, схема бактериологического исследования мокроты, промывных вод бронхов, критерии этиологической роли выделенных микроорганизмов). Определение чувствительности к антибиотикам.

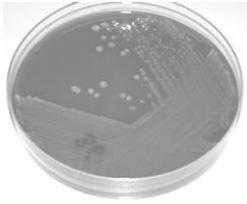
Внутрибольничные инфекции: определение, особенности в практике врача-стоматолога, возбудители, принципы диагностики. Противоэпидемический режим в стоматологической практике.

**Лабораторная работа**

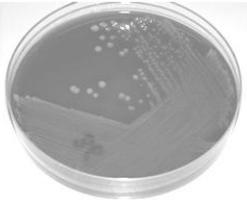
Задание	Методы, результаты
<p>1. Исследование гноя пациента с абсцессом подкожной клетчатки челюстно-лицевой области (II этап):</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1) оценка наличия роста на питательных средах;</li> <li>2) характеристика колоний;</li> <li>3) приготовление микропрепаратов из колоний, окраска по Граму, микроскопия;</li> <li>4) подсчет количества микроорганизмов в материале (КОЕ/мл);</li> <li>5) постановка теста на оксидазу;</li> <li>6) заключение.</li> </ol>	<p><b>1. Исследование гноя (II этап)</b></p> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  <p>ЖСА</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>Левина</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>МПА с фурагином</p> </div> </div> <div style="margin-top: 20px;"> <p>Характеристика колоний:</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> </div> <div style="margin-top: 20px;"> <p>Расчет количества бактерий в 1 мл материала:</p> <math display="block">N \text{ (КОЕ/мл)} = n \times 20 \times 10^x, \text{ где:}</math> <p>n – кол-во колоний на секторе,                  20 – коэф. перерасчета на 1 мл,                  10<sup>x</sup> – степень разведения материала.</p> </div> <div style="margin-top: 20px;"> <p><b>Заключение:</b> _____</p> </div> <div style="margin-top: 20px; text-align: right;"> <p>Тест на оксидазу</p>  <p>Параформендиамин</p> </div> <div style="margin-top: 20px;"> <p>Препарат _____</p> <p>Окраска _____</p>  </div>

2. Окончание исследования крови пациента со стоматогенным сепсисом:

- 1) оценка наличия роста на питательных средах;
- 2) характеристика колоний;
- 3) приготовление микропрепаратов из колоний, окраска по Граму, микроскопия;
- 4) постановка теста на коагулазу;
- 5) заключение



Кровяной агар



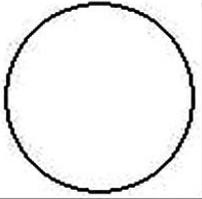
ЖСА

**Препарат** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**Окраска** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_



Характеристика колоний:

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**Заключение:**



Тест на плазмокоагулазу

Цитратная кроличья плазма: 37°C – 2, 4, 24 часа (коагуляция)

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

**Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 17 (35).**

Характеристика стоматогенных инфекций		
Клинические формы	Этиология	Условия возникновения
<b>Бактериemia</b>	Нормальная микрофлора полости рта	Экстракция зуба Периодонтит, периостит, остеомиелит Кюретаж, удаление зубных отложений
<b>Сепсис</b>	Энтерококки, пиогенные стрептококки групп А, В, F, H, <i>Streptococcus pneumonia</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Bacteroides spp.</i> , <i>Fusobacterium spp.</i> , <i>Veillonella spp.</i>	Те же на фоне нарушения иммунного статуса
<b>Бактериальный шок</b>	Липополисахариды грамотрицательных бактерий Альфа-токсин стафилококков Лецитиназа клостридий	Вскрытие очага хронической инфекции Переливание инфицированной крови
<b>Эндокардит</b>	Стрептококки ( <i>S. sanguinis</i> , <i>S. mitis</i> , <i>S. gordonii</i> ), Энтерококки, <i>Candida spp.</i> , <i>Staphylococcus spp.</i> , <i>Bacteroides spp.</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Klebsiella pneumoniae sp. pneumoniae</i>	Снижение иммунитета на фоне антибактериальной терапии Алкоголизм Наркомания Длительное лечение антибиотиками
<b>Аспирационные бронхопневмонии</b>	Спирохеты, <i>Porphyromonas spp.</i> Анаэробные стрептококки, <i>Fusobacterium spp.</i> , <i>Bacteroides spp.</i> , <i>Propionibacterium spp.</i> , <i>Prevotella spp.</i> , <i>Veillonella spp.</i> , <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i>	Периодонтит Иммунодефицит Нарушение глотания Фузоспирохетоз
<b>Заболевания слюнных желез</b>	Нормальная микрофлора полости рта <i>Rubulavirus</i> (вирус эпидемического паротита) <i>Cytomegalovirus</i> <i>Treponema pallidum sp. pallidum</i> <i>Mycobacterium tuberculosis et bovis</i>	Нарушение оттока слюны Лекарственное обезвоживание
<b>Хейлиты</b>	<i>Candida albicans</i> <i>Staphylococcus spp.</i>	Иммунодефицит, авитаминоз В <sub>2</sub> , носительство патогенного стафилококка в полости носа и полости рта

**Внутрибольничная инфекция** (синонимы: нозокомиальная инфекция, инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи, госпитальная инфекция) – любое клинически распознаваемое инфекционное заболевание, приобретенное, пациентом вследствие оказания ему различных видов медицинской помощи (профилактической, диагностической, лечебной, реабилитационной), а также инфекционное заболевание сотрудника организации здравоохранения в результате его профессиональной деятельности, вне зависимости от времени проявления симптомов заболевания. От ВБИ следует отличать внебольничные (заносные) случаи инфекционных заболеваний, зарегистрированные в процессе оказания медицинской помощи в стационарных, амбулаторно-поликлинических условиях или на дому. Основными их признаками являются: отсутствие причинно-следственной связи с выполнением лечебно-диагностических манипуляций и процедур; приобретение инфекционного заболевания в пределах минимального инкубационного периода до обращения за медицинской помощью.

#### **Классификация ВБИ**

По этиологическому признаку: бактериальные; вирусные; грибковые; протозойные; метазойные.

По способу инфицирования больных: экзогенные; эндогенные; аутоинфекции.

В зависимости от профиля оказываемой медицинской помощи: инфекции больных хирургического профиля; инфекции родильниц; инфекции новорожденных; инфекции прочих больных.

В зависимости от входных ворот и локализации инфекции: хирургические раневые инфекции; инфекции ожоговой раны; инфекции кожи и мягких тканей; первичные инфекции кровотока; сепсис; инфекции сердечно-сосудистой системы; инфекции костей и суставов; инфекции глаз; инфекции уха; инфекции носа, горла, полости рта и верхних дыхательных путей; инфекции нижних дыхательных путей; пневмония; инфекции центральной нервной системы; инфекции мочевыводящих путей; инфекции репродуктивной системы; инфекции пищеварительной системы.

В зависимости от вида возбудителя: инфекции, вызываемые облигатно-патогенными возбудителями; и вызываемые условно-патогенными возбудителями.

В зависимости от распространения патологического: локализованные инфекции; генерализованные инфекции; системные инфекции.

По характеру и длительности течения: острые; подострые; хронические.

По степени тяжести: микробоносительство; легкие формы; среднетяжелые формы; тяжелые формы.

В зависимости от механизмов, путей и факторов передачи: аэрозольные (воздушно-капельные и воздушно-пылевые); контактные (прямые и опосредованные); парентеральные (постинъекционные, постоперационные, посттрансплатационные, постэндоскопические, послеродовые, посттранфузионные, постдиализные, постгемосорбционные и другие); фекально-оральные (пищевые и водные).

#### **Критерии постановки диагноза ВБИ:**

- 1) наличие источника инфекции;
- 2) наличие механизма и путей передачи возбудителя;
- 3) наличие восприимчивого организма (выделение возбудителя из материала от больного);
- 4) развитие заболевания в срок, равный (или более) инкубационному периоду (для УПМ, как правило, спустя 48 часов);
- 5) если возбудитель инфекции – госпитальный штамм.

#### **Принципы диагностики ВБИ, вызванных УПМ**

Ведущим методом диагностики является *бактериологический метод* с соблюдением следующих принципов:

- 1) Количественный – определение численности присутствующих в материале микроорганизмов;
- 2) Динамический – повторные бактериологические исследования материала от больного каждые 4–5 дней пребывания в стационаре;
- 3) Биоценотический – выделение и идентификация всех микроорганизмов в клиническом материале;
- 4) Популяционный – учитывая гетерогенность популяции микроорганизмов-возбудителей выделяют и изучают свойства несколько культур (до 5-ти) микроорганизмов одного вида;
- 5) Химиотерапевтический – обязательное изучение чувствительности-устойчивости возбудителя к противомикробным препаратам;
- 6) Эпидемиологический – типирование микроорганизмов при эпидемиологическом мониторинге.

## ЛИТЕРАТУРА И МАТЕРИАЛЫ ДЛЯ ПОДГОТОВКИ

### Основная

- 1 *Зверев, В. В.* Медицинская микробиология, вирусология и иммунология : учебник. В 2 т. / В. В. Зверев ; под ред. В. В. Зверева, М. Н. Бойченко. Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2016. Т. 1. 448 с.
- 2 *Зверев, В. В.* Медицинская микробиология, вирусология и иммунология : учебник. В 2 т. / В. В. Зверев ; под ред. В. В. Зверева, М. Н. Бойченко. Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2016. Т. 2. 2480 с.

### Дополнительная

- 3 *Борисов, Л. Б.* Медицинская микробиология, вирусология, иммунология : учеб. пособие / Л. Б. Борисов. Москва : МИА. 2005. 736 с.
- 4 *Методы* определения количества и функциональной активности Т- и В-лимфоцитов : учеб.-метод. пособие / Т. А. Канашкова [и др.]. Минск : БГМУ, 2012. 40 с.
- 5 *Специфическая* иммунопрофилактика и иммунотерапия инфекционных заболеваний : учеб.-метод. пособие / Т. А. Канашкова [и др.]. Минск : БГМУ, 2009. 84 с.
- 6 *Методы* исследования в микробиологии : учеб.-метод. пособие / Ж. Г. Шабан [и др.]. Минск : БГМУ, 2010. 124 с.
- 7 *Слизень, В. В.* Молекулярная биология бактерий : учеб.-метод. пособие / В. В. Слизень, Л. П. Титов. Минск : БГМУ. 2007. 48 с.
- 8 *Хаитов, Р. М.* Иммунология : учебник / Р. М. Хаитов. Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2016. 496 с.
- 9 *Царев, В. Н.* Микробиология, вирусология и иммунология полости рта : учебник / В. Н. Царев ; под ред. В. Н. Царева. Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2016. 576 с.
- 10 *Аллергия.* Медиаторный тип ГНТ. Методы диагностики : учеб.-метод. пособие / Д. А. Черношей [и др.]. Минск : БГМУ, 2009. 31 с.
- 11 *Черношей, Д. А.* Методы иммуноанализа, основанные на применении меченых компонентов : учеб.-метод. пособие / Д. А. Черношей, Т. А. Канашкова. Минск : БГМУ, 2007. 28 с.
- 12 *Черношей, Д. А.* Распознавание в системе врожденного иммунитета : учеб.-метод. пособие / Д. А. Черношей, Е. Ю. Кирильчик, Т. А. Канашкова. Минск : БГМУ, 2010. 48 с.
- 13 *Общая* медицинская микробиология : учеб.-метод. пособие / Ж. Г. Шабан [и др.]. Минск : БГМУ, 2011. 320 с.

### Электронные материалы для подготовки

- 14 ЭУМК кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии. Режим доступа: внутренний сайт студента → раздел «ЭУМК и тестирование» → подраздел «Просмотр книг». Далее выбрать курс «Микробиология, вирусология, иммунология» → книга «Микробиология (стоматология)».

**ПРИЛОЖЕНИЕ 1. Классификация микроорганизмов по Берджи (сокращенная) – ПРОКАРИОТЫ, ДОМЕН (Domain) – БАКТЕРИЯ**

ТИП (Phylum)	КЛАСС (Class)	ПОРЯДОК (Order)	СЕМЕЙСТВО (Family)	РОД (Genus)	ВИД (Species)
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rickettsiales	Rickettsiaceae	<i>Rickettsia</i>	<i>R.prowazekii, R.typhi, R.felis, R.rickettsii, R.conorii, R.australis, R.akari, R.sibirica, R.japonica, R.honei</i>
				<i>Orientia</i>	<i>O.tsutsugamushi</i>
			Anaplasmataceae	<i>Ehrlichia</i>	<i>E.chaffeensis, E.canis, E.ewingii</i>
				<i>Anaplasma</i>	<i>A.phagocytophilum</i>
		Rhizobiales	<i>Bartonellaceae</i>	<i>Bartonella</i>	<i>B.quintana, B.henselae, B.bacilliformis, B.chlaridgeae, B.elizabethae</i>
			<i>Brucellaceae</i>	<i>Brucella</i>	<i>B.melitensis, B.abortus, B.suis u op.</i>
	Betaproteobacteria	Burkholderiales	<i>Burkholderiaceae</i>	<i>Burkholderia</i>	<i>B.mallei, B.pseudomallei, B.cepacia u op.</i>
			<i>Alcaligenaceae</i>	<i>Alcaligenes</i>	<i>A.faecales u op.</i>
		Neisseriales	Neisseriaceae	<i>Bordetella</i>	<i>B.pertussis, B.parapertussis, B.bronchiseptica u op.</i>
				<i>Neisseria</i>	<i>N.gonorrhoeae, N.meningitidis, N.sicca, N.subflava u op.</i>
				<i>Eikenella</i>	<i>E.corrodens</i>
		<i>Kingella</i>	<i>K.kingae u op.</i>		
	<i>Nitrozoomonadales</i>	<i>Spirillaceae</i>	<i>Spirillum</i>	<i>S.minus u op.</i>	
	Gammaproteobacteria	<i>Thiotrichales</i>	<i>Francisellaceae</i>	<i>Francisella</i>	<i>F.tularensis</i>
		Legionellales	<i>Legionellaceae</i>	<i>Legionella</i>	<i>L.pneumophila u op.</i>
			<i>Coxiellaceae</i>	<i>Coxiella</i>	<i>C.burnetii</i>
		Pseudomonadales	<i>Pseudomonadaceae</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>P.aeruginosa u op.</i>
			<i>Moraxellaceae</i>	<i>Moraxella</i>	Подпод <i>Moraxella (M.lacunata u op.);</i> Подпод <i>Branhamella (B.catarrhalis u op.)</i>
		<i>Acinetobacter</i>	<i>A.baumannii u op.</i>		
		<i>Vibrionales</i>	<i>Vibrionaceae</i>	<i>Vibrio</i>	<i>V.cholerae (биовары: cholerae, eltor), V.paraahaemolyticus, V.vulnificus, V.sputorum u op.</i>
		<i>Aeromonadales</i>	<i>Aeromonadaceae</i>	<i>Aeromonas</i>	<i>A.hydrophilia</i>
		Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	<i>Enterobacter</i>	<i>E.cloacae, E.sakazakii, E.agglomerans, E.bergdorferi u op.</i>
				<i>Calymatobacterium</i>	<i>C.granulomatis</i>
				<i>Citrobacter</i>	<i>C.freundii, C.amalonaticus, C.diversus u op.</i>
				<i>Edwardsiella</i>	<i>E.tarda u op.</i>
				<i>Erwinia</i>	<i>E.amylovora u op.</i>
				<i>Escherichia</i>	<i>E.coli, E.fergusonii, E.germanii, E.vulneris, E.blattae</i>
				<i>Hafnia</i>	<i>H.alvei</i>
	<i>Klebsiella</i>			<i>K.pneumoniae (подвиды: ozaenae, rhinoscleromae, pneumoniae), K.oxytoca, K.planticola, K.terrigena</i>	
	<i>Morganella</i>			<i>M.morganii</i>	
	<i>Plesiomonas</i>			<i>P.shigelloides</i>	
	<i>Proteus</i>			<i>P.vulgaris, P.mirabilis, u op.</i>	
	<i>Providencia</i>			<i>P.alcallifaciens u op.</i>	
<i>Salmonella</i>	2 вида ( <i>S.enterica, S.bongori</i> ). Вид <i>S.enterica</i> состоит из 6 подвидов (subsp.: <i>arizonae, diarizonae, enterica, houtenae, indica, salamae</i> ). Подвиды включают более 2500 сероваров. Сокращенное название серовара пишется: <i>S.typhi</i> . Основные серовары: <i>S.typhi, S.paratyphi A, S.schottmuelleri, S.enteritidis, S.typhimurium, S.choleraesuis u op.</i>				
<i>Serratia</i>	<i>S.marcescens u op.</i>				
<i>Shigella</i>	<i>S.dysenteriae, S.flexneri, S.boydii, S.sonnei</i>				
<i>Yersinia</i>	<i>Y.pestis, Y.enterocolitica, Y.pseudotuberculosis u op.</i>				
<i>Pasteurellales</i>	<i>Pasteurellaceae</i>	<i>Haemophilus</i>	<i>H.influenzae, H.ducreyi u op.</i>		
Epsilonproteobacteria	Campylobacteriales	<i>Campylobacteriaceae</i>	<i>Campylobacter</i>	<i>C.jejuni, C.fetus, C.coli u op.</i>	
		<i>Helicobacteriaceae</i>	<i>Helicobacter</i>	<i>H.pylori, H.heilmannii u op.</i>	
			<i>Wolinella</i>	<i>W.succinogenes</i>	

ТИП (Phylum)	КЛАСС (Class)	ПОРЯДОК (Order)	СЕМЕЙСТВО (Family)	РОД (Genus)	ВИД (Species)	
Firmicutes	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	Clostridium	<i>C.botulinum, C.perfringens, C.novyi, C.histolyticum, C.septicum, C.tetani, C.defficile</i> u òп.	
			Peptostreptococcaceae	Peptostreptococcus	<i>P.anaerobius</i> u òп.	
			Peptococcaceae	Peptococcus	<i>P.niger</i>	
				Centipeda	<i>C.periodontii</i>	
				Mitsuokella	<i>M.dentalis</i>	
			Acidaminococcaceae	Selenomonas	<i>S.sputigena</i>	
	Veillonella	<i>V.parvula</i> u òп.				
	Mollicutes	Mycoplasmatales	Mycoplasmataceae	Mycoplasma	<i>M.pneumoniae, M.hominis, M.fermentans, M.salivarum, M. orale, M.arthritis</i> u òп.	
				Ureaplasma	<i>U.urealyticum</i> u òп.	
	Bacilli	Bacillales		Bacillaceae	Bacillus	<i>B.anthraxis, B.cereus</i> u òп.
				Listeriaceae	Listeria	<i>L.monocytogenes</i> u òп.
				Staphylococcaceae	Staphylococcus	<i>S.aureus, S.epidermidis, S.saprophyticus</i> u òп.
		Lactobacillales		Lactobacillaceae	Lactobacillus	<i>L.caseii, L.fermentum,</i> u òп.
				Enterococcaceae	Enterococcus	<i>E.faecalis, E.faecium</i> u òп.
Leuconostocaceae				Leuconostoc	<i>L.mesenteroides</i>	
Streptococcaceae				Streptococcus	<i>S.pyogenes, S.pneumoniae, S.agalactiae, S.anginosus, S.bovis, S.mutans, S.mitis, S.salivarius, S.sanguis, S.milleri</i> u òп.	
				Lactococcus	<i>L.lactis</i> u òп.	
Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Actinomycetaceae	Actinomyces	<i>A.israelii, A.naeslundii, A.viscosus, A.odontolyticus, A.pyogenes,</i>	
			Micrococcaceae	Micrococcus	<i>M.lysodeicticum, M.luteus</i> u òп.	
			Corynebacteriaceae	Corynebacterium	<i>C.diphtheriae, C.ulcerans, C.urealyticum, C.xerosis</i> u òп.	
			Mycobacteriaceae	Mycobacterium	<i>M.tuberculosis, M.bovis, M.africanum, M.leprae, M.kasasii, M.avium, M.ulcerans, M.fortuitum</i> u òп.	
			Nocardiaceae	Nocardia	<i>N.asteroides, N.farcinica</i> u òп.	
			Propionibacteriaceae	Propionibacterium	<i>P.acnes, P.propionicus</i> u òп.	
	Bifidobacteriales		Bifidobacteriaceae	Bifidobacterium	<i>B.bifidum</i> u òп.	
				Gardnerella	<i>G.vaginalis</i>	
	Chlamydiae	Chlamydiae	Chlamydiales	Chlamydiaceae	Chlamydia	<i>C.trachomatis</i>
					Chlamydophila	<i>C.psittaci, C.pneumoniae</i>
Spirochaetes	Spirochaetes	Spirochaetales	Spirochaetaceae	Borrelia	<i>B.recurrentis, B.burgdorferi, B.duttoni, B.persica</i> u òп.	
				Treponema	<i>T.pallidum</i> (подвиды – <i>pallidum, endemicum, pertenuae</i> ), <i>T.carateum, T.denticola, T.minutum, T.refringens, T.scoliodontum, T.vincentii</i> u òп.	
			Leptospiraceae	Leptospira	<i>L.inerrogans, L.biflexa</i>	
Bacteroidetes	Bacteroidetes	Bacteroidales	Bacteroidaceae	Bacteroides	<i>B.fragilis, B.gingivalis</i> u òп.	
			Porphyromonadaceae	Porphyromonas	<i>P.gingivalis, P.endodontales</i> u òп.	
			Prevotellaceae	Prevotella	<i>P.melaninogenica, P.denticola</i> u òп.	
Fusobacteria	Fusobacteria	Fusobacteriales	Fusobacteriaceae	Fusobacterium	<i>F.nucleatum, F.necroforum, F.vincentii</i> u òп.	
				Leptotrichia	<i>L.buccalis</i> u òп.	
				Streptobacillus	<i>S.moniliformis</i>	

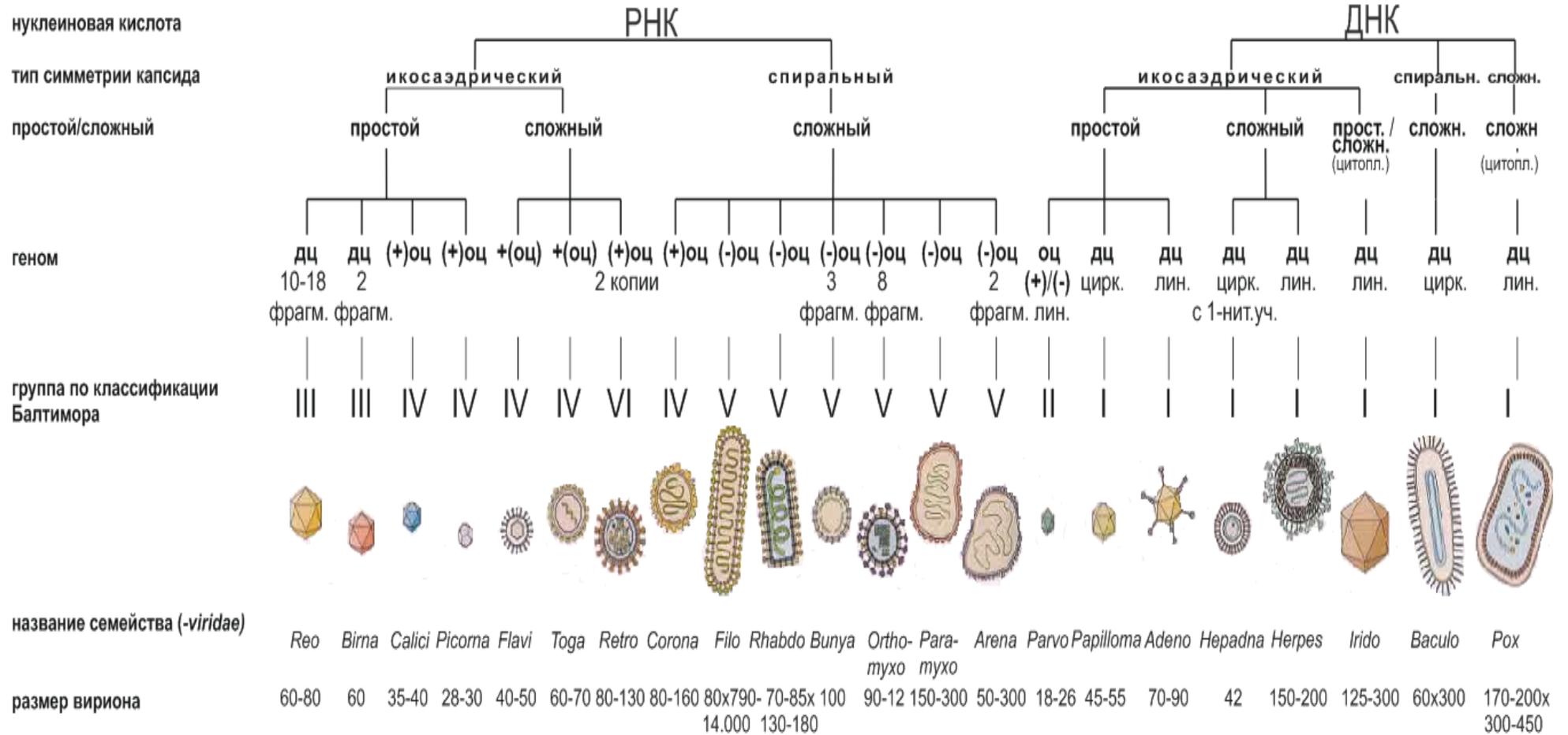
ПРИЛОЖЕНИЕ 2.

Таксономическое положение вирусов-возбудителей заболеваний человека

Группа по Балтимору	Порядок	Семейство	Подсемейство	Род	Вид		
I	Herpesvirales	Herpesviridae	Alphaherpesvirinae	Simplexvirus	Human alphaherpesvirus 1		
					Human alphaherpesvirus 2		
				Varicellovirus	Human alphaherpesvirus 3		
			Betaherpesvirinae	Cytomegalovirus	Human betaherpesvirus 5		
				Roseolovirus	Human betaherpesvirus 6A, 6B		
					Human betaherpesvirus 7		
				Lymphocryptovirus	Human gammaherpesvirus 4		
			Не определен	Papillomaviridae	-	Rhadinovirus	Human gammaherpesvirus 8
						Mastadenovirus	Human mastadenovirus A, B, C, D, E, F, G
						Alphapapillomavirus	Alphapapillomavirus 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 13
	Betapapillomavirus	Betapapillomavirus 1, 2, 3, 4					
	Gammapapillomavirus	Gammapapillomavirus 1, 2, 3, 4, 5					
	Mupapillomavirus	Mupapillomavirus 1, 2					
	Не определен	Polyomaviridae	-	Nupapillomavirus	Nupapillomavirus 1		
				Alphapolyomavirus	Human polyomavirus 5, 8, 9, 12, 13		
				Betapolyomavirus	Human polyomavirus 1, 2, 3, 4		
				Deltapolyomavirus	Human polyomavirus 6, 7, 10, 11		
		Poxviridae	Chordopoxvirinae	-	Orthopoxvirus	Monkeypox virus	
						Vaccinia virus	
						Variola virus	
Molluscipoxvirus					Molluscum contagiosum virus		
	Parapoxvirus	Orf virus					
	Yatapoxvirus	Tanapox virus					
II	Не определен	-	Cyclovirus	Yaba monkey tumor virus			
				Human cyclovirus 1, 2, 3			
				Human faeces associated cyclovirus 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8			
III	Не определен	-	Dependoparvovirus	Adeno-associated dependoparvovirus A, B			
			Erythroparvovirus	Primate erythroparvovirus 1			
IV	Picornavirales	Picornaviridae	-	Picobirnavirus	Human picobirnavirus		
				Rotavirus	Rotavirus A, B, C		
				Seadornavirus	Banna virus		
				Coltivirus	Colorado tick fever virus		
				Alphacoronavirus	Human coronavirus 229E, NL63		
IV	Nidovirales	Coronaviridae	Coronavirinae	Betacoronavirus	Human coronavirus HKU1		
					Middle East respiratory syndrome-related coronavirus		
				Torovirus	Human torovirus		
	Не определен	-	-	Aphthovirus	Foot-and-mouth disease virus		
				Cardiovirus	Cardiovirus B, C		
				Cosavirus	Cosavirus A		
				Enterovirus	Enterovirus A (включает энтеровирусы (12 серотипов) и вирусы Коксаки А2 (11 серотипов))		
					Enterovirus B (включает энтеровирусы (25 серотипов), вирусы Коксаки В2 (7 серотипов), ECHO-вирусы (28 серотипов))		
					Enterovirus C (включает полиовирусы (3 серотипа), энтеровирусы (11 серотипов), вирусы Коксаки А1 (9 серотипов))		
					Enterovirus D, E, F, G, H, J		
	Rhinovirus A, B, C						
	Hepatovirus	Hepatovirus A					

				<i>Kobuvirus</i>	<i>Aichivirus A, B, C</i>		
				<i>Parechovirus</i>	<i>Parechovirus A, B</i>		
				<i>Rosavirus</i>	<i>Rosavirus A</i>		
				<i>Salivirus</i>	<i>Salivirus A</i>		
	Не определен	<i>Astroviridae</i>	–	<i>Mamastrovirus</i>	<i>Mamastrovirus 1</i>		
		<i>Caliciviridae</i>	–	<i>Norovirus</i>	<i>Norwalk virus</i>		
		<i>Flaviviridae</i>	–	<i>Flavivirus</i>	<i>Dengue virus, Japanese encephalitis virus, Omsk hemorrhagic fever virus, St. Louis encephalitis virus, Tick-borne encephalitis virus</i> (вирус клещевого энцефалита), <i>West Nile virus, Yellow fever virus, Zika virus</i>		
				<i>Hepacivirus</i>	<i>Hepatitis C virus</i>		
				<i>Pegivirus</i>	<i>Pegivirus A</i> (вирус гепатита G)		
		<i>Hepeviridae</i>	–	<i>Orthohepevirus</i>	<i>Orthohepevirus A</i> (вирус гепатита E)		
		<i>Togaviridae</i>	–	<i>Alphavirus</i>	<i>Barmah Forest virus, Chikungunya virus, O'nyong-nyong virus, Sindbis virus, Venezuelan equine encephalitis virus</i> и др.		
				<i>Rubivirus</i>	<i>Rubella virus</i>		
V	<i>Mononegavirales</i>	<i>Bornaviridae</i>	–	<i>Bornavirus</i>	<i>Mammalian 1 bornavirus</i>		
		<i>Filoviridae</i>	–	<i>Ebolavirus</i>	<i>Bundibugyo ebolavirus</i> <i>Reston ebolavirus</i> <i>Sudan ebolavirus</i> <i>Tai Forest ebolavirus</i> <i>Zaire ebolavirus</i>		
				<i>Marburgvirus</i>	<i>Marburg marburgvirus</i>		
				<i>Avulavirus</i>	<i>Newcastle disease virus</i>		
				<i>Morbillivirus</i>	<i>Measles virus</i> (вирус кори)		
				<i>Henipavirus</i>	<i>Hendra virus</i> <i>Nipah virus</i>		
			<i>Paramyxoviridae</i>	–	<i>Respirovirus</i>	<i>Human parainfluenza virus 1, 3</i> <i>Sendai virus</i> <i>Human parainfluenza virus 2, 4</i> <i>Mumps virus</i> (вирус эпидемического паротита)	
				<i>Pneumoviridae</i>	–	<i>Metapneumovirus</i>	<i>Human metapneumovirus</i>
				<i>Rhabdoviridae</i>	–	<i>Orthopneumovirus</i>	<i>Human respiratory syncytial virus</i>
			Не определен		–	<i>Lyssavirus</i>	<i>Rabies lyssavirus</i>
		<i>Arenaviridae</i>		–	<i>Vesiculovirus</i>	<i>Indiana vesiculovirus</i>	
		<i>Bunyaviridae</i>		–	<i>Mammarenavirus</i>	<i>Junin mammarenavirus, Lassa mammarenavirus, Lymphocytic choriomeningitis mammarenavirus, Machupo mammarenavirus</i> и др.	
					<i>Hantavirus</i>	<i>Hantaan hantavirus, Khabarovsk hantavirus, Seoul hantavirus</i> и др.	
					<i>Nairovirus</i>	<i>Crimean-Congo hemorrhagic fever nairovirus</i> и др.	
					–	<i>Orthobunyavirus</i>	<i>Bunyamwera orthobunyavirus</i> и др.
					–	<i>Phlebovirus</i>	<i>Rift Valley fever phlebovirus, Sandfly fever Naples phlebovirus</i> и др.
		<i>Orthomyxoviridae</i>		–	<i>Influenzavirus A</i>	<i>Influenza A virus</i>	
				<i>Influenzavirus B</i>	<i>Influenza B virus</i>		
				<i>Influenzavirus C</i>	<i>Influenza C virus</i>		
				<i>Thogotovirus</i>	<i>Dhori virus</i> <i>Thogoto virus</i>		
	Не определен	Не определено	–	<i>Deltavirus</i>	<i>Hepatitis delta virus</i>		
VI	Не определен	<i>Retroviridae</i>	<i>Orthoretrovirinae</i>	<i>Lentivirus</i>	<i>Human immunodeficiency virus 1, 2</i>		
				<i>Deltaretrovirus</i>	<i>Primate T-lymphotropic virus 1</i>		
VII	Не определен	<i>Hepadnaviridae</i>	–	<i>Orthohepadnavirus</i>	<i>Hepatitis B virus</i>		

# Инфографика «Систематика вирусов»



ПРИЛОЖЕНИЕ 3.

Классификация грибов

ГРИБЫ относятся к домену – *EUKARYA*, царству – *FUNGI (MYCETES, MYCOTA)*, включают 6 типов из которых 4 имеют медицинское значение:

Тип	Класс	Порядок	Основные роды	Болезни людей
Zygomycota	Zygomycetes	<i>Mucorales</i>	<i>Mucor, Rhizopus, Rhizomucor, Absidia, Cunninghamella, Saksenaea</i>	зигомикоз
		<i>Entomophthorales</i>	<i>Basidiobolus, Conidiobolus</i>	
Ascomycota	Ascomycetes	<i>Saccharomycetales</i>	Дрожжи: <i>Saccharomyces, Pichia</i> (телеоморфы <i>Candida spp.</i> )	многочисленные микозы
		<i>Onygenalis</i>	<i>Arthroderma</i> (телеоморфы <i>Trichophyton u Microsporum</i> )	дерматомикозы
		<i>Eurotiales</i>	Телеоморфы некоторых <i>Aspergillus u Penicillium spp.</i>	аспергиллез, пенициллез, гиа­ло­ги­фо­ми­коз
		<i>Microascales</i>	<i>Pseudallescheria boydii</i> (телеоморфа <i>Scedosporum apiospermum</i> )	мицетома, гиа­ло­ги­фо­ми­коз
		<i>Pyrenomycetes</i>	<i>Nectria, Gibberelia</i> (телеоморфы многих <i>Fusarium spp.</i> )	кератоз, гиа­ло­ги­фо­ми­коз
	<i>Archiascomycetes</i>	<i>Pneumocystidales</i>	<i>Pneumocystis carinii</i>	пневмония
Basidiomycota	Basidiomycetes	<i>Agaricales</i>	<i>Amanita, Agaricus</i>	отравление ядом грибов
		<i>Tremellales</i>	Дрожжи: <i>Filobasidiella</i> (телеоморфы <i>Cryptococcus neoformans</i> )	криптококкоз
Deuteromycota или митоспоровые грибы		<i>Cryptococcales</i>	Несовершенные грибы: <i>Candida, Cryptococcus, Trichosporon, Malassezia</i>	многочисленные микозы
		<i>Moniales</i> , семейство <i>Moni­aliaceae</i>	<i>Epidermophyton, Coccidioides, Paracoccidioides, Sporothrix, Aspergillus</i>	многочисленные микозы
		<i>Moniales</i> , семейство <i>Dema­tiaceae</i>	<i>Philaphora, Fonsecaea, Exophiala, Wangiella, Cladophialophora, Bipolaris, Exserohilum, Alternaria</i>	хромобластмикоз, мицетома, феогифомикоз
		<i>Sphaeropsidales</i>	<i>Phoma</i>	феогифомикоз

**Не имеют медицинского значения:**

- 1) Хитридиомицеты (тип – *Chytridiomycota*) – водные сапрфитные грибы или грибы, поражающие водоросли.
- 2) Оомицеты - организмы, родственные водорослям, паразиты высших растений (оомицеты отличаются от грибов по 6 биологическим признакам – теперь их относят к царству *Stramenopila*, типу *Oomycota*).

ПРИЛОЖЕНИЕ 4.

Клиническая классификация микозов

Клиническая классификация	Названия грибов	Болезни
Возбудители поверхностных микозов (кератомикозов)	<i>Malassezia furfur</i>	Пестрый лишай (отрубевидный лишай)
	<i>Exophiala werneckii</i>	Черный лишай
	<i>Piedraia hortae</i>	Черная пьедра
	<i>Trichosporon beigeli</i>	Белая пьедра
Возбудители эпидермофитий (дерматомикозов)	<b>Антропофильные дерматофиты:</b>	
	<i>Epidermophyton floccosum</i>	Эпидермофития
	<i>Microsporum audouinii</i> , <i>M. ferrugineum</i>	Микроспория
	<i>Trichophyton tonsurans</i> , <i>T. violaceum</i>	Трихофития
	<i>Trichophyton interdigitale</i> ( <i>T. mentagrophytes</i> v. <i>interdigitale</i> )	Эпидермофития стоп, ногтей
	<i>Trichophyton rubrum</i>	Руброфития
	<i>Trichophyton schoenleinii</i>	Фавус
	<b>Зоофильные дерматофиты:</b>	
	<i>Microsporum canis</i> , <i>M. gallinae</i>	Микроспория
	<i>Trichophyton verrucosum</i> , <i>T. equinum</i>	Трихофития
<b>Геофильные дерматофиты:</b>		
<i>Microsporum cookie</i> , <i>M. gypseum</i> , <i>M. nanum</i> , <i>M. fulvum</i>	Микроспория	
Возбудители подкожных (субкутанных) микозов	<i>Sporothrix schenckii</i>	Споротрихоз
	Виды родов: <i>Fonsecaea</i> , <i>Phialophora</i> , <i>Cladophialophora</i> , <i>Exophiala</i> , <i>Rhinosporidium</i>	Хромобластомикоз
	Виды родов: <i>Exophiala</i> , <i>Phialophora</i> , <i>Wangiella</i> , <i>Cladophialophora</i> и др.	Феогифомикоз
	Виды родов: <i>Aureobasidium</i> , <i>Curvularia</i> , <i>Alternaria</i> , <i>Phoma</i> , <i>Madurella</i> , <i>Phialophora</i> , <i>Exophiala</i> , <i>Acremonium</i> и др.	Мицетома
Возбудители системных (глубоких) микозов	<i>Histoplasma capsulatum</i>	Гистоплазмоз
	<i>Blastomyces dermatitidis</i>	Бластомикоз
	<i>Paracoccidioides brasiliensis</i>	Паракокцидиоидомикоз
	<i>Coccidioides immitis</i>	Кокцидиоидомикоз
	<i>Cryptococcus neoformans</i>	Криптококкоз
Возбудители оппортунистических микозов	<i>Candida</i> spp.	Кандидоз
	<i>Mucor</i> spp., <i>Rhizopus</i> spp.	Зигомикоз
	<i>Aspergillus</i> spp.	Аспергиллез
	<i>Penicillium</i> spp.	Пенициллез
	<i>Fusarium</i> spp.	Фузариоз
	<i>Pneumocystis carinii</i>	Пневмония
Возбудители микотоксикозов	<i>Fusarium</i> spp., <i>Aspergillus</i> spp., <i>Penicillium</i> spp.	Микотоксикоз
Неклассифицированные грибы	<i>Loboa loboii</i>	Лобомикоз
	<i>Rhinosporidium seeberi</i>	Риноспоридиоз

**ПРИЛОЖЕНИЕ 5. Инфекционная заболеваемость населения Республики Беларусь и Национальный календарь профилактических прививок**

**Заболеваемость населения Республики Беларусь инфекционными болезнями**

Нозологическая форма	Заболеваемость на 100 тыс. населения		
	2005	2010	2015
Брюшной тиф и паратифы	0,06	0,02	0,01
Др. сальмонеллезы	34,6	58,3	37,0
Вирусный гепатит, в т.ч. гепатит В	12,2	4,6	4,2
Бактер. дизентерия	16,6	1,1	0,2
ОКИ неуст. этиологии	103,9	135,7	138,6
Корь	0,01	0,01	0,02
Дифтерия	0,1	0,01	–
Коклюш и паракоклюш	0,9	1,4	5,4
Скарлатина	32,7	14,2	11,4
Полиомиелит	–	–	–
Риккетсиозы, в т.ч. эпид. тиф и болезнь Брилля	0,01	–	–
Грипп и ОРЗ	31 576,2	37 310,1	34 661,2
Ветряная оспа	549,9	549,6	728,6
Столбняк	0,01	0,02	–
Бруцеллез	0,02	–	–
Менингококковая инфекция, в т.ч. генерализ. форма	3,4	1,4	0,7
Клещевой энцефалит	2,6	1,3	0,7
Малярия	0,5	1,0	0,8
Иерсиниоз	0,1	0,1	0,1
Лептоспироз	2,2	1,8	0,7
Бешенство	0,2	0,3	0,2
Бешенство	–	–	–
Краснуха	39,0	–	0,01
Гонорея	62,8	37,0	22,3
Сифилис	32,7	13,0	7,8
Хламидийные инфекции	238,4	114,4	76,3

**Заболеваемость населения Республики Беларусь активным туберкулезом (число пациентов с впервые установленным диагнозом)**

Форма туберкулеза	Заболеваемость на 100 тыс. населения		
	2005	2010	2015
Туберкулез органов дыхания	50,6	42,4	30,6
Туберкулез мочеполовых органов	1,0	0,7	0,5
Туберкулез костей и суставов	1,7	1,8	1,4
Прочие формы туберкулеза	1,0	0,8	0,3
Всего	54,3	45,8	32,7

**Эпидемиологическая ситуация по ВИЧ/СПИД в Республике Беларусь**

ВИЧ-инфицированы						установлен диагноз			
Абс.			Распространенность на 100 тыс.			ВИЧ-инф.		СПИД	
на 01.12.2015	на 01.09.2016	на 01.01.2017	на 01.12.2015	на 01.09.2016	на 01.01.2017	за 2015	за 2016	за 2015	за 2016
15 069	16 570	17 260	158,9	174,4	181,7	2 305	2 391	490	512

**Национальный календарь профилактических прививок**

Перечень инфекций, против которых проводятся профилактические прививки	Группы физических лиц и сроки проведения профилактических прививок
Вирусный гепатит В	Новорожденные в первые 12 часов жизни, дети в возрасте 1 и 5 месяцев
Туберкулез	Новорожденные на 3–5-й день жизни, дети в возрасте 7 лет, относящиеся к группе повышенного риска заболевания туберкулезом
Пневмококковая инфекция	Дети в возрасте 2, 4 и 12 месяцев
Дифтерия, столбняк, коклюш	Дети в возрасте 3, 4, 5, 18 месяцев
Полиомиелит	Дети в возрасте 3, 4, 5, 18 месяцев, 2 и 7 лет
Гемофильная инфекция	Дети в возрасте 3, 4, 5, 18 месяцев
Корь, эпидемический паротит, краснуха	Дети в возрасте 12 месяцев и 6 лет
Дифтерия и столбняк	Дети в возрасте 6 лет, 16 лет, взрослые в возрасте 26 лет и каждые последующие 10 лет жизни до достижения возраста 66 лет
Дифтерия	Дети в возрасте 11 лет
Грипп	Дети в возрасте с 6 месяцев и взрослые

## ПРИЛОЖЕНИЕ 6. Критерии оценки знаний студентов на кафедре микробиологии, вирусологии, иммунологии

<p>Основой для определения оценки на экзаменах служит уровень усвоения студентами материала, предусмотренного образовательным стандартом и учебной программой соответствующей дисциплины.</p> <p><b>10 (десять) баллов</b> выставляются студенту, выявившему систематизированные, глубокие и полные знания по всем разделам учебной программы, умеющему логически правильно и последовательно излагать ответы на вопросы, безупречно владеющему терминологией на русском и латинском языках, умеющему свободно демонстрировать навыки работы с иммерсионным микроскопом, микроскопии препаратов, описания морфологии микроорганизмов, приготовления и окраски препаратов, посева на питательные среды и учета биохимической активности микроорганизмов, постановки и учета серологических реакций, соблюдения правил безопасной работы с микроорганизмами, способному делать обобщения и выводы, решать ситуационные задачи, проявившему понимание микробиологических (вирусологических и иммунологических) данных для теоретической и клинической медицины, активно работавшему на практических занятиях, проявившему творческий подход в овладении материалом дисциплины, активно работавшему в студенческом научном кружке, проявившим интерес к самостоятельному изучению дополнительной литературы, подготовке рефератов.</p> <p><b>9 (девять) баллов</b> выставляются студенту, выявившему систематизированные, глубокие и полные знания по всем разделам учебной программы, умеющему логически правильно и последовательно излагать ответы на вопросы, безупречно владеющему терминологией на русском и латинском языках, умеющему свободно демонстрировать навыки работы с иммерсионным микроскопом, микроскопии препаратов, описания морфологии микроорганизмов, приготовления и окраски препаратов, посева на питательные среды и учета биохимической активности микроорганизмов, постановки и учета серологических реакций, соблюдения правил безопасной работы с микроорганизмами, способному делать обобщения и выводы, решать ситуационные задачи, проявившему понимание микробиологических (вирусологических и иммунологических) данных для теоретической и клинической медицины, активно работавшему на практических занятиях, принимавшему активное участие в групповых обсуждениях изучаемого материала.</p> <p><b>8 (восемь) баллов</b> выставляются студенту, выявившему систематизированные, глубокие и полные знания по всем разделам учебной программы, умеющему логически правильно и последовательно излагать ответы на вопросы, хорошо владеющему терминологией на русском и латинском языках, умеющему точно демонстрировать навыки работы с иммерсионным микроскопом, микроскопии препаратов, описания морфологии микроорганизмов, приготовления и окраски препаратов, посева на питательные среды и учета биохимической активности микроорганизмов, постановки и учета серологических реакций, соблюдения правил безопасной работы с микроорганизмами, способному делать обобщения и выводы, решать ситуационные задачи, проявившему понимание микробиологических (вирусологических и иммунологических) данных для теоретической и клинической медицины, активно работавшему на практических занятиях, принимавшему активное участие в групповых обсуждениях изучаемого материала, но допустившему в ответе незначительные погрешности (неточные выражения, несущественные неточности в терминологии, нерациональные приемы при демонстрации практических навыков).</p> <p><b>7 (семь) баллов</b> выставляются студенту, выявившему систематизированные, глубокие и полные знания по всем разделам учебной программы, умеющему логически правильно и последовательно излагать ответы на вопросы, хорошо владеющему терминологией на русском и латинском языках, умеющему точно демонстрировать навыки работы с иммерсионным микроскопом, микроскопии препаратов, описания морфологии микроорганизмов, приготовления и окраски препаратов, посева</p>	<p>на питательные среды и учета биохимической активности микроорганизмов, постановки и учета серологических реакций, соблюдения правил безопасной работы с микроорганизмами, способному делать обобщения и выводы, решать ситуационные задачи, проявившему понимание микробиологических (вирусологических и иммунологических) данных для теоретической и клинической медицины, активно работавшему на практических занятиях, принимавшему активное участие в групповых обсуждениях изучаемого материала, но допустившему в ответе погрешности и несущественные ошибки (неточные выражения, неточности в терминологии, непоследовательность и нерациональные приемы при демонстрации практических навыков).</p> <p><b>6 (шесть) баллов</b> выставляются студенту, выявившему достаточно полные и систематизированные знания в объеме учебной программы, умеющему правильно излагать ответы на вопросы, хорошо владеющему терминологией на русском и латинском языках, умеющему демонстрировать навыки работы с иммерсионным микроскопом, микроскопии препаратов, описания морфологии микроорганизмов, приготовления и окраски препаратов, посева на питательные среды и учета биохимической активности микроорганизмов, постановки и учета серологических реакций, соблюдения правил безопасной работы с микроорганизмами, способному делать обобщения и выводы, решать ситуационные задачи, старательно работавшему на практических занятиях, но допустившему в ответе погрешности и несущественные ошибки (недостаточно продуманный план ответа, неточные выражения, неточные определения понятий, непоследовательность и нерациональные приемы при демонстрации практических навыков).</p> <p><b>5 (пять) баллов</b> выставляются студенту, выявившему достаточные знания, необходимые для дальнейшей учебы и работы по специальности, в объеме учебной программы, умеющему излагать ответы на вопросы и выделять главное, показавшему удовлетворительное владение терминологией и усвоение практических навыков, старательно работавшему на практических занятиях, но допустившему в ответе нарушения логики и последовательности изложения, неточные определения понятий, пробелы в изложении отдельных тем дисциплины.</p> <p><b>4 (четыре) балла</b> выставляются студенту, усвоившему основной объем знаний в рамках образовательного стандарта, позволяющий продолжить учебу, удовлетворительно владеющему терминологией, выявившему умение выделить в ответе главное, но допустившему непоследовательность и фрагментарность в изложении ответов на вопросы, незнание определений и сущности некоторых понятий, проявившему затруднения в демонстрации практических навыков.</p> <p><b>3 (три) балла</b> выставляются студенту, выявившему неполный объем знаний в рамках образовательного стандарта, недостаточный для продолжения учебы, проявившему недостаточную содержательность и логическую последовательность в изложении ответа на вопросы, неумение выделить в ответе главное, показавшем недостаточное владение терминологией и практическими навыками работы, не отличающемся активностью на практических занятиях.</p> <p><b>2 (два) балла</b> выставляются студенту, выявившему фрагментарность знаний в рамках образовательного стандарта, обнаружившему пробелы в знаниях или отсутствие знаний по значительной части материала учебной программы, допустившему грубые ошибки в изложении ответа, не владеющему терминологией, не умеющему демонстрировать практические навыки, что в совокупности не позволяет продолжать обучение.</p> <p><b>1 (один) балл</b> выставляются студенту, выявившему отсутствие знаний в рамках образовательного стандарта, представившему ответ полностью не по существу поставленных вопросов или отказавшемуся от ответа.</p>
---	---

**ПРИЛОЖЕНИЕ 7.**

**Рейтинговая система оценки знаний студентов. Академическая успеваемость студента.**

В соответствии со стандартом УО «БГМУ» СТУ Д 1.40 - 2013 «Рейтинг студентов», кафедрой микробиологии, вирусологии, иммунологии разработана следующая методика расчета показателя рейтинговой оценки показателя учебной и учебно-исследовательской деятельности студента по дисциплине:

1. Формула для расчета рейтинговой оценки студента за семестры:

$$R(\text{тек.}) = \text{Ср.тек.} * 0,3 + \text{Ср.к.} * 0,7 + \text{Б},$$

где Ср.тек – средний балл текущей успеваемости за два семестра,  
Ср.к – средняя за все коллоквиумы,  
0,3; 0,7 – коэффициенты весомости показателей,  
Б – бонусные баллы.

Рейтинговая оценка студента за работу в семестре рассчитывается с точностью до сотых долей числа в соответствии с правилами математического округления.

**Бонусные баллы начисляются за:**

- Участие в НИРС на кафедре
- Публикация статей или тезисов
- Призовое место в студенческой Олимпиаде по предмету
- Участие в республиканском конкурсе студенческих научных работ

2. Итоговая экзаменационная оценка по дисциплине рассчитывается при условии удовлетворительного ответа на экзамене по формуле:

$$\text{ИО} = R_{\text{тек.}} * 0,3 + \text{О (п. нав.)} * 0,1 + \text{О (у. о.)} * 0,6,$$

где ИО – итоговая экзаменационная оценка по дисциплине (показатель учебной и учебно-исследовательской деятельности студента),  
Rтек. – рейтинговая оценка студента за семестры,  
О(п. нав). – оценка, полученная при сдаче практических навыков,  
О(у. о.) – оценка, полученная за устный ответ на экзамене,  
0,3, 0,1 и 0,6 – коэффициенты весомости показателей.

Итоговая экзаменационная оценка рассчитывается с точностью до целых чисел в соответствии с правилами математического округления.

3. В случае получения студентом на экзамене оценки, превышающей рейтинговую оценку по дисциплине и рейтинговой оценке не менее 7 баллов, в зачетно-экзаменационную ведомость выставляется оценка, полученная на экзамене, без учета рейтинга.

4. В случае получения студентом на экзамене неудовлетворительной оценки по дисциплине рейтинговая оценка не учитывается и в зачетно-экзаменационную ведомость выставляется оценка, полученная на экзамене.

**Академическая успеваемость студента**

Итоговое занятие	Оценка	Подпись преподавателя	Итоговое занятие	Оценка	Подпись преподавателя
Коллоквиум 1			Коллоквиум 3		
Коллоквиум 2			Коллоквиум 4		

## ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение.....	3
Список сокращений.....	3
<b>Первый семестр</b>	
<i>Занятие № 1.</i> Методы исследования в микробиологии. Бактериоскопический метод исследования. Характеристика основных форм бактерий. Простые методы окраски .....	4
<i>Занятие № 2.</i> Бактериоскопический метод исследования. Структура бактериальной клетки. Сложные методы окраски .....	7
<i>Занятие № 3.</i> Бактериоскопический метод исследования. Дефектные и покоящиеся формы бактерий. Морфология спирохет, актиномицетов, риккетсий, хламидий, микоплазм .....	10
<i>Занятие № 4.</i> Экология микробов. Противомикробные мероприятия: методы стерилизации и дезинфекции, асептика, антисептика.....	13
<i>Занятие № 5.</i> Культуральный (бактериологический) метод исследования. Методы выделения чистых культур бактерий .....	16
<i>Занятие № 6.</i> Культуральный (бактериологический) метод исследования. Методы идентификации чистых культур бактерий.....	20
<i>Занятие № 7.</i> Методы изучения генетики бактерий. Методы молекулярной диагностики .....	23
<i>Занятие № 8.</i> Инфекция. Биологический метод исследования. Методы изучения чувствительности микробов к антибиотикам .....	25
<i>Занятие № 9.</i> ИТОГОВОЕ ЗАНЯТИЕ «Морфология и физиология микроорганизмов. Инфекция» .....	29
<i>Занятие № 10.</i> Методы клинической и инфекционной иммунологии. Иммунная система. Методы изучения врожденного иммунитета .....	30
<i>Занятие № 11.</i> Методы клинической и инфекционной иммунологии. Иммунный ответ организма .....	33
<i>Занятие № 12.</i> Методы клинической и инфекционной иммунологии. Серологический метод исследования .....	37
<i>Занятие № 13.</i> Иммунопрофилактика и иммунотерапия. Иммунопатология и клиническая иммунология. Аллергия .....	39
<i>Занятие № 14.</i> ИТОГОВОЕ ЗАНЯТИЕ «Иммунология. Иммунитет. Аллергия» .....	42
<i>Занятие № 15.</i> Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых стафилококками, стрептококками, нейссериями.....	43
<i>Занятие № 16.</i> Методы микробиологической диагностики острых кишечных инфекций (ОКИ), вызываемых энтеробактериями. Принципы диагностики пищевых отравлений .....	48
<i>Занятие № 17.</i> Методы микробиологической диагностики клебсиеллезов. Диагностика заболеваний, вызываемых кампилобактериями и хеликобактериями. Микробиологическая диагностика синегнойной инфекции.....	51
<i>Занятие № 18.</i> ЗАЧЕТ .....	53
<b>Второй семестр</b>	
<i>Занятие № 1 (19).</i> Методы микробиологической диагностики дифтерии и коклюша.....	54
<i>Занятие № 2 (20).</i> Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых актиномицетами и микобактериями .....	56

Занятие № 3 (21). Методы микробиологической диагностики анаэробных инфекций.....	58
Занятие № 4(22). Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых спирохетами, риккетсиями, хламидиями, микоплазмами .....	60
Занятие № 5 (23). ИТОГОВОЕ ЗАНЯТИЕ «Частная микробиология».....	64
Занятие № 6 (24). Методы вирусологических исследований. Бактериофаги .....	65
Занятие № 7 (25). Методы вирусологической диагностики заболеваний, вызываемых орто-, парамиксовирусами. Вирус краснухи.....	67
Занятие № 8 (26). Методы вирусологической диагностики энтеровирусных заболеваний и вирусных гепатитов .....	70
Занятие № 9 (27). Методы вирусологической диагностики ВИЧ-инфекции. Вирус бешенства .....	73
Занятие № 10 (28). Методы вирусологической диагностики герпетических и аденовирусных заболеваний полости рта .....	75
Занятие № 11 (29). Стоматологическая микробиология. Методы изучения нормальной микрофлоры. Микробиология кариеса.....	77
Занятие № 12 (30). Стоматологическая микробиология. Методы изучения факторов иммунитета полости рта.....	80
Занятие № 13 (31). Клиническая стоматологическая микробиология. Микробиология периодонтитов и периимплантитов .....	82
Занятие № 14 (32). Клиническая стоматологическая микробиология. Методы микробиологической диагностики стоматитов. Методы микробиологической диагностики микозов полости рта .....	84
Занятие № 15 (33). ИТОГОВОЕ ЗАНЯТИЕ «Стоматологическая микробиология и вирусология».....	85
Занятие № 16 (34). Клиническая стоматологическая микробиология. Методы микробиологической диагностики одонтогенных гнойно-воспалительных заболеваний челюстно-лицевой области и стоматогенных инфекций .....	86
Занятие № 17 (35). Клиническая стоматологическая микробиология (продолжение). Методы микробиологической диагностики стоматогенных бронхолегочных инфекций. Внутрибольничные инфекции в стоматологической практике .....	89
Литература и материалы для подготовки.....	92
ПРИЛОЖЕНИЕ 1. Классификация микроорганизмов по Берджи (ПРОКАРИОТЫ) .....	93
ПРИЛОЖЕНИЕ 2. Классификация и некоторые свойства вирусов человека и животных (царство <i>Vira</i> ) .....	95
ПРИЛОЖЕНИЕ 3.Классификация грибов .....	98
ПРИЛОЖЕНИЕ 4. Клиническая классификация микозов .....	99
ПРИЛОЖЕНИЕ 5. Инфекционная заболеваемость населения Республики Беларусь и Национальный календарь профилактических прививок.....	100
ПРИЛОЖЕНИЕ 6. Критерии оценки знаний студентов на кафедре микробиологии, вирусологии, иммунологии.....	101
ПРИЛОЖЕНИЕ 7. Рейтинговая система оценки знаний студентов. Академическая успеваемость студента.....	102