

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

МИКРОБИОЛОГИЯ, ВИРУСОЛОГИЯ, ИММУНОЛОГИЯ

\



Минск БГМУ 2023

УДК 579+578+612.017.1(076.5)(075.8)
ББК 52.64я73
M59

Рекомендовано Научно-методическим советом университета
в качестве практикума 18.01.2023 г., протокол № 1

А в т о р ы: канд. мед. наук, доц. Т. А. Канашкова; канд. мед. наук
Т. Г. Адамович; канд. мед. наук, доц. В. П. Антипенко; канд. биол. наук,
доц. С. П. Капитулец; Н. И. Чехович

Р е ц е н з е н т ы: д-р мед. наук, проф., зав. каф. эпидемиологии и мик-
робиологии Белорусской медицинской академии последипломного обра-
зования Н. Д. Коломиец; каф. клинической микробиологии Витебского
государственного ордена Дружбы народов медицинского университета

M59 **Микробиология, вирусология, имmunология : практикум для**
фармацевтического факультета / Т. А. Канашкова [и др.]. – Минск :
БГМУ, 2023. – 99 с.

ISBN 978-985-21-1217-8.

Отражены вопросы общей и частной медицинской микробиологии, вирусологии, иммунологии. Даны алгоритмы, схемы, некоторые справочные сведения, методики выполнения лабораторных работ на кафедре микробиологии, вирусологии, иммунологии. Предназначен для студентов 2–3-го курсов фармацевтического факультета.

УДК 579+578+612.017.1(076.5)(075.8)
ББК 52.64я73

ISBN 978-985-21-1217-8

© УО «Белорусский государственный
медицинский университет», 2023

Введение

Уважаемые студенты!

Практикум «Микробиология, вирусология, иммунология» для лабораторных занятий студентов фармацевтического факультета на кафедре микробиологии, вирусологии, иммунологии БГМУ поможет в освоении этой важной для провизора дисциплины.

Каждое занятие в практикуме состоит из двух частей: первая часть включает **вопросы для самоподготовки к занятию**, вторая — предназначена для выполнения лабораторной работы во время занятий и подписывается преподавателем. К некоторым занятиям прилагается краткая теоретическая информация. Для каждой темы указаны ссылки на источники основной и дополнительной литературы для самоподготовки (см. Литература).

Авторы выражают благодарность всем преподавателям кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии за ценные замечания и предложения по содержанию отдельных разделов практикума.

С благодарностью примем критические отзывы и пожелания по содержанию практикума, которые будут учтены при подготовке последующих его изданий.

Коллектив авторов

Список сокращений:

АПК	— Антигенпрезентирующие клетки	ПЦР	— Полимеразная цепная реакция
АТ	— Антитела	РГА	— Реакция гемагглютинации
ВБИ	— Внутрибольничная инфекция	РИФ	— Реакция иммунофлюoresценции
ВИЧ	— Вирус иммунодефицита человека	РН	— Реакция нейтрализации
ГСИ	— Гнойно-септическая инфекция	РНГА (РПГА)	— Реакция непрямой (пассивной) гемагглютинации
ДНК	— Дезоксирибонуклеиновая кислота	РНК	— Рибонуклеиновая кислота
ЖСА	— Желточно-солевой агар	РП	— Реакция преципитации
ИФА	— Иммуноферментный анализ	РСК	— Реакция связывания комплемента
КОЕ	— Колониеобразующая единица	РТГА	— Реакция торможения гемагглютинации
КУА	— Казеиново-угольный агар	РТГАдс	— Реакция торможения гемадсорбции
ЛБТА	— Лактозобротимоловый агар	УПМ	— Условно-патогенный микроорганизм
МГ	— Молекулярная гибридизация	ФП	— Фагоцитарный показатель
МИК (МПК)	— Минимальная ингибирующая (подавляющая) концентрация	ФЧ	— Фагоцитарное число
МПА	— Мяспептонный агар	ЦПД	— Цитопатическое действие
МПБ	— Мяспептонный бульон		

Критерии оценки знаний студентов на кафедре микробиологии, вирусологии, иммунологии УО «Белорусский государственный медицинский университет»

Основой для определения оценки на экзаменах служит уровень усвоения студентами материала, предусмотренного образовательным стандартом и учебной программой соответствующей дисциплины.

10 (десять) баллов 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.*

9 (девять) баллов 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.*

8 (восемь) баллов 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).*

7 (семь) баллов 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 погрешности и несущественные ошибки (неточные выражения, неточности в терминологии, непоследовательность и нерациональные приемы при демонстрации практических навыков).

6 (шесть) баллов 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).*

5 (пять) баллов 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.*

4 (четыре) балла 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.*

3 (три) балла 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 отличавшемуся активностью на практических занятиях.*

2 (два) балла 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.*

1 (один) балл выставляются студенту, *выявившему отсутствие знаний в рамках образовательного стандарта, представившему ответ полностью не по существу поставленных вопросов или отказавшемуся от ответа.*

В соответствии со стандартом УО «БГМУ» СТУ Д 1.40-2013 «Рейтинг студентов», кафедрой микробиологии, вирусологии, иммунологии разработана следующая

методика расчета показателя рейтинговой оценки студента:

1. Формула для расчета рейтинговой оценки студента за семестр: $R_{тек} = СБ*0,3 + СК*0,7$

где $R_{тек}$ — рейтинговая оценка студента за семестр,

СБ — средняя арифметическая оценка работы на лабораторных занятиях,

СК — средняя арифметическая оценка коллоквиумов,

0,3 и 0,7 — коэффициенты весомости показателей.

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

NB! Если оценка хотя бы за один коллоквийум отрицательная, то СК=0

2. Итоговая экзаменационная оценка по дисциплине рассчитывается по формуле: $\mathcal{E} = R_{тек}*0,3 + ПН*0,1 + УО*0,6$

где \mathcal{E} — итоговая экзаменационная оценка по дисциплине (показатель учебной и учебно-исследовательской деятельности студента),

$R_{тек}$ — рейтинговая оценка студента за семестр,

ПН — оценка за практические навыки

УО — 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.

NB! Если оценка за практические навыки отрицательная (1, 2, 3), то ПН = 0

3. В случае получения студентом неудовлетворительной оценки на экзамене рейтинг не учитывается, а в зачетно-экзаменационную ведомость выставляется неудовлетворительная оценка.

4. Если рейтинговая оценка студента по дисциплине составляет не менее 7 баллов и оценка, полученная на экзамене, превышает рейтинговую, то в зачетно-экзаменационную ведомость выставляется оценка, полученная на экзамене.

5. При пересдаче экзамена рейтинг не учитывается.

СЕМЕСТР 4

Занятие № 1.

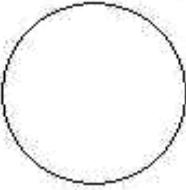
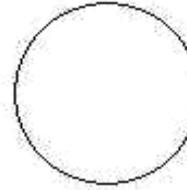
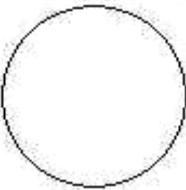
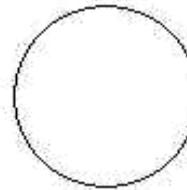
ТЕМА: Морфология микроорганизмов. Основные формы бактерий. Бактериоскопический метод исследования. Простые методы окраски.

Вопросы для самоподготовки к занятию: Предмет и задачи микробиологии. Основные этапы развития микробиологии. Разделы микробиологии. Связь микробиологии с другими науками. Роль микробиологии в прогрессе медицины, фармации и в профессиональной деятельности провизора.

Формы и размеры бактерий. Структура бактериальной клетки. Особенности химического состава бактерий в сравнении с эукариотическими организмами.

Микроскопический метод исследования: задачи, этапы, преимущества, недостатки. Типы микроскопических препаратов. Техника приготовления фиксированного и нативного препаратов. Техника микроскопии в световом микроскопе. Простые и сложные способы окраски фиксированных препаратов.

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
1. Приготовить препарат из агаровой культуры кишечной палочки (<i>Escherichia coli</i>), окрасить метиленовым синим, микроскопировать, зарисовать. 2. Приготовить препарат из бульонной культуры стафилококка (<i>Staphylococcus spp.</i>), окрасить водным фуксином, микроскопировать, зарисовать.	<p>Препарат _____</p> <p>Окраска _____</p>  <p>Препарат _____</p> <p>Окраска _____</p> 
Зарисовать демонстрационные препараты: <ol style="list-style-type: none"><i>Streptococcus spp.</i>, чистая культура, окраска генцианвиолетом.<i>Vibrio spp.</i>, чистая культура, окраска водным фуксином.<i>Bacillus spp.</i>, чистая культура, окраска генцианвиолетом.	<p>Препарат _____</p> <p>Окраска _____</p>  <p>Препарат _____</p> <p>Окраска _____</p> 

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 1.

И Н С Т Р У К Ц И Я

по технике безопасности для студентов,

работающих на кафедре микробиологии, вирусологии, иммунологии

1. Студенты, находящиеся в лаборатории, должны быть в халатах и шапочках.
2. Не допускаются излишние разговоры и хождения.
3. Каждый студент должен пользоваться только закрепленным за ним рабочим местом.
4. В бактериологической лаборатории запрещается прием пищи и курение.
5. При работе с микробными культурами и другим бактериологическим материалом ни в коем случае не прикасаться к нему руками; необходимо пользоваться инструментами (пинцетами, иглами, крючками, петлями). Весь инвентарь, находившийся в контакте с данным материалом, подлежит стерилизации или уничтожению.
6. При отсасывании жидкого материала рекомендуется пользоваться резиновыми грушами. Пипетки должны быть закрыты ватными тампонами.
7. Переливание инфицированных жидкостей из сосуда в сосуд производят над лотком, наполненным дезинфицирующим раствором.
8. Всю работу, связанную с посевами, пересевами производят возле спиртовок (горелок), обжигая при этом края пробирок, петли, шпатели и пр.
9. Пробирки, колбы, флаконы и пр., в которые в процессе работы помещается инфицированный материал, немедленно подписываются с указанием характера материала, названия и номера культуры и даты.
10. Если заразный материал попал на окружающие предметы, необходимо немедленно произвести тщательную дезинфекцию, залить это место дезинфицирующим раствором, а затем, если это возможно, прожечь тампоном с горячим спиртом.
11. Предметы, посуду, материал, инфицированные во время работы, собирают в баки или ведра, закрывают и в тот же день стерилизуют.
12. Культуры, если это необходимо, хранят в агаровых столбиках под маслом в закрытых пробирках с этикетками.
13. После работы все материалы и культуры должны быть убраны, рабочее место приведено в полный порядок.
14. Ежедневная тщательная уборка помещения производится влажным путем с применением дезинфицирующих средств.

Микроскопический (бактериоскопический) метод исследования

Микроскопический метод исследования — совокупность способов изучения морфологических и тинкториальных (способность окрашиваться) свойств микробов в исследуемом материале (лабораторная культура, патологический материал, пробы из внешней среды) с помощью микроскопии. Основная цель — установление этиологии инфекционного заболевания, а также определение чистоты выделенной чистой культуры. В лабораторной практике используют следующие типы микроскопических препаратов: а) бактериологический мазок (фиксированный мазок); б) «висячая» капля; в) «раздавленная» капля; г) тонкий мазок; д) «толстая» капля; ж) препарат-отпечаток, з) тушевой препарат.

Этапы метода:

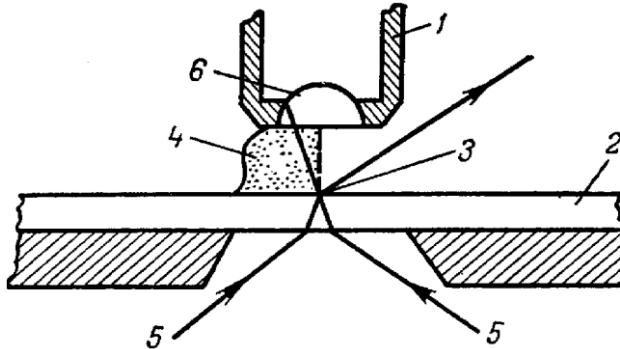
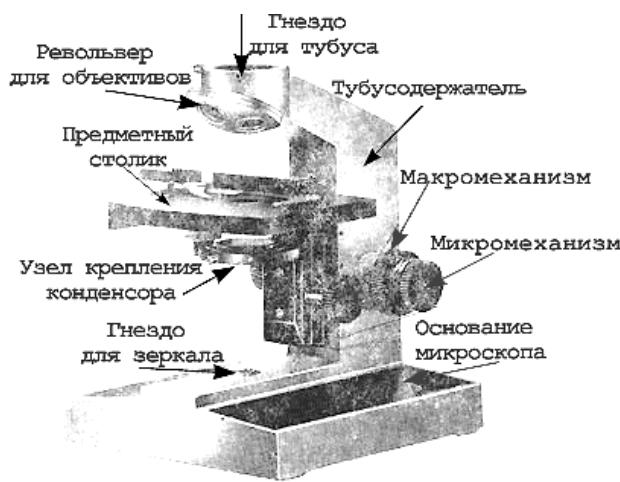
1. Забор материала (гной, мокрота, кровь, моча, испражнения, промывные воды бронхов и желудка, ликвор, содержимое полостей носа, вагины, трупный материал и др.).
2. Транспортировка материала, хранение, подготовка к исследованию.
3. Приготовление микропрепарата.
4. Микроскопия.
5. Заключение.

Приготовление фиксированного мазка:

1. Собственно приготовление мазка
2. Высушивание
3. Фиксирование
4. Окрашивание

При микроскопии мазка изучается: а) форма микробной клетки, б) размеры микробной клетки, в) взаимное расположение микробных клеток, г) тинкториальные свойства.

Оценка метода: метод прост, широко доступен, быстр, экономичен, но мало чувствителен (определяется около 10^5 и более бактерий в мл) и неспецифичен (из-за схожести морфологии микроорганизмов разных видов), небезопасен (работа с живыми микроорганизмами).



1 — объектив микроскопа; 2 — предметное стекло;
3 — объект исследования; 4 — иммерсионное масло;
5 — лучи света; 6 — фронтальная линза объектива.

Устройство светового микроскопа (слева), схема лучей в иммерсионной системе (справа).

Определить морфологию и взаиморасположение клеток бактерий и записать названия в таблицу:

Занятие № 2.

ТЕМА: Бактериоскопический метод исследования. Структура бактериальной клетки. Сложные методы окраски. Особенности морфологии и методы изучения спирохет, риккетсий, хламидий, микоплазм.

Вопросы для самоподготовки к занятию: Структуры бактериальной клетки (нуклеоид, цитоплазма, рибосомы, мезосомы, включения, клеточная стенка, цитоплазматическая мембрана, периплазматическое пространство, капсула, пили, жгутики), их химический состав и функциональное значение, методы выявления. Различия в структуре грамположительных и грамотрицательных бактерий. Формы бактерий с дефектом клеточной стенки (протопласты, сферопласты, L-формы). Споры, их характеристика.

Техника окраски по Граму. Методы исследования микроорганизмов в живом состоянии.

Морфология актиномицетов, спирохет, риккетсий, хламидий, микоплазм, формы существования, ультраструктура, методы изучения.

Источники:

4. Материал лекции.
2. [[1] – (учебник),
6. [4], [5], [6], [10] – (доп. литература).

**Подпись
преподавателя**_____

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты	
1. Приготовить препарат из смеси грамположительных и грамотрицательных микробов, окрасить по Граму, микроскопировать.	Препарат _____ Окраска _____	Препарат _____ Окраска _____
2. Зарисовать демонстрационные препараты:	Препарат _____ Окраска _____	Препарат _____ Окраска _____
1. Смесь <i>Staphylococcus spp.</i> и <i>E. coli</i> , окраска по Граму. 2. Капсула клебсиелл (<i>Klebsiella spp.</i>), окраска по Гинса–Бурри. 3. Смесь <i>Mycobacterium tuberculosis et Sarcina</i> . Окраска по Цилю–Нильсену. 4. Зерна волютина <i>Corynebacterium diphtheriae</i> . Окраска по Нейссеру, Леффлеру.	Препарат _____ Окраска _____	Препарат _____ Окраска _____

5. Споры *Bacillus anthracis*.
Окраска по Ожешко.
6. Treponema denticola в зубном налёте, окраска по Граму.
7. Borrelia recurrentis в крови больного возвратным тифом, окраска по Романовскому–Гимзе.
8. *Rickettsia prowazekii*, чистая культура, окраска по Граму.
9. Цитоплазматические включения Chlamydia spp., окраска по Романовскому–Гимзе.
10. Actinomyces spp., чистая культура, окраска по Граму.

Препарат	<input type="text"/>
Окраска	<input type="text"/>

Препарат	<input type="text"/>
Окраска	<input type="text"/>

Препарат	<input type="text"/>
Окраска	<input type="text"/>

Препарат	<input type="text"/>
Окраска	<input type="text"/>

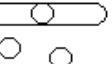
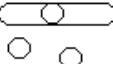
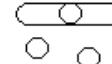
Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 2.

В какие цвета окрашиваются бактерии по этапам проведения окрашивания по методу Грама? Раскрасьте таблицу.

Бактерии	После окрашивания генцианвиолетом	После обработки р-ром Люголя	После обработки 96° этанолом	После окрашивания фуксином
Грамположительные	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Грамотрицательные	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

В какие цвета окрашиваются бактерии по этапам проведения окраски по методу Циля–Нильсена? Раскрасьте таблицу.

Бактерии	После окрашивания фуксином Циля	После обработки серной кислотой	После окрашивания метиленным синим
Кислотоустойчивые	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Некислотоустойчивые	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

Структура, функции поверхностных образований бактериальной клетки				Структура, функции цитоплазматических образований бактериальной клетки		
Поверхностные об-разования	Строение	Функции	Методы выявления	Образо-вания	Строение	Функции
Капсула				ЦПМ		
Клеточная стенка				Нук-леоид		
Жгутики				Плаз-миды		
Фимбрии (пили)				Мезо-сомы		
В какие цвета окрашиваются спора и вегетативная часть бактерии по этапам проведения окраски по методу Ожешко? Раскрасьте таблицу.				Рибо-сомы		
Бактерия со спорой и споры без вегетативной части клетки	После обработки соляной кислотой	После окрашивания фуксином Циля	После обработки серной кислотой	После окрашивания метиленовым синим	Включе-ния	
						

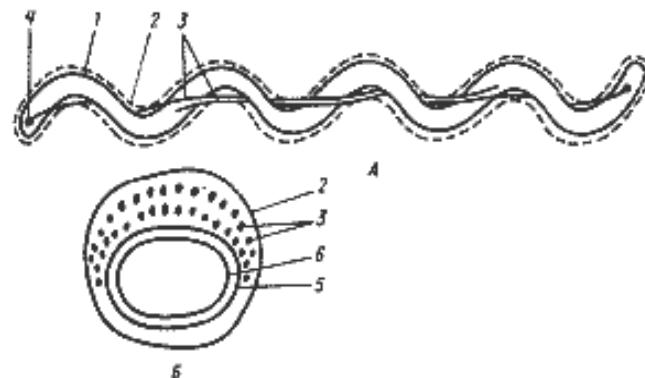
<p>Окраска по Граму. Для дифференциации бактерий по структуре клеточной стенки.</p> <p>На фиксированный препарат наносят р-р генцианвиолета через фильтровальную бумагу — 1–2 мин.;</p> <p>Бумагу снимают, наносят раствор Люголя — 1 мин.;</p> <p>Р-р Люголя сливают, наносят 96 % этанол — 30 сек.;</p> <p>Препарат промывают водой, окрашивают р-ром водного фуксина — 3–5 мин.</p> <p>Промывают водой, высушивают фильтровальной бумагой, наносят каплю иммерсионного масла, микроскопируют.</p> <p>Грам+ бактерии прочно фиксируют комплекс генцианвиолета и йода, не подвергаются обесцвечиванию этанолом — не воспринимают дополнительный краситель (фуксин). У Грам– бактерий этот комплекс легко вымывается этанолом — окрашиваются дополнительным красителем.</p> <p>Некоторые виды бактерий окрашиваются грамвариабельно.</p>	<p>Окраска по Цилю—Нильсену.</p> <ol style="list-style-type: none"> 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). 2. После остывания мазка бумагу снимают, препарат обесцвечивают 5 % р-ром серной кислоты 30 сек., погружая в стаканчик с кислотой 2–3 раза. 3. Препарат промывают водой и докрашивают метиленовым синим 3–5 мин. 4. Промывают водой, высушивают фильтровальной бумагой, наносят иммерсионное масло, микроскопируют. <p>Кислотоустойчивые бактерии окрашиваются в рубиново-красный цвет, а кислотоподатливые — в синий.</p> <p>Механизм окраски. 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>Окраска по Леффлеру. Для выявления зерен волютина.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. На фиксированный мазок наносят метиленовый синий щелочной р-р — 5 мин. промывают водой; 2. Высушивают фильтровальной бумагой, наносят иммерсионное масло, микроскопируют. <p>Механизм окраски. Зерна волютина по химической природе — это 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>Протоплазма окрашивается в голубой, зерна волютина — в фиолетово-красный цвет.</p> <p>Окраска по Нейссеру. Для выявления зерен волютина.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. На фиксированный мазок наносят ацетат синьки Нейссера — 2 мин., промывают водой; 2. Наносят раствор Люголя — 30 секунд, промывают водой; 3. Везувин (или хризоидин) — 0,5–1 мин, промывают водой, высушивают фильтровальной бумагой, наносят иммерсионное масло, микроскопируют. <p>Механизм окраски. Зерна волютина, имеющие щелочную рН, воспринимают ацетат синьки, окрашиваясь в темно-синий цвет. Цитоплазма обладает кислой рН, воспринимает щелочной краситель везувин — окрашивается в желтый цвет.</p>	<p>Окраска по Бурри—Гинсу. Для выявления капсул.</p> <p>Смешивают каплю взвеси микроба с каплей туши и при помощи стекла со шлифованным краем готовят препарат так же, как и мазок крови;</p> <p>Препарат высушивают и фиксируют в пламени;</p> <p>На оставшееся стекло наливают водный фуксин на 3–5 минут, промывают водой, высушивают на воздухе, наносят иммерсионное масло, микроскопируют.</p> <p>Бактерии окрашиваются в красный цвет, а неокрашенные капсулы контрастно выделяются на черно-коричневом фоне.</p>
---	--	---	---

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.

Основные признаки патогенных для человека спирохет

Показатель	Роды спирохет		
	<i>Treponema</i>	<i>Borrelia</i>	<i>Leptospira</i>
Размеры	Длина	5–20 мкм	3–20 мкм
	Толщина	0,09–0,5 мкм	0,2–0,5 мкм
Количество завитков			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



Клетка спирохеты в продольном (А) и поперечном (Б) разрезе. На рис. А изображена клетка, содержащая по одной аксиальной фибрилле у каждого конца; на рис. Б — поперечный разрез, прошедший через среднюю часть клетки, где показаны два пересекающихся пучка, состоящих из множества аксиальных фибрилл: 1 — протоплазматический цилиндр; 2 — наружный чехол; 3 — аксиальные фибриллы; 4 — место прикрепления аксиальных фибрилл; 5 — пептидогликановый слой клеточной стенки; 6 — ЦПМ.

Занятие № 3

ТЕМА: Генетика микроорганизмов. Методы изучения генетики бактерий. Методы молекулярной диагностики.

Вопросы для самоподготовки к занятию: Организация генетического аппарата у бактерий. Нуклеоид и плазмиды. Генотип и фенотип. Организация оперона. Модификации у бактерий. Механизм и фенотипическое проявление. Мутации и мутагенез. Спонтанные и индуцированные, генные и хромосомные, прямые и обратные мутации у бактерий и их характеристика. R-S диссоциация, механизм. Генетический обмен и рекомбинации у бактерий. Трансформация, трансдукция и конъюгация. Их механизмы. Репарации. Принципы генетического карттирования.

Внекромосомные факторы наследственности. Определение и общая характеристика. Плазмиды бактерий. Эписомы. Коньюгативные и неконьюгативные плазмиды. Виды плазмид (*F*, *R*, *Col*, *Ent*, *Hly* и др.) и их роль в детерминировании патогенных признаков и лекарственной устойчивости у бактерий. Транспозируемые элементы генома — транспозоны и *Is*-элементы. Генетический контроль вирулентности бактерий.

Значение мутаций, рекомбинаций и репараций в эволюции микроорганизмов. Теоретическое и практическое значение учения о генетике бактерий для микробиологии и медицины.

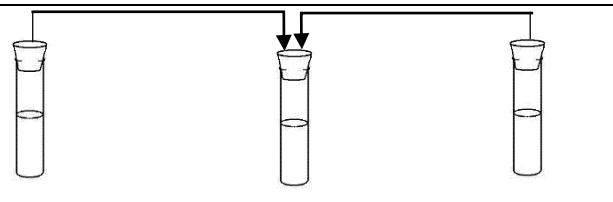
Понятие о генной инженерии. Методы генетического анализа (молекулярная гибридизация, полимеразная цепная реакция, секвенирование нуклеиновых кислот). Значение генетических методов в лабораторной диагностике инфекционных заболеваний

Источники:

1. Материал лекции.
 2. [1] – (учебник),
 3. [4], [5], [6], [10] –
(доп. литература).

**Подпись
преподава-
теля**

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
1. Провести опыт по конъюгации Демонстрация. 1. Метод реплик.	<p><i>E. coli</i> F^+ Tre^+ Ley^+ Str^s</p>  <p><i>E. coli</i> F^- Tre^- Ley^- Str^r</p>
Заключение:	Минимальная среда (без аминокислот) со стрептомицином

Занятие № 4.

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

Вопросы для самоподготовки к занятию: Метаболизм бактерий. Питание бактерий. Источники углерода, азота и минеральных веществ. Факторы роста. Автотрофы и гетеротрофы. Голофитный способ питания. Механизмы переноса питательных веществ в бактериальную клетку.

Биологическое окисление в метаболизме бактерий. Основные типы биологического окисления субстратов у бактерий. Аэробы, анаэробы, факультативные анаэробы, микроаэрофилы, общая характеристика. Методы культивирования анаэробов. Фазы размножения бактериальной популяции в жидкой и плотной питательных средах; периодическое и непрерывное культивирование; колонии микроорганизмов; пигменты. Биопленки. Типы секреции у бактерий.

Культуральный (бактериологический) метод исследования. Принципы и методы культивирования бактерий. Питательные среды для культивирования бактерий. Задачи, этапы, преимущества и недостатки бактериологического метода исследования.

Источники:

1. Материал лекции.
2. [1] – (учебник),
3. [[4], [5], [6], [10]] – (доп. литература).

Подпись

преподавателя _____

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты																										
1. 2-й этап бактериологического исследования (выделение чистой культуры аэробов):	II этап бактериологического исследования (выделение чистой культуры): <table border="1"> <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>			Признак	Колония № 1	Колония № 2	Форма			Размер			Поверхность			Край			Цвет			Консистенция			Прозрачность		
Признак	Колония № 1	Колония № 2																									
Форма																											
Размер																											
Поверхность																											
Край																											
Цвет																											
Консистенция																											
Прозрачность																											
• охарактеризовать колонии,																											
• определить морфологию и чистоту культуры,																											
• произвести посев грамотрицательных бактерий для накопления биомассы чистой культуры.																											
	<p>Скошенный МПА (среда накопления) инкубация 24 ч., 37°C</p>																										

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 4.

Классификация питательных сред

A) По происхождению:

- 1) естественные — натуральные продукты питания (мясо, молоко, картофель);
- 2) искусственные — приготовленные специально для выращивания микроорганизмов:

— среды из естественных продуктов (мясная вода, мясопептонный бульон (МПБ), мясопептонный агар (МПА), не имеют постоянного состава;
— 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;

B) По назначению:

- 1) общего назначения (МПБ, МПА) — на них растет большинство микробов;
- 2) элективные — избирательно способствуют росту одного вида микробов из смеси (например, солевой агар для стафилококков);
- 3) дифференциально-диагностические — предназначены для индикации и дифференциации отдельных типов, видов и групп бактерий:

— содержащие белки, дающие характерные изменения под действием ферментов бактерий (напр., кровяной агар, молоко и др.);
— содержащие индикаторы, углеводы или многоатомные спирты; ферментативное расщепление приводит к сдвигу pH и изменению окраски среды (напр., среды Гисса, среды Эндо, Левина и др.);
— среды для определения редуцирующей способности (напр., среды с красителями, обесцвечивающимися при восстановлении и др.);
— среды, включающие вещества, ассимилируемые только определенной группой бактерий (напр., цитратный агар Симмонса и др.).

B) По консистенции:

- 1) жидкие;
- 2) полужидкие (при добавлении агар-агара в концентрации 0,5–0,7 %);
- 3) плотные — выше 1 %.

В зависимости от целей использования в схеме бактериологического исследования (по назначению), можно выделить следующие типы сред:

- 1) обогащения — подавляют рост микробов, сопутствующих возбудителю;
- 2) выделения чистой культуры (для получения изолированных колоний);
- 3) накопления чистой культуры.

Культуральный метод исследования

Культуральный (бактериологический) метод исследования — совокупность способов, направленных на выделение и идентификацию чистых культур микроорганизмов (бактерий) с помощью культивирования на питательных средах.

Чистая культура — совокупность микроорганизмов одного вида. Чаще всего чистую культуру получают путем отбора и культивирования изолированной колонии (потомство одной микробной клетки).

Этапы метода:

1. Забор материала для исследования, транспортировка, хранение, подготовка, микроскопия, посев на питательные среды с целью выделения чистых культур бактерий
Вид исследуемого материала зависит от цели исследования (диагностика — от больного; эпиданализ — из внешней среды, продуктов питания, больного и (или) бактерионосителя). Посев материала (после предварительной микроскопии) на чашку с плотной питательной средой (лучше дифференциально-диагностической или селективной) с целью получения изолированных колоний. Производят его чаще всего методом механического разобщения. В некоторых случаях (например, кровь) материал предварительно засевают в жидкую среду обогащения с последующим пересевом на чашку с агаровой средой. Иногда до посева проводят селективную обработку материала (с учетом свойств выделяемого микроорганизма; например, обработка кислотой или щелочью для выделения устойчивых бактерий). Культивируют при температуре 37 °C в течение 18–24 часов. Время культивирования для разных видов бактерий может колебаться.

2. Изучение наличия и характера роста колоний на средах (культуральные признаки), отбор наиболее типичных для возбудителя колоний; приготовление препаратов из этих колоний с окраской (по Граму или другими методами); отсев остатка исследованной колонии на среду накопления и культивирование при оптимальной температуре; или приготовление суспензии и внесение ее в тест-систему для биохимической идентификации.

3. Изучение чистоты культуры, полученной на среде накопления. С этой целью готовят препарат-мазок, окрашивают (чаще по Граму), микроскопически изучают морфологическую и тинкториальную однородность (в разных полях зрения), посевы культуры для биохимической или др. идентификации; или учет идентификации в тест-системе.

4. Заключение. По совокупности признаков в сравнении со свойствами эталонных (типовых) штаммов указывается вид выделенного из материала микроорганизма.

Оценка метода:

достоинства: относительно высокая чувствительность и точность, возможность определить численность микробов в исследуемом материале, а также чувствительность к антибиотикам; **недостатки:** относительная длительность, метод дорогостоящий.

Методы выделения чистых культур микроорганизмов

1. Методы механического разобщения микроорганизмов:

- а) посев материала на чашки Петри шпателем или петлей;
- б) посев разведений материала — готовят десятикратные разведения материала в расплавленном и остуженном до 45 °С МПА, затем выливают содержимое пробирок в стерильные чашки Петри, дают агару застыть и инкубируют чашки в термостате;
- в) 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 микрода (например, протея);
- г) разобщение на основе различий в размерах микроорганизмов. Для этого смесь микроорганизмов фильтруют через микро- и мицелистические фильтры. Чистые культуры получают, как правило, в фильтратах. 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 быстрой 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:

- а) температура — спорообразующие микробы выживают при нагревании смеси микробов до 80°С, в то время как неспорообразующие — гибнут;
- б) кислоты — при обработке смесей кислотоустойчивых и неустойчивых к кислотам микробов последние гибнут, а кислотоустойчивые остаются, как правило, в чистой культуре. Так выделяют возбудителя туберкулеза;
- в) антибиотики — при посеве смеси микробов на среду с добавлением антибиотика вырастают нечувствительные к нему микробы;
- г) анаэробные условия — позволяют отделить группу анаэробных микроорганизмов от облигатных аэробов.

Методы создания анаэробных условий

(для выделения чистых культур анаэробов)

Выращивание в высоком слое жидкой среды. Среды наливают в пробирки высоким слоем. Перед посевом среду прогревают 30–40 мин, затем быстро охлаждают, чтобы в ней не успел раствориться кислород воздуха, и вносят на дно посевной материал.

Выращивание в толще плотной среды (метод Вайнберга). Этим приемом пользуются для получения изолированных колоний при выделении чистых культур или определении численности бактерий (напр., в среде Вильсона–Блера). Материал вносят в расплавленную и остуженную до 48–50 °С агаризованную среду, тщательно перемешивают и оставляют в пробирках или переливают стерильной пипеткой в заранее проперилизованные трубки Бурри (*метод Вейона*) или чашки Петри. Трубки и чашки после посева герметизируют.

Совместное культивирование аэробных и анаэробных бактерий в герметизированных чашках Петри (*метод Фортнера*). Аэрообы, используя кислород, создают анаэробные условия.

Выращивание в анаэростатах (метод Цейслера). Анаэростат — вакуумная металлическая или пластиковая камера (рис.). Из анаэростата откачивают воздух, заполняют его газовой смесью: N₂ (90–80 %) и CO₂ (10–20 %). Избыточное давление (500 мм рт. ст.) исключает диффузию кислорода воздуха. Для создания анаэробиоза в анаэростате также используются газогенерирующие системы типа *GasPak*, образующие газы (H₂ и CO₂) и поглощающие кислород. В качестве поглотителя кислорода используют щелочную раствор пирогаллола, дитионита натрия, металлическое железо и другие реагенты. Полноту поглощения кислорода контролируют индикатором.

Анаэробные боксы. Для культивирования строгих анаэробов применяются специальные камеры, заполненные газовыми смесями (чаще всего 90 % N₂, 5 % CO₂ и 5 % H₂), которые содержат внутри все необходимое для выполнения микробиологических работ, включая термостат. Это оборудование сложно и дорого, но оно имеет преимущество — контакт клеток с кислородом остается минимальным почти на всех этапах работы.

Питательные среды для создания анаэробных условий:



За счет чего создаются анаэробные условия культивирования микробов в среде Китта-Тароцци?

ОТВЕТ: _____

Занятие № 5.

ТЕМА: Культуральный (бактериологический) метод исследования. Методы идентификации чистых культур бактерий. Экология микроорганизмов. Биологический метод исследования.

Вопросы для самоподготовки к занятию: Принципы и подходы к систематике и номенклатуре микроорганизмов. Феносистематика. Геносистематика. Таксономические категории: домен, тип (отдел), класс, порядок, семейство, род, вид. Подвидовые категории: подвид, вариант (вар), штамм, культура, клон. Вид как основная таксономическая категория. Критерии вида у микроорганизмов. Ферменты бактерий. Конститутивные и индуцируемо-адаптивные ферменты бактерий. Практическое использование биохимической активности микроорганизмов в медицинской микробиологии и в микробиологической промышленности (для получения антибиотиков, ферментов, витаминов, органических кислот, кормового белка и др.), генной инженерии. Экология микроорганизмов. Понятие о микробных биоценозах. Симбиотические и антагонистические взаимодействия между микроорганизмом и другими организмами: мутуализм, комменсализм, синергизм, паразитизм, антагонизм. Микробиологические аспекты охраны окружающей среды. Микроорганизмы и биосфера. Микроорганизмы как источники синтеза витаминов. Биологический (экспериментальный) метод исследования: задачи, этапы, преимущества, недостатки, использование.

Источники:

1. Материал лекции.
2. [1] – (учебник),
3. [4], [5], [6], [10] – (доп. литература).

**Подпись
преподава-
теля _____**

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
<p>1. Третий этап выделения чистых культур аэробов (идентификация культуры):</p> <ul style="list-style-type: none"> – определить морфологию и провести контроль чистоты культуры бактерий на среде Клиглера, – осуществить посев на среды с сахарозой, мальтозой, маннитом, поставить пробы на индол и на подвижность. <p>Демонстрация.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Среды Гисса с различными индикаторами, жидкие и полужидкие. 2. Гемолиз, лецитиназная и оксидазная активность. 3. Тест-системы для идентификации микроорганизмов. 	<p style="text-align: center;">Препарат _____</p> <p style="text-align: center;">Окраска _____</p> <p style="text-align: center;">Лактоза Глюкоза H_2S</p> <p style="text-align: center;">среда Клиглера</p> <p style="text-align: center;">МПБ с триптофаном (индол)</p> <p style="text-align: center;">МПА п/ж (подвижность)</p> <p style="text-align: center;">среда с сахарозой и ВР</p> <p style="text-align: center;">среда с мальтозой и ВР</p> <p style="text-align: center;">среда с маннитом и ВР</p>

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 5.

Определение биохимических свойств микробов.

Этот метод предусматривает изучение ферментативной деградации различных субстратов (углеводов, аминокислот и белков, мочевины, перекиси водорода и др.) с образованием промежуточных и конечных продуктов.

Принцип работы дифференциально-диагностических сред. Среда содержит углевод или др. субстрат, при ферментации углевода или утилизации субстрата образуются кислые или щелочные продукты метаболизма, которые изменяют цвет индикатора, содержащегося в среде. Изменяется цвет колоний и среды вокруг них. Культуры, не имеющие соответствующих ферментов, растут, не изменяя цвет.

Карбогидразы — ферменты, разлагающие углеводы. Определяя карбогидразы, выявляют т. н. сахаролитические свойства микробов.

Протеазы — ферменты (протеиназы и пептидазы), разлагающие белки.

Липазы — ферменты разложения липидов и липоидов.

Ферменты-токсины:

Гемолизины — ферменты расщепления фосфолипидной мембранны эритроцитов. Они выявляются посевом культуры на кровяной агар (5–10 %). Различают β -гемолиз (полный гемолиз), когда образуются зоны просветления вокруг колоний, α -гемолиз (неполный гемолиз), при наличии зон зеленого цвета вокруг колоний. Отсутствие гемолиза обозначается как γ -гемолиз.

Цитотоксины — ферменты, оказывающие токсический эффект на клетки-мишени. Цитотоксичность определяют на культуре клеток; иммуноферментным методом на основе monoclonalных антител к определенному экзотоксину.

Плазмокоагулаза — фермент, свертывающий плазму крови животных. Определяют в пробирочной реакции.

Оксидоредуктазы:

1. Определение оксидаз. На фильтровальную бумагу, смоченную 1 % раствором тетраметил-парапенилендиамина, петлей наносят полосы испытуемой культуры. В положительном случае появляется фиолетовое окрашивание полос (в течение 1 мин).

2. *Определение каталазы.* Каплю 3 % раствора перекиси водорода наносят на предметное стекло и туда вносят петлю испытуемой культуры. В присутствии каталазы образуются пузырьки кислорода.

Определение дегидраз. О наличии дегидраз судят по редуцирующей способности микробы, т. е. способности восстанавливать (обесцвечивать) некоторые органические красители (например, 1 % водный раствор метиленовой синьки).

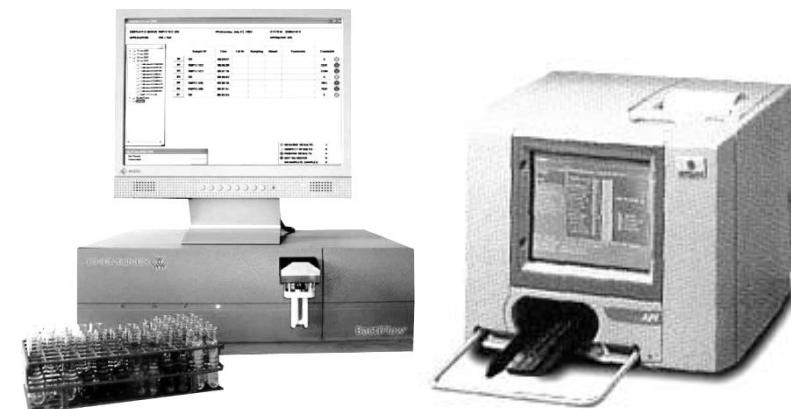
Определение спектра короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК). Анаэробные микроорганизмы продуцируют промежуточные продукты, включающие КЦЖК и спирты, спектр (профиль) которых различен у разных видов микроорганизмов и позволяет проводить идентификацию до рода. Для определения КЦЖК используют метод газожидкостной хроматографии.

Цвета некоторых индикаторов pH

Индикатор	Цвет индикатора при pH		
	кислая	нейтральная	щелочная
Андреде	красный	желтый	желтый
Бромтимоловый синий	желтый	зеленый	синий
ВР	синий	розовый	красный
Феноловый красный	желтый	красный	красный

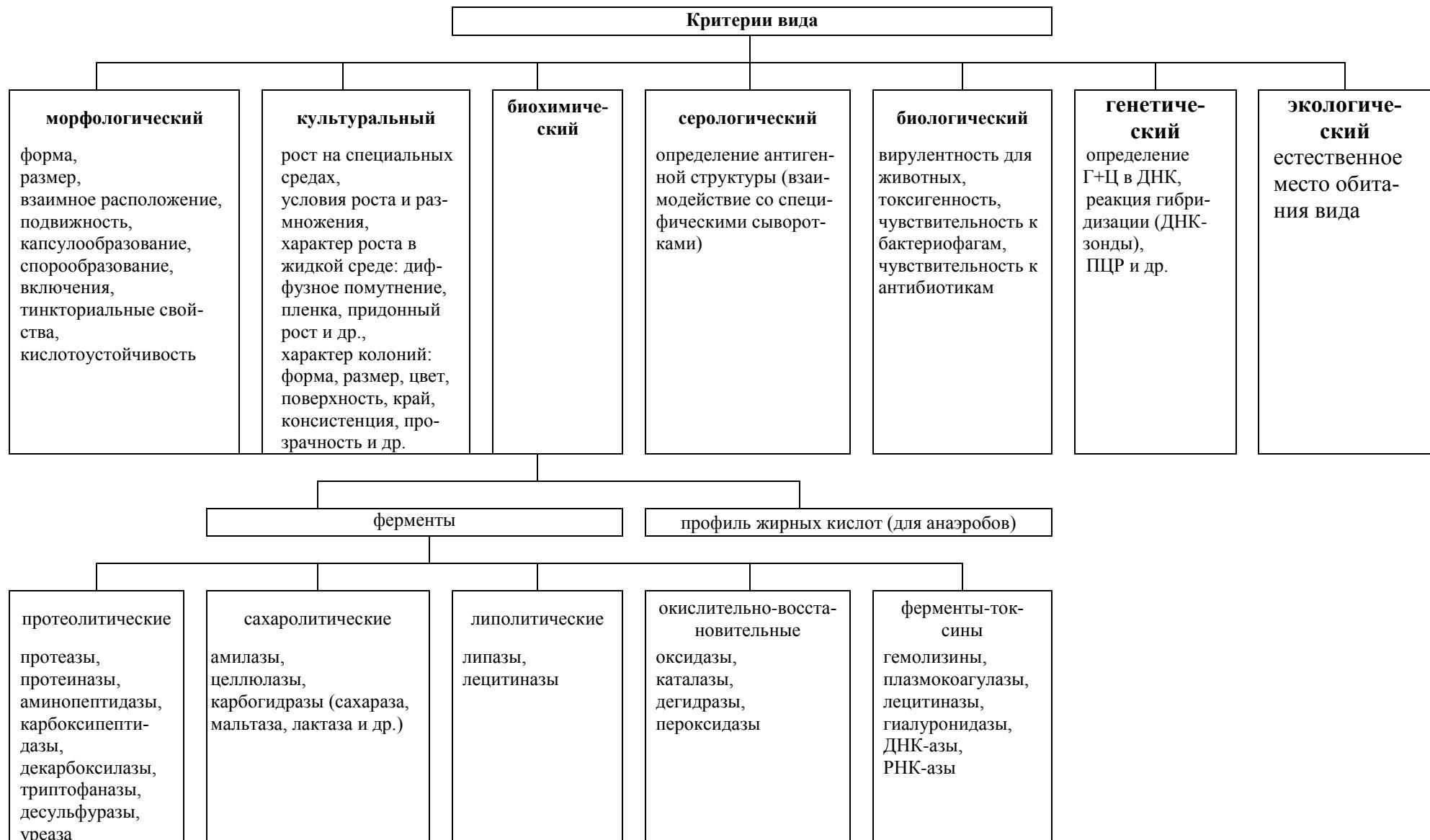


Тест-система для биохимической идентификации бактерий (API-20E).



Автоматические микробиологические анализаторы (внешний вид).

МЕТОДЫ ИДЕНТИФИКАЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ



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

Этот метод преследует также ряд других целей:

1. Диагностика инфекционных болезней.
2. Выделение и идентификация чистой культуры.
3. Определение вирулентности.
4. Выделение и идентификация экзотоксинов.
5. Культивирование вирусов.
6. Получение иммунопрепараторов.
7. Проверка безвредности и эффективности лечебных препаратов (в т. ч. химиопрепараторов, иммунопрепараторов) и другие.

Этапы метода:

1. Забор материала (виды материала см. Бактериоскопический метод),
2. Обработка материала.
3. Выбор лабораторного животного, исходя из его чувствительности к предполагаемому возбудителю, его стандартизация и маркировка.
4. Заражение животных одним из способов (подкожный, внутрикожный, внутрибрюшинный, внутримышечный, интрацеребральный, внутривенный, в желудок, интраназальный и др.) в зависимости от тропизма микробы.
5. Регистрация признаков болезни зараженного животного или его смерти.
6. Прижизненный забор материала от животного и проведение бактериологического и серологического исследования, постановка аллергической пробы.
7. Вскрытие, изучение патологоанатомической и патоморфологической картины, протокольный посев органов павших или убитых животных (для выявления обсемененности и выделения чистой культуры). Приготовление мазков-отпечатков из внутренних органов.
8. Идентификация выделенной культуры.
9. Заключение по результатам исследования.

Оценка метода: метод высокочувствителен, может быть использован на ранних этапах болезни, но не всегда доступен, дорог, длителен, небезопасен.

Занятие № 6.

ТЕМА: Методы изучения нормальной микрофлоры тела человека. Основы учения об инфекции.

Вопросы для самоподготовки к занятию: Микрофлора тела человека. Микрофлора организма человека. Роль микрофлоры организма человека в нормальных физиологических процессах и патологии. Облигатные (резидентные) и факультативные (транзиторные) микроорганизмы. Формирование микробных биоценозов в различных возрастных периодах. Микрофлора кожи, ротовой полости, желудочно-кишечного тракта, дыхательных путей, конъюнктивы глаза, мочеполовых путей.

Дисбактериоз. Факторы, влияющие на формирование дисбактериоза. Препараты для лечения и профилактики дисбактериоза.

Инфекция (инфекционный процесс) и инвазия: определение, общая характеристика. Отличия инфекционных заболеваний от неинфекционных. Причины и условия возникновения инфекционного процесса. Классификация инфекционных процессов.

Динамика развития инфекционной болезни. Периоды в развитии инфекционного заболевания. Формы инфекции: экзо- и эндогенная, очаговая и генерализованная, моно- и смешанная; вторичная инфекция, реинфекция, суперинфекция, рецидив; острые, хроническая, персистирующая инфекции, микробоносительство. Понятие о раневых, респираторных, кишечных, кожных, урогенитальных инфекциях; антропонозных, зоонозных, природно-очаговых инфекционных заболеваниях; болезнях, передающихся контактно-бытовым, воздушно-капельным, трансмиссионным и др. путями.

Роль микроорганизмов в инфекционном процессе. Патогенность. Вирулентность. Факторы патогенности/вирулентности. Типы экзотоксинов бактерий, мишени и механизмы действия. Патогенные, условно-патогенные и не-патогенные микроорганизмы.

Роль макроорганизма в развитии и течении инфекционных болезней. Роль условий жизни в развитии и течении инфекционных болезней, влияние природных и социальных факторов.

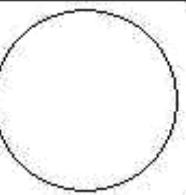
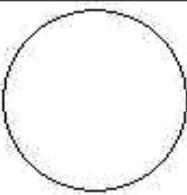
Источники:

1. Материал лекции.
2. [1] – (учебник),
3. [4], [5], [6], [10] – (доп. литература).

**Подпись
преподава-
теля**_____

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
1. Посев для изучения нормальной микрофлоры и выявления дисмикробиоза.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Стерильные кусочки фильтровальной бумаги 1 x 1 см в чашке Петри увлажнить стерильным физ. р-ром. 2. Стерильным пинцетом поместить кусочек бумаги на исследуемую поверхность кожи рук, лица и др., слизистой оболочки полости рта — 0,5 мин. 3. Поместить бумагу на поверхность плотной питательной среды (отпечаток) — 1 мин. 4. Бумагу удалить 5. Чашки с отпечатками инкубировать при 37° С 24–48 ч.

2.Идентификация чистой культуры (учёт):	Вид	Морфология	Культуральные свойства	Биохимические и др. признаки							
				глюкоза	лактоза	мальтоза	маннит	сахароза	H ₂ S	индол	подвижность
	<i>E. coli</i>	Грамотриц. палочка	S-форма, средние размеры колоний	КГ	КГ	КГ	КГ	—	—	+	+
	<i>S. typhi</i>	Грамотриц. палочка	S-форма, средние размеры колоний	К	—	К	К	—	+	—	+
	<i>S. paratyphi A</i>	Грамотриц. палочка	S-форма, средние размеры колоний	КГ	—	КГ	КГ	—	—	—	+
	<i>S. schottmuelleri</i>	Грамотриц. палочка	S-форма, средние размеры колоний	КГ	—	КГ	КГ	—	+	—	+
	<i>X-микроб</i>										
	Заключение: на основании результатов исследования морфологических, культуральных, биохимических свойств идентифицирован _____										
Демонстрация. 1. Пепарат зубного налета, окраска по Граму 2. <i>Bacillus anthracis</i> в мазке-отпечатке органов мыши, окраска по Граму.	Препарат _____ Окраска _____		Препарат _____ Окраска _____								

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 7.

В зависимости от возбудителя:

бактериозы;
вирусозы;
микозы;
паразитозы;
гельминтозы.

В зависимости от поражаемых систем органов:

1. инфекции дыхательных путей;
2. инфекции ЖКТ;
3. инфекции крови;
4. инфекции кожи и др.

По кратности инфицирования:

1. вторичная;
2. реинфекция;
3. суперинфекция;
4. рецидив.

По длительности:

1. острые;
2. хронические: первично-хроническая;
вторично-хроническая;
медленные.

КЛАССИФИКАЦИЯ ИНФЕКЦИЙ

По механизмам передачи - инфекции с:

1. аэрозольным механизмом передачи;
2. фекально-оральным механизмом передачи;
3. трансмиссионным механизмом передачи;
4. контактным механизмом передачи;
5. трансплацентарным (вертикальным)..

По источникам инфекции:

1. антропонозы (источник — человек);
2. зоонозы (источник — животные);
сапронозы (источник внешняя — среда).

По распространенности:

1. очаговая;
2. системная;
3. генерализованная: бактериемия; токсинемия; сепсис; септициемия, септикопиемия

По числу возбудителей:

1. моноинфекция;
2. смешанная инфекция.

По месту заражения:

1. внутрибольничная;
2. внебольничная.

По выраженности:

1. микробоносительство (нет симптомов болезни, нет нарастания титра АТ);
2. бессимптомная (нет симптомов болезни, есть нарастание титра АТ);
3. стертая (неспецифичные симптомы);
4. манифестная (инфекционное заболевание): легкая, средней тяжести, тяжелая.

По путям инфицирования:

1. эндогенные;
2. экзогенные.

Стадии инфекционного заболевания:

- инкубационный период;
- продромальный период (неспецифичные симптомы: температура, головная боль, миалгии и др.);
- разгар заболевания (специфические диагностические симптомы);

Исходы заболевания:

- выздоровление,
- микробоносительство,
- хронизация,
- летальный исход

Занятие № 7.

ТЕМА: Микробиологические основы химиотерапии бактериальных инфекций. Методы изучения чувствительности микробов к антибиотикам.

Вопросы для самоподготовки к занятию: Химиотерапия и химиопрофилактика. Понятие об основных группах химиотерапевтических средств. Сульфаниламиды. Механизм антибактериального действия.

Антибиотики. Определение. Продуценты антибиотиков. Основные группы антибиотиков: пенициллины, цефалоспорины, карбапенемы, монобактамы, аминогликозиды, тетрациклины, хлорамфеникол, макролиды, фторхинолоны, линкозамиды, полиеновые соединения, оксазолидиноны, циклопептиды. Антибиотики узкого и широкого спектра действия.

Механизмы antimикробного действия антибиотиков. Ингибиторы синтеза клеточной стенки, синтеза белка и нуклеиновых кислот у бактерий. Ингибиторы синтеза цитоплазматической мембрany у бактерий и грибов.

Побочное действие антибиотиков.

Лекарственная устойчивость бактерий и пути ее преодоления. Возникновение и распространение лекарственной устойчивости бактерий как биологическая и медицинская проблема. Первичная и приобретенная резистентность микроорганизмов к химиотерапевтическим препаратам. Их биохимические и генетические механизмы. Селективное действие антибиотиков и др. химиотерапевтических препаратов как факторов отбора резистентных особей в бактериальной популяции. Пути преодоления лекарственной резистентности бактерий.

Методы определения устойчивости бактерий к антибиотикам.

Источники:

1. Материал лекции.
2. [1] – (учебник),
3. [4], [5], [6], [10] – (доп. литература).

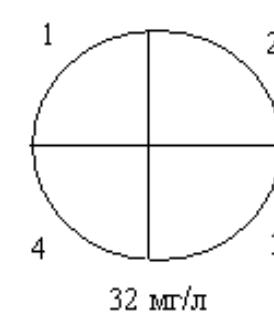
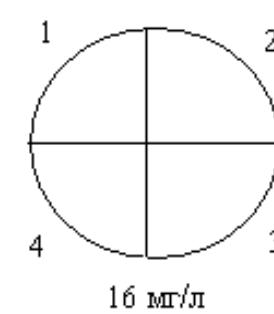
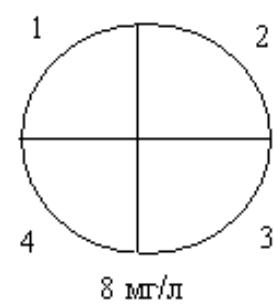
**Подпись
преподава-
теля _____**

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
1. Поставить опыт по определению чувствительности бактерий к антибиотикам методом бумажных дисков.	<p>1. Приготовить взвесь исследуемых микроорганизмов, соответствующий по плотности 0,5 по стандарту МакФарланда и содержащий примерно $1,5 \times 10^8$ КОЕ/мл.</p> <p>2. Стерильный тампон погрузить в стандартную суспензию микроорганизма, затем избыток суспензии удалить, отжав тампон о стенки пробирки. Посев проводят штриховыми движениями в трех направлениях, поворачивая чашку Петри на 60°.</p> <p>2. Фламбируем пинцет и накладываем диск с антибиотиком на агар, слегка прижимаем, чтобы поверхность диска равномерно контактировала с поверхностью агара.</p> <p>3. Повторяем п.2 с разными антибиотиками (не более 5 на чашку).</p>

2. 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

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

Заключение:

Дополнительные материалы к занятию № 7.

Методы изучения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам:

1. Метод диффузии в агар, при котором используются диски, импрегнированные специально подобранными концентрациями antimикробных агентов. Диаметр зоны задержки роста соответствует активности препарата и чувствительности бактерий.

Недостатки метода: полуколичественная оценка чувствительности, неприемлем для тестирования медленно растущих микроорганизмов (*M. tuberculosis*) и медленно диффундирующих антибиотиков (полипептиды).

2. Метод разведений — определение минимальной ингибирующей концентрации

- **Метод серийных разведений антибиотика в бульоне**
- **Метод серийных разведений антибиотика в плотной среде**

Преимущества метода: количественная оценка чувствительности, возможность одномоментного исследования большого числа культур.

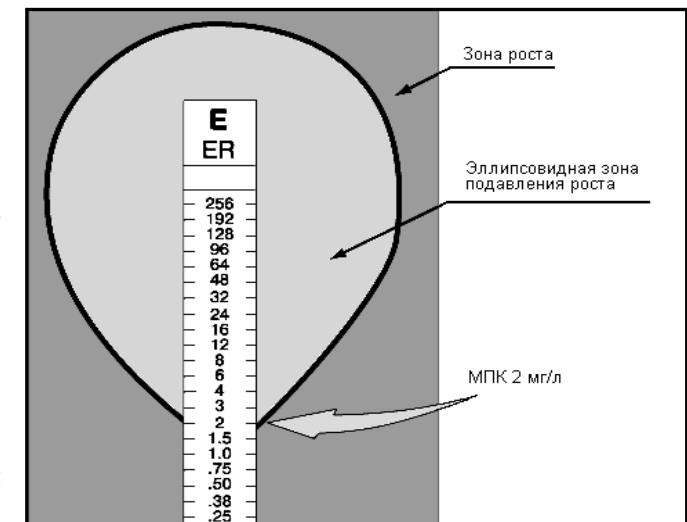
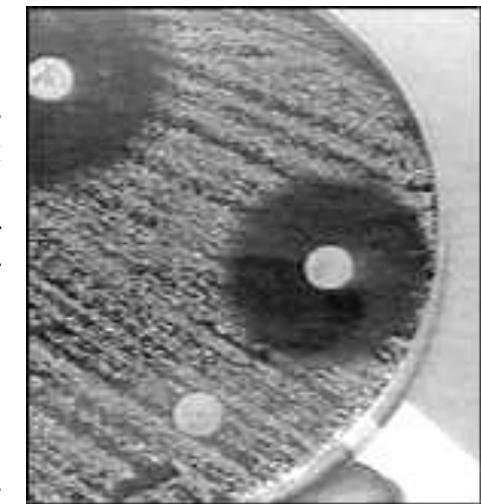
Недостатки метода: более материально- и трудоемок по сравнению с методом бумажных дисков. Более целесообразен для научных исследований.

3. Метод Е-тестов.

Е-тест представляет собой пластиковую полоску размером 5 x 50 мм с нанесенным градиентом концентрации антибиотика (0,002-32, 0,016-256 или 0,063-1024 мг/л в зависимости от препарата). Метод основан на диффузии антибиотиков в агар и позволяет определять значение 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.

Метод Е-тестов определяет МПК исходя из непрерывного градиента концентраций, включая значения между двукратными разведениями. Для определения категории чувствительности полученные значения следует округлять до ближайших значений двукратных разведений.



Занятие № 8.

ТЕМА: Противомикробные мероприятия: методы стерилизации и дезинфекции, антисептика, асептика. Фармацевтическая микробиология. Санитарно-бактериологические методы исследования.

Вопросы для самоподготовки к занятию: Противомикробные мероприятия, определение.

Микробиологические основы асептики, консервации, стерилизации, антисептики и дезинфекции. Понятие о антисептиках и дезинфектантах. Механизмы antimикробного действия.

Фармацевтическая микробиология. Санитарно-эпидемиологические требования для аптек. Санитарно-гигиенический режим аптечных учреждений.

Микрофлора воздуха, воды, почвы. Санитарно-показательные микроорганизмы.

Санитарно-бактериологическое исследование воды, воздуха аптечных помещений. Санитарно-бактериологическое исследование аптечной посуды, оборудования и рук аптечных работников.

Источники:

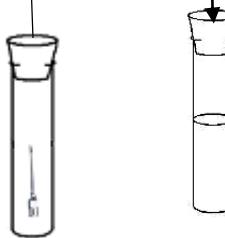
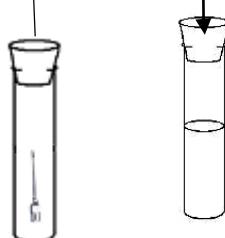
1. Материал лекции.
2. [1] – (учебник),
3. [4], [5], [6], [10] – (доп. литература).

Подпись

преподавателя _____

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты																				
1.Поставить опыт по антисептике.	<p>Опыт по антисептике:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Отпечаток кожи без обработки (контроль); 2. Мытье водой с мылом — отпечаток (опыт 1); 3. Обработка антисептиком (1 % раствор йодоната); 4. Обработка нейтрализатором (1 % раствор тиосульфата натрия); 5. Отпечаток (опыт 2). 																				
2.Провести учет опыта по определению устойчивости бактерий к антибиотикам методом бумажных дисков	<p style="text-align: center;">Учет результатов:</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: center;">Антибиотик</th> <th style="text-align: center;">Диаметр зоны задержки роста, мм</th> <th style="text-align: center;">Уровень чувствительности</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr> </tbody> </table>			Антибиотик	Диаметр зоны задержки роста, мм	Уровень чувствительности															
Антибиотик	Диаметр зоны задержки роста, мм	Уровень чувствительности																			
	Заключение _____																				

<p>3. Провести опыт по контролю качества стерилизации медицинского инструментария</p>	<p>В асептических условиях над пламенем спиртовки погрузить по одной простерилизованной игле в бульон Сабуро и тиогликолевую среду. Инкубировать тиогликолевую среду при 37 °C, бульон Сабуро при 22 °C Наблюдать за помутнением сред в течение 8 суток.</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  <p>Тиогликолевая среда, инкубация 37°C 8 суток</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>Бульон Сабуро, инкубация 22°C 8 суток</p> </div> </div>
---	--

Дополнительные материалы к занятию № 8.

Противомикробные мероприятия - совокупность методов уничтожения, подавления жизнедеятельности и ограничения распространения во внешней среде потенциально патогенных для человека микроорганизмов с целью предупреждения развития и лечения инфекционных болезней. Совокупность строго регламентированных и обязательных для выполнения противомикробных мероприятий в конкретных лечебных, детских или иных учреждениях и производствах носит название **противомикробный режим**.

Антисептика. Под антисептикой понимают совокупность способов уничтожения или подавления жизнедеятельности потенциально опасных для здоровья человека организмов на интактных или поврежденных коже, слизистых оболочках и в полостях с целью профилактики (профилактическая антисептика) и лечения (терапевтическая антисептика) инфекционных процессов.

Асептика. Асептика — это 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 или химических способов полного освобождения объектов внешней среды от вегетативных и покоящихся форм патогенных, условно-патогенных и непатогенных микроорганизмов.

Дезинфекция. Под дезинфекцией понимают совокупность способов полного, частичного или селективного уничтожения потенциально патогенных для человека микроорганизмов на объектах внешней среды с целью предупреждения передачи возбудителей болезней от больных и микроБносителей здоровым людям.

Занятие № 9.

ТЕМА: Микробиологическое исследование растительного сырья и готовых лекарственных форм

<p>Вопросы для самоподготовки к занятию:</p> <p>Понятие об эпифитных и фитопатогенных микроорганизмах. Ризосфера, микориза, роль для растений. Инфекционные болезни растений, вызываемые фитопатогенными микроорганизмами, их проявление. Способы заражения растений и пути распространения бактерий в пораженных растениях. Меры борьбы.</p> <p>Микрофлора лекарственного сырья и готовых лекарственных форм. Источники и причины микробной контаминации. Признаки микробной порчи лекарственных форм и меры ее предупреждения. Эндотоксины как причина пирогенности инъекционных растворов. Микробиологическая оценка растительного лекарственного сырья. Методы оценки микробиологической чистоты и стерильности лекарственных средств. Определение эндотоксинов с помощью ЛАЛ-теста. Микробиологический контроль воды для инъекций.</p>	<p>Источники:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Материал лекции. 2. [1] – (учебник), 3. [4], [5], [6], [10] – (доп. литература). <p>Подпись преподавателя _____</p>
--	--

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
<p>1. Провести учет опыта по антисептике.</p>	<p>Учет результатов</p> <p>1. Просмотреть чашку в зоне отпечатков: а) подсчитать число колоний в каждой зоне б) отметить характер колоний в каждой зоне (определить число разновидностей колоний по размерам, форме, характеру поверхности, края, прозрачности, окраске)</p> <p>2. Приготовить мазки с окраской по Граму из характерных (доминирующих) колоний</p> <p>3. Сформулировать выводы: об эффективности механической (мытье рук с мылом) и химической антисептики (обработка раствором галогена - йодом) по изменению обсемененности кожи (по сравнению с контролем) о влиянии метода антисептики на состав флоры кожи рук (на основании морфологии колоний и микробов из них).</p> <p>Заключение _____</p>

2. Провести учет опыта качества стерилизации медицинского инструментария	<ul style="list-style-type: none"> • Помутнение тиогликолевой среды • Помутнение бульона Сабуро <p>Заключение: _____</p>																									
3. Провести учет опыта по определению микробиологических показателей нестерильного лекарственного средства	<p>Пробоподготовку и посевы проводят согласно п. 2.1.6.7. «Микробиологические испытания нестерильных лекарственных средств на наличие отдельных видов микроорганизмов» Фармакопеи ЕЭС Подсчитывают количество колоний на средах, затем при необходимости пересчитывают количество на 1 мл/г лекарственного средства.</p> <table border="1" data-bbox="646 520 2106 759"> <thead> <tr> <th>Лекарственное средство</th> <th>Рост на МПА</th> <th>Рост на среде Сабуро</th> <th>Рост на ЖСА</th> <th>Рост на среде Эндо</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> </tbody> </table> <p>Заключение: _____</p>	Лекарственное средство	Рост на МПА	Рост на среде Сабуро	Рост на ЖСА	Рост на среде Эндо																				
Лекарственное средство	Рост на МПА	Рост на среде Сабуро	Рост на ЖСА	Рост на среде Эндо																						

Занятие № 10.

ТЕМА: Итоговое занятие по разделу «Общая и санитарная микробиология»

Перечень актуальных вопросов к итоговому занятию размещён в ЭУМК, раздел «Информация для студентов», а также на учебном стенде для фармацевтического факультета на кафедре микробиологии, вирусологии, иммунологии.

Занятие № 11.

ТЕМА: Иммунология. Иммунная система. Естественный иммунитет.

Вопросы для самоподготовки к занятию:

Классификация различных форм иммунитета. Естественный и приобретенный иммунитет, сравнительная характеристика.

Иммунная система. Иммунокомпетентные органы (центральные и периферические): строение, функции. Иммунокомпетентные клетки: типы, морфология, CD-маркеры.

Полиморфноядерные и мононуклеарные фагоциты: происхождение, характеристика, функции.

Естественные киллеры, механизм повреждения мишенией.

Цитокины: интерлейкины, интерфероны, факторы некроза опухоли, колониеобразующие факторы.

Естественный иммунитет. Неспецифические факторы защиты организма человека. Защитные функции кожи, слизистых, соединительной ткани, нормальной микрофлоры человека.

Гуморальные неспецифические факторы иммунитета. Белки острой фазы воспаления, лизоцим, лактоферрин и другие гуморальные неспецифические факторы.

Фагоцитоз. Основные стадии фагоцитоза и их характеристика. Опсонины и их роль в фагоцитозе. Иммунный и неиммунный фагоцитоз. Завершенный и незавершенный фагоцитоз.

Система гранулоцитов. Активация нейтрофилов, бактерицидное действие. Система антиген-представляющих клеток. Дендритные клетки, их роль.

Система комплемента, пути активации. Биологические функции белков системы комплемента.

Источники:

1. Материал лекции.
2. [1] – (учебник),
3. [2], [4], [5], [6], [8], [9] – (доп. литература).

Подпись

преподавателя _____

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты	
1. Зарисовать демонстрационные препараты: 1. Незавершенный фагоцитоз <i>N. gonorrhoeae</i> 2. Незавершенный фагоцитоз <i>K. rhinoscleromatis</i>	Препарат _____ _____	Препарат _____ _____
	Окраска _____ _____	Окраска _____ _____

2. Определить показатели фагоцитоза в готовых препаратах, окрашенных по Романовскому-Гимзе.

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 микрообов. Рассчитывают показатели.

$$\text{ФП} = \frac{\text{количество фагоцитирующих фагоцитов}}{\text{количество всех фагоцитов}} \times 100\% \quad N = 40 - 60\%$$

$$\text{ФЧ} = \frac{\text{количество фагоцитированных микробов}}{\text{количество фагоцитирующих фагоцитов}} \quad N = 4 - 7$$

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 11.

Система комплемента			
Путь активации	Класси-ческий	Альтернативный	Лекти-новый
Вещества-активаторы			
Состав C3-конвертазы			
Состав C5-конвертазы			
Образование мембрано-атакующего комплекса (МАК)			

АЛЬТЕРНАТИВНЫЙ

```

graph TD
    C3b[C3b] --> C3bBb3b
    C3bBb3b --> C5
    C5 --> C5b6789
    
```

ЛЕКТИНОВЫЙ

```

graph TD
    C1qC1rC1s[C1q, C1r, C1s] --> C4
    C1qC1rC1s --> C3a
    
```

КЛАССИЧЕСКИЙ

```

graph TD
    C1qC1rC1s[C1q, C1r, C1s] --> C4
    C1qC1rC1s --> C3a
    C1qC1rC1s --> C5a
    
```

Занятие № 12.

ТЕМА: Антигены. Антитела.

Вопросы для самоподготовки к занятию: Антигены. Общая характеристика антигенов. Определение понятий: антиген, гаптен, антигенностъ, иммуногенностъ. Химическая природа антигенов и их детерминантных групп. Иммунохимическая специфичность антигенов: видовая, групповая, типовая. Аутоантигены. Аллергены.

Антигенная структура бактериальной клетки: О-, К-, Н-антигены. Протективные антигены. Антигенные свойства токсинов, анатоксинов, бактериальных ферментов. Антигены вирусов. Антигенная мимикрия.

Неинфекционные антигены. Антигены клеток человека: дифференцировочные АГ (CD-АГ), главный комплекс гистосовместимости (ГКГ). Молекулы I и II классов ГКГ: строение, распределение на клетках, биологическое значение.

Антитела. Антитела (иммуноглобулины). Классы иммуноглобулинов, их основные характеристики. Функции антител. Динамика антителообразования.

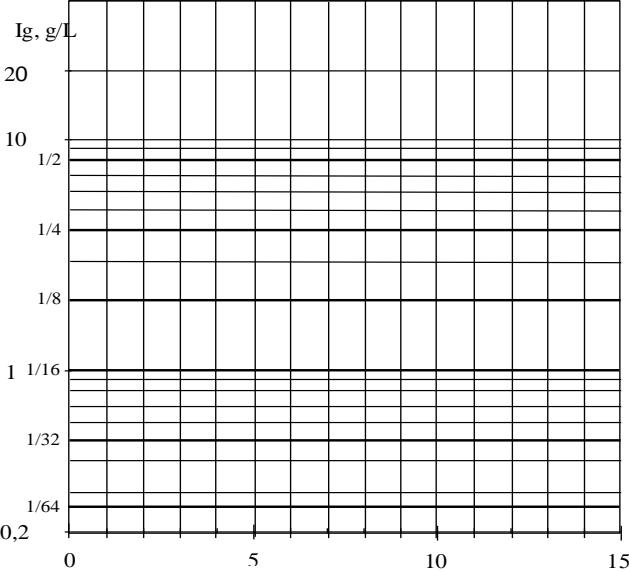
Понятие о моноклональных антителах, способы получения, значение.

Источники:

1. Материал лекции.
2. [1] – (учебник),
3. [2], [4], [5], [6], [8], [9] – (доп. литература).

Подпись преподавателя _____

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты			
1. Определение концентрации IgG в сыворотке методом простой радиальной иммунодиффузии по Манчини IgG в стандарте — 20 g/L	 Нормальное значение IgG в сыворотке 9,5–14,5 g/L			
			Титр	Концентрация, g/L
		1 точка		
		2 точка		
		3 точка		
		4 точка		
		5 точка		
		Исследуемый образец		

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 12.
Характеристика иммуноглобулинов

Структура	Характеристика	Класс Ig																						
	Мол. масса 154 кДа. 85 % всех иммуноглобулинов. Концентрация в сыворотке взрослого 7–18 г/л. Четыре субкласса. Мономер. Проникает через плаценту. Высокоэффективны в противоинфекционной защите. Специфичность высокая.	Ig _____																						
	Мол. масса 900 кДа. 5–10 % всех классов иммуноглобулинов. Концентрация в сыворотке 0,4–2,2 г/л. Пентамер. Образуются преимущественно при первичном иммунном ответе. Специфичность невысокая.	Ig _____																						
	Мол. масса 160 кДа. 5–15 % всех иммуноглобулинов. Концентрация в сыворотке 0,5–3,5 г/л. Два субкласса. Мономерные, димерные, тримерные. Сывороточный является мономером, а секреторный (экзокринный) ди- или тримером. Секреторный выделяется на внешнюю сторону слизистой, обеспечивая местный иммунитет.	Ig _____																						
	Мол. масса 190 кДа. 1 % всех иммуноглобулинов. Концентрация в сыворотке 0,25 мг/л. Мономер. Высокая цитофильтельность. Участвуют в аллергических реакциях немедленного типа.	Ig _____																						
	Мол. масса 185 кДа. Около 1 % всех иммуноглобулинов. Мономер. Экспрессируются в основном на мембране В-лимфоцитов, участвуют в их дифференцировке, выполняют рецепторную функцию.	Ig _____																						
Строение молекулы иммуноглобулина	<p>Впишите цифры, обозначающие элементы молекулы иммуноглобулина, представленного на схеме слева</p> <table border="1"> <tr><td>Легкая цепь (L)</td><td></td></tr> <tr><td>Вариабельный домен легкой цепи</td><td></td></tr> <tr><td>Константный домен легкой цепи</td><td></td></tr> <tr><td>Тяжелая цепь (H)</td><td></td></tr> <tr><td>Вариабельный домен тяжелой цепи</td><td></td></tr> <tr><td>Константные домены тяжелой цепи</td><td></td></tr> <tr><td>Шарнирный участок</td><td></td></tr> <tr><td>Fc-фрагмент</td><td></td></tr> <tr><td>Fab-фрагмент</td><td></td></tr> <tr><td>Активный центр (КДО)</td><td></td></tr> <tr><td>Клеточный рецептор</td><td></td></tr> </table>	Легкая цепь (L)		Вариабельный домен легкой цепи		Константный домен легкой цепи		Тяжелая цепь (H)		Вариабельный домен тяжелой цепи		Константные домены тяжелой цепи		Шарнирный участок		Fc-фрагмент		Fab-фрагмент		Активный центр (КДО)		Клеточный рецептор		<p>Получение моноклональных АТ.</p>
Легкая цепь (L)																								
Вариабельный домен легкой цепи																								
Константный домен легкой цепи																								
Тяжелая цепь (H)																								
Вариабельный домен тяжелой цепи																								
Константные домены тяжелой цепи																								
Шарнирный участок																								
Fc-фрагмент																								
Fab-фрагмент																								
Активный центр (КДО)																								
Клеточный рецептор																								

Занятие № 13.

ТЕМА: Механизмы развития иммунного ответа.

Вопросы для самоподготовки к занятию: Антигенпрезентирующие клетки (АПК): типы, характеристика. Взаимодействие АПК с антигенами.

В-лимфоциты: развитие и дифференцировка. Субпопуляции В-клеток. Роль В-лимфоцитов.

Гуморальный иммунный ответ: определение, динамика развития, проявления. Первичный и вторичный иммунный ответ, переключение биосинтеза классов иммуноглобулинов, иммунологическая память.

Т-лимфоциты: Субпопуляции Т-клеток (Т-хелперы нулевые, Т-хелперы 1 и 2 типа, фолликулярные Т-хелперы, Т-регуляторные, цитотоксические Т-лимфоциты, Т-лимфоциты памяти). Спектр продуцируемых цитокинов. Т-клеточный рецептор. Роль различных субпопуляций в иммунном ответе.

Клеточный иммунный ответ: динамика развития, проявления.

Т-зависимые эффекторные и регуляторные механизмы.

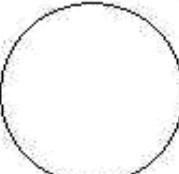
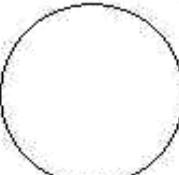
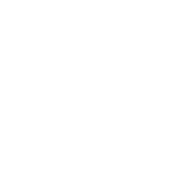
Иммунологическая толерантность, центральная и периферическая. Условия развития и проявления иммунологической толерантности.

Источники:

1. Материал лекции.
2. [1] – (учебник),
3. [2], [4], [5], [6], [8], [9] – (доп. литература).

**Подпись
преподавателя** _____

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
1. Зарисовать демонстрационные препараты: – реакция бласттрансформации лимфоцитов – определение В-лимфоцитов методом иммунных розеток.	<p>Препарат _____</p>  <p>Окраска _____</p>  <p>Препарат _____</p>  <p>Окраска _____</p>

Занятие № 14.

ТЕМА: Иммунодиагностика. Серологические и клеточные реакции

Вопросы для самоподготовки к занятию: Реакции «антиген-антитело» (серологические реакции). Общая характеристика реакций: специфичность и чувствительность, обратимость, оптимальные соотношения ингредиентов. Механизм реакции, диагностическое значение.

Серологический метод исследования: задачи, этапы, оценка. Диагностикумы, диагностические иммунные сыворотки, титр иммунных сывороток, диагностический титр, нарастание титра антител.

Виды серологических реакций. Реакции агглютинации (РА), непрямой/пассивной гемагглютинации (РНГА/РПГА), латекс-агглютинации, иммунопреципитации. Реакции иммунного лизиса. Реакция связывания комплемента.

Твердофазный иммунологический анализ: реакция иммунофлюоресценции (РИФ), иммуноэлектронная микроскопия (ИЭМ), иммуноферментный анализ (ИФА), иммунохроматографический анализ (ИХА) — сущность, варианты постановки, учет, оценка, применение. Иммуноблоттинг (вестерн-блоттинг). Экспресс-тесты.

Источники:

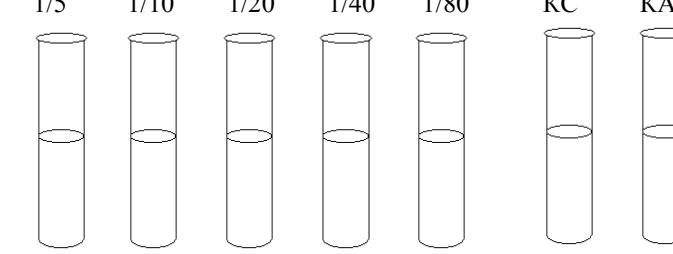
1. Материал лекции.
2. [1] – (учебник),
3. [2], [4], [5], [6], [8], [9] – (доп. литература).

Подпись

преподавателя _____

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
1. Поставить реакцию агглютинации на стекле для идентификации X-микроба.	<p>X-микроб</p> <p>1. Сыворотка против <i>S. typhi</i> 2. Сыворотка против <i>E. coli</i> 3. Физ. раствор</p> <p>Заключение: X-микроб - _____</p>

<p>2. Провести учет реакции связывания комплемента (РСК) с целью определения титра антител в сыворотке крови.</p>	 <p>Заключение:</p>																																																																																																																																				
<p>4. Поставить и учесть ИФА для определения HBs-антитела в донорской сыворотке:</p> <p>а) расkapать контроли и образцы по 100 мкл согласно карте постановки;</p> <p>б) расkapать коньюгат по 50 мкл в каждую лунку;</p> <p>в) инкубировать 1 час при 37 °C;</p> <p>г) промыть стрип 5 раз;</p> <p>д) расkapать хромоген по 100 мкл в каждую лунку;</p> <p>е) инкубировать 30 минут при 37 °C;</p> <p>ж) расkapать стоп-реагент по 100 мкл в каждую лунку;</p> <p>з) учесть ИФА на ридере, распечатать результаты;</p> <p>и) заполнить протокол постановки, провести оценку верности анализа и интерпретацию результатов.</p>	<p style="text-align: center;">Протокол постановки и учета ИФА для обнаружения HBs-Ag в сыворотке крови</p> <table border="1" data-bbox="640 531 1920 817"> <thead> <tr> <th></th> <th>1</th> <th>2</th> <th>3</th> <th>4</th> <th>5</th> <th>6</th> <th>7</th> <th>8</th> <th>9</th> <th>10</th> <th>11</th> <th>12</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>A</td> <td>Отрицательный контроль</td> <td></td> </tr> <tr> <td>B</td> <td>Отрицательный контроль</td> <td></td> </tr> <tr> <td>C</td> <td>Слабоположительный контроль</td> <td></td> </tr> <tr> <td>D</td> <td>Положительный контроль</td> <td></td> </tr> <tr> <td>E</td> <td>Образец № 1</td> <td></td> </tr> <tr> <td>F</td> <td>Образец № 2</td> <td></td> </tr> <tr> <td>G</td> <td>Образец № 3</td> <td></td> </tr> <tr> <td>H</td> <td>Образец № 4</td> <td></td> </tr> </tbody> </table> <p>4. Оценка достоверности теста:</p> <p>а) ОП отрицательных контролей (OPK^-) < 0,15 $OPK^- =$</p> <p>б) OPK^- должны находиться в пределах от 0,6 до 1,4 средней OPK^- средняя $OPK^- =$ 0,6 средней $OPK^- =$ 1,4 средней $OPK^- =$</p> <p>в) ОП положительного контроля (OPK^+) должна превышать среднюю OPK^- более чем в 4 раза: $OPK^+ / \text{средняя } OPK^- =$</p> <p>г) значение ОП слабоположительного контроля должно превышать уровень cut-off</p> <p>5. Расчет уровня cut-off: $OPK \text{ cut-off} = \text{средняя } OPK^- + 0,04$</p> <p>6. Интерпретация результатов:</p> <table border="1" data-bbox="640 1214 1808 1373"> <thead> <tr> <th>Номер образца</th> <th>ОП образца</th> <th>Заключение</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>2</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>3</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>4</td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	A	Отрицательный контроль												B	Отрицательный контроль												C	Слабоположительный контроль												D	Положительный контроль												E	Образец № 1												F	Образец № 2												G	Образец № 3												H	Образец № 4												Номер образца	ОП образца	Заключение	1			2			3			4		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12																																																																																																																									
A	Отрицательный контроль																																																																																																																																				
B	Отрицательный контроль																																																																																																																																				
C	Слабоположительный контроль																																																																																																																																				
D	Положительный контроль																																																																																																																																				
E	Образец № 1																																																																																																																																				
F	Образец № 2																																																																																																																																				
G	Образец № 3																																																																																																																																				
H	Образец № 4																																																																																																																																				
Номер образца	ОП образца	Заключение																																																																																																																																			
1																																																																																																																																					
2																																																																																																																																					
3																																																																																																																																					
4																																																																																																																																					

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 14.

1. Сравнительная чувствительность серологических реакций

Реакция	Специфичность	Чувствительность
Агглютинации	Вариабельная (низкая) (совокупность антигенов бактериальной клетки)	10^{-4} – 10^{-5} (низкий титр антител в сыворотке вследствие множества антигенов и слабой иммуногенности)
Связывания комплемента	Вариабельная	10^{-5} – 10^{-6}
Преципитации	Высокая (сильные белковые антигены)	10^{-5} – 10^{-7} (маленький размер иммунных комплексов (осадка))
Пассивной агглютинации	Высокая, то же	10^{-6} – 10^{-8} (крупные комплексы (осадок))
РИФ	Высокая (неспецифическое связывание)	10^{-7} – 10^{-8} (низкая концентрация антигенов, неспецифическое связывание)
ИФА	Высокая (в последних поколениях рекомбинантные и синтетические антигены и моноклональные антитела)	10^{-9} – 10^{-11} (неспецифическое связывание)
РИА	Высокая, то же	10^{-10} – 10^{-12} , то же
Иммуно blot	Высокая (подтверждающий метод, определение антител к нескольким индивидуальным антигенам)	10^{-7} – 10^{-9} , то же

Напишите определения следующих понятий

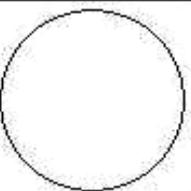
Титр – _____
Диагностический титр – _____
Диагностикум - _____
Диагностическая сыворотка – _____

Занятие № 15.

ТЕМА: Методы клинической и инфекционной иммунологии. Аллергия

<p>Вопросы для самоподготовки к занятию: Аллергия, стадии и механизмы развития аллергии.</p> <p>Гиперчувствительность немедленного типа. Типы ГНТ: анафилактический, цитотоксический, иммунокомплексный, антирецепторный. Иммунопатологические механизмы. Аутоиммунные заболевания, протекающие по механизмам ГНТ.</p> <p>Гиперчувствительность замедленного типа (ГЗТ). Роль ГЗТ в иммунитете. Кожно-аллергические пробы и их диагностическое значение.</p> <p>Профилактика аллергических заболеваний на фармацевтическом производстве, в быту.</p>	<p>Источники:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Материал лекции. 2. [1] – (учебник), 3. [2], [4], [5], [6], [8], [9] – (доп. литература). <p>Подпись преподавателя _____</p>
---	---

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
1. Демонстрация: реакция дегрануляции тучных клеток	<p>Препарат _____</p>  <p>Окраска _____</p>

Дополнительные материалы к занятию № 15.

<p>Некоторые тесты для диагностики аллергий:</p> <p>1. Общие положения</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Кожное тестирование проводят только в период ремиссии заболевания. 2. В случае расхождения данных анамнеза и данных, полученных при проведении кожно-скарификационного тестирования возможно проведение внутрикожной пробы. 3. Любое кожное тестирование может дать системную реакцию в виде анафилактического шока или обострения со стороны шокового органа. 4. Кожные пробы должна проводить специально обученная медицинская сестра; врач обязан присутствовать во время проведения кожных проб и оценивать результаты. 5. Перед постановкой проб следует отменить приём антигистаминных препаратов, причём срок отмены во многом зависит от группы, к которой относится этот препарат. Прием большинства H1-блокаторов прекращают за 48 ч, лоратадина, цитиризина за 96 ч, а астемизола за 4 недели до исследования. Теофиллин, адреномиметики (ингаляционные и для приема внутрь), препараты из группы кромолина натрия не влияют на кожную чувствительность. Единого мнения о влиянии ингаляционных кортико-стероидов на кожную чувствительность нет.
--

2. Прик-тест.

Техника prick-тестов отличается тем, что аллергены, гистамин и разводящая жидкость вносятся в эпидермис кожи с помощью специальных одноразовых ланцетов посредством укола. Место постановки и дезинфекция кожи такая же, как и у скарификационных тестов. Тестирование обычно проводят на ладонной поверхности предплечья или на спине. Кожу обезжирают спиртом. Далее наносят по 1 капле аллергенов на расстоянии 4–5 см друг от друга. В качестве отрицательного контроля используют разводящую жидкость (раствор альбумина), положительного – гистамин. Можно использовать различный инструмент, обычно применяют скарификатор или специальный шприц для прик-теста, которыми и прокалывают кожу через каплю раствора аллергена. Прокол должен быть достаточным по глубине, но не до крови. Оценку реакции проводят через 20 мин; если до истечения этого времени развивается выраженная реакция, то каплю аллергена следует удалить, чтобы избежать общих реакций.

3. Достоинства и недостатки прик-тестов

Достоинства:

- | | |
|--------------------|----------------------|
| 1. Легко выполнимы | 4. Недороги |
| 2. Безопасны | 5. Высоко специфичны |
| 3. Безболезненны | |

Недостатки: относительно невысокая чувствительность (в 10–100 раз по сравнению со скарификационными и внутрикожными тестами).

5. Ошибки при диагностике аллергии с помощью кожных тестов:

А. Ложноотрицательные результаты:

- 1) отсутствие препарата необходимого аллергена;
- 2) неправильное хранение аллергенов;
- 3) неправильная техника выполнения проб;
- 4) снижение реактивности кожи (пожилой возраст, низкая температура при охлаждении, индивидуальные особенности и др.);

Б. Рефрактерный период после системной аллергической реакции, связанный с потреблением IgE и уменьшением его концентрации на тучных клетках кожи. Поэтому кожное тестирование целесообразно выполнять не ранее, чем через 3–4 недели;

6) прием лекарственных препаратов, тормозящих развитие реакций немедленного типа.

Б. Ложноположительные результаты:

- 1) нарушение техники постановки кожных проб и изменение свойств аллергенов (низкая рН, изменение осмолярности растворов, инъекции большого объема и др.);
- 2) прием лекарственных препаратов и пищевых продуктов, являющихся либераторами гистамина;
- 3) выраженный кожный дермографизм.

В. Результаты тестирования должны обязательно сопоставляться с клиническими данными.

Лабораторные тесты для диагностики ГНТ 1 типа (медиаторного)

Радио-аллерго-сорбентный тест (РАСТ) использовался для выявления реагинов начиная с конца 60 годов 20 столетия. В сыворотку больного вносится нерастворимый полимер – аллергенный коньюгат, который сорбирует на себе специфические по отношению к использованному аллергену антитела класса Е. После отмывания этот коньюгат обрабатывается меченой радиоактивным изотопом (I^{125}) сывороткой, содержащей антитела против человеческого IgE. В дальнейшем с помощью гамма-счетчика оценивается степень радиоактивности этого коньюгата в сопоставлении с контролем и стандартной кривой.

Иммуноферментный анализ (ИФА) — вид иммунохимического анализа, основанный на иммунологической реакции антигена с соответствующим антителом с образованием комплекса антиген — антитело, для выявления которого в качестве метки (маркера) антигена, антитела или обоих компонентов этой реакции используют их коньюгаты с ферментами. Количественные измерения веществ в ИФА основаны на определении активности ферментов (после добавления в иммунохимическую систему специфических для данных ферментов субстратов) колориметрическими методами или путем измерения теплового эффекта ферментативной реакции.

Иммунохемилюминесцентный анализ. Принцип постановки теста такой же, как и при ИФА и радиоаллергосорбентном teste, однако в качестве индикатора реакции используются фотопреагенты, свечение которых регистрируется на люминометре (УФ фотометре).

Самым распространенным в настоящее время методом определения общего и специфического IgE является иммуноферментный метод.

Для оценки результатов лабораторных исследований необходимо знать метод определения уровня IgE и нормальные показатели, принятые в данной лаборатории.

Определить объем лабораторного обследования и составить перечень возможных причинно значимых аллергенов может врач-аллерголог (иммунолог), основываясь на данных тщательно собранного анамнеза. В том случае, если это не представляется возможным, или список аллергенов насчитывает 15–20 и более, целесообразно проводить определение специфического IgE в два этапа. Этап 1 предполагает использование скрининговых панелей — смеси из 4–6 аллергенов. В случае наличия положительного результата необходимо перейти к этапу 2, во время которого специфический IgE определяется к самостоятельным аллергенам, входящим в данную панель.

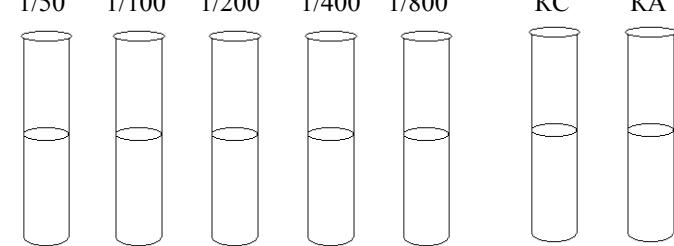
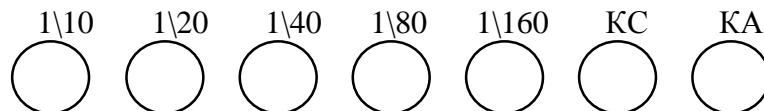
Занятие № 16.

ТЕМА: Противоинфекционный иммунитет. Иммунопрофилактика и иммунотерапия инфекционных болезней. Методы оценки пост-вакцинального иммунитета.

Вопросы для самоподготовки к занятию: Принципы иммунопрофилактики и иммунотерапии. Характеристика современных вакциновых препаратов: живых, убитых и химических вакцин, анатоксинов, ассоциированных вакцин, генно-инженерных и синтетических вакцин.

Серотерапия и серопрофилактика. Характеристика антитоксических, антибактериальных и антивирусных иммунных сывороток и иммуноглобулинов, их получение. Иммуноглобулин для внутривенного введения.

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
<p>1. Учёт РА для определения напряжённости иммунитета к коклюшу (защитный титр 1/100).</p> <p>2. Учёт РПГА для оценки пост-вакцинального иммунитета к дифтерии (защитный титр 1/40).</p>	<p>1/50 1/100 1/200 1/400 1/800 КС КА</p>  <p>Заключение _____</p> <p>РПГА</p> <p>1\10 1\20 1\40 1\80 1\160 КС КА</p>  <p>Заключение _____</p>

Дополнительные материалы к занятию № 16.

Серотерапия. Антисыворотки и иммуноглобулины

Противоинфекционные:

- **Антимикробные**
- Антитоксические
- Антивирусные

Ксеногенные:

- **сыворотки лошадиные:** противодифтерийная, противогангренозная, противоботулические (поливалентная А+С+Е, моновалентные В и F), противостолбнячная, против яда кобры, эфи, поливалентная (против ядов гюрзы, кобры, эфи и каракурта) и др.
- **Иммуноглобулины лошадиные:** противосинегнойный, антирабический и др.
- **мышиные моноклональные антитела:** антилимфоцитарные (против отдельных CD), антицитокиновые и др.
- **гибридные антитела** (мышиные F(ab)+человеческие Fc фрагменты):
 - против отдельных вирусов (РС);
 - против CD4 (терапия ревматоидного артрита, аутоиммунных заболеваний);
 - против цитокинов воспаления (ФНО-альфа) (терапия эндотоксического шока, аутоиммунных заболеваний);
 - против IgE (лечение тяжелых аллергий, бронхиальной астмы);
 - против отдельных хемокинов и рецепторов хоминга (лечение органоспецифических аутоиммунных заболеваний); другие.

По направленности

Для лечения неинфекционных заболеваний:

- Антитоксические (против яда змей)
- Антилимфоцитарные
- Антицитокиновые

По происхождению

Аллогенные:

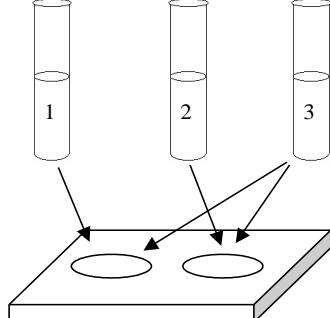
- донорская плазма, донорский нормальный иммуноглобулин (применяется для профилактики/лечения кори, гепатита А(Е), коклюша, менингококковой инфекции, полиомиелита).
- чигайн (препарат молозива, обогащенный IgA).
- донорские гипериммунные иммуноглобулины:
- антистафилококковый (донорский и плацентарный; применяют для лечения стафилококковой инфекции, резистентной к противомикробным препаратам);
- противогепатитный (для профилактики гепатита В у новорожденных от матерей-носительниц HBs-Ag, а также в случаях вероятного инфицирования);
- противогриппозный (для лечения токсических форм гриппа); противостолбнячный;
- противоцитомегаловирусный (для лечения острой ЦМВ инфекции у недоношенных и грудных детей, лиц с первичными и вторичными ИДС, реципиентов трансплантатов).
- иммуноглобулины для внутривенного введения (пентаглобин, октагам, сандоглобулин, интраглобин)

Занятие № 17.

ТЕМА: Иммунный статус организма. Иммунодефицитные состояния. Аутоиммунные болезни. Понятие об иммунокоррекции

<p>Вопросы для самоподготовки к занятию: Иммунный статус организма человека, определение. Показатели, методы определения и оценка иммунного статуса. Виды иммунопатологии. Классификация иммунопатологических реакций. Врожденные и приобретенные иммунодефицитные состояния. Первичные и вторичные иммунодефициты. Аутоиммунные болезни: классификация, механизмы повреждения органов, клеток и тканей. Аутоантигены. Аутоантитела, значение определения в клинической практике. Трансплантационный иммунитет. Противоопухолевый иммунитет, иммунитет в системе мать-плод. Иммуномодуляторы (интерфероны, интерлейкины). Природные и синтетические иммуномодуляторы. Иммунодепрессанты..</p>	<p>Источники: 1. Материал лекции. 2. [1] – (учебник), 3. [2], [4], [5], [6], [8], [9] – (доп. литература).</p> <p>Подпись преподавателя _____</p>
---	--

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
<p>1. Постановка и учет РПГА для определения ревматоидного фактора.</p> <p>Эритроцитарный диагностик = фиксированные эритроциты быка, покрытые IgG человека.</p> <p>Ревматоидный фактор = аутоантитела IgM против IgG человека (обнаруживается при некоторых аутоиммунных заболеваниях (СКВ, РА) и применяется для диагностики).</p>	<p>1. Физ. раствор 2. Сыв. больного 3. Эритроцитарный диагностик (DRF) ревматоидного фактора</p>  <p>Заключение: _____</p>

Занятие № 18.

ИТОГОВОЕ ЗАНЯТИЕ ПО РАЗДЕЛУ: «Теоретическая и прикладная иммунология»

Перечень актуальных вопросов к итоговому занятию размещены в ЭУМК, раздел «Информация для студентов», а также на учебном стенде для фармацевтического факультета на кафедре микробиологии, вирусологии, иммунологии.

СЕМЕСТР 5

Занятие № 1.

ТЕМА: Методы микробиологической диагностики раневых инфекций и гнойно-воспалительных процессов, вызванных стафилококками, стрептококками, синегнойной палочкой

Вопросы для самоподготовки к занятию: Статифлококки: Свойства. Факторы патогенности.

Этиологическая и патогенетическая роль стафилококков при гнойно-воспалительных процессах, сепсисе, внутрибольничных инфекциях. Лабораторная диагностика, специфическая профилактика и этиотропная терапия стафилококковых инфекций.

Стрептококки: Свойства. Факторы патогенности и токсины. Роль в патологии человека. Лабораторная диагностика, профилактика и этиотропная терапия стрептококковых инфекций.

Понятие об энтерококах и энтерококковых инфекциях.

Псевдомонады: Свойства. Экология. Факторы патогенности. Роль синегнойной палочки во внутрибольничных инфекциях. Лабораторная диагностика. Профилактика, этиотропная терапия.

Источники:

1. Материал лекции.
2. [1] – (учебник),
3. [4], [5], [6] – (доп. литература).

Подпись

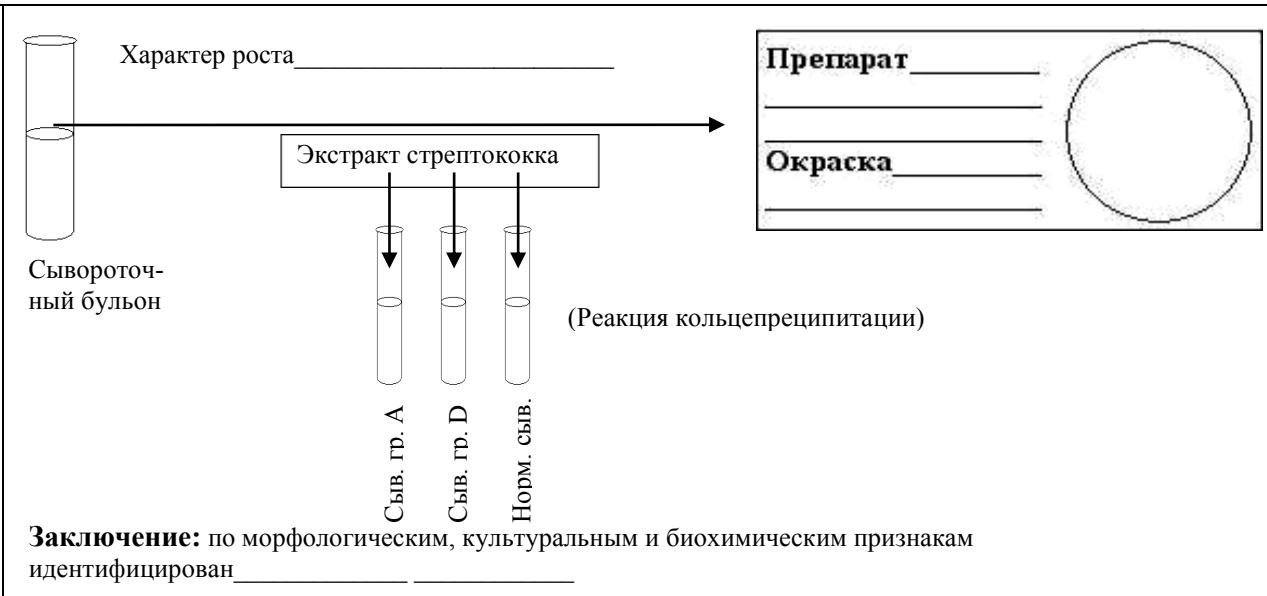
преподавателя _____

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты	Признак	Колонии стафилококка
1. 2-й этап микробиологической диагностики стафилококковой инфекции: а) макро- и микроскопическое изучение колоний на ЖСА; б) постановка пробы на плазмокоагулазу.	<p>ЖСА</p> <p>Препарат _____</p> <p>Окраска _____</p> <p>Цитратная кроличья плазма, 37 °C, 2-4-24 ч</p>	Форма	
		Размер	
		Поверхность	
		Край	
		Цвет	
		Консистенция	
		Прозрачность	
		Лецитиназа	
Заключение: по морфологическим, культуральным и биохимическим признакам идентифицирован _____			

2. 3-й этап микробиологической диагностики стрептококковых инфекций:

- a) описание характера роста в сывороточном бульоне;
- б) определение морфологии культуры в мазке, окраска по Граму;
- в) постановка реакции кольцепреципитации для определения серогруппы стрептококка.



Зарисовать демонстрационные препараты:

1. Страфилококк в гное, окраска по Граму.
2. Стрептококк и пневмококк в чистой культуре, окраска по Граму.
3. Пневмококк в органах белой мыши, окраска по Граму.
4. Синегнойная палочка, чистая культура, окраска по Граму.

Демонстрация.

1. Рост страфилококков на ЖСА, кровяном агаре, бульоне.
2. Рост стрептококков на кровяном агаре и сывороточном бульоне.
3. Проба на плазмокоагулазу.
4. Анаэробная ферментация маннита.

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 1.

Характеристика бактерий рода *Staphylococcus*

Латинские названия основных видов, вызывающих инфекции у человека	
Морфология (размеры, форма, взаиморасположение клеток)	
Образование споры	
Наличие капсулы	
Наличие жгутиков	
Окрашивание по Граму	
Наличие каталазы	
Основные факторы патогенности	

Культуральный метод диагностики стафилококковых инфекций



Методы диагностики стафилококковых инфекций

Название метода	Использование (+/-)
Микроскопический	
Культуральный	
Биологический	
Серологический	
Аллергический	
Молекулярно-генетический	

Идентификация стафилококков

Виды	Плазмокоагулаза	Ферментация маннита в анаэробных условиях	ДНК-аза	Лецитиназа	А-протеин
<i>S. aureus</i>					
<i>S. epidermidis</i>					
<i>S. saprophyticus</i>					

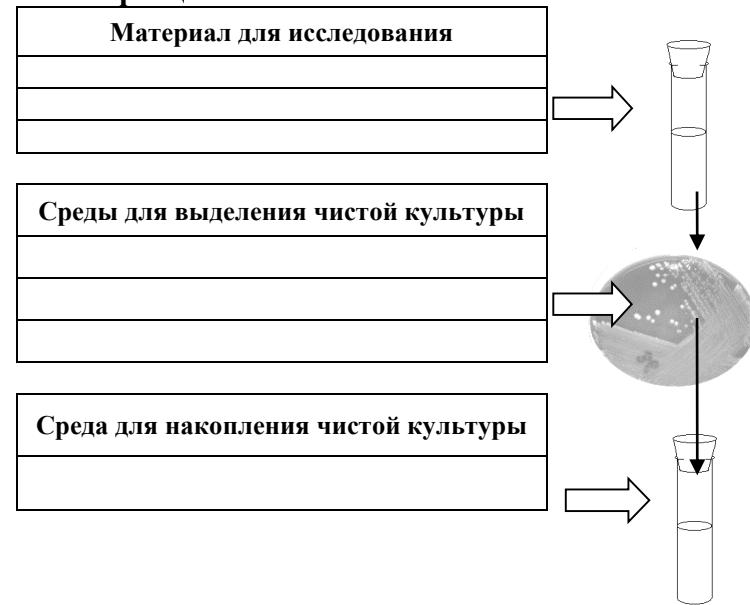
Характеристика бактерий рода *Streptococcus*

Признаки	<i>S. pyogenes</i>	<i>S. pneumoniae</i>
Морфология (размеры, форма, взаиморасположение клеток)		
Образование споры		
Наличие капсулы		
Наличие жгутиков		
Окрашивание по Граму		
Антиген: групповой полисахарид		
Антиген: типоспецифический М-белок		
Капсулный полисахарид		
Наличие каталазы		

Методы диагностики стрептококковых инфекций

Название метода	Использование метода (+/-)	
	<i>S. pyogenes</i>	<i>S. pneumoniae</i>
Микроскопический		
Культуральный		
Биологический		
Серологический		
Аллергический		
Молекулярно-генетический		

Культуральный метод диагностики стрептококковых инфекций



Идентификация стрептококков

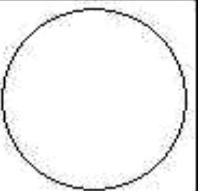
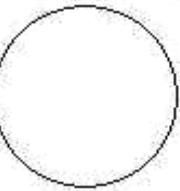
Виды	Рост в МЛБ	Гемолиз (α, β, γ)	Р-я преци-пита- ции	Р-я набуха-ния- капсулы	Ферментация инулина	Проба с оптохином	Проба с желчью
<i>S. pyogenes</i>							
<i>S. pneumoniae</i>							
<i>E. faecalis</i>							

Занятие № 2.

ТЕМА: Методы микробиологической диагностики раневых инфекций и гнойно-воспалительных процессов, вызванных протеями, бактероидами, клостридиями столбняка, газовой гангрены

<p>Вопросы для самоподготовки к занятию: Протеи: классификация, свойства. Роль протеев в патологии человека.</p> <p>Клостридии — возбудители раневой анаэробной инфекции. Токсины и их характеристика. Роль токсинов клостридий и продуктов распада тканей в патогенезе раневой инфекции. Микробные ассоциации при раневой анаэробной инфекции. Антитоксический иммунитет. Лабораторная диагностика, специфическая профилактика и этиотропная терапия раневой анаэробной инфекции.</p> <p>Клостридии — возбудители столбняка. Тетаноспазмин и тетанолизин, их патогенетическое действие. Столбняк у новорожденных детей. Антитоксический иммунитет. Лабораторная диагностика, специфическая профилактика и этиотропная терапия столбняка.</p> <p>Бактероиды, характеристика, роль в патологии человека. Принципы диагностики неклостридиальных анаэробных инфекций.</p>	<p>Источники:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Материал лекции. 2. [1] – (учебник), 3. [4], [5], [6] – (доп. литература). <p>Подпись преподавателя _____</p>
--	--

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
<p>Зарисовать демонстрационные препараты:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Клостридии, окраска по Граму. 2. Бактероиды, окраска по Граму. <p>Демонстрация:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Рост анаэробов на питательных средах. 5. Анаэростат. 	<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="text-align: center;"> <p>Препарат _____</p>  <p>Окраска _____</p> </div> <div style="text-align: center;"> <p>Препарат _____</p>  <p>Окраска _____</p> </div> </div>

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 2.

Экологическая группа облигатно-анаэробных бактерий

Группы анаэробных бактерий		Вызываемые заболевания
Грамотрицательные неспорообразующие палочки		
Бактероиды	<i>Bacteroides species</i>	ГСИ
Фузобактерии	<i>Fusobacterium species</i>	

Грамположительные спорообразующие палочки			
Клостридии	<i>Clostridium tetani</i>	Столбняк	
	<i>Clostridium perfringens, C. novyi, C. ramosum, C. histolyticum, C. septicum</i>	Газовая гангрена, некротизирующий энтерит, пищевая интоксикация	
	<i>Clostridium botulinum</i>	Ботулизм	
	<i>Clostridium difficile</i>	Псевдомемброзный колит	
Грамотрицательные кокки			
Вейлонеллы	<i>Veillonella</i>	ГСИ	
Грамположительные кокки			
Пептококки	<i>Peptococcus species</i>	ГСИ	
Пептострептококки	<i>Peptostreptococcus spp.</i>		

Характеристика некоторых анаэробных бактерий

Признаки	<i>C. perfringens</i>	<i>C. tetani</i>	<i>B. fragilis</i>
Морфология (размеры, форма, взаиморасположение клеток)			
Расположение споры			
Наличие капсулы			
Наличие жгутиков			
Окрашивание по Граму			

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 (минорные)	дельта-токсин гемолиз
	тета-токсин гемолиз, цитолиз
	каппа-токсин коллагеназа, желатиназа, некротизирующая активность
	лямбда-токсин протеаза
	мю-токсин гиалуронидаза: увеличивает проницаемость тканей
	ни-токсин дезоксирибонуклеаза; гемолитическая, некротизирующая активность
нейраминидаза повреждает ганглиозиды клеточных рецепторов, способствует тромбозу в капиллярах	

Факторы патогенности бактероидов

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

Занятие № 3.

ТЕМА: Методы микробиологической диагностики менингококковых инфекций, коклюша, дифтерии

Вопросы для самоподготовки к занятию: Менингококки. Свойства. Факторы патогенности. Этиологическая и патогенетическая роль при эпидемическом цереброспинальном менингите, менингококцемии и назофарингите. Бактерионосительство. Иммунитет при менингококковых инфекциях. Лабораторная диагностика. Профилактика, этиотропная терапия.

Возбудитель дифтерии. Свойства. Факторы патогенности. Дифтерийный токсин, его свойства. Механизм действия. Генетический контроль образования токсина. Антитоксический иммунитет и методы его выявления. Бактерионосительство. Лабораторная диагностика, специфическая профилактика и этиотропная терапия дифтерии.

Возбудитель коклюша. Свойства. Факторы патогенности. Патогенез и иммунитет. Лабораторная диагностика, специфическая профилактика, этиотропная терапия коклюша.

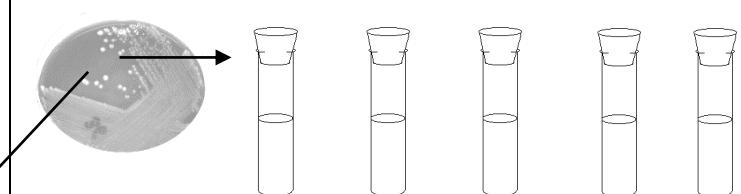
Источники:

1. Материал лекции.
2. [1] – (учебник),
3. [4], [5], [6] – (доп. литература).

**Подпись
преподавателя** _____

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты						
1. Бактериологическая диагностика дифтерии, 2-й этап:	Признак	Колонии на сыв. агаре с теллуритом калия					
а) изучение роста колоний коринне-бактерий на теллуритовой среде,	Форма						
б) отсев колоний на пёстрый ряд (глюкоза, сахароза, крахмал).	Размер						
	Поверхность						
	Край						
	Цвет						
	Консистенция						



Глюкоза Сахароза Крахмал

Тесты на:
уреазу цистиназу

Зарисовать демонстрационные препараты:

1. Коринебактерии дифтерии:
а) окраска по Нейссеру;
б) окраска по Леффлеру.
2. Бордепеллы коклюша, окраска по Граму.
3. Препарат из ликвора больного менингитом, окраска метиленовым синим.

Демонстрация.

- Проба на токсигенность коринебактерий дифтерии.

Препарат _____	
Окраска _____	
Препарат _____	
Окраска _____	

Препарат _____	
Окраска _____	
Препарат _____	
Окраска _____	

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 3.

Характеристика коринебактерий и бордепелл

Признаки	<i>C. diphtheriae</i>	<i>B. pertussis</i>
Морфология		
Образование споры		
Наличие капсулы		
Наличие жгутиков		
Окрашивание по Граму		

Факторы патогенности *C. diphtheriae*

Фактор патогенности	Биологический эффект
Белковый экзотоксин (состоит из А и В субъединиц)	Нарушает синтез белка, поражая клетки миокарда, надпочечников, нервных ганглиев
Гликолипид (6-6'-диэфиртрегалозы)	Нарушает фагоцитоз
Гиалуронидаза	Нарушают проницаемость тканей
Нейраминидаза	

Факторы патогенности *B. pertussis*

Фактор патогенности	Биологический эффект
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

Дифференциация бордегелл

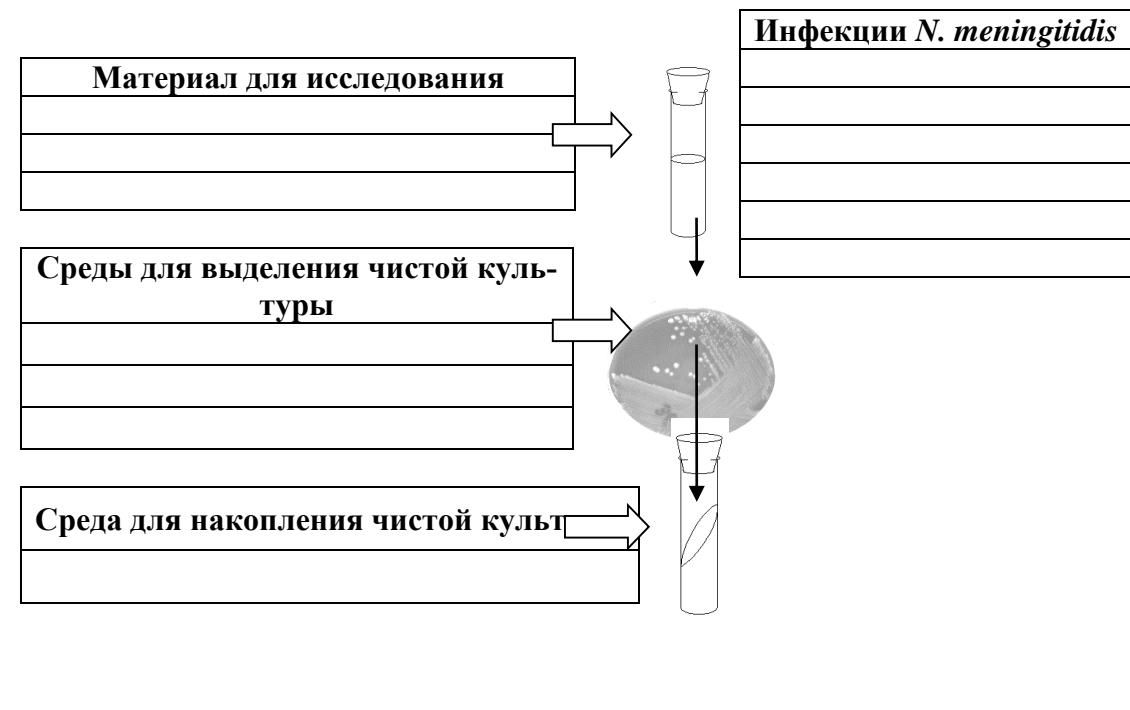
Признак	<i>B. pertussis</i>	<i>B. parapertussis</i>
Рост на МПА		
Рост на МПА с ти- розином		
Рост на КУА		
Мочевина		
Антитела		

Пертактин	Адгезия к мерцательному эпителию дыхательных путей
Аденилат-циклизаза	Подавляет киллинг-активность фагоцитов и миграцию моноцитов
Дерматонекротоксин	Повреждает кожу и является летальным фактором для лабораторных животных
Трахеаль-ный токсин	Пептидогликановый фрагмент, разрушающий реснитчатые клетки дыхательных путей; стимулирует реализацию интерлейкина-1 (лихорадка)
Эндотоксин (ЛПС)	Активирует комплемент и стимулирует выработку цитокинов

Лаб. диагностика, спец. профилактика и терапия дифтерии и коклюша

Метод	Виды материала и использование методов (+/-)	
	Дифтерия	Коклюш
Микроскопический		
Культуральный		
Серологический		
Аллергический		
Биологический		
Молекулярно-генетический		
Специфическая профилактика		
Специфическая терапия		
Определение напряженности поствакцинального иммунитета		

Культуральный метод диагностики менингококковых инфекций



Занятие № 4.

ТЕМА: Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызванных патогенными микобактериями, гемоглобинофильными (гемофильными) бактериями, клебсиеллами, нокардиями, актиномицетами.

Вопросы для самоподготовки к занятию:

Возбудители туберкулеза. Свойства. Патогенность для человека и локализация в организме. Факторы патогенности микобактерий туберкулеза. Туберкулин. Иммунитет и его особенности. Аллергия. Лабораторная диагностика туберкулеза, специфическая профилактика (вакцина БЦЖ), этиотропная терапия.

Возбудитель проказы. Биологические особенности. Патогенность для человека. Лабораторная диагностика проказы. Профилактика проказы, этиотропная терапия.

Нокардии: систематическое положение, свойства, роль в патологии человека.

Актиномицеты: систематическое положение, общая характеристика, распространение. Роль актиномицетов в круговороте веществ, продукция антибиотиков. Этиология, патогенез, микробиологическая диагностика актиномикоза.

Микоплазмы: классификация, свойства, резистентность, факторы вирулентности; патогенез респираторных инфекций, лабораторная диагностика, профилактика, этиотропная терапия.

Гемоглобинофильные (гемофильные) бактерии. *Haemophilus influenzae* и ее роль в патологии детей и взрослых. Микробиологическая диагностика и специфическая профилактика Hib-инфекций.

Клебсиеллы, общая характеристика. Условно-патогенные клебсиеллы (*K. pneumoniae*, *K. oxytoca*) и их роль в патологии человека. *K. pneumoniae* и их роль в инфекционной патологии. Микробиологическая диагностика клебсиеллезов.

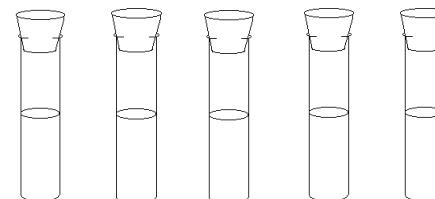
Легионеллы: систематическое положение, свойства, роль в патологии человека.

Лабораторная работа

Задание

Методы, результаты

1. Учет биохимической активности коринебактерий



Глюкоза Сахароза Крахмал Тесты на:
уреазу цистеиназу

Токсигенность

Волютин (микроскопия)

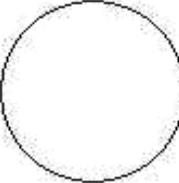
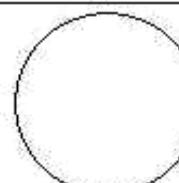
Вид коринебактерий	Расщепление				
	с образованием кислоты			цистеина с образованием H ₂ S	мочевины
	глюкозы	сахарозы	крахмала		
<i>C. diphtheriae</i>					
<i>gravis</i>	+	-	+	+	-
<i>mitis</i>	+	-	-	+	-
<i>C. pseudodiphtheriae (hofmanni)</i>					
<i>C. xerosis</i>	-	-	-	-	+
<i>C. ulcerans</i>	+	+	-	-	+
<i>X-бактерия</i>	+	-	+	+	+

Заключение: на основании морфологических, культуральных и биохимических свойств идентифицирован

Источники:

1. Материал лекции.
 2. [1] – (учебник),
 3. [4], [5], [6] – (доп. литература).

Подпись преподавателя

<p>Зарисовать демонстрационные препараты:</p> <ol style="list-style-type: none"> Корд-фактор микобактерий туберкулёза, окраска по Цилю-Нильсену. Микобактерии туберкулёза в мокроте больного, окраска по Цилю-Нильсену. <p>Демонстрация.Метод флотации.</p>	<p>Препарат _____</p>  <p>Окраска _____</p>	<p>Препарат _____</p>  <p>Окраска _____</p>
---	---	---

Дополнительные материалы к занятию № 21.

ДИАСКИНТЕСТ® —диагностический препарат, который представляет собой рекомбинантный белок, продуцируемый генетически модифицированной культурой *Escherichia coli* BL21(DE3)/pCFP-ESAT, характерных для вирулентных штаммов микобактерий туберкулеза (*Micobacterium tuberculosis* и *Micobacterium bovis*). Данные антигены отсутствуют в вакцинном штамме *Micobacterium bovis BCG* и у большинства нетуберкулезных микобактерий, поэтому ДИАСКИНТЕСТ® вызывает иммунную реакцию только на микобактерии туберкулеза и не дает реакции, связанной с вакцинацией БЦЖ. Действие препарата ДИАСКИНТЕСТ® основано на выявлении клеточного иммунного ответа на специфические для *Mycobacterium tuberculosis* антигены. При внутрикожном введении ДИАСКИНТЕСТ® вызывает у лиц с туберкулезной инфекцией специфическую кожную реакцию, являющуюся проявлением гиперчувствительности замедленного типа.

Назначение. ДИАСКИНТЕСТ® предназначен для постановки внутрикожной пробы во всех возрастных группах с целью:

- диагностики туберкулеза, оценки активности процесса и выявления лиц с высоким риском развития активного туберкулеза;
- дифференциальной диагностики туберкулеза;
- дифференциальной диагностики поствакцинальной и инфекционной аллергии (гиперчувствительности замедленного типа);
- оценки эффективности противотуберкулезного лечения в комплексе с другими методами.

В связи с тем, что препарат не вызывает реакцию гиперчувствительности замедленного типа, связанную с вакцинацией БЦЖ, пробы с препаратом ДИАСКИНТЕСТ® не может быть использована вместо туберкулинового теста для отбора лиц на первичную вакцинацию и ревакцинацию БЦЖ

Способ применения и дозировка. Препарат вводят строго внутрикожно. При постановке пробы, как правило, в коже образуется папула в виде «лимонной корочки» размером 7–10 мм в диаметре беловатого цвета.

Учет результатов.

Результат пробы оценивают через 72 ч с момента ее проведения путем измерения поперечного (по отношению к оси предплечья) размера гиперемии и инфильтрата (папулы) в миллиметрах прозрачной линейкой. Гиперемию учитывают только в случае отсутствия инфильтрата.

Ответная реакция на пробу считается:

- отрицательной — при полном отсутствии инфильтрата и гиперемии или при наличии «уколочной реакции» до 2 мм;
- сомнительной — при наличии гиперемии без инфильтрата;
- положительной — при наличии инфильтрата (папулы) любого размера.

Положительные реакции на ДИАСКИНТЕСТ® условно различаются по степени выраженности:

- слабо выраженная реакция — при наличии инфильтрата размером до 5 мм;
- умеренно выраженная реакция — при размере инфильтрата 5–9 мм;
- выраженная реакция — при размере инфильтрата 10–14 мм;
- гиперергическая реакция — при размере инфильтрата 15 мм и более, при везикуло-некротических изменениях и (или) лимфангиите, лимфадените независимо от размера инфильтрата.

Лица с сомнительной и положительной реакцией на ДИАСКИНТЕСТ® обследуются на туберкулез. В отличие от реакции гиперчувствительности замедленного типа, кожные проявления неспецифической аллергии (в основном гиперемия) на препарат, как правило, наблюдаются сразу после постановки пробы и через 48–72 часа обычно исчезают.

Занятие № 5.

ТЕМА: Методы микробиологической диагностики бактериальных кишечных инфекций, вызванных эшерихиями, шигеллами, сальмонеллами.

Вопросы для самоподготовки к занятию:

Эшерихии. Свойства, физиологическая роль и санитарно-показательное значение. Серогруппы эшерихий и их роль в этиологии острых кишечных заболеваний (эшерихиозов): энтеритов раннего детского возраста, дизентериеподобных заболеваний, холеро-подобных заболеваний. Энтерогеморрагические эшерихии – возбудители гемолитико-уреомического синдрома. Этиологическая и патогенетическая роль эшерихий при инфекциях мочевыводящих путей, аппендицитах, холециститах и внутрибольничных инфекциях. Иммунитет. Лабораторная диагностика эшерихиозов. Профилактика, этиотропная терапия.

Сальмонеллы. Серологическая классификация сальмонелл Кауфмана-Уайта. Патогенность для человека. Возбудители брюшного тифа и паратифов. Патогенез и иммунология брюшного тифа. Сальмонеллы - возбудители острых гастроэнтеритов. Патогенез заболеваний. Сальмонеллы - возбудители внутрибольничных инфекций. Лабораторная диагностика брюшного тифа и сальмонеллезов. Профилактика и этиотропная терапия.

Шигеллы. Классификация шигелл. Этиологическая роль при дизентерии. Патогенез болезни. Внутриклеточная персистенция возбудителя. Лабораторная диагностика дизентерии. Профилактика и этиотропная терапия.

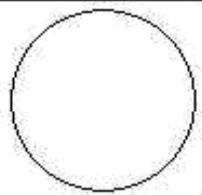
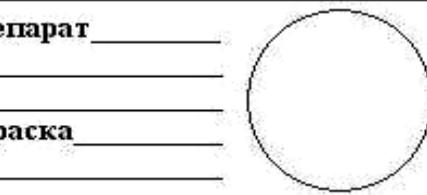
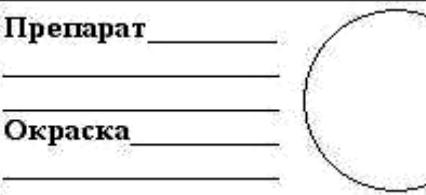
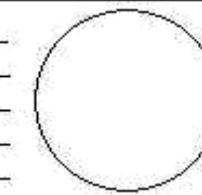
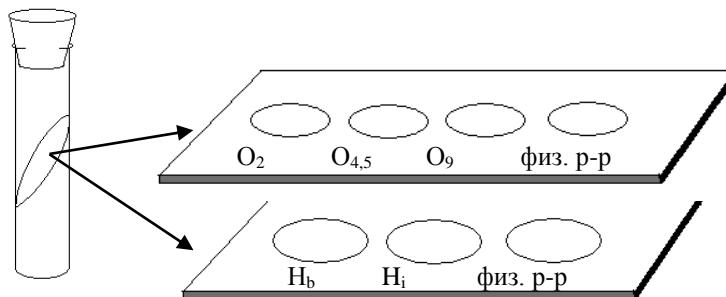
Источники:

1. Материал лекции.
2. [1] – (учебник),
3. [4], [5], [6] – (доп. литература).

Подпись

преподавателя _____

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
1. Зарисовать демонстрационные препараты: а) чистая культура эшерихий, окраска по Граму б) чистая культура сальмонелл, окраска по Граму в) чистая культура шигелл, окраска по Граму	Препарат _____  Окраска _____  Препарат _____  Окраска _____ 
2. Реакция агглютинации на стекле для идентификации сальмонелл. Демонстрация. 1. Биохимическая активность сальмонелл. 2. Среды Эндо, Левина, Плоскирева (чистые и с ростом эшерихий, сальмонелл, шигелл).	

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 5.

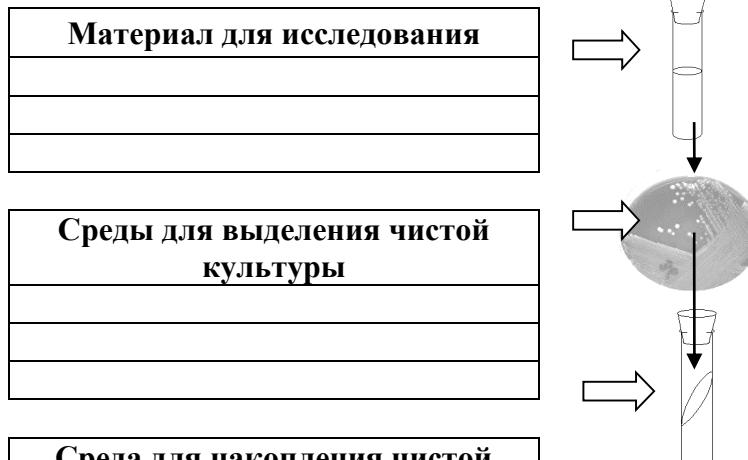
Общая характеристика *Enterobacteriaceae*

Признаки	<i>Enterobacteriaceae</i>
Морфология (размеры, форма, взаимо-расположение клеток)	
Образование споры	
Наличие капсулы	
Наличие жгутиков	
Окрашивание по Граму	
Антигены	
Экзотоксины	
Эндотоксин	

Характеристика *Escherichia coli*

Признаки	<i>Escherichia coli</i>
Морфология	
Образование споры	
Наличие капсулы	
Наличие жгутиков	
Окрашивание по Граму	
Антигены	
Кол-во сероваров	
Группы <i>E. coli</i> по факторам патогенности	1. 2. 3. 4.
Заболевания, вызываемые <i>E. coli</i>	

Культуральный метод диагностики эшерихиозов



Биологические свойства *E. coli*, как представителя нормальной микрофлоры

Положительные	Отрицательные

Характеристика основных видов родов *Escherichia* и *Salmonella*

Вид	Ферментация					Образование индола	Образование серово-дорода	Наличие катализы	Антигенная формула (O-, H-, K-антителы)
	глюкозы	лактозы	маннита	мальтозы	сахарозы				
<i>E. coli</i>									
<i>S. typhi</i>									
<i>S. paratyphi A</i>									
<i>S. schottmuelleri</i>									
<i>S. typhimurium</i>									

Методы диагностики брюшного тифа и паратифов в зависимости от периода болезни и стадии патогенеза

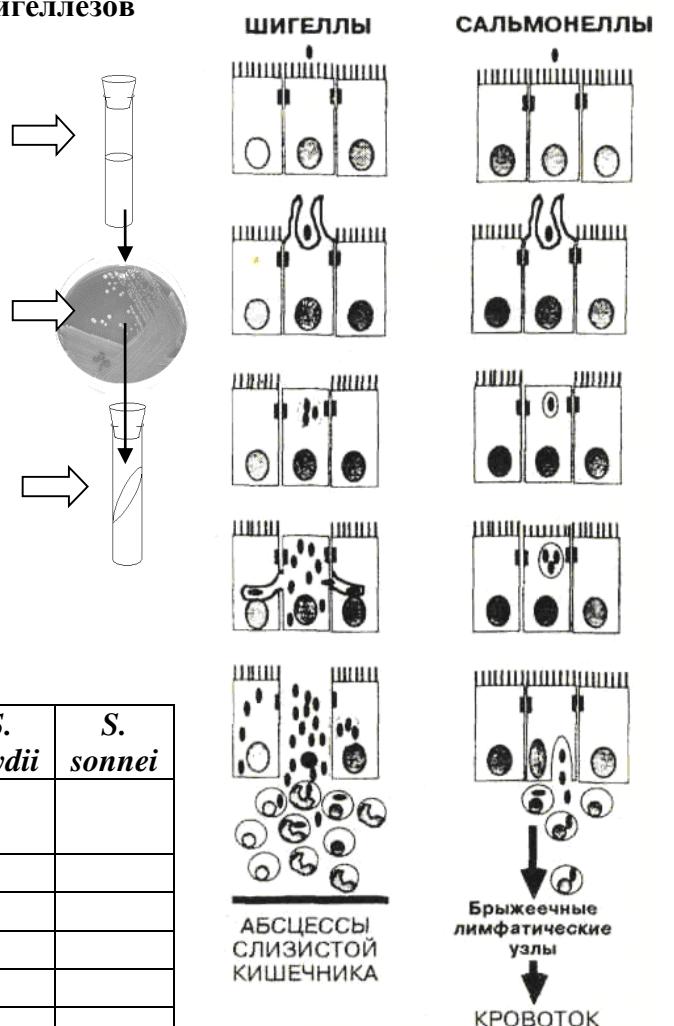
Период или стадия болезни		Культуральный метод			Серологический метод	
		гемокультура	уринокультура	копрокультура	РА по Видалю	РПГА с Vi-антигеном
Инкубационный период						
Продромальный период						
Разгар болезни	Бактериемия и интоксикация					
	Паренхиматозная диффузия					
	Аллергически-выделятельная					
Реконвалесценция						
Бактерионосительство						

Культуральный метод диагностики шигеллезов

Материал для исследования

Среды выделения чистой культуры

Среда накопления чистой культуры



Дифференциация шигелл

Признак	<i>S. dysenteriae</i>	<i>S. flexneri</i>	<i>S. boydii</i>	<i>S. sonnei</i>
Глюкоза с газом				
Лактоза				
Маннит				
Серогруппа				
Подвижность				
Молекуляно-генетический м-д				

Культуральный метод диагностики сальмонеллезов

Материал для исследования

Среды для обогащения материала

Среды для выделения чистой культуры

Среды для накопления чистой культуры

Методы идентификации сальмонелл

Занятие № 6.

ТЕМА: Методы микробиологической диагностики бактериальных кишечных инфекций, вызванных холерными вибрионами, иерсиниями, клостридиями ботулизма, кампилобактериями, хеликобактериями, листериями

Вопросы для самоподготовки к занятию:

Иерсинии — возбудители псевдотуберкулеза и энтероколита. Морфологические и физиологические особенности. Патогенность для человека и грызунов. Лабораторная диагностика иерсиниозов. Профилактика, этиотропная терапия.

Холерный вибрион. Морфологические, культуральные и биохимические признаки. Антигенная структура, О- и Н-антителы. Биовары холерного вибриона. Серовары. Экология. Резистентность. Факторы патогенности. Генетический контроль факторов патогенности. Энтеротоксин (холероген), свойства и механизм патогенетического действия. Патогенез и иммунитет при холере. Лабораторная диагностика, специфическая профилактика, этиотропная терапия холеры.

Клостридии — возбудители ботулизма. Ботулотоксины. Характеристика и патогенетическое действие. Лабораторная диагностика, специфическое лечение, профилактика ботулизма.

Клостридия диффициле: природная (видовая) антибиотикорезистентность. Clostridioides difficile-ассоциированные инфекции, методы диагностики и терапии.

Кампилобактер: систематическое положение, свойства, роль в патологии человека.

Хеликобактерии. Свойства, роль в развитии язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, рака желудка, мальтозы.

Лабораторная диагностика, профилактика и этиотропная терапия.

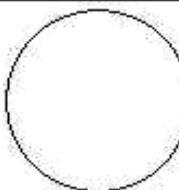
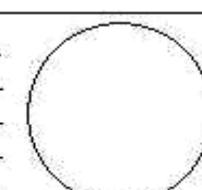
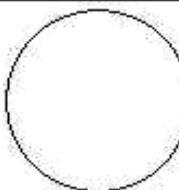
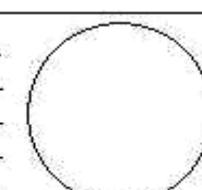
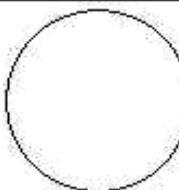
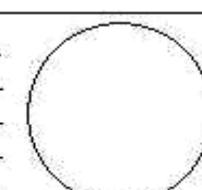
Листерии: систематическое положение, свойства, роль в патологии человека.

Источники:

1. Материал лекции.
2. [1] – (учебник),
3. [4], [5], [6] – (доп. литература).

**Подпись
преподава-
теля _____**

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты				
<p>Зарисовать демонстрационные препараты:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Вибрион холеры, чистая культура, окраска по Граму. • Клостридии, окраска по Граму. <p>Демонстрация.</p> <p>Рост холероподобного вибриона на щелочном агаре, TCBS, пептонной воде, двухсахарном сахарозно-лактозном агаре.</p>	<table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 50%; vertical-align: top;"> <p>Препарат _____</p> <hr/> <hr/> <p>Окраска _____</p> <hr/> <hr/> </td> <td style="width: 50%; vertical-align: top; text-align: center;">  </td> </tr> <tr> <td style="vertical-align: top;"> <p>Препарат _____</p> <hr/> <hr/> <p>Окраска _____</p> <hr/> <hr/> </td> <td style="text-align: center;">  </td> </tr> </table>	<p>Препарат _____</p> <hr/> <hr/> <p>Окраска _____</p> <hr/> <hr/>		<p>Препарат _____</p> <hr/> <hr/> <p>Окраска _____</p> <hr/> <hr/>	
<p>Препарат _____</p> <hr/> <hr/> <p>Окраска _____</p> <hr/> <hr/>					
<p>Препарат _____</p> <hr/> <hr/> <p>Окраска _____</p> <hr/> <hr/>					

Занятие № 7.

ТЕМА: Методы микробиологической диагностики заболеваний, заболеваний, передающихся половым путем

Вопросы для самоподготовки к занятию: Возбудитель сифилиса. Свойства. Патогенез и иммунитет. Лабораторная диагностика. Профилактика, этиотропная терапия.

Гонококки. Этиологическая и патогенетическая роль при уретритах и бленфорее у детей. Профилактика бленфореи у новорожденных. Иммунитет. Лабораторная диагностика гонореи. Профилактика, этиотропная терапия.

Хламидии. Морфологические и биологические особенности. Резистентность. Облигатный внутриклеточный паразитизм. Факторы патогенности хламидий. Возбудитель урогенитальных хламидиозов. Роль в патологии беременности и поражении плода. Материал и методы диагностики. Лабораторная диагностика хламидиозов. Профилактика, этиотропная терапия.

Микоплазмы при уретритах. Роль в патологии беременности и поражении плода. Лабораторная диагностика микоплазменной инфекции. Профилактика, этиотропная терапия.

Источники:

1. Материал лекции.
2. [1] – (учебник),
3. [4], [5], [6] – (доп. литература).

**Подпись
преподава-
теля**_____

Лабораторная работа

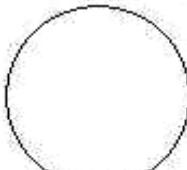
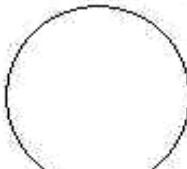
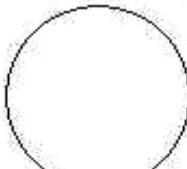
Задание	Методы, результаты
<p>1. Постановка реакции микропреципитации на стекле (VDRL) с целью серодиагностики сифилиса.</p> <p>2. Демонстрация РСК (реакции Вассермана) с целью диагностики сифилиса.</p>	<p>Реакция микропреципитации на стекле</p> <p>1. Сыворотка пациента 1:20 2. Физ. раствор 3. Кардиолипиновый антиген</p> <p>Реакция Вассермана (РСК)</p> <p>Трепонемный АГ (две серии)</p> <p>Кардиолипиновый АГ</p> <p>Контроли сывороток</p> <p>Заключение: _____</p> <p>Заключение: _____</p> <p>1. Опыт. сыв. 1:5 2. Завед. отр. сыв 1:5 3. Завед. слабо +, 1:5 4. Завед. положит. 1:5 5. Контроль АГ</p>

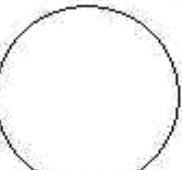
Зарисовать демонстрационные препараты:

Гонококк в гное больного гонореей,
окраска по Граму.

Бледная трепонема, чистая культура,
окраска по Романовскому-Гимзе;

Хламидии, окраска по Романовскому-
Гимзе..

Препарат _____	
Окраска _____	
Препарат _____	
Окраска _____	

Препарат _____	
Окраска _____	

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 7.

Характеристика <i>N. gonorrhoeae</i>		Методы диагностики инфекций, вызванных гонококком	
Признаки	<i>N. gonorrhoeae</i>	Название метода	Использование метода (+/-) <i>N. gonorrhoeae</i>
Морфология (размеры, форма, взаиморасположение клеток)		Микроскопический	
Образование споры		Культуральный	
Наличие капсулы		Биологический	
Наличие жгутиков		Серологический	
Окрашивание по Граму		Аллергический	
Оксидаза		Молекулярно-генетический	
Факторы патогенности			

Культуральный метод диагностики гонококковых инфекций

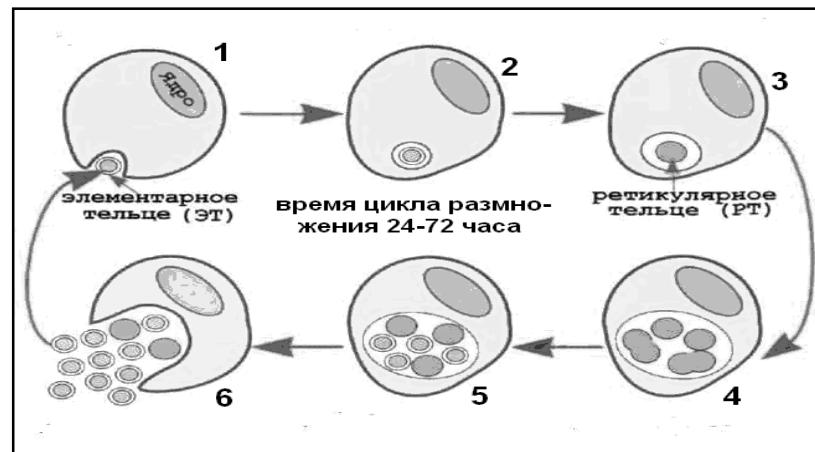
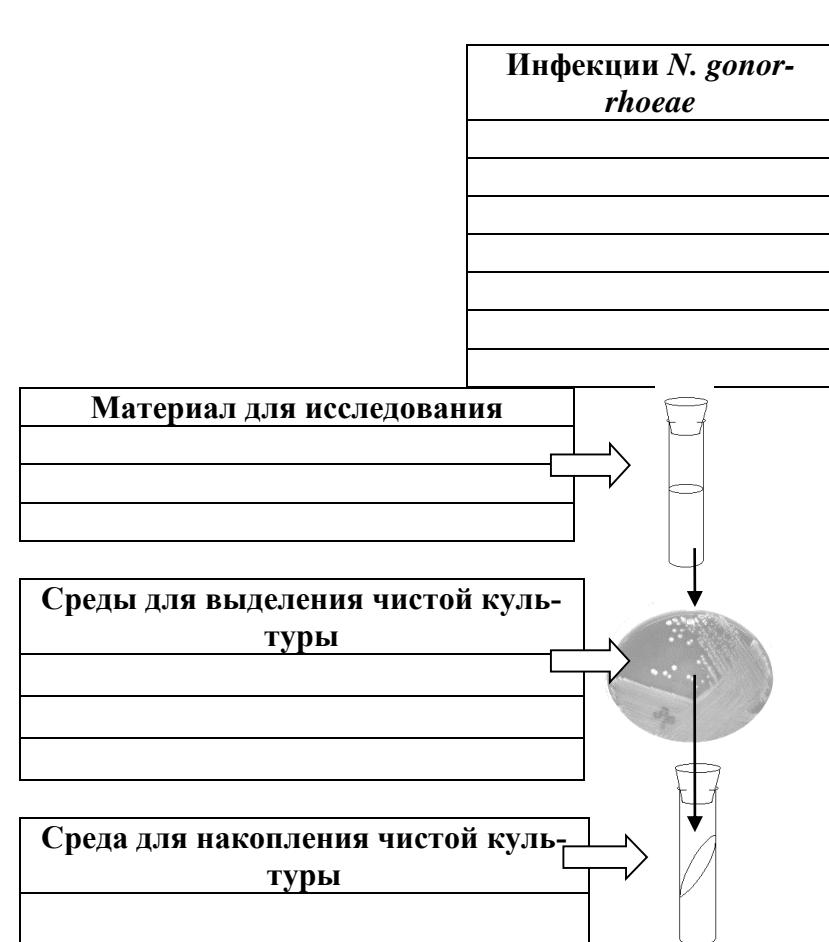


Схема внутриклеточного цикла размножения хламидий

Вставьте соответствующие номера стадий цикла развития хламидий:

- № ____ размножение путем бинарного деления
- № ____ дифференцировка РТ в ЭТ
- № ____ экзоцитоз и лизис клетки хозяина
- № ____ прикрепление и эндоцитоз ЭТ
- № ____ дифференцировка ЭТ в РТ
- № ____ подавление слияния фагосом и лизосом

Занятие № 8.

ТЕМА: Методы микробиологической диагностики бактериальных зоонозных инфекций, вызванных возбудителями туляремии, бруцеллами, иерсиниями чумы, бациллами сибирской язвы, лептоспираторами

<p>Вопросы для самоподготовки к занятию: Классификация микроорганизмов и ядов биологического происхождения по степени опасности. Противоэпидемический режим при работе с возбудителями IV-III групп риска.</p> <p>Возбудитель чумы. Морфологические и физиологические особенности. Патогенность для человека. Факторы патогенности и токсины. Патогенез чумы. Иммунитет. Лабораторная диагностика, специфическая профилактика, этиотропная терапия чумы.</p> <p>Возбудитель туляремии. Морфологические, культуральные и биохимические признаки. Экология. Резистентность. Патогенность для человека. Факторы патогенности. Патогенез и иммунитет при туляремии. Методы диагностики. Живая туляремийная вакцина (Б. Я. Эльберт, Н. А. Гайский). Лекарственные средства для химиотерапии туляремии.</p> <p>Бруцеллы. Морфологические, культуральные, биохимические и антигенные свойства. Экология. Резистентность. Факторы патогенности. Патогенез и иммунитет при бруцеллезе. Лабораторная диагностика, специфическая профилактика, этиотропная терапия.</p> <p>Бациллы. Возбудитель сибирской язвы. Морфологические, культуральные и биохимические свойства. Экология. Резистентность спор к факторам окружающей среды. Факторы патогенности. Токсины, их патогенетическое действие. Лабораторная диагностика, профилактика и этиотропная терапия сибирской язвы.</p> <p>Аэробные бациллы — возбудители пищевых отравлений.</p> <p>Лептоспираторы. Патогенность для человека. Патогенез лептоспирозов. Иммунитет. Лабораторная диагностика. Специфическая профилактика, этиотропная терапия.</p>	<p>Источники:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Материал лекции. 2. [1] – (учебник), 3. [4], [5], [6] – (доп. литература). <p>Подпись преподавателя _____</p>
--	--

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты												
<p>Зарисовать демонстрационные препараты:</p> <p>Палочка чумы в органах, окраска по Леффлеру.</p> <p>Возбудитель туляремии (чистая культура), окраска по Граму.</p> <p>Возбудитель бруцеллеза, окраска по Граму.</p> <p>Бациллы сибирской язвы в культуре, окраска по Граму.</p>	<table border="1" data-bbox="698 933 1208 1140"> <tr> <td data-bbox="698 933 983 1029">Препарат _____</td> <td data-bbox="983 933 1208 1140" style="text-align: center;"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="698 1029 983 1140" style="text-align: right;">Окраска _____</td> <td data-bbox="983 1029 1208 1140"></td> </tr> </table> <table border="1" data-bbox="1253 933 1763 1140"> <tr> <td data-bbox="1253 933 1538 1029">Препарат _____</td> <td data-bbox="1538 933 1763 1140" style="text-align: center;"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="1253 1029 1538 1140" style="text-align: right;">Окраска _____</td> <td data-bbox="1538 1029 1763 1140"></td> </tr> </table> <table border="1" data-bbox="1253 1156 1763 1362"> <tr> <td data-bbox="1253 1156 1538 1251">Препарат _____</td> <td data-bbox="1538 1156 1763 1251" style="text-align: center;"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="1253 1251 1538 1362" style="text-align: right;">Окраска _____</td> <td data-bbox="1538 1251 1763 1362"></td> </tr> </table>	Препарат _____		Окраска _____		Препарат _____		Окраска _____		Препарат _____		Окраска _____	
Препарат _____													
Окраска _____													
Препарат _____													
Окраска _____													
Препарат _____													
Окраска _____													

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 8.

Характеристика возбудителей бактериальных зоонозных инфекций					
Признаки	<i>Y. pestis</i>	<i>Brucella spp.</i>	<i>F. tularensis</i>	<i>B. anthracis</i>	<i>L. interrogans</i>
Морфология (размеры, форма, взаиморасположение клеток)					
Образование споры					
Наличие капсулы					
Наличие жгутиков					
Окрашивание по Граму					
Факторы патогенности					
Антигены					
Культуральные свойства					
Источник инфекции					
Пути передачи					

Факторы патогенности <i>Y. pestis</i>		Факторы патогенности бруцелл	
Факторы патогенности	Биологический эффект	Факторы патогенности	Биологический эффект
Поверхностный гликопротеин (капсулный АГ, F1-АГ, фракция 1)	защита от поглощения фагоцитами, не токсичен, иммуноген	Эндотоксин	Системный токсический эффект
Активатор плазминогена - протеаза	активирует лизис фибриновых сгустков, инактивирует C3b и C5a	Гиалуронидаза	Разрушает гиалуроновую кислоту
V/W(Vi)-АГ	состоит из белка (V-фракция) и ЛП (W-фракция), проявляет антифагоцитарные свойства, способствует внутриклеточному размножению бактерий	Белки наружной мембранны	Адгезия
Мышиный токсин	антагонист адренергических рецепторов, белково-подобное вещество, локализован внутриклеточно	Внутриклеточный паразитизм	
Бактериоцины (пестицины)	иммуногенные свойства		

Факторы патогенности <i>Bacillus anthracis</i>		Факторы патогенности <i>F. tularensis</i>	
Факторы патогенности	Биологический эффект	Факторы патогенности	Биологический эффект
Белковый экзотоксин (синтез контролируется плазмидой)	Экзотоксин содержит 3 фактора: летальный фактор – цитотоксический эффект, отек легких, протективный АГ – взаимодействует с мембранами клеток, опосредует активность др. компонентов, отечный фактор – повышение концентрации цАМФ, развитие отеков.	Внутриклеточный паразитизм	Ингибирование лизосомальной функции фагоцитов, благодаря чему бактерии могут длительно находиться в макрофагах ретикулоэндотелиальной системы
Капсула	Антифагоцитарная активность	Капсула	Защита от фагоцитоза
		Эндотоксин	Системный токсический эффект. Менее активен, чем эндотоксин других грамотрицательных палочек (например, <i>E. coli</i>)

Занятие № 9.

ТЕМА: Методы микробиологической диагностики трансмиссивных инфекций, вызванных боррелиями, риккетсиями. Основы медицинской микологии и протозоологии

Вопросы для самоподготовки к занятию: Боррелии. Возбудители эпидемического и эндемического возвратных тифов.

фов. Патогенность для человека. Лабораторная диагностика. Болезнь Лайма, свойства возбудителя, пути передачи. Методы лабораторной диагностики.

Риккетсии. Классификация риккетсий и риккетсиозов. Возбудители сыпного тифа и болезни Брилла-Цинсера, эндемических риккетсиозов. Экология. Резистентность. Хозяева и переносчики. Облигатный внутриклеточный паразитизм риккетсий. Лабораторная диагностика риккетсиозов. Специфическая профилактика, этиотропная терапия.

Систематическое положение и классификация грибов. Патогенные для человека грибы, морфология, факторы патогенности. Особенности микотической инфекции. Принципы диагностики и особенности химиотерапии микозов.

Систематическое положение, общая характеристика и классификация простейших. Особенности химиопрофилактики и химиотерапии протозойных инвазий.

Источники:

1. Материал лекции.
 2. [1] – (учебник),
 3. [4], [5], [6] – (доп. литература).

Подпись
преподава-
теля

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты								
1.Учет РСК с целью диагностики сыпного тифа. 2.Демонстрация. <ul style="list-style-type: none">• РПГА для дифференциальной диагностики эпидемического и рецидивного сыпного тифа.• чистая культура кандид, окраска по Граму;• Боррелии в крови больного, окраска по Романовскому-Гимзе;• Риккетсии Провачека в чистой культуре.		1	2	3	4	5	КС	КА	
		1:20	1:40	1:80	1:160	1:320			
	Учет								
	Заключение:								
	1/10 1/20 1/40 1/80 1/160 1/320 1/640	КС КА							
	Заключение: _____								
	Препарат _____			Препарат _____			Препарат _____		
	Окраска _____			Окраска _____			Окраска _____		

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 9.

Лабораторная диагностика болезни Лайма (Лайм-боррелиоза):

Микроскопический метод: темнопольная микроскопия материала (соскобы кожных поражений, центрифугат плазмы, СМЖ, мочи), микроскопия мазков, импрегнированных серебром, РИФ, электронная микроскопия.

Культуральный метод: в 80 % случаев удается выделить культуру *B. burgdorferi* из кожных поражений (1 стадия болезни) на специальных питательных средах.

Молекулярно-генетический метод: ПЦР позволяет идентифицировать ДНК возбудителя в образцах кожи, крови, спинно-мозговой жидкости.

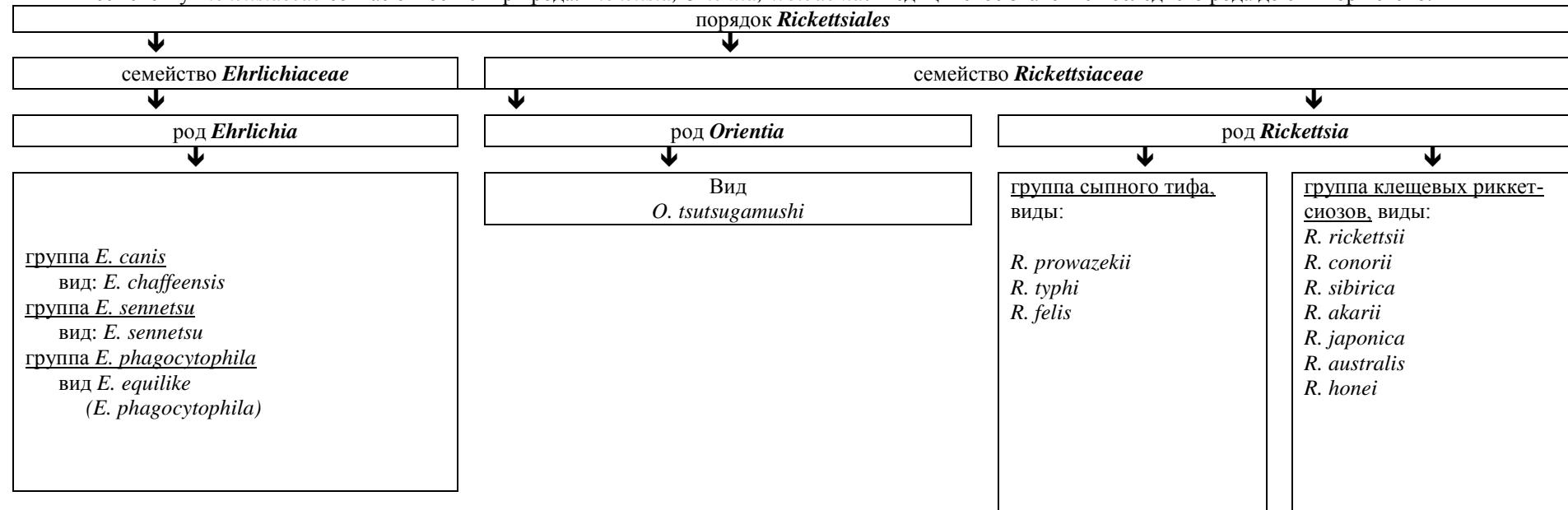
Серологический метод: ИФА, непрямая РИФ, иммуноблоттинг. Иногда наблюдаются ложно-позитивные результаты из-за перекрестных реакций у пациентов с сифилисом, мононуклеозом, ревматоидным артритом и др. В связи с замедленным иммунным ответом антиборрелиозные антитела выявляются на поздних стадиях болезни.

Современная классификация риккетсий:

На основании современных молекулярно-генетических исследований (сиквенирование генома, ЦПР) классификация микроорганизмов, относящихся к порядку *Rickettsiales*, претерпела существенные изменения.

Род *Coxiella* с видом *C. burnetti* исключены из семейства *Rickettsiaceae* и отнесены к порядку *Legionellales*, семейству *Coxiellaceae* с сохранением родовой и видовой номинации. Род *Rochalima* перестал существовать, а его представители – *R. quintana* (траншейная, окопная, волынская лихорадка) и *R. henselae* (болезнь кошачьих царапин) включены в семейство *Bartonellaceae*, род *Bartonella*.

К семейству *Rickettsiaceae* сейчас относятся три рода: *Rickettsia*, *Orientia*, *Wolbachia*. Медицинское значение последнего рода до сих пор неясно.



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 нескольких суток до 2-3 недель. Наиболее часто используется среда Сабуро (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.

Занятие № 10.

ТЕМА: Итоговое занятие: «Частная бактериология».

Перечень актуальных вопросов к итоговому занятию размещены в ЭУМК, раздел «Информация для студентов», а также на учебном стенде для фармацевтического факультета на кафедре микробиологии, вирусологии, иммунологии.

Занятие № 11.

ТЕМА: Методы вирусологических исследований. Бактериофаги.

Вопросы для самоподготовки к занятию: Вирусы как самостоятельная форма жизни. Основные признаки, отличающие вирусы от других форм органической материи. Классификация вирусов. Морфология вирионов простых (безоболочечных) и сложных (оболочечных) вирусов. Химический состав вирусов. Вироиды. Прионы.

Размножение вирусов. Строгий паразитизм и цитотропизм вирусов. Этапы размножения (репродукции) вирусов. Особенности репродукции ДНК- и РНК-вирусов. Механизмы изменчивости вирусов. Продуктивная, abortивная и интегративная инфекция клеток. Экология вирусов. Вирусы человека и животных. Чувствительность вирусов к физическим и химическим факторам внешней среды.

Вирусы бактерий (бактериофаги). Морфология фаговых частиц, химический состав, свойства. Вирулентные и умеренные фаги и особенности их взаимодействия с бактериями. Лизогенная инфекция. Фаговая конверсия. Дефектные фаги. Использование фагов для диагностики, лечения и профилактики бактериальных инфекций. Фаготипирование бактерий. Санитарно-показательное значение бактериофагов.

Вирусные инфекции. Вирусы как причина развития опухолевых и инфекционных заболеваний. Распространение, особенности вирусных инфекций. Типы вирусных инфекций. Механизмы поражения вирусами клеток животного организма. Медленные инфекции.

Противовирусный иммунитет. Факторы врожденного иммунитета. Клеточная ареактивность. Противовирусные ингибиторы. Естественные киллеры. Вирусная интерференция. Интерфероногены. Интерфероны, типы, классы, свойства, противовирусное, противоопухолевое, иммуномодулирующее действие.

Особенности иммунитета при вирусных инфекциях. Иммунопрофилактика и иммунотерапия вирусных инфекций

Химиотерапия и химиопрофилактика вирусных инфекций. Противовирусные химиотерапевтические лекарственные средства и механизмы их действия. Противовирусные антисептики.

Вирусологические методы диагностики. Изучение морфологии вирусов. Выявление вирусных включений. Способы выделения, индикации и идентификации вирусов на курином эмбрионе, культурах клеток, лабораторных животных. Серологические методы диагностики вирусных инфекций.

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты			
1. Зарисовать демонстрационные препараты: 1. Фибробласты кур, эозин; 2. Культура Нер2; 3. ЦПД аденоовирусов 4. Реакция гемадсорбции.	Препарат <hr/> <hr/> Окраска <hr/> <hr/>	Препарат <hr/> <hr/> Окраска <hr/> <hr/>	Препарат <hr/> <hr/> Окраска <hr/> <hr/>	

Источники:

1. Материал лекции.
2. [1] – (учебник),
3. [3], [4], [5], [6], [7] – (доп. литература).

Подпись преподавателя _____

<p>2. Провести заражение куриного эмбриона вирусом гриппа в аллантоисную полость.</p>	<p>1. Изучить схему строения куриного эмбриона (8–11 дней)</p> <p>2. Изучить куриный эмбрион в овоскопе и установить его жизнеспособность:</p> <ul style="list-style-type: none"> а) по размеру тени эмбриона б) наличию развитого сосудистого рисунка в) активной подвижности эмбриона г) очертить границу воздушного мешка <p>3. Установить эмбрион на подставку и провести обработку скорлупы по схеме:</p> <ul style="list-style-type: none"> а) 70 % спирт б) 5 % спиртовой раствор йода в) 70 % спирт <p>4. Произвести заражение эмбриона в следующей последовательности:</p> <ul style="list-style-type: none"> а) фламбировать бранши ножниц б) осторожно пробить скорлупу на 3–5 мм выше границы воздушного мешка в) набрать в одноразовый «инсулиновый шприц» 0,2 мл материала (живая вакцина против гриппа) г) ввести иглу шприца по канюлю (25 мм) в прокол перпендикулярно плоскости стола и выпустить материал. <p>5. Провести повторную обработку скорлупы в зоне прокола согласно пункту 3.</p> <p>6. Герметизировать эмбрион лейкопластырем, маркировать эмбрион (номер группы, инициалы исследователя).</p>	<p>1. Подскорлупная оболочка 2. Воздушный мешок 3. Хорион-аллан-тоисная оболочка 4. Аллантоисная полость 5. Полость амниона 6. Желточный мешок 7. Белок 8. Экстрамбриональная полость 9. Эмбрион</p>																								
<p>3. Титрование вируса по цветной пробе.</p> <p>Ингредиенты:</p> <ul style="list-style-type: none"> – культура клеток, – разведения вируса 	<table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>10^{-1}</th> <th>10^{-2}</th> <th>10^{-3}</th> <th>10^{-4}</th> <th>10^{-5}</th> <th>10^{-6}</th> <th>КК</th> <th>КВ</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Заключение:</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>		10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	КК	КВ	Заключение:									<p>Цветная проба</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Исходный цвет среды</th> <th>Изменение цвета в результате метаболизма</th> <th>Сохранение цвета среды в результате гибели клеток под действием вируса</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	Исходный цвет среды	Изменение цвета в результате метаболизма	Сохранение цвета среды в результате гибели клеток под действием вируса			
	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	КК	КВ																		
Заключение:																										
Исходный цвет среды	Изменение цвета в результате метаболизма	Сохранение цвета среды в результате гибели клеток под действием вируса																								

Дополнительные материалы к занятию № 11.

Цветная проба. Суть этой реакции заключается в способности вируса подавлять обменные процессы в зараженных клетках культуры ткани. Клеточные суспензии с определенной концентрацией клеток добавляют в пробирки через час после внесения в них смеси вируса с определенными разведениями сыворотки. Цветная проба основана на том, что клетки, размножаясь в незараженных пробирках или пробирках со смесью вируса и нейтрализовавших его антител, образуют много кислых продуктов обмена, которые снижают pH питательной среды. Это легко обнаруживаются благодаря включенному в состав среды индикаторному красителю (например, феноловому красному), цвет которого меняется в зависимости от pH среды. Красный цвет при pH 7,4–7,8 становится оранжевым при pH 7,2, а при снижении pH ниже 7,0 — желтым. При гибели клеток под воздействием вируса не наблюдается выделения достаточного количества кислых продуктов, поэтому среда остается красной. Титр вируснейтрализующих антител определяют как последнее разведение сыворотки, которое в присутствии добавленного вируса позволило клеткам сохранить нормальные обменные процессы, а следовательно, и снизить pH среды до того же уровня, что и в незараженной контрольной культуре. Обычно цветную пробу используют при работе с энтеро- и аденоизвирусами.

Принципы лабораторной диагностики вирусных инфекций.

В основе лабораторной диагностики вирусных инфекций лежат 4 группы методов:

1 группа — обнаружение возбудителя или его компонентов непосредственно в клиническом материале, взятом от больного, и получение ответа через несколько часов (быстрая; экспресс-диагностика).

2 группа — выделение вируса из клинического материала, его индикация и идентификация (вирусологическая диагностика).

Эта группа методов требует продолжительного времени, трудоемка, часто является ретроспективной. Однако вирусологическая диагностика является необходимой для инфекций, вызванных новыми типами вируса, или когда невозможно провести диагностику другими методами.

Для вирусологической диагностики врач должен обеспечить взятие необходимых проб материала в соответствующую фазу заболевания, доставку их в лабораторию, снабдив диагностические лаборатории необходимой клинической информацией.

Выделение вируса из клинического материала осуществляется путем его инокуляции в культуру клеток, куриные эмбрионы или заражения им лабораторных животных.

Идентификация вирусов, выделенных в этих системах, проводится с помощью серологических методов. Такие серологические реакции, как РТГА, РН, РТГАдс, используются только при вирусных инфекциях. РСК, РПГА, ИФА, РИА, ИФ, РП и др. используются для диагностики как вирусных инфекций, так и инфекций, вызванных другими возбудителями. В настоящее время широко используются методы молекулярной диагностики: МГ, ПЦР.

3 группа — серологическая диагностика вирусных инфекций.

Однократно проведенное серологическое исследование лишь в редких случаях позволяет диагностировать вирусное заболевание (например, при ВИЧ-инфекции). В большинстве случаев для серологической диагностики требуются парные сыворотки, взятые в острой фазе заболевания и спустя 2–4 недели. Обнаружение четырехкратного и более повышения титра антител принято рассматривать в качестве диагностического признака острой вирусной инфекции.

4 группа — молекулярно-биологические методы индикации, идентификации и клонирования вирусов. Проводятся с целью выявления вирусспецифических фрагментов генома вирусов в материале.

Занятие № 12.

ТЕМА: Методы вирусологической диагностики заболеваний, вызываемых ортомиксовирусами, парамиксовирусами, коронавирусами, рубивирусами, адено-вирусами, парвовирусами.

Вопросы для самоподготовки к занятию: Вирусы гриппа человека. Структура и химический состав вирионов. Антигены вирусов гриппа: гемагглютинин, нейраминидаза, белки рибонуклеопротеида. Антигенная изменчивость вируса гриппа, антигенный дрейф, шифт. Экология. Культивирование. Патогенез гриппа. Роль вторичной бактериальной микрофлоры. Иммунитет. Лабораторная диагностика, специфическая профилактика, этиотропная терапия.

Парамиксовирусы. Общая характеристика свойств. Род парамиксовирусов: вирусы парагриппа. Роль в патологии человека. Иммунитет. Вирус эпидемического паротита. Культивирование. Патогенетические особенности заболевания. Иммунитет. Специфическая профилактика.

Род пневмовирусов — респираторно-синцитиальный вирус (РСВ). Культивирование. Патогенетические особенности заболеваний. Иммунитет.

Род морбиливирусов: вирус кори. Патогенетические особенности заболевания. Иммунитет. Специфическая профилактика.

Лабораторная диагностика парамиксовирусных инфекций.

Коронавирусы. Общая характеристика, свойства. Вирус SARS-CoV-2. Инфекция Covid-19 – патогенез, диагностика, специфическая профилактика, противовирусная терапия.

Аденовирусы: характеристика, состав семейства. Аденовирусы человека, структура вириона, свойства вируса, серотипы. Патогенез, иммунитет, вирусологическая диагностика, специфическая профилактика адено-вирусных инфекций.

Рубивирусы. Вирус краснухи, строение, свойства, тератогенное действие. Краснуха, патогенез, вирусологическая диагностика, принципы профилактики.

Парвовирусы, структура вириона, биологические свойства, роль в патологии человека.

Источники:

1. Материал лекции.
2. [1] – (учебник),
3. [3], [4], [5], [6], [7] – (доп. литература).

**Подпись
преподавателя** _____

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 сокращаются, 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>

2. Индикация вируса путем постановки РГА.	<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 подскорлупную оболочку и пастеровской пипеткой, избегая повреждения сосудов, отбирают 3–5 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> <p>Постановка реакции гемагглютинации</p> <p>На поверхность предметного стекла наносят каплю аллантоисной жидкости и каплю 5 %-ной взвеси куриных эритроцитов 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>Схема постановки РГА</p> <p>1. Физ. раствор 2. Аллантоисная жидкость 3. Куриные эритроциты</p> <p>Заключение:</p>
---	---

3. Учёт РТГА для определения типа вируса гриппа. Для определения типа нейраминидазы ставят реакцию торможения нейраминидазной активности.	Сыв. против вируса	H1N1	H3N2	H5N1	KЭ	KB	KC _{H1N1}	KC _{H3N2}	KC _{H5N1}
	Вирус, выделенный у больного Ф.	<input type="radio"/>							
	Вирус, выделенный у больного Н.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>		<input type="radio"/>			

Заключение: _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 12.

Впишите название семейства, обозначьте цифрами соответствующие структурные элементы вирионов

Структура _____ вирусов.	1. Гемагглютинин 2. Нейраминидаза 3. Суперкапсид 4. Матриксный белок M1 5. Белок M2 6. Рибонуклеопротеид	Структура _____ вирусов.	1. Гликопротеин F 2. Гликопротеин HN, H, G 3. Суперкапсид 4. Матриксный белок 5. Нуклеокапсид 6. РНК
--------------------------	---	--------------------------	---

Диагностика гриппа с помощью выделения вируса на куриных эмбрионах*

1. Забор материала: носоглоточное отделяемое в первые три дня болезни забирают с помощью тампонов. Тампоны прополаскивают в физрастворе, отжимают и утилизируют, а жидкость отстаивают на ходу 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.
2. Заражение эмбриона
3. Инкубация 3–4 дня при 35°C
4. Вскрытие (см. занятие № 2)
5. Постановка реакции гемагглютинации для индикации вируса
6. Идентификация вируса в реакции РТГА с набором диагностических сывороток (к эталонным штаммам вирусов соответствующих серологических типов).

Серодиагностика гриппа

Для целей серодиагностики 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 диагностиком). Тем не менее, иногда требуется применение набора свежевыделенных штаммов. Реакцию ставят в несколько этапов:

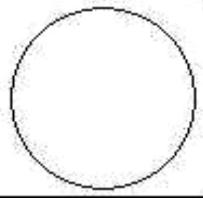
1. Подготовка сывороток (разведение и удаление ингибирующих примесей: пропусканием CO₂, обработкой каолином, нагревание и др.).
2. Подготовка вирусного препарата (определение агглютининового титра)
3. Постановка РТГА.
4. Учет

Занятие № 13.

ТЕМА: Методы вирусологической диагностики заболеваний, вызываемых герпесвирусами, тогавирусами, флавивирусами, буньявирусами, аренавирусами, филовирусами.

<p>Вопросы для самоподготовки к занятию: Герпесвирусы: характеристика и состав семейства, онкогенность. Вирусы герпеса человека (ВГЧ):</p> <p>альфа-Герпесвирусы. Вирусы простого герпеса — серотипы ВПГ-1 и ВПГ-2. Патогенетические особенности заболевания. Персистенция. Иммунитет.</p> <p>Вирус ветряной оспы-опоясывающего герпеса. Образование внутриядерных включений в эпителиальных клетках кожи. Патогенетические особенности заболевания.</p> <p>бета-Герпесвирусы. Цитомегаловирус (ВГЧ-5), свойства. Формы цитомегаловирусной инфекции. ВГЧ-6, 7, роль в патологии человека (розеола инфантум, синдром хронической усталости);</p> <p>гамма-Герпесвирусы. Вирус Эпштейна-Барр (ВГЧ-4), свойства. Патогенез, диагностика инфекционного мононуклеоза. ВГЧ-8, роль в патологии человека (sarcoma Капоши).</p> <p>Общие признаки арбовирусов, состав группы, характеристика вызываемых заболеваний. Арбовирусные и робовирусные инфекции, эндемичные для Республики Беларусь.</p> <p>Флавивирусы: Характеристика и классификация. Вирус клещевого энцефалита. Специфическая профилактика. Другие заболевания, вызываемые флавивирусами (лихорадка Денге, желтая лихорадка, японский энцефалит, лихорадка Зика).</p>	<p>Источники:</p> <ol style="list-style-type: none">1. Материал лекции.2. [1] – (учебник),3. [3], [4], [5], [6], [7] – (доп. литература). <p>Подпись преподавателя _____</p>
---	--

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
<p>Зарисовать демонстрационный препарат: ЦПД аденоовирусов</p>	<p>Препарат _____</p> <p>Окраска _____</p> 

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 13.

Вирусологическая диагностика герпетической инфекции

А) Ранняя диагностика: морфологическое исследование материалов из очага поражения и выделение из него вируса. Материалом служат соскобы или мазки-отпечаток с элементов сыпи (герпетических везикул), в летальных случаях — кусочки пораженных органов.

- Мазки окрашивают по Романовскому-Гимзе или гематоксилином-эозином. Для герпетической инфекции характерно наличие в препаратах гигантских клеток с внутриядерными включениями.
- Мазки окрашивают антителами, меченными 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.
- Выделение вируса:
 - проводят на 12-дневных куриных эмбрионах, различных культурах клеток, мышатах-сосунках, кроликах. Кроликов заражают на скарифицированную роговицу (развивается специфический кератоконъюнктивит) или в мозг (летальный энцефалит),
 - идентификацию вируса, выделенного на эмбрионах, культурах клеток или животных, проводят в РИФ или РН.

Б) Методы ретроспективной диагностики — выявление антител классов IgM и IgG и их динамики в парных сыворотках больного. Для серологической диагностики применяют ИФА и РСК. При интерпретации следует иметь в виду возможность перекрестных реакций между различными вирусами группы герпеса.

Вирусологическая диагностика ветряной оспы

А) Методы ранней диагностики: микроскопия материала из очагов поражений, обнаружение вирусного антигена либо выделение вируса в культуре клеток.

- Лучшим материалом для микроскопии вируса является содержимое свежих везикул: при микроскопии обнаружаются вирусные частицы, выявляются многоядерные гигантские клетки с внутриядерными включениями.
- Для быстрой идентификации вируса можно применить РИФ. Специфический антиген обнаруживается внеклеточно в виде ярких зерен и скоплений, а также в одно- или многоядерных клетках.
- Вирус выделяют на различных культурах клеток человека. Характерное ЦПД — образование многоядерных гигантских клеток и скопления округлившихся клеток. Часто обнаружаются внутриядерные эозинофильные включения. Выделенный вирус идентифицируют в РН или РИФ.

Б) Методы ретроспективной диагностики: антитела обнаруживают в реакции ИФА, РН или РСК в парных сыворотках.

Занятие № 14.

ТЕМА: Методы вирусологической диагностики заболеваний, вызываемых пикорнавирусами, реовирусами, норавирусами, вирусами гепатита А, гепатита Е, гепатита В, гепатита С.

Вопросы для самоподготовки к занятию: Пикорнавирусы. Общая характеристика, свойства.

Энтеровирусы: вирусы полиомиелита, Коксаки и ЕCHO. Особенности свойств. Локализация и распространение вируса полиомиелита в организме человека. Иммунитет. Специфическая профилактика. Заболевания, вызываемые вирусами Коксаки и ЕCHO у людей. Риновирусы.

Лабораторная диагностика заболеваний, вызываемых пикорнавирусами.

Реовирусы: общая характеристика семейства. Ротавирусы, структура вириона. Ротавирусная инфекция человека: патогенез, иммунитет, методы диагностики.

Норовирусы: структура вириона, биологические свойства, роль в патологии человека.

Классификация вирусов гепатитов (HAV, HBV, HCV, HEV), другие вирусы, обладающие гепатотропным действием.

Вирус гепатита А, структура и свойства вириона. Способы заражения, патогенез, иммунитет, диагностика, специфическая и неспецифическая профилактика гепатита А.

Вирус гепатита Е, характеристика вириона. Патогенез и вирусологическая диагностика гепатита Е.

Вирус гепатита В. Морфологическая и антигенная структура вириона, онкогенность. Пути передачи, патогенез, иммунитет, вирусологическая диагностика, принципы лечения. Специфическая и неспецифическая профилактика гепатита В. Дельта-инфекция, патогенез, диагностика.

Вирус гепатита С, структура вириона. Патогенез, иммунитет, вирусологическая диагностика, исходы гепатита С. Лекарственные средства для специфической терапии гепатита С.

Источники:

- Материал лекции.
- [1] – (учебник),
- [3], [4], [5], [6], [7] – (доп. литература).

Подпись преподавателя _____

Лабораторная работа

Задание		Методы, результаты	
Учет ИФА для диагностики вирусного гепатита С.			
CORE	A	1	2
NS ₃	B	Отрицат. контроль	Сыворотка №1
NS ₄	C		
NS ₅	D		
CORE	E	2	
NS ₃	F	Положит. контроль	Сыворотка №2
NS ₄	G		
NS ₅	H		

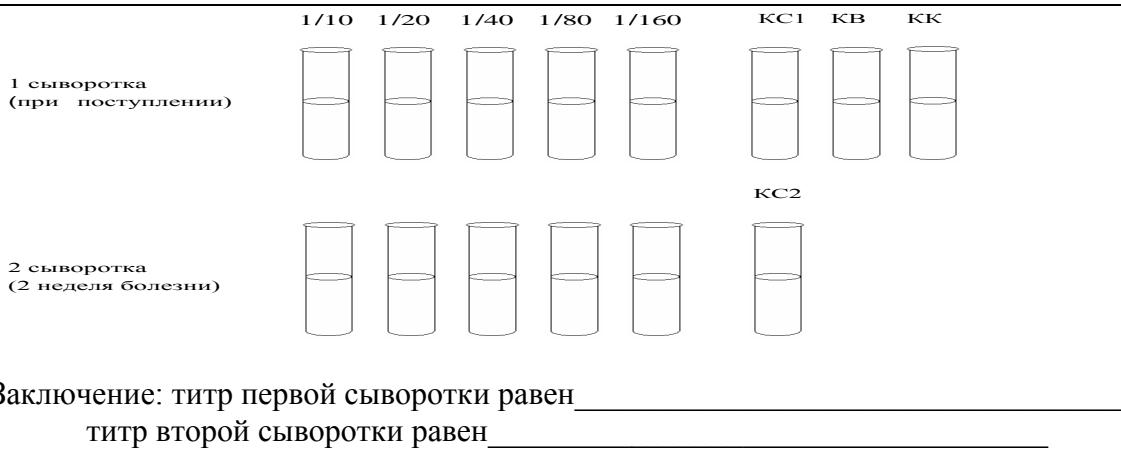
1. Предлагаемый метод основан на наборе «РекомбиБест анти-ВГС – спектр» производства «Вектор-Бест», РФ. Метод выявляет в сыворотке крови человека антитела (IgG и IgM) к антигенам ВГС за счет их взаимодействия с рекомбинантными антигенами, сорбированными на поверхности планшета. Образование соответствующих комплексов антиген-антитело выявляют с помощью иммуноферментного коньюгата (анти-Ig+фермент) и последующей ферментативной реакции с образованием окрашенного продукта.

Антигены ВГС сорбированы в лунках стрипов следующим образом:

в рядах A, E – core	в рядах C,G – NS4
в рядах B,F – NS3	в рядах D, H – NS5

		Протокол учета ИФА для диагностики вирусного гепатита С			
Антигены	Ряд	ОП контролей	ОП образцов	КП	Результат
CORE	A				
NS3	B				
NS4	C				
NS5	D				
CORE	E				
NS3	F				
NS4	G				
NS5	H				
1. Оценка верности постановки: Среднее значение ОП отрицательного контроля < 0,2 Среднее ОП K ⁻ = Среднее значение ОП положительного контроля > 0,8 Среднее ОП K ⁺ =		3. Расчет коэффициента позитивности для каждого антигена: $KPI(core-Ag) = OPI \text{ иссл. сыв (core)} / OPI \text{ крит (core-Ag)}$ = $KPI(NS_3-Ag) = OPI \text{ иссл. сыв (NS}_3\text{)} / OPI \text{ крит (NS}_3\text{-Ag)}$ = $KPI(NS_4-Ag) = OPI \text{ иссл. сыв. (NS}_4\text{)} / OPI \text{ крит (NS}_4\text{-Ag)}$ = $KPI(NS_5-Ag) = OPI \text{ иссл. сыв. (NS}_5\text{)} / OPI \text{ крит (NS}_5\text{-Ag)}$ =			
2. Расчет ОП критической для каждого антигена: $OPI \text{ крит (core-Ag)} = OPI \text{ K- (core)} + 0,2 =$ $OPI \text{ крит (NS}_3\text{-Ag)} = OPI \text{ K- (NS}_3\text{)} + 0,2 =$ $OPI \text{ крит (NS}_4\text{-Ag)} = OPI \text{ K- (NS}_4\text{)} + 0,2 =$ $OPI \text{ крит (NS}_5\text{-Ag)} = OPI \text{ K- (NS}_5\text{)} + 0,2 =$		4. Интерпретация результатов: 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.			

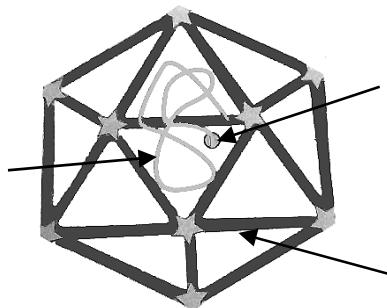
Учет реакции нейтрализации в культуре клеток с парными сыворотками для серодиагностики полиомиелита.



Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 14.

Впишите название вируса, обозначьте цифрами соответствующие структурные элементы вирионов

Структура вируса _____.

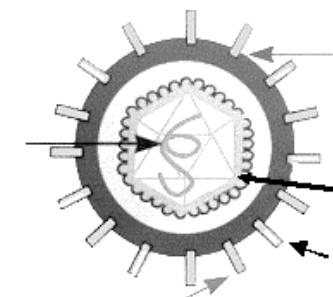


Структура вируса _____.

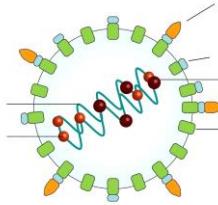
- 1. Капсид
- 2. РНК
- 3. Кэпирующий белок VPg

- 1. Суперкапсид
- 2. Нуклеокапсид
- 3. Гликопротеин E1
- 4. Гликопротеин E2
- 5. РНК

Структура вируса _____.

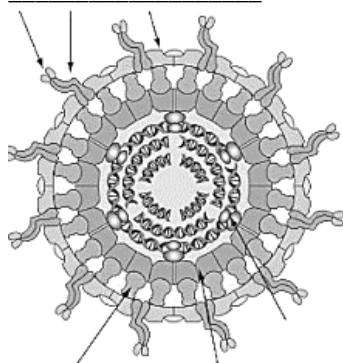


Структура вируса _____.

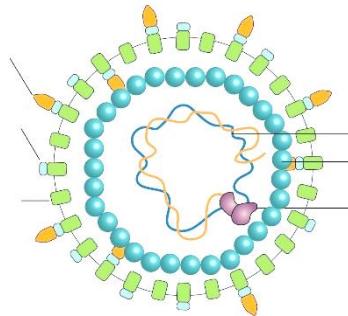


1. HBs-антител
2. Суперкапсид
3. Капсид
4. Полимераза
5. ДНК

Структура вируса



1. Наружный капсид
2. Внутренний капсид, VP2
3. Белок VP5
4. Сегментированная, линейная dsRNA
6. Полимераза



1. Суперкапсид
2. HBs-антител
3. Дельта-антител (бусинки на РНК)
4. РНК

Клинико-эпидемиологическое значение маркеров вирусов гепатитов А и Е

Маркер, обозначение	Клинико-эпидемиологическое значение
Антител вируса гепатита А (HAV-Ag)	Обнаружение в фекалиях у детей в очагах инфекции является показателем опасности для окружающих в отношении заражения (но не критерием постановки диагноза)
Суммарные антитела к вирусу гепатита А (abHAV)	Показатель перенесенного в прошлом или переносимого в настоящее время вирусного гепатита А и критерий для вакцинации
Антитела класса M к вирусу гепатита А (abHAV-IgM)	Маркер острого вирусного гепатита А
РНК вируса гепатита А (RNA-HAV)	Маркер наличия вируса в исследуемом материале
Суммарные антитела к вирусу гепатита Е (abHEV)	Маркер инфицирования вирусом гепатита Е в настоящем или в прошлом. Маркер заболевания

Клинико-эпидемиологическое значение маркеров вирусов гепатитов В, С, D

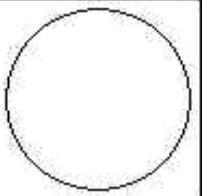
Маркер, обозначение	Клинико-эпидемиологическое значение
Поверхностный антиген (s) вируса гепатита В (HbsAg)	Маркер вирусного гепатита В (острого или хронического), требует дополнительных исследований на abHBc-суммарные, abHBc-IgM). Один из критериев безопасности переливаемой крови или её препаратов. Контроль в группах риска. Выяснение распространенности вируса гепатита В при эпидемиологических исследованиях
Антитела к поверхностному антигену вируса гепатита В (abHBs)	Определение стадии развития гепатита В и прогноза течения заболевания, контроль за уровнем специфического иммунного ответа при определении целесообразности и эффективности вакцинации. Определение распространения вируса гепатита В при эпидемиологических исследованиях. Маркер благоприятного исхода
Сердцевинный антиген (c) вируса гепатита В (HbcAg)	Маркер наличия вируса гепатита В в гепатоците (при остром или хроническом гепатите В)
Антитела к сердцевинному антигену вируса гепатита В (суммарные или класса G) (abHBc)	Маркер острого или хронического вирусного гепатита В (в комбинации с другими маркерами), носительства вируса гепатита В (в комбинации с другими маркерами), маркер инфицированности вирусом гепатита В в прошлом или настоящем. Контроль донорской крови и её препаратов. Используется в дифференциальной диагностике, определении распространенности вируса гепатита В при эпидемиологических исследованиях
Антитела класса M к сердцевинному антигену вируса гепатита В (abHBc-IgM)	Маркер острого вирусного гепатита В, а также обострения хронического
Е-антigen вируса гепатита В (антigen инфекционности) (HveAg)	Определение интенсивности репликации вируса гепатита В и степени инфекционной опасности больного. Используется в дифференциальной диагностике вирусных гепатитов, контроле за течением и прогнозировании исхода заболевания. Определение вероятности вертикальной передачи инфекции плоду беременными – носительницами HBsAg. Маркер активной репликации вируса. Маркер инфекционности крови больного. Маркер неблагоприятного исхода (хронизации) вирусного гепатита В, если он обнаруживается через 2 месяца после начала заболевания
Антитела к е-антигену вируса гепатита В (abHBe)	Определение стадии заболевания. Дифференциальная диагностика вирусных гепатитов. Маркер благоприятного исхода болезни
ДНК вируса гепатита В (DNA-HBV)	Высокая инфекционность крови больного. Активная репликация вируса. Дифференциальная диагностика носительства вируса или HBsAg
Антитела к вирусу гепатита С (суммарные) (abHCV)	Маркер инфицирования вирусом гепатита С. Не позволяет судить о стадии болезни
Антитела к сердцевинному антигену вируса гепатита С класса M (abHCc-IgM)	Маркер острого вирусного гепатита С, но может определяться и при реактивации хронического
РНК вируса гепатита С (RNA-HCV)	Маркер наличия вируса в крови после 10 дня заболевания
Антитела к вирусу гепатита D (суммарные) (abHD)	Маркер инфицирования вирусом гепатита D. Не позволяет судить о стадии болезни
Антитела к вирусу гепатита D класса M (abHD-IgM)	Маркер острого вирусного гепатита D
РНК вируса гепатита D (RNA-HDV)	Маркер наличия вируса в крови

Занятие № 15.

ТЕМА: Методы вирусологической диагностики заболеваний, вызываемых ретровирусами, рабдовирусами. Этиология медленных инфекций. Прионы и прионовые болезни.

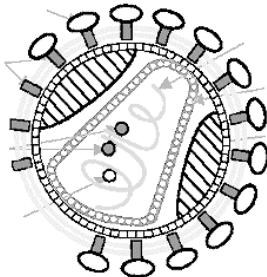
<p>Вопросы для самоподготовки к занятию: Ретровирусы: Вирусы иммунодефицита человека (ВИЧ-1 и ВИЧ-2). Структура вириона. Этапы размножения вируса в Т-лимфоцитах. Чувствительность к физическим и химическим факторам. ВИЧ-инфекция. Распространение. Способы заражения. Группы повышенного риска заражения. Формирование иммунодефицита и его характеристика. Диагностика ВИЧ-инфекции. Принципы ВААРТ. Первичная и вторичная профилактика ВИЧ-инфекции.</p> <p>Рабдовирусы. Вирус бешенства: свойства. Пути заражения человека, патогенез и вирусологическая диагностика бешенства. Включения Бабеша-Негри. Современные антирабическая вакцина и гамма-глобулин для профилактики бешенства, показания к применению.</p> <p>Прионы: свойства, роль в патологии человека. Профилактика.</p> <p>Медленные инфекции вирусной этиологии (ВИЧ-инфекция, подострый склерозирующий панэнцефалит, бешенство, врожденная краснуха, хронические вирусные гепатиты В и С, герпетический энцефалит).</p>	<p>Источники:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Материал лекции. 2. [1] – (учебник), 3. [3], [4], [5], [6], [7] – (доп. литература). <p>Подпись преподавателя _____</p>
--	--

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
<p>Зарисовать демонстрационный препарат: Тельца Бабеша-Негри в гомогенате мозга мыши, окраска по Муромцеву</p>	<p>Препарат _____</p>  <p>Окраска _____</p>

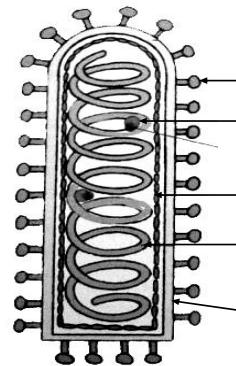
Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 15.

Структура _____ вирусов.



1. Капсид (р24)
2. Нуклеокапсид (р6, 9)
3. Матриксный белок (р17)
4. Обратная транскриптаза (р55, 63)
5. Интеграза (р11)
6. gp120
7. gp41

Структура _____ вирусов.



1. Суперкапсид
2. Нуклеокапсид
3. Гликопротеины
4. РНК-полимераза
5. Матриксный белок

Диагностика бешенства

1. Материалом для исследования служит мозг животного, нанесшего укус, либо человека, погибшего от заболевания. Также можно использовать ткань слюнных желез. Для биологической пробы ткань мозга забирают стерильными инструментами в асептических условиях.

2. Диагностика основывается на обнаружении телец Бабеша-Негри в срезах, мазках-отпечатках или препаратах гомогената мозга, выявлении специфического антигена (РИФ) или биологической пробы (заражении белых мышей в мозг).

а) препараты мозга окрашиваются по Муромцеву (Селлеру, Туровичу и др.). 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.

Выявление телец Бабеша-Негри (размеры и частота) зависит от продолжительности инфекционного процесса (инкубационного периода). При типичном течении бешенства (буиная 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;

б) РИФ проводят путем обработки срезов или мазков-отпечатков антирабической сывороткой, меченой флуоресцеином. При люминесцентной микроскопии нормальная мозговая ткань слабо желтая. Антиген вируса бешенства выявляется в виде зеленых гранул различного размера (от 0,2 до 25 мкм).

в) биопроба может выполняться только в случае отрицательных результатов морфологического исследования в специализированных лабораториях. 10 % гомогенат мозга вводят в мозг 5-6 белым мышам. С 4 дня после заражения забивают по одному животному/день. Вирусы обнаруживают в препаратах мозга методом РИФ.

Занятие № 16

ТЕМА: Методы вирусологической диагностики заболеваний, вызываемых поксвирусами, полиома- и папиллома вирусами. Онкогенные вирусы.

<p>Вопросы для самоподготовки к занятию: Поксвирусы: характеристика и состав семейства. Полиома- и папилломавирусы. Папилломавирусы человека высокого канцерогенного риска. Роль папилломавирусов в этиологии рака шейки матки, принципы профилактики. История развития представлений об этиологии злокачественных опухолей. Вирусная гипотеза канцерогенеза. Понятие «онкогенность вируса». Онкогенные ДНК-геномные вирусы и РНК-геномные вирусы — механизм канцерогенеза.</p>	<p>Источники:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Материал лекции. 2. [1] – (учебник), 3. [3], [4], [5], [6], [7] – (доп. литература). <p>Подпись преподавателя</p>
--	--

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
Решение ситуационных задач.	

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 16.

Вирус	Ассоциированные опухоли
Онкогенные ДНК- вирусы.	
Вирус Эпштейн-Барр	Лимфома Беркитта Лимфома Ходжкина Назофарингеальная карцинома Волосатая лейкоплакия полости рта Первичная лимфома ЦНС у пациентов с иммунодефицитом Рак желудка
Вирус гепатита В	Гепатоцеллюлярная карцинома

Вирус герпеса человека 8	Саркома Капоши
Папилломавирус человека 16 и 18	Плоскоклеточный рак вульвы, влагалища, шейки матки, заднего прохода, полового члена, ротоглотки, гортани
Онкогенные РНК- вирусы.	
HTLV-1	Т-клеточный лейкоз взрослых
Вирус гепатита С	Гепатоцеллюлярная карцинома

Занятие № 17.

ТЕМА: Итоговое занятие по теме: «Общая и частная медицинская вирусология».

Перечень актуальных вопросов к итоговому занятию размещены в ЭУМК, раздел «Информация для студентов», а также на учебном стенде для фармацевтического факультета на кафедре микробиологии, вирусологии, иммунологии.

Литература

Основная:

1. *Микробиология* : учебник для студентов учреждений высш. проф. образования, обучающихся по специальности 060301.65 «Фармация» / под ред. В. В. Зверева, М. Н. Бойченко. Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2020. 616 с.

Дополнительная:

2. *Генералов, И. И. Основы иммунологии* : учебное пособие для студентов учреждений высшего образования по специальностям «Лечебное дело», «Стоматология», «Фармация» / И. И. Генералов, Д. К. Новиков, Н. В. Железняк. Витебск : ВГМУ, 2020. 218 с.
3. *Медицинская вирусология* : учебное пособие для студентов учреждений высшего образования по специальности «Лечебное дело» / И. И. Генералов [и др.]. Витебск : ВГМУ, 2017. 306 с.
4. *Медицинская микробиология, вирусология, иммунология. Общая микробиология* : курс лекций для студентов медицинских университетов / И. И. Генералов [и др.]. Витебск : ВГМУ, 2022. 211 с.
5. *Медицинская микробиология, вирусология, иммунология* : учебник для студентов и аспирантов всех факультетов медицинских вузов / Л. Б. Борисов. Москва : МИА, 2016. 792 с.
6. *Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. Атлас-руководство* : учебное пособие / Под ред. А. С. Быкова, В. В. Зверева. Москва : ММИА, 2018. 416 с.
7. *Основы медицинской вирусологии* : учеб.-метод. пособие / Н. Ф. Казак [и др.]. Минск: БГМУ, 2019. 164 с.
8. *Хайтов, Р. М. Иммунология* : учебник / Р. М. Хайтов. 4-е изд. , перераб. и доп. Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2021. 520 с.
9. *Хайтов, Р. М. Иммунология. Атлас* / Р. М. Хайтов, Ф. Ю. Гариф. Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2020. 416 с.
10. *Общая медицинская микробиология* : учеб.-метод. пособие / Ж. Г. Шабан [и др.]. Минск : БГМУ, 2011. 320 с.

Приложение I

КЛАССИФИКАЦИЯ МИКРОБОВ (ПРОКАРИОТЫ) по Бердже, 2001 (сокращенная) ДОМЕН (Domain) – BACTERIA

ТИП (Phylum)	КЛАСС (Class)	ПОРЯДОК (Order)	СЕМЕЙСТВО (Family)	РОД (Genus)	ВИД (Species)
<i>Proteobacteria</i>	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Rickettsiales</i>	<i>Rickettsiaceae</i>	<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>
		<i>Rhizobiales</i>	<i>Ehrlichiaeae</i>	<i>Ehrlichia</i>	<i>E.chaffeensis, E.sennetsu, E.equulike (E.phagocytophila)</i>
		<i>Burkholderiales</i>	<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 и др.</i>
	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Burkholderiales</i>	<i>Burkholderiaceae</i>	<i>Burkholderia</i>	<i>B.mallei, B.pseudomallei, B.cepacia и др.</i>
			<i>Alcaligenaceae</i>	<i>Alcaligenes</i>	<i>A.faecales и др.</i>
			<i>Bordetellaceae</i>	<i>Bordetella</i>	<i>B.pertussis, B.parapertussis, B.bronchiseptica и др.</i>
		<i>Neisseriales</i>	<i>Neisseriaceae</i>	<i>Neisseria</i>	<i>N.gonorrhoeae, N.meningitidis, N.sicca, N.subflava и др.</i>
			<i>Eikenellaceae</i>	<i>Eikenella</i>	<i>E.corrodens</i>
			<i>Kingellaceae</i>	<i>Kingella</i>	<i>K.ingae и др.</i>
		<i>Nitrozomonadales</i>	<i>Spirillaceae</i>	<i>Spirillum</i>	<i>S.minus и др.</i>
	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Thiotrichales</i>	<i>Francisellaceae</i>	<i>Francisella</i>	<i>F.tularensis</i>
			<i>Legionellales</i>	<i>Legionella</i>	<i>L.pneumophila и др.</i>
		<i>Pseudomonadales</i>	<i>Coxiellaceae</i>	<i>Coxiella</i>	<i>C.burnetii</i>
			<i>Pseudomonadaceae</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>P.aeruginosa и др.</i>
		<i>Vibrionales</i>	<i>Moraxellaceae</i>	<i>Moraxella</i>	<i>Подрод Moraxella (M.lacunata и др.); Подрод Branhamella (B.catarralis и др.)</i>
			<i>Acinetobacter</i>	<i>Acinetobacter</i>	<i>A.calcoaceticus и др.</i>
		<i>Aeromonadales</i>	<i>Vibrionaceae</i>	<i>Vibrio</i>	<i>V.cholerae (биовары: cholerae, eltor), V.parahaemolyticus, V.vulnificus, V.sputorum и др.</i>
		<i>Enterobacteriales</i>	<i>Aeromonadaceae</i>	<i>Aeromonas</i>	<i>A.hydrophilia</i>
			<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>E.cloacae, E.sakazakii, E.agglomerans, E.gergoviae и др.</i>
				<i>Calymmatobacterium</i>	<i>C.granulomatis</i>
				<i>Citrobacter</i>	<i>C.freundii, C.amalonaticus, C.diversus и др.</i>
				<i>Edwardsiella</i>	<i>E.tarda и др.</i>
				<i>Erwinia</i>	<i>E.amylovora и др.</i>
				<i>Escherichia</i>	<i>E.coli, E.ergusonii, E.germannii, 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, и др.</i>
				<i>Providencia</i>	<i>P.alcallifaciens и др.</i>
				<i>Salmonella</i>	<i>2 вида (S.enterica, S.bongori). Вид S.enterica состоит из 6 подвидов (subsp.: arizonaе, diarizonae, enterica, houtenae, indica, salamae). Подвиды включают более 2500 сероваров. Сокращенное название серовара пишется: S.typhi. Основные серовары: S.typhi, S.paratyphi A, S.schottmuelleri, S.enteritidis, S.typhimurium, S.choleraesuis и др.</i>
				<i>Serratia</i>	<i>S.marcescens и др.</i>
				<i>Shigella</i>	<i>S dysenteriae, S.flexneri, S.boydii, S.sonnei</i>
				<i>Yersinia</i>	<i>Y.pestis, Y.enterocolitica, Y.pseudotuberculosis и др.</i>
	<i>Epsilonproteobacteria</i>	<i>Pasteurellales</i>	<i>Pasteurellaceae</i>	<i>Haemophilus</i>	<i>H.influenzae, H.ducreyi и др.</i>
		<i>Campylobacteriales</i>	<i>Campylobacteriaceae</i>	<i>Campylobacter</i>	<i>C.jejuni, C.fetus, C.coli и др.</i>
			<i>Helicobacteriaceae</i>	<i>Helicobacter</i>	<i>H.pylori, H.heilmannii и др.</i>
				<i>Wolinella</i>	<i>W.succinogenes</i>

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

Приложение 2

Классификация и некоторые свойства вирусов человека и животных (ЦАРСТВО VIRA)

Семейство вирусов	Тип нуклеиновой кислоты	Наличие суперкапсида	Размер вириона, нм	Типовые представители
ДНК-ГЕНОМНЫЕ ВИРУСЫ				
<i>Adenoviridae</i>	линейная, двунитчатая	—	70–90	Аденовирусы млекопитающих и птиц
<i>Herpesviridae</i>	линейная, двунитчатая	+	220	Вирусы простого герпеса, цитомегалии, ветряной оспы, инфекционного мононуклеоза
<i>Hepadnaviridae</i>	двунитчатая, кольцевая с одннитчатым участком	+	45–50	Вирус гепатита В
<i>Papovaviridae</i>	двунитчатая, кольцевая	—	45–55	Вирусы папилломы, полиомы
<i>Poxviridae</i>	двунитчатая с замкнутыми концами	+	130–250	Вирус осповакцины, вирус натуральной оспы
<i>Parvoviridae</i>	линейная, однонитчатая	-	18–26	Аденоассоциированный вирус
РНК-ГЕНОМНЫЕ ВИРУСЫ				
<i>Arenaviridae</i>	фрагментированная, однонитчатая	+	50–300	Вирусы Ласса, Мачуло
<i>Bunyaviridae</i>	фрагментированная, однонитчатая, кольцевая	+	90–100	Вирусы геморрагических лихорадок и энцефалитов
<i>Caliciviridae</i>	однонитчатая	—	20–30	Вирус гепатита Е, калицивирусы человека
<i>Coronaviridae</i>	однонитчатая +РНК	+	80–130	Коронавирусы человека
<i>Orthomyxoviridae</i>	однонитчатая, фрагментированная -РНК	+	80–120	Вирусы гриппа
<i>Paramyxoviridae</i>	однонитчатая, линейная -РНК	+	150–300	Вирусы парагриппа, кори, эпидпаротита, РС-вирус
<i>Picornaviridae</i>	однонитчатая +РНК	—	20–30	Вирусы полиомиелита, Коксаки, ЭКХО, гепатита А, Риновирусы
<i>Reoviridae</i>	двунитчатая РНК	—	60–80	Реовирусы, ротавирусы
<i>Retroviridae</i>	однонитчатая РНК	+	80–100	Вирусы рака, лейкоза, саркомы, ВИЧ
<i>Togaviridae</i>	однонитчатая +РНК	+	30–90	Вирусы Синдбис, лошадиных энцефалитов, краснухи
<i>Flaviviridae</i>	однонитчатая +РНК	+	30–90	Вирусы клещевого энцефалита, жёлтой лихорадки, Денге, японского энцефалита, гепатита C, G
<i>Rhabdoviridae</i>	однонитчатая -РНК	+	30–90	Вирус бешенства, вирус везикулярного стоматита
<i>Filoviridae</i>	однонитчатая +РНК	+	200–4000	Вирусы лихорадки Эбола, Марбург

Классификация и некоторые свойства арбовирусов и вирусов с природной очаговостью

Семейство (род)	Геном	Супер- капсид	Форма, размер ви- риона (нм)	Число виру- сов	Типовые представители (основные заболевания)
<i>Arenaviridse</i> <i>(Arenavirus)</i>	фрагментированная, однонитчатая -РНК	+	сфериче- ская, 50–300	12	Вирусы Ласса, Мачуто, Такарибе, ЛХМ (геморрагическая лихорадка Ласса, аргентинская геморрагическая лихорадка, лимфоцитарный хориоменингит)
<i>Bunyaviridae</i> <i>(Bunyavirus)</i> <i>(Phlebovirus)</i> <i>(Nairovirus)</i> <i>(Uukuvirus)</i> <i>(Hantavirus)</i>	фрагментированная, однонитчатая, кольцевая, -РНК	+	сфериче- ская, 90–100	227 124 34 21 6 6	Вирусы геморрагических лихорадок и энцефалитов (калифорнийский энцефалит, лихорадка Буньямвера, Конго-крымская геморрагическая лихорадка, москитная лихорадка, лихорадка Укумиени, геморрагическая лихорадка с почечным синдромом)
<i>Togaviridae</i> <i>(Alfavirus)</i>	однонитчатая +РНК, нефрагментирован- ная	+	сфериче- ская, 30–90	31	Вирусы Синдбис, лошадиных энцефалитов (венесуэльский западный и восточный энцефалит лошадей, геморрагическая лихорадка Чикунгуныя, лихорадка карельская, лихорадка Синдбис, лихорадка О'Нонг-О'Ньонг)
<i>Flaviviridae</i> <i>(Flavivirus)</i>	однонитчатая +РНК, нефрагментирован- ная	+	сфериче- ская, 30–90	63	Вирусы клещевого энцефалита, жёлтой лихорадки, Денге, японского энцефалита, (клещевой энцефалит, японский энцефалит, жёлтая геморрагическая лихорадка, лихлрадка Денге, западно-нильская лихорадка)
<i>Rhabdoviridae</i> <i>(Lyssavirus)</i> <i>(Vesiculivivirus)</i>	однонитчатая -РНК, нефрагментирован- ная	+	пулевид- ная, 130–380, 50–95	60 2 10	Вирус бешенства, вирус везикулярного стоматита (бешенство, везикулярный стоматит)
<i>Reoviridae</i> <i>(Orbivirus)</i>	двунитчатая +РНК, фрагментированная	-	сфериче- ская, 60–80	60	Вирус колорадской клещевой лихорадки
<i>Filoviridae</i>	однонитчатая +РНК, нефрагментирован- ная	+	плеоморф- ная, ните- видная, 200–4000	2	Вирусы лихорадки Эбола, Марбург

КЛАССИФИКАЦИЯ ГРИБОВ

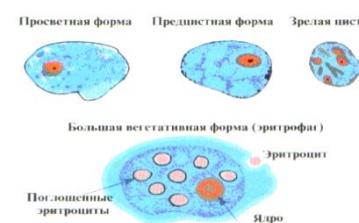
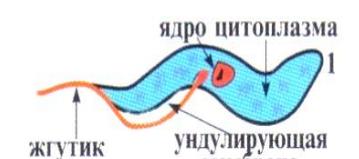
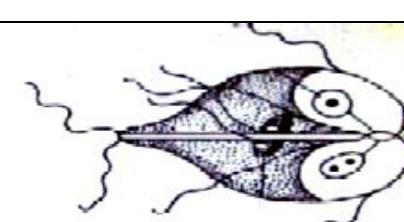
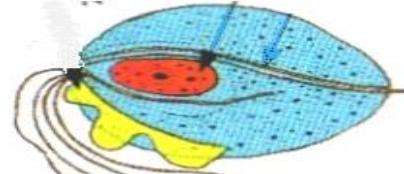
ГРИБЫ относятся к домену — EUKARYA, царству — FUNGI (MYCETES, MYCOTA), включают 6 типов из которых 4 имеют медицинское значение:

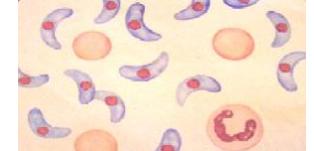
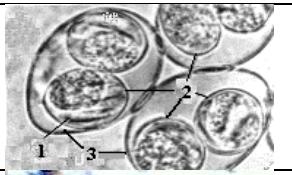
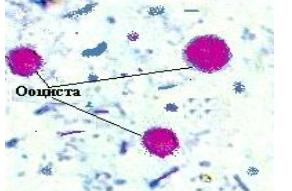
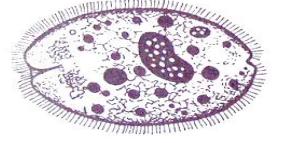
Тип	Класс	Порядок	Основные роды	Болезни людей
<i>Zygomycota</i>	<i>Zygomycetes</i>	<i>Mucorales</i>	<i>Mucor, Rhizopus, Rhizomucor, Absidia, Cunninghamella, Saksenaea</i>	зигомикоз
		<i>Entomophthorales</i>	<i>Basidiobolus, Conidiobolus</i>	
	<i>Ascomycetes</i>	<i>Saccharomycetales</i>	Дрожжи: <i>Saccharomyces, Pichia</i> (телеоморфы <i>Candida spp.</i>)	многочисленные микозы
		<i>Onygenales</i>	<i>Arthroderma</i> (телеоморфы <i>Trichophyton u Microsporum</i>)	дерматомикозы
		<i>Eurotiales</i>	Телеоморфы некоторых <i>Aspergillus u Penicillium spp.</i>	аспергиллез, пенициллиоз, гиалогифомикоз
		<i>Microascas</i>	<i>Pseudallescheria boydii</i> (телеморфа <i>Scedosporum apiospermum</i>)	мицетома, гиалогифомикоз
		<i>Pyrenomycetes</i>	<i>Nectria, Gibberelia</i> (телеморфы многих <i>Fusarium spp.</i>)	кератоз, гиалогифомикоз
	<i>Archiascomycetes</i>	<i>Pneumocystidales</i>	<i>Pneumocystis carinii</i>	пневмония
	<i>Basidiomycetes</i>	<i>Agaricales</i>	<i>Amanita, Agaricus</i>	отравление ядом грибов
		<i>Tremellales</i>	Дрожжи: <i>Filobasidiella</i> (телеоморфы <i>Cryptococcus neoformans</i>)	криптококкоз
<i>Deuteromycota или Mitoспоровые грибы</i>		<i>Cryptococcales</i>	Несовершенные грибы: <i>Candida, Cryptococcus, Trichosporon, Malassezia</i>	многочисленные микозы
		<i>Moniales</i> , семейство <i>Monaliaceae</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 — <i>Chytridiomycota</i>) — водные саприфитные 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 <i>Stramenopila</i> , типу <i>Oomycota</i>).				

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

КЛАССИФИКАЦИЯ ПРОСТЕЙШИХ
Простейшие относятся к домену – EUKARYA, царству – PROTOZOA, подцарство 1. Arhezoa включают 7 типов,
из которых 4 (представлены в таблице) имеют медицинское значение

ТАКСОНЫ	ПРЕДСТАВЛЕНИИ	БОЛЕЗНИ	МОРФОЛОГИЯ
ТИП SARCOMASTIGOTA подтип <i>Sarcodina</i> (саркодовые)	АМЕБЫ <i>Entamoeba histolytica</i>	Амебиаз	
	Неглерии, акантамебы, гарднеллы	Амебный менингоэнцефалит, кератит	
подтип <i>Mastigophora</i> <u>(жгутиконосцы)</u>	ЛЕЙШМАНИИ <i>Leishmania species</i>	Лейшманиозы	
	ТРИПАНОСОМЫ: <i>Trypanosoma gambiense</i> , <i>Trypanosoma rhodesiense</i> , <i>Trypanosoma cruzi</i>	Африканский трипаносомоз (сонная болезнь) Болезнь Шагаса (американский трипаносомоз)	
	ЛЯМБЛИИ: <i>Giardia intestinalis</i> (<i>Giardia lamblia</i>)	Диарея, синдром мальабсорбции (нарушение всасывания)	
	ТРИХОМОНАДЫ: <i>Trichomonas vaginalis</i>	Вагинит, уретрит, простатит	

ТАКСОНЫ	ПРЕДСТАВИТЕЛИ	БОЛЕЗНИ	МОРФОЛОГИЯ
ТИП – APICOMPLEXA класс – <i>Sporozoa</i> (споровики)	ПЛАЗМОДИИ МАЛЯРИИ: <i>Plasmodium vivax</i> <i>Plasmodium ovale</i> <i>Plasmodium malariae</i> <i>Plasmodium falciparum</i>	Трехдневная малярия Трехдневная малярия (овале) Четырехдневная малярия Тропическая малярия	
	ТОКСОПЛАЗМЫ: <i>Toxoplasma gondii</i>	Токсоплазмоз	
	САРКОЦИСТЫ: <i>Sarcocystis species</i>	Саркоцистоз	
	ИЗОСПОРЫ: <i>Isospora species</i>	Диарея	
	КРИПТОСПОРИДИИ: <i>Cryptosporidium species</i>	Диарея	
	ЦИКЛОСПОРЫ: <i>Cyclospora cauetanensis</i> БАБЕЗИИ: <i>Babesia species</i>	Диарея Бабезиоз	
ТИП – CILIOPHORA (ресничатые) класс <i>Kinetofragminophorea</i>	БАЛАНТИДИИ: <i>Balantidium coli</i>	Балантидиазная дизентерия	
ТИП – MICROSPORA класс <i>Microsporea</i>	МИКРОСПОРИДИИ: <i>Encephalitozoon species</i> <i>Enterocytozoon species</i>	Микроспоридиоз	
Микрофаги спорного таксономического положения:	БЛАСТОЦИСТЫ: <i>Blastocystis hominis</i>	Бластоцистоз (диарея)	

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение. Список сокращений	3
Критерии оценки знаний студентов на кафедре микробиологии, вирусологии, иммунологии УО «Белорусский государственный медицинский университет»	4
Методика расчета показателя рейтинговой оценки студента	6
4 семестр	
Занятие № 1. Морфология микроорганизмов. Основные формы бактерий. Бактериоскопический метод исследования. Простые методы окраски.....	7
Занятие № 2. Бактериоскопический метод исследования. Структура бактериальной клетки. Сложные методы окраски. Особенности морфологии и методы изучения спирохет, риккетсий, хламидий, микоплазм.....	10
Занятие № 3. Генетика микроорганизмов. Методы изучения генетики бактерий. Методы молекулярной диагностики.....	15
Занятие № 4. Культуральный (бактериологический) метод исследования. Методы выделения чистых культур бактерий.....	16
Занятие № 5. Культуральный (бактериологический) метод исследования. Методы идентификации чистых культур бактерий. Экология микроорганизмов. Биологический метод исследования.	19
Занятие № 6. Методы изучения нормальной микрофлоры тела человека. Основы учения об инфекции.	23
Занятие № 7. Микробиологические основы химиотерапии бактериальных инфекций. Методы изучения чувствительности микробов к антибиотикам.....	26
Занятие № 8. Противомикробные мероприятия: методы стерилизации и дезинфекции, антисептика, асептика. Фармацевтическая микробиология. Санитарно-бактериологические методы исследования.	29
Занятие № 9. Микробиологическое исследование растительного сырья и готовых лекарственных форм	31
Занятие № 10. Итоговое занятие по разделу «Общая и санитарная микробиология».....	32
Занятие № 11. Иммунология. Иммунная система. Естественный иммунитет.	33
Занятие № 12. Антигены. Антитела.	35
Занятие № 13. Механизмы развития иммунного ответа.	37
Занятие № 14. Иммунодиагностика. Серологические и клеточные реакции	38
Занятие № 15. Методы клинической и инфекционной иммунологии. Аллергия	41

Занятие № 16. Противоинфекционный иммунитет. Иммунопрофилактика и иммунотерапия инфекционных болезней.	
Методы оценки поствакцинального иммунитета	43
Занятие № 17. Иммунный статус организма. Иммунодефицитные состояния. Аутоиммунные болезни.	
Понятие об иммунокоррекции	45
Занятие № 18.итоговое занятие по разделу: «Теоретическая и прикладная иммунология».....	45
5 семестр	
Занятие №1. Методы микробиологической диагностики раневых инфекций и гноино-воспалительных процессов, вызванных стафилококками, стрептококками, синегнойной палочкой	46
Занятие № 2. Методы микробиологической диагностики раневых инфекций и гноино-воспалительных процессов, вызванных протеями, бактероидами, клостридиями столбняка, газовой гангрены	50
Занятие № 3. Методы микробиологической диагностики менингококковых инфекций, коклюша, дифтерии	52
Занятие № 4. Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызванных патогенными микобактериями, гемоглобинофильными (гемофильными) бактериями, клебсиеллами, нокардиями, актиномицетами.....	55
Занятие № 5. Методы микробиологической диагностики бактериальных кишечных инфекций, вызванных эшерихиями, шигеллами, сальмонеллами.	57
Занятие № 6. Методы микробиологической диагностики бактериальных кишечных инфекций, вызванных холерными вибрионами, иерсиниями, клостридиями ботулизма, кампилобактериями, хеликобактериями, листериями	61
Занятие № 7. Методы микробиологической диагностики заболеваний, заболеваний, передающихся половым путем	62
Занятие № 8. Методы микробиологической диагностики бактериальных зоонозных инфекций, вызванных возбудителями туляремии, бруцеллами, иерсиниями чумы, бациллами сибирской язвы, лептоспираторами	65
Занятие № 9. Методы микробиологической диагностики трансмиссивных инфекций, вызванных боррелиями, риккетсиями. Основы медицинской микологии и протозоологии	67
Занятие № 10. Итоговое занятие: «Частная бактериология».....	69
Занятие № 11. Методы вирусологических исследований. Бактериофаги.....	70
Занятие №12. Методы вирусологической диагностики заболеваний, вызываемых ортомиксовирусами, парамиксовирусами, коронавирусами, рубивирусами, аденоизировусами, парвовирусами.....	73
Занятие № 13. Методы вирусологической диагностики заболеваний, вызываемых герпесвирусами. тогавирусами, флавивирусами, буньявирусами, аренавирусами, филовирусами.	76

Занятие № 14. Методы вирусологической диагностики заболеваний, вызываемых пикорнавирусами, реовирусами, норавирусами, вирусами гепатита А, гепатита Е, гепатита В, гепатита С.....	78
Занятие № 15. Методы вирусологической диагностики заболеваний, вызываемых ретровирусами, рабдovиrusами. Эtiология медленных инфекций. Прионы и прионовые болезни.	84
Занятие № 16. Методы вирусологической диагностики заболеваний, вызываемых поксвирусами, полиома- и папиллома вирусами. Онкогенные вирусы.	86
Занятие № 17. Итоговое занятие по теме: «Общая и частная медицинская вирусология».....	87
Литература	88
Приложение 1. Классификация микробов (прокариоты) по Берджи	89
Приложение 2. Классификация и некоторые свойства вирусов человека и животных (царство Vira)	91
Классификация и некоторые свойства арбовирусов и вирусов с природной очаговостью	92
Приложение 3. Классификация грибов.....	93
Клиническая классификация микозов.....	94
Приложение 4. Классификация простейших.....	94

Учебное издание

**Канашкова Татьяна Александровна
Адамович Татьяна Григорьевна
Антипенко Владислав Петрович и др.**

МИКРОБИОЛОГИЯ, ВИРУСОЛОГИЯ, ИММУНОЛОГИЯ

Практикум для фармацевтического факультета

Ответственная за выпуск Т. А. Канашкова
Компьютерный набор Т. Г. Адамович
Компьютерная вёрстка А. В. Янушкевич

Подписано в печать 18.01.23. Формат 60×84/8. Бумага «Svetocopy». Ризография. Гарнитура «Times».
Усл. печ. л. 11,62. Уч.-изд. л. 4,82. Тираж 105 экз. Заказ 68.

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.