

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

# МЕДИЦИНСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ, ВИРУСОЛОГИЯ, ИММУНОЛОГИЯ

Практикум

*2-е издание, переработанное и дополненное*



Минск БГМУ 2009

УДК 616–093/–098 (076.5)

ББК 52.64 я 73

М 42

Рекомендовано Научно-методическим советом университета в качестве практикума 17.12.2008 г., протокол № 4

**А в т о р ы:** канд. мед. наук, доц. Т. А. Канашкова (зан. 1–27, 29–52); канд. мед. наук, доц. В. А. Горбунов (зан. 1–10, 19, 20, 31–46, 48, 51, 52); канд. мед. наук доц. Д. А. Черношей (зан. 12–17, 19–27); канд. мед. наук, доц. Л. И. Каскевич (зан. 1–6, 13, 31–33, 38, 46–48, 51, 52)

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

**Медицинская микробиология, вирусология, иммунология : практикум / Т. А. Канашкова [и др.]. 2-е изд., перераб. и доп. – Минск : М 42 БГМУ, 2009. – 130 с.**

Отражены вопросы общей и частной медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии. Даны алгоритмы, схемы, некоторые справочные сведения, методики выполнения лабораторных работ на кафедре микробиологии, вирусологии, иммунологии. Во втором издании (1-е вышло в 2008 г.) увеличено число лабораторных занятий с 51 до 52 (занятие № 5 разделено на 2) и добавлен рисунок на с. 13.

Предназначено для студентов медико-профилактического факультета.

УДК 616–093/–098 (076.5)

ББК 52.64 я 73

© Оформление. Белорусский государственный  
медицинский университет, 2009

## Введение

Уважаемые студенты!

Практикум «Медицинская микробиология, вирусология, иммунология» для лабораторных занятий на кафедре микробиологии, вирусологии, иммунологии БГМУ поможет в освоении этой важной для практического врача дисциплины.

Каждое занятие в практикуме состоит из трех частей: первая часть включает перечень изучаемых вопросов, вторая – предназначена для выполнения лабораторной работы во время занятий и подписывается преподавателем, третья – содержит дополнительную теоретическую информацию и задания для самостоятельной работы при подготовке к занятию. Для каждого занятия указаны ссылки на источники основной и дополнительной литературы для самоподготовки (см. Литература).

Авторы выражают благодарность доцентам Н. Ф. Казак, И. А. Крылову, В. А. Молочко, ст. преподавателям Е. Ю. Кирильчик, В. В. Слипень, Ж. Г. Шабан, ассистенту Т. Г. Адамович за ценные замечания и предложения по содержанию отдельных разделов практикума.

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

*Коллектив авторов*

### Список сокращений:

<b>АПК</b>	- Антигенпрезентирующие клетки	<b>ЛПС</b>	- Липополисахарид
<b>АТ</b>	- Антитела	<b>МИК (МПК)</b>	- Минимальная ингибирующая (подавляющая) концентрация
<b>АТФ</b>	- Аденозинтрифосфорная кислота	<b>МПА</b>	- Мясопептонный агар
<b>ВБИ</b>	- Внутрибольничная инфекция	<b>МПБ</b>	- Мясопептонный бульон
<b>ВИЧ</b>	- Вирус иммунодефицита человека	<b>ПЗФ</b>	- Показатель завершенности фагоцитоза
<b>ВОЗ</b>	- Всемирная организация здравоохранения	<b>ПЦР</b>	- Полимеразная цепная реакция
<b>ГКГС</b>	- Главный комплекс гистосовместимости	<b>РГА</b>	- Реакция гемагглютинации
<b>ГСИ</b>	- Гнойно-септическая инфекция	<b>РИФ</b>	- Реакция иммуофлюоресценции
<b>ДНК</b>	- Дезоксирибонуклеиновая кислота	<b>РН</b>	- Реакция нейтрализации
<b>ЕК</b>	- Естественные киллеры	<b>РНГА (РПГА)</b>	- Реакция непрямой (пассивной) гемагглютинации
<b>ЖКТ</b>	- Желудочно-кишечный тракт	<b>РНК</b>	- Рибонуклеиновая кислота
<b>ЖСА</b>	- Желточно-солевой агар	<b>РОК</b>	- Розеткообразующие клетки
<b>ИЛ</b>	- Интерлейкин	<b>РСК</b>	- Реакция связывания комплемента
<b>ИФА</b>	- Иммуноферментный анализ	<b>РТГА</b>	- Реакция торможения гемагглютинации
<b>ИФН</b>	- Интерферон	<b>РТГА<sub>дс</sub></b>	- Реакция торможения гемадсорбции
<b>КАР</b>	- Киллинг-активирующие рецепторы	<b>ТКР</b>	- Т-клеточный рецептор
<b>КИО</b>	- Клеточный иммунный ответ	<b>УПМ</b>	- Условно-патогенный микроорганизм
<b>КОЕ</b>	- Колониеобразующая единица	<b>ФНО</b>	- Фактор некроза опухолей
<b>КУА</b>	- Казеиново-угольный агар	<b>ФП</b>	- Фагоцитарный показатель
<b>КЦЖХ</b>	- Короткоцепочечные жирные кислоты	<b>ФЧ</b>	- Фагоцитарное число
<b>ЛБТА</b>	- Лактозобромтимоловый агар	<b>ЦПД</b>	- Цитопатическое действие
<b>ЛП</b>	- Липопротеин		

## Занятие № 1.

### Тема: Методы исследования в микробиологии. Бактериоскопический метод исследования. Характеристика основных форм бактерий. Простые методы окраски.

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Микробиология, основные этапы развития. Задачи медицинской микробиологии. История кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии БГМУ, основные направления работы.</p> <p>Устройство микробиологической лаборатории, режим работы в ней. Правила работы с заразным материалом и культурами микроорганизмов. Правила работы со спиртовками, электрическими и газовыми приборами.</p> <p>Основные принципы систематики микроорганизмов. Таксономические группы.</p> <p>Основные морфологические формы бактерий. Характеристика шаровидных, палочковидных и извитых форм бактерий.</p> <p>Микроскопический (бактериоскопический) метод исследования, задачи, этапы, оценка. Техника приготовления фиксированных препаратов из культур бактерий и окраска их простыми методами. Техника световой иммерсионной микроскопии.</p>	<p><b>Источники:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Материал лекции.</li> <li>2. [1], [4], [5], [8] – (учебники),</li> <li>3. [2], [7] – (практикумы),</li> <li>4. [9], [11], [15], [16], [17] – (доп. литература).</li> </ol>
---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

#### Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты	
<p>1. Приготовить препарат из агаровой культуры кишечной палочки (<i>Escherichia coli</i>), окрасить метиленовым синим, микроскопировать, зарисовать.</p> <p>2. Приготовить препарат из бульонной культуры стафилококка (<i>Staphylococcus spp.</i>), окрасить водным фуксином, микроскопировать, зарисовать.</p>	<p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>	<p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>
<p><b>Зарисовать демонстрационные препараты:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. <i>Streptococcus spp.</i>, чистая культура, окраска генцианвиолетом.</li> <li>2. <i>Vibrio spp.</i>, чистая культура, окраска водным фуксином.</li> <li>3. <i>Bacillus spp.</i>, чистая культура, окраска генцианвиолетом.</li> </ol>	<p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>	<p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>
	<p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>	

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

## 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 горящим 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).

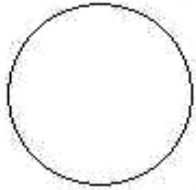
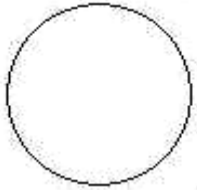
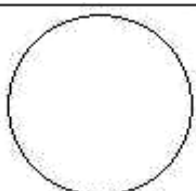
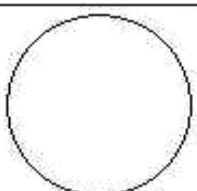


## Занятие № 2.

### Тема: Бактериоскопический метод исследования. Структура бактериальной клетки. Сложные методы окраски.

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Отличия прокариотов от эукариотов. Структура бактериальной клетки. Поверхностные образования. Клеточная стенка бактерий: структура, функции, методы выявления. Грамположительные и грамотрицательные бактерии. Техника и механизм окраски по Граму.</p> <p>Формы бактерий с дефектами клеточной стенки (протопласты, сферопласты, L-формы). Причины образования, значение.</p> <p>Структура и функции капсулы, жгутиков, фимбрий. Методы выявления. Выявление капсулы методом Бурри-Гинса.</p>	<p><b>Источники:</b></p> <ol style="list-style-type: none"><li>1. Материал лекции,</li><li>2. [1], [4], [5], [8] – (учебники),</li><li>3. [2], [7] – (практикумы),</li><li>4. [9], [11], [15], [16], [17] – (доп. литература).</li></ol>
---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------









#### Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты	
<p>1. Приготовить препарат из смеси грамположительных и грамотрицательных бактерий, окрасить по Граму, микроскопировать, зарисовать.</p> <p>2. Приготовить препарат из капсульной культуры, окрасить по Бурри-Гинсу, микроскопировать, зарисовать.</p>	<p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p> 	<p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p> 
<p><b>Зарисовать демонстрационные препараты:</b></p> <ol style="list-style-type: none"><li>1. Сферопласты клебсиелл (<i>Klebsiella spp.</i>)</li><li>2. Клеточная стенка бактерий</li></ol>	<p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p> 	<p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p> 

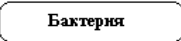
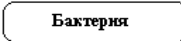
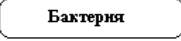
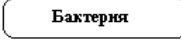
Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 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				
Грампотрицательные				

Нарисуйте варианты расположения жгутиков бактерий:

<i>монотрих</i>	<i>лофотрих</i>
	
<i>амфитрих</i>	<i>перитрих</i>
	

РЕПОЗИТОРИЙ



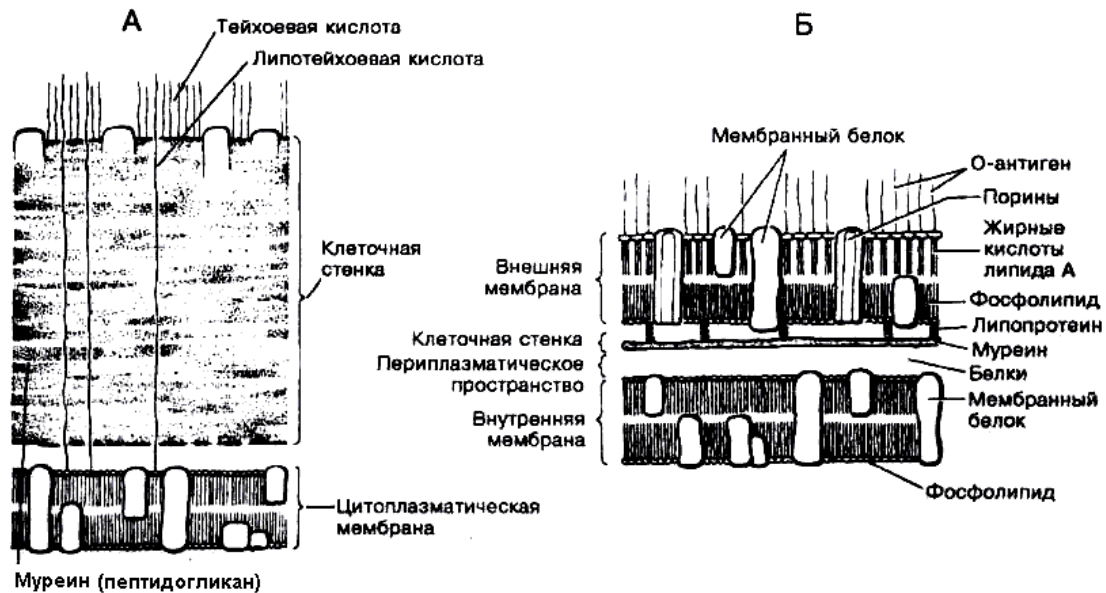


Рис. 2. Клеточная стенка грамположительных (А) и грамотрицательных (Б) бактерий [16].

Особенности строения клеточной стенки грамположительных и грамотрицательных бактерий

Компоненты клеточной стенки	Грамположительные бактерии	Грамотрицательные бактерии
Пептидогликан		
Тейховые к-ты		
Липополисахариды		
Полисахариды		
Белки		
Липиды		

Обозначения: (-) — отсутствуют, (+) — присутствуют, (±) — присутствуют не у всех видов.

Поверхностные образования	Строение	Функции	Методы выявления
Капсула			
Клеточная стенка			
Жгуты			
Фимбрии (пили)			

Окраска по Граму. Для дифференциации бактерий по структуре клеточной стенки.

- На фиксированный препарат наносят р-р генцианвиолета через фильтровальную бумагу – 1-2 мин.;
- Бумагу снимают, наносят раствор Люголя – 1 мин.;
- Р-р Люголя сливают, наносят 96% этанол – 30 сек.;
- Препарат промывают водой, окрашивают р-ром водного фуксина – 3-5 мин.
- Промывают водой, высушивают фильтровальной бумагой, наносят каплю иммерсионного масла, микроскопируют.

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.

Некоторые виды бактерий окрашиваются грамвариабельно.

Окраска по Бурри-Гинсу. Для выявления капсул.

- Смешивают каплю взвеси микроба с каплей туши и при помощи стекла со шлифованным краем готовят препарат так же, как и мазок крови;
- Препарат высушивают и фиксируют в пламени;
- На остывшее стекло наливают водный фуксин на 3-5 минут, промывают водой, высушивают на воздухе, наносят иммерсионное масло, микроскопируют.

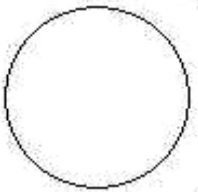
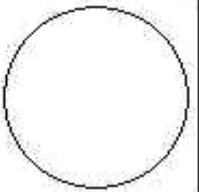
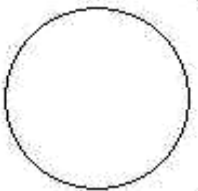
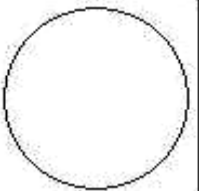
Бактерии окрашиваются в красный цвет, а неокрашенные капсулы контрастно выделяются на черно-розовом фоне.

### Занятие № 3.

#### Тема: Бактериоскопический метод исследования. Структура бактериальной клетки. Сложные методы окраски.




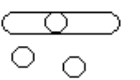
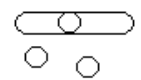
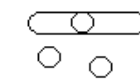
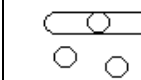
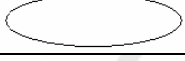
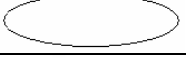
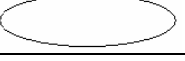
<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Цитоплазматическая мембрана, строение, функции. Структура цитоплазматических образований бактериальных клеток (нуклеоид, мезосома, рибосомы, плазмиды, включения). Методы выявления нуклеоида, волютиновых зерен. Окраска по Нейссеру и Леффлеру.</p> <p>Кислотоустойчивость бактерий. Техника и механизм окраски по Цилю-Нильсену.</p> <p>Покоящиеся формы микроорганизмов. Споры бактерий, значение, стадии спорообразования. Методы выявления спор, окрашивание по методу Ожешко.</p>	<p><b>Источники:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Материал лекции.</li> <li>2. [1], [4], [5], [8] – (учебники),</li> <li>3. [2], [7] – (практикумы),</li> <li>4. [9], [11], [15], [16], [17] – (доп. литература).</li> </ol>
---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

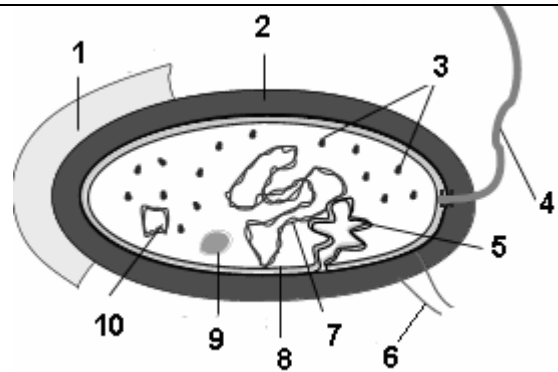
#### Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты	
1. Приготовить препарат из смеси кислотоустойчивых и некислотоустойчивых бактерий, окрасить по Цилю-Нильсену, микроскопировать, зарисовать.	<p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p> 	<p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p> 
<p><b>Зарисовать демонстрационные препараты:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Зерна волютина <i>Corynebacterium diphtheriae</i>. Окраска по Нейссеру, Леффлеру.</li> <li>2. Споры <i>Bacillus anthracis</i>. Окраска по Ожешко.</li> </ol>	<p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p> 	<p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p> 

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

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

В какие цвета окрашиваются бактерии по этапам проведения окраски по методу Циля-Нильсена? <i>Раскрасьте таблицу.</i>				В какие цвета окрашиваются спора и вегетативная часть бактерии по этапам проведения окраски по методу Ожешко? <i>Раскрасьте таблицу.</i>				
Бактерии	После окрашивания фуксином Циля	После обработки серной кислотой	После окрашивания метиленовым синим	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
Кислотоустойчивые								
Некислотоустойчивые								



Укажите названия структур

- 1.
- 2.
- 3.
- 4.
- 5.
- 6.
- 7.
- 8.
- 9.
- 10.

Рис. 3. Принципиальная схема строения гетеротрофной прокариотической клетки [16].

**Структура, функции и методы выявления цитоплазматических образований бактериальной клетки**

Образования	Строение	Функции
ЦПМ		
Нуклеоид		
Плазмиды		
Мезосомы		
Рибосомы		
Включения		

**Окраска по Цилю-Нильсену.**

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.

Кислотоустойчивые бактерии окрашиваются в рубиново-красный цвет, а кислотоподатливые - в синий.

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.

**Окраска по Леффлеру.** Для выявления зерен волютина.

1. На фиксированный мазок наносят метиленовый синий щелочной р-р – 5 мин. промывают водой;
2. Высушивают фильтровальной бумагой, наносят иммерсионное масло, микроскопируют.

Механизм окраски. Зерна волютина по химической природе – это полифосфаты, они являются запасом питательных и энергетических веществ. Характерная особенность волютина – способность к метакромазии, то есть к окраске в иной цвет, чем краситель. Протоплазма окрашивается в голубой, зерна волютина – в фиолетово-красный цвет.

Споры бактерий можно обнаружить в клетках специальной окраской по методу Ожешко или с помощью фазово-контрастной микроскопии. Примеры спорообразующих бактерий: *Bacillus anthracis*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium tetani*, *Clostridium botulinum*.

**Окраска по Ожешко.** Для выявления спор.

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

Механизм окраски. При обычных способах окраски споры не прокрашиваются, оставаясь бесцветными внутри окрасившихся вегетативных клеток. Поэтому для размягчения оболочки, или «протравливания», их обрабатывают 0,5% раствором серной кислоты. Затем препарат окрашивают по методу Циля-Нильсена. При микроскопии: споры (кислотоустойчивы) - рубиново-красного цвета, вегетативные клетки - синего.

**Окраска по Нейссеру.** Для выявления зерен волютина.

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.

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.

## Занятие № 4.

### Тема: Бактериоскопический метод исследования. Морфология спирохет, актиномицетов, риккетсий, хламидий, микоплазм.

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Систематическое положение и морфология спирохет. Методы изучения морфологии. Окраска по Романовскому-Гимзе. Систематическое положение и морфология актиномицетов. Систематическое положение и морфология риккетсий, методы изучения. Систематическое положение и морфология хламидий, формы существования, методы изучения. Систематическое положение и морфология микоплазм, методы изучения.</p> <p>Методы исследования активной подвижности микробов. Приготовление препаратов «раздавленная» и «висячая капля». Темнопольная микроскопия. Устройство и ход лучей в темнопольном микроскопе. Фазово-контрастная микроскопия. Люминесцентная микроскопия.</p>	<p><b>Источники:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Материал лекции.</li> <li>2. [1], [4], [5], [8] – (учебники),</li> <li>3. [2], [7] – (практикумы),</li> <li>4. [9], [11], [15], [16], [17] – (доп. литература).</li> </ol>
--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

#### Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты										
<p>1. Приготовить препарат из взвеси <i>Rickettsia spp.</i> окрасить водным р-ром фуксина, микроскопировать, зарисовать.</p> <p>2. Приготовить препарат «раздавленная капля» из взвеси подвижных бактерий, микроскопировать в нативном состоянии.</p>	<table border="1" style="margin: auto; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="padding: 5px;"> <b>Препарат</b> _____                      _____  <b>Окраска</b> _____                      _____                 </td> <td style="text-align: center; width: 80px;"> </td> </tr> </table>			<b>Препарат</b> _____ _____ <b>Окраска</b> _____ _____							
<b>Препарат</b> _____ _____ <b>Окраска</b> _____ _____											
<p><b>Зарисовать демонстрационные препараты:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Treponema denticola</i> в зубном налёте, окраска по Граму.</li> <li>• <i>Leptospira spp.</i> в темном поле.</li> <li>• <i>Borrelia recurrentis</i> в крови больного возвратным тифом, окраска по Романовскому-Гимзе.</li> <li>• Цитоплазматические включения <i>Chlamydia spp.</i>, окраска по Романовскому-Гимзе.</li> <li>• <i>Actinomyces spp.</i>, чистая культура, окраска по Граму.</li> <li>• <i>Escherichia coli</i> в люминесцентном микроскопе, окраска акридиновым оранжевым.</li> </ul> <p>4. Техника приготовления препарата «висячая капля».</p>	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="padding: 5px;"> <b>Препарат</b> _____                      _____  <b>Окраска</b> _____                      _____                 </td> <td style="text-align: center; width: 80px;"> </td> </tr> </table>	<b>Препарат</b> _____ _____ <b>Окраска</b> _____ _____		<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="padding: 5px;"> <b>Препарат</b> _____                      _____  <b>Окраска</b> _____                      _____                 </td> <td style="text-align: center; width: 80px;"> </td> </tr> </table>	<b>Препарат</b> _____ _____ <b>Окраска</b> _____ _____		<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="padding: 5px;"> <b>Препарат</b> _____                      _____  <b>Окраска</b> _____                      _____                 </td> <td style="text-align: center; width: 80px;"> </td> </tr> </table>	<b>Препарат</b> _____ _____ <b>Окраска</b> _____ _____			
<b>Препарат</b> _____ _____ <b>Окраска</b> _____ _____											
<b>Препарат</b> _____ _____ <b>Окраска</b> _____ _____											
<b>Препарат</b> _____ _____ <b>Окраска</b> _____ _____											
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="padding: 5px;"> <b>Препарат</b> _____                      _____  <b>Окраска</b> _____                      _____                 </td> <td style="text-align: center; width: 80px;"> </td> </tr> </table>	<b>Препарат</b> _____ _____ <b>Окраска</b> _____ _____		<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="padding: 5px;"> <b>Препарат</b> _____                      _____  <b>Окраска</b> _____                      _____                 </td> <td style="text-align: center; width: 80px;"> </td> </tr> </table>	<b>Препарат</b> _____ _____ <b>Окраска</b> _____ _____		<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="padding: 5px;"> <b>Препарат</b> _____                      _____  <b>Окраска</b> _____                      _____                 </td> <td style="text-align: center; width: 80px;"> </td> </tr> </table>	<b>Препарат</b> _____ _____ <b>Окраска</b> _____ _____		<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="padding: 5px;"> <b>Препарат</b> _____                      _____  <b>Окраска</b> _____                      _____                 </td> <td style="text-align: center; width: 80px;"> </td> </tr> </table>	<b>Препарат</b> _____ _____ <b>Окраска</b> _____ _____	
<b>Препарат</b> _____ _____ <b>Окраска</b> _____ _____											
<b>Препарат</b> _____ _____ <b>Окраска</b> _____ _____											
<b>Препарат</b> _____ _____ <b>Окраска</b> _____ _____											
<b>Препарат</b> _____ _____ <b>Окраска</b> _____ _____											

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

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

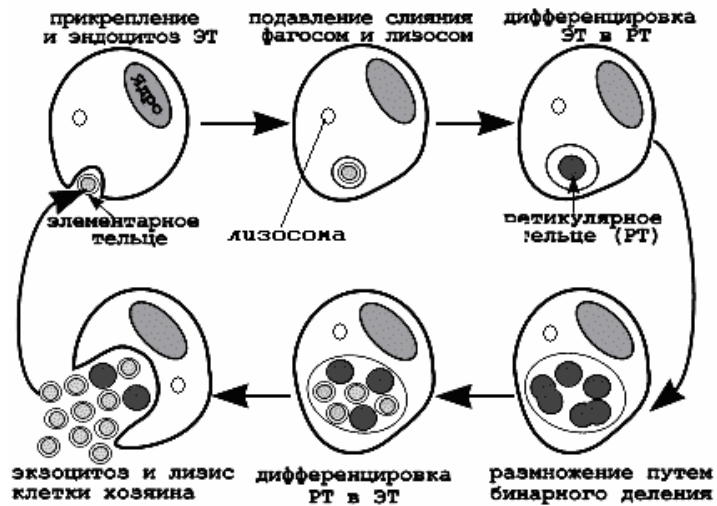
Репозиторий БГМУ

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

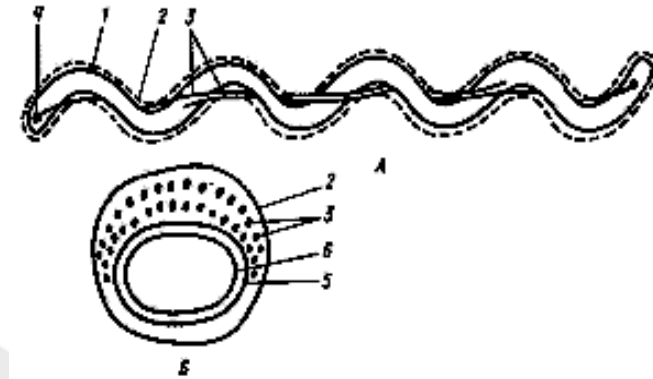
**Механизм окраски.** Краситель состоит из эозина, метиленового синего и азура, растворённых в метаноле или в смеси метанола с глицерином. Окрашивает ацидофильные образования в различные оттенки красного цвета, базофильные — в цвета от пурпурного до синего.

**Дифференциация спирохет (заполните таблицу)**

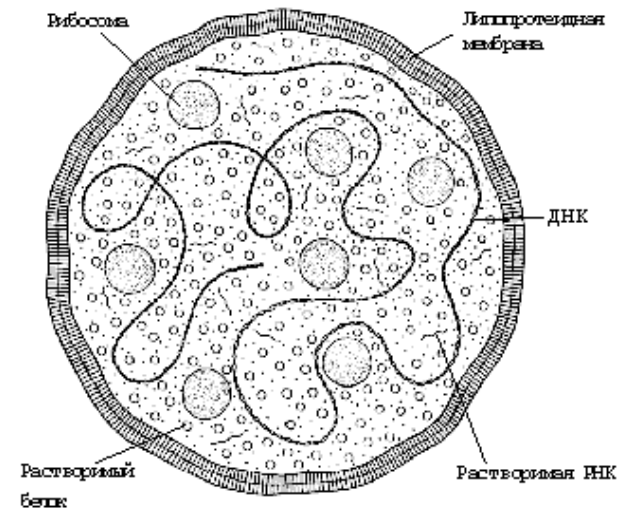
Признак	<i>Treponema spp.</i>	<i>Borrelia spp.</i>	<i>Leptospira spp.</i>
Число завитков			
Характер завитков			
Основные типы движений			
Окрашивание по Романовскому-Гимзе			
Окрашивание по Граму			



**Рис. 4. Репликативный цикл хламидий.**



**Рис. 5. 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.



**Рис. 6. Структура клетки микоплазмы**

## Занятие № 5.

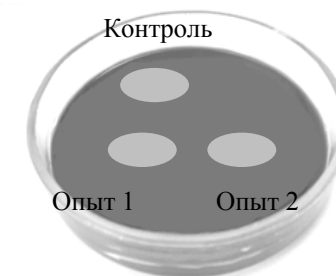
### Тема: Противомикробные мероприятия.

#### Методы стерилизации и дезинфекции. Асептика, антисептика.

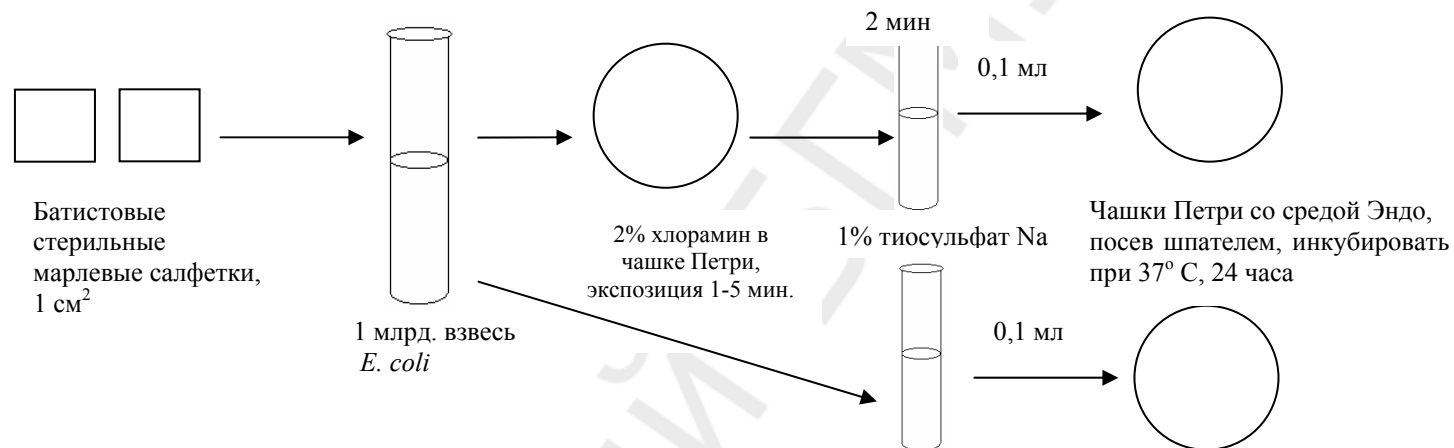
<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Определение понятий асептики, стерилизации, дезинфекции, антисептики. Термические, механические, химические и др. методы стерилизации. Отличия стерилизации от дезинфекции. Виды дезинфектантов. Механизмы действия на микробы. Антисептические средства, происхождение, свойства, группы, механизмы действия на микробы. Типы антисептики. Методы контроля эффективности стерилизации, дезинфекции, антисептики. Понятие о противомикробном режиме в лечебно-профилактических учреждениях.</p>	<p><b>Источники:</b></p> <ol style="list-style-type: none"><li>1. Материал лекции.</li><li>2. [1], [4], [5], [8] – (учебники),</li><li>3. [2], [7] – (практикумы),</li><li>4. [9], [11], [15], [16], [17] – (доп. литература).</li></ol>
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

#### Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
<p>1. Поставить опыт по антисептической обработке кожи рук.</p>	<p><b>Опыт по антисептике:</b></p> <ol style="list-style-type: none"><li>1. Отпечаток кожи без обработки (контроль);</li><li>2. Мытье водой с мылом – отпечаток (опыт 1);</li><li>3. Обработка антисептиком (1% раствор йодопирона) – 2 мин;</li><li>4. Обработка нейтрализатором (1% раствор тиосульфата натрия) – 2 мин;</li><li>5. Отпечаток (опыт 2).</li></ol> <p>Среда с посевом помещается в термостат на 24 - 48 ч., 37°C.</p> <p><b>Учет опыта по антисептике:</b></p> <ol style="list-style-type: none"><li>1. Количество колоний бактерий на контрольном отпечатке _____;</li><li>2. Количество колоний бактерий на отпечатке «опыт 1» _____;</li><li>3. Количество колоний бактерий на отпечатке «опыт 2» _____.</li></ol> <p><b>Закключение:</b> _____</p>



2. Поставить опыт по дезинфекции.



Заключение: \_\_\_\_\_

**Демонстрация.**

1. Аппаратура для стерилизации, растворы для дезинфекции, антисептики.

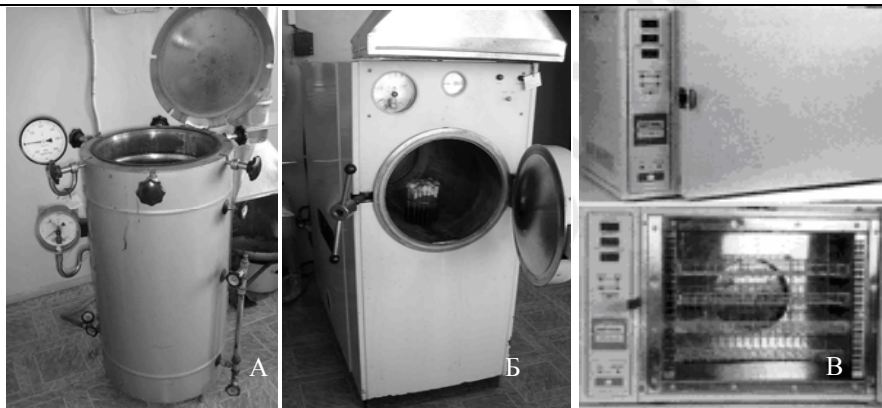


Рис. 7. Стерилизаторы: паровые (автоклавы) ВК-75 (А) и ГК-100 3М (Б), суховоздушный - вид снаружи и внутри (В).

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 5.



**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**.

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

**Дезинфекция** – 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 микробоносителей здоровым людям.

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

**Впишите в таблицу возможные способы стерилизации указанных объектов**

<b>Стерилизуемые объекты</b>	<b>Способы стерилизации</b>	
Бактериологические петли		
Перевязочный материал (марля, вата, бинт)		
Резиновые, пластиковые изделия		
Стеклянные изделия		
Основные питательные среды (МПА, МПБ)		
Питательные среды, содержащие нативный белок		
Воздух (в операционных)		
Растворы, содержащие вещества, инактивирующиеся при температуре свыше 60° С		

## Занятие № 6.

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

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Особенности обмена веществ у микроорганизмов. Питание микробов. Источники углерода, азота, ростовых факторов и микроэлементов. Способы питания. Способы проникновения питательных веществ через мембрану. Дыхательный аппарат бактерий. Пути биологического окисления. Классификация микробов по типу дыхания.</p> <p>Методы культивирования бактерий. Питательные среды, общая характеристика и классификация. Принципы приготовления. Требования, предъявляемые к питательным средам. Условия выращивания микробов. Термостат.</p> <p>Культуральный (бактериологический) метод исследования, задачи, этапы, оценка. Методы и схема выделения чистых культур аэробных и анаэробных бактерий. Характеристика колоний микроорганизмов.</p> <p>Методы и аппаратура для создания анаэробноза.</p>	<p><b>Источники:</b></p> <p>5. Материал лекции.</p> <p>6. [1], [4], [5], [8] – (учебники),</p> <p>7. [2], [7] – (практикумы),</p> <p>8. [9], [11], [15], [16], [17] – (доп. литература).</p>
---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

#### Лабораторная работа

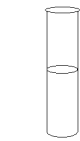
Задание	Методы, результаты
---------	--------------------

1. 2-й этап бактериологического исследования (выделение чистой культуры аэробов):

- охарактеризовать колонии,
- определить морфологию и чистоту культуры,
- произвести посев грамотрицательных бактерий для накопления биомассы чистой культуры.

2. Учет опыта по антисептике (см. занятие № 5).

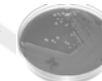
3. Учет опыта по дезинфекции (см. занятие № 5).



Материал

**I этап бактериологического исследования:**

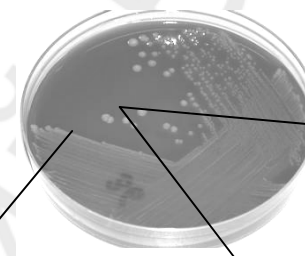
Взятие материала, доставка в лабораторию, микроскопия, посев



Инкубация, 24 ч., 37°C

**II этап бактериологического исследования (выделение чистой культуры):**

Признак	Колония №1	Колония №2
Форма		
Размер		
Поверхность		
Край		
Цвет		
Консистенция		
Прозрачность		



МПА



МПА  
(среда накопления)  
инкубация 24 ч., 37°C

Препарат \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Окраска \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Препарат \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Окраска \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**Демонстрация.**

1. Различные виды питательных сред.
2. Различные виды биоматериалов.
3. Аппаратура для стерилизации, растворы для дезинфекции, антисептики.
4. Различные виды питательных сред.
5. Техника посева на чашку Петри с МПА и на среды накопления.
6. Различные типы колоний.
7. Анаэростат.



Рис. 8. Анаэростаты.

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

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

**Классификация питательных сред**

**А) 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;

**Б) 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 рН 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.).

**В) По консистенции:**

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

**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 микроба (например, протей);
- г) разобщение на основе различий в размерах микроорганизмов. Для этого смесь микроорганизмов фильтруют через микро- и миллипористые фильтры. Чистые

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), посевают культуру 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.

культуры получают, как правило, в фильтрах. Этот метод используют для получения чистых культур вирусов и микоплазм.

**2. Метод заражения чувствительных лабораторных животных (биологический)** основан на избирательной чувствительности организма животного к микробам различных видов, что выражается в 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°C, 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.

## Занятие № 7.

### Тема: Культуральный (бактериологический) метод исследования. Методы идентификации чистых культур бактерий.

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Идентификация микробов, её принципы и методы. Вид у микробов, критерии вида.</p> <p>Биохимические свойства микробов и методы их изучения. Ферменты микробов, их значение для идентификации:</p> <p>а) протеолитические (протеазы, пептидазы, дезаминазы, декарбоксилазы, цистиназа, триптофаназа, уреазы);</p> <p>б) сахаролитические (карбогидраза, амилаза);</p> <p>в) липолитические (липаза, лецитиназа)</p> <p>г) окислительно-восстановительные (дегидрогеназы, оксидазы, каталаза);</p> <p>д) гемолизины. Альфа-, бета-, гамма-гемолиз.</p> <p>Автоматические микробиологические анализаторы, принципы работы.</p>	<p><b>Источники:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Материал лекции.</li> <li>2. [1], [4], [5], [8] – (учебники),</li> <li>3. [2], [7] – (практикумы),</li> <li>4. [9], [11], [15], [16], [17] – (доп. литература).</li> </ol>
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Лабораторная работа	Методы, результаты
<p style="text-align: center;"><b>Задание</b></p> <p>1. Учет опыта по антисептике (см. занятие № 5)</p> <p>2. Третий этап выделения чистых культур аэробов (идентификация культуры):</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• определить морфологию и провести контроль чистоты культуры бактерий на МПА,</li> <li>• осуществить посев на среду Клиглера, на среды с сахарозой, мальтозой, маннитом, поставить пробы на индол и на подвижность.</li> </ul> <p><b>Демонстрация.</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Среды Гисса с различными индикаторами, жидкие и полужидкие.</li> <li>2. Гемолиз, лецитиназная и оксидазная активность.</li> <li>3. Тест-системы для идентификации микроорганизмов.</li> </ol>	<div style="display: flex; justify-content: space-around; margin-top: 10px;"> <div style="text-align: center;"> <p>МПА</p> <p>Лактоза Глюкоза H<sub>2</sub>S</p> <p>среда Клиглера</p> </div> <div style="text-align: center;"> <p>МПБ с трипто- фаном (индол)</p> </div> <div style="text-align: center;"> <p>МПА п/ж (подвиж- ность)</p> </div> <div style="text-align: center;"> <p>среда с сахаро- зой и ВР</p> </div> <div style="text-align: center;"> <p>среда с мальто- зой и ВР</p> </div> <div style="text-align: center;"> <p>среда с манни- том и ВР</p> </div> </div> <div style="margin-top: 20px; border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content; margin-left: auto;"> <p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p> </div>

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

## Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 7.

### 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 мембраны 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 моноклональных антител к определенному экзотоксину.

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

#### **Оксидоредуктазы:**

1. **Определение оксидаз.** На фильтровальную бумагу, смоченную 1% раствором тетраметилпарафенилендиамина, 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 микроба, 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
Андрее	красный	желтый	желтый
Бромтимоловый синий	желтый	зеленый	синий
ВР	синий	розовый	красный
Феноловый красный	желтый	красный	красный

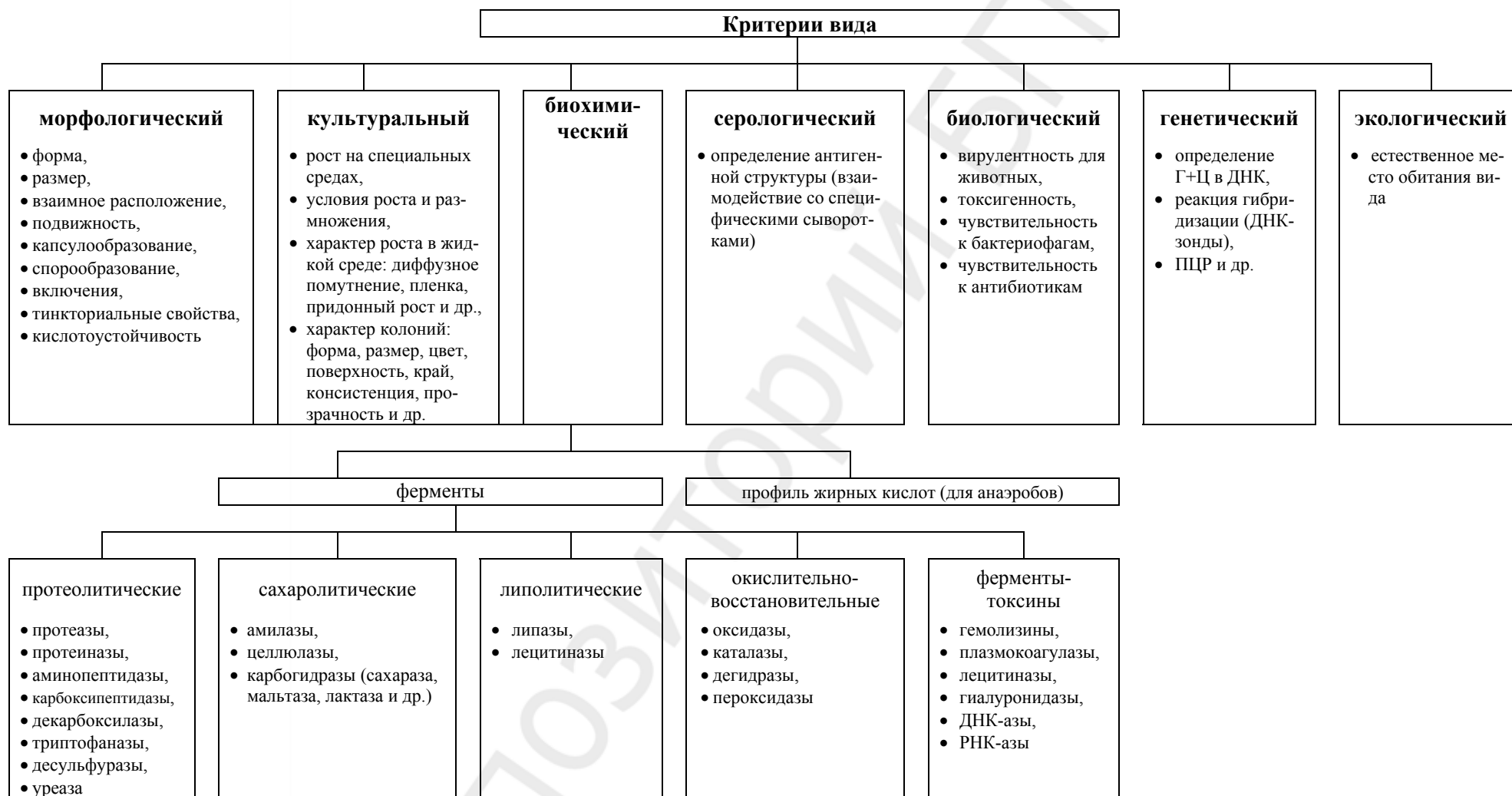


Рис. 8. Тест-система для биохимической идентификации бактерий (API-20E).



Рис. 9. Автоматические микробиологические анализаторы (внешний вид).

## МЕТОДЫ ИДЕНТИФИКАЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ





## Занятие № 8.

### Тема: Методы изучения генетики микроорганизмов. Методы молекулярной диагностики.

**Перечень изучаемых вопросов:** Устройство генетического аппарата бактерий. Виды изменчивости микроорганизмов. Практическое значение изменчивости. Генотипическая изменчивость. Мутации и генетические рекомбинации: трансформация, трансдукция и конъюгация. Принцип генетического анализа.

Методы выделения мутантов. Плазмиды и их функции.

Методы молекулярной диагностики (молекулярная гибридизация, полимеразная цепная реакция). Определение. Задачи. Преимущества (см. методическое пособие).

Молекулярная гибридизация: материал для исследования, зонды, постановка реакции, учёт и интерпретация результатов. Области применения.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР): материал для исследования, реагенты, аппаратура, постановка ПЦР, учёт и интерпретация результатов. Области применения.

**Источники:**

1. Материал лекции.
2. [1], [4], [5], [8] – (учебники),
3. [2], [7] – (практикумы),
4. [9], [11], [15], [16], [17] – (доп. литература).

#### Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты										
1. Идентификация чистой культуры (учёт): <ul style="list-style-type: none"> <li>• провести учёт результатов биохимических тестов,</li> <li>• осуществить интерпретацию результатов, сделать заключение.</li> </ul>				Биохимические и др. признаки							
	Вид	Морфология	Культуральные свойства	глюкоза	лактоза	мальтоза	маннит	сахароза	H <sub>2</sub> S	индол	подвижность
	<i>E. coli</i>	Грамотриц. палочка		КГ	КГ	КГ	КГ	-	-	+	+
	<i>S. typhi</i>	Грамотриц. палочка		К	-	К	К	-	+	-	+
	<i>S. paratyphi A</i>	Грамотриц. палочка		КГ	-	КГ	КГ	-	-	-	+
	<i>S. schottmuelleri</i>	Грамотриц. палочка		КГ	-	КГ	КГ	-	+	-	+
	<i>X-микроб</i>										
<b>Заключение:</b> на основании результатов исследования идентифицирован _____											

<p>2. Поставить опыт конъюгации:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• инкубировать смесь культур <i>E. coli</i> донора и реципиента,</li> <li>• сделать высев на минимальную среду.</li> </ul>	<div style="text-align: center;"> </div>
<p>3. Поставить ПЦР для обнаружения ДНК <i>M.tuberculosis</i> в бронхоальвеолярном лаваже больного туберкулезом.</p> <p>Определение <i>M.tuberculosis</i> в промывных водах бронхов основано на обнаружении и амплификации последовательности гена MPB64 (общей для <i>M. tuberculosis</i> и <i>M. bovis</i>). В результате реакции происходит накопление продукта (ампиконов) длиной 357 п.н.</p>	<p><b>Схема проведения ПЦР</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Выделение ДНК: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Маркировка пробирок для выделения ДНК (эппендорфы на 1,5 мл с замочком). Внесение 100 мкл лаважной жидкости и 100 мкл отрицательного контроля в пробирки для выделения ДНК</li> <li>• Встряхивание и кипячение 10 мин (в лаборантской).</li> </ul> </li> <li>2. Постановка ПЦР: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Приготовление реакционной смеси:</li> <li>• Маркировка пробирок для ПЦР (маленькие эппендорфы на 0,5 мл с парафином).</li> <li>• Внесение 10 мкл реакционной смеси и 10 мкл жидкости из пробирок для выделения в ПЦР-пробирки.</li> <li>• Амплификация (демонстраторий), 1 час.</li> </ul> </li> <li>3. Детекция: электрофорез в геле (демонстраторий, 20 мин), просмотр на трансиллюминаторе (демонстраторий).</li> <li>4. Учет и оценка результата.</li> </ol>
<p><b>Демонстрация.</b></p> <p>1. Метод реплик.</p>	<p><b>Метод реплик</b> позволяет осуществить одномоментный посев нескольких исследуемых культур бактерий с помощью специальных штампов-репликаторов.</p> <p>Штамп состоит из основания с 25 или 50 лунками для заливки культур и верхней части (крышки), имеющей соответственно 25 или 50 штифтов, которые, при накладывании крышки на основание, входят в лунки.</p> <p>Суспензии испытуемых культур последовательно вносят в лунки штампа. Затем накладывают крышку на основание штампа так, чтобы штифты вошли в лунки и смочились культурой. Посев производят путем прикосновения (отпечатывания) нижних концов штифтов к поверхности плотной среды в чашке Петри.</p> <div style="text-align: right;"> </div>

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

**Сравнительная характеристика методов типирования возбудителей инфекций**

Метод типирования	Доля типироваемых штаммов	Воспроизводимость	Разрешающая сила	Легкость	
				интерпретации	выполнения
<b>Фенотипические:</b>					
Биотипирование	Все	2	2	5	5
Резистентипирование	Все	3	2	5	5
Серотипирование	Большинство	4	3	4	3
Фаготипирование	Большинство	3	3	3	2
Иммуноблоттинг	Все	4	4	3	4
МЭЭ (мультилокусный энзим-электрофорез)	Все	5	4	5	4
<b>Генотипические:</b>					
Плазмидный анализ	Большинство	4	4	4	5
Рестрикционный анализ хромосомной ДНК	Все	4	4	2	5
Риботипирование	Все	5	3	4	4
Пульс-электрофорез	Все	5	5	5	4
ПДРФ-ПЦР	Все	5	4	5	4
ПП-ПЦР	Все	4	4	3	4
Секвенирование (анализ нуклеотидной последовательности)	Все	5	5	5	3

Примечание: «2» – плохо, «3» – удовлетворительно, «4» – хорошо, «5» – отлично.

**Полимеразная-цепная реакция (ПЦР)**

Принцип ПЦР был описан в 1986 г. Сущность ПЦР заключается в амплификации, или образовании множественных копий, интересующих участков ДНК/РНК (как правило, размером до 5000 п.о., увеличение размера приводит к снижению эффективности реакции). В качестве амплифицируемых участков ДНК могут выступать гены патогенности, жизненно важных функций, устойчивости к противомикробным препаратам, видо- и родоспецифичные гены и др.

На первой стадии ПЦР осуществляется выделение ДНК/РНК из клеток, параллельно на этом этапе удаляются и клеточные ингибиторы ПЦР. Далее на выделенной ДНК-матрице происходит синтез множественных копий ДНК, поэтому важным условием проведения ПЦР является присутствие строительного материала ДНК – дНТФ - дезокси-нуклеотрифосфатов и фермента, осуществляющего их полимеризацию – Taq-полимеразы (выделяется из термофильных микроорганизмов *Thermophilus aquaticus*). Как и любой другой фермент, Taq требует определенных условий – pH, концентрации солей, что достигается внесением в реакционную смесь буфера для Taq и MgCl<sub>2</sub>. Как правило, эффективно амплификация происходит в отношении не всей бактериальной ДНК, а лишь фрагментов до 5000 п.о., поэтому специфический участок ДНК для амплификации ограничивается с двух сторон праймерами (прямым и обратным) – цепочками нуклеотидов (до 15-30 оснований), связывающимися с комплементарными структурами исследуемой ДНК.

ПЦР является многостадийным процессом, заключающимся в: 1) образовании из двухцепочечной ДНК одноцепочечной молекулы (денатурация); 2) ограничении амплифицируемого фрагмента путем присоединения прямого и обратного праймера (отжиг); 3) полимеризации дочерних цепочек на ДНК-матрице (элонгация). Каждая из этих стадий протекает при определенной температуре. Реакцию амплификации повторяют 20-45 раз, предваряя ее дополнительной денатурацией и заканчивая дополнительной элонгацией.

В результате ПЦР происходит экспоненциальное увеличение копий ДНК (ампликонов). Образование огромного количества копий (10<sup>8</sup>) позволяет выявлять их путем электрофореза в агарозном или акриламидном геле с последующей окраской ДНК-красителем - этидием-бромидом, флюоресцирующим в УФ-свете (290 нм) трансиллюминатора. Фрагменты ДНК в агарозном геле в УФ-свете видны как светящиеся полосы.

**Преимущества метода ПЦР:**

- Прямое определение наличия возбудителей (специфического участка ДНК) в материале,
  - Высокая специфичность (фрагмент ДНК характерен только для данного возбудителя),
  - Высокая чувствительность (10-1000 клеток в пробе),
  - Универсальность процедуры выявления различных возбудителей,
  - Высокая скорость получения результата анализа,
- Возможность диагностики не только острых, но и латентных инфекций.

## Занятие № 9.

### Тема: Экология микробов. Методы изучения нормальной микрофлоры тела человека. Инфекция.

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Экология микроорганизмов. Формы экологических связей. Практическое использование микробно-гантагонизма. Понятие о бактериоциногении. Распространение микробов в природе. Микрофлора почвы, воздуха и воды.</p> <p>Характеристика нормальной микрофлоры человека и её биологическая роль. Методы изучения нормальной микрофлоры. Гнотобиология. Дисбактериоз, причины развития, принципы коррекции.</p> <p>Инфекция: определение, условия развития, классификация. Эволюция микробов и инфекционных заболеваний.</p> <p>Патогенность и вирулентность микробов. Генетический контроль. Факторы патогенности, единицы измерения вирулентности. Методы определения адгезинов, токсигенности, ферментов-токсинов, капсульного вещества.</p>	<p><b>Источники:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Материал лекции.</li> <li>2. [1] [4], [5], [8] – (учебники),</li> <li>3. [2], [7] – (практикумы),</li> <li>4. [9], [11], [15], [16], [17] – (доп. литература).</li> </ol>
-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

#### Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты								
<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Посев для изучения нормальной микрофлоры и выявления дисбактериоза.</li> <li>2. Приготовление и окраска по Граму препарата зубного налета, микроскопия.</li> <li>3. Учет опыта конъюгации (см. занятие №8).</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Стерильные кусочки фильтровальной бумаги 1×1 см в чашке Петри увлажнить стерильным физ. р-ром.;</li> <li>2. Стерильным пинцетом поместить кусочек бумаги на исследуемую поверхность кожи рук, лица и др., слизистой оболочки языка, щеки и др. – 0,5 мин;</li> <li>3. Поместить бумагу на поверхность плотной питательной среды (отпечаток) – 1 мин;</li> <li>4. Бумагу удалить.</li> <li>5. Чашки с отпечатками инкубировать при 37°C, 24-48 час.</li> </ol> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center; margin-top: 10px;"> <div style="text-align: center;">  <p>Кровяной агар</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>Среда Эндо</p> </div> </div>								
<p><b>Демонстрация.</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Препарат зубного налёта, окраска по Граму.</li> <li>2. Методы определения факторов патогенности (капсулы, плазмокоагулазы, гемолизинов, лецитиназы).</li> </ol>	<div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="flex: 1;"> <p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> </div> <div style="flex: 1; text-align: center;">  </div> <div style="flex: 2; text-align: right; margin-top: 20px;"> <p>Подпись преподавателя _____</p> </div> </div>								
<p><i>Выполняется на занятии № 9</i></p> <p>Провести учет посева микрофлоры, приготовить препараты из разных типов колоний, окрасить, микроскопировать.</p>	<p style="text-align: center;">Учет посева микрофлоры:</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; margin-bottom: 10px;"> <tr> <td style="width: 20%;">Биотоп</td> <td style="width: 30%;"></td> <td style="width: 30%;"></td> <td style="width: 20%;"></td> </tr> <tr> <td>Количество и характер колоний на кровяном агаре</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </table> <p>На среде Эндо (кожа предплечья):</p> <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="width: 30%; text-align: center;"> <p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>  </div> <div style="width: 30%; text-align: center;"> <p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>  </div> <div style="width: 30%; text-align: center;"> <p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>  </div> </div>	Биотоп				Количество и характер колоний на кровяном агаре			
Биотоп									
Количество и характер колоний на кровяном агаре									

## Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 9.

### Методы изучения нормальной микрофлоры

Для изучения нормальной микрофлоры применяют два метода: бактериоскопический и бактериологический.

**Бактериоскопический метод.** Имеет большое самостоятельное значение для тех биотопов организма человека, в которых обитает большое количество различных видов микроорганизмов (полость рта, кишечник, вагина). Он позволяет получить общее представление о составе микрофлоры (преобладание грам+ или грам- бактерий той или иной формы - кокки, диплококки, стрептококки, палочки, бациллы, стрептобациллы, фузиформные бактерии, наличие грибов и т.д.), а также выявить те микроорганизмы, которые не удается культивировать на питательных средах.

**Бактериологический метод.** Применяют для биотопов с широким спектром микроорганизмов (полость рта, кишечник, вагина), выполняют с учетом данных бактериоскопии.

#### Основные принципы бактериологического исследования:

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

#### Методы взятия материала для исследования:

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

### КЛАССИФИКАЦИЯ ИНФЕКЦИЙ

#### В зависимости от возбудителя:

1. бактериозы;
2. вирусозы;
3. микозы;
4. паразитозы;
5. гельминтозы.

#### По источникам инфекции:

1. антропонозы (источник - человек);
2. зооантропонозы (источник - животные);
3. сапронозы (источник - среда).

#### По кратности инфицирования:

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

#### По длительности:

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

#### 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.

#### **Стадии инфекционного заболевания:**

- инкубационный период;
- продромальный период (неспецифические симптомы: температура, головная боль, миалгии и др.);
- разгар заболевания (специфические диагностические симптомы);
- исходы заболевания: (выздоровление, микробоносительство, хронизация, летальный).

#### По механизмам передачи - инфекции с:

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

#### В зависимости от поражаемых систем органов:

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

#### По распространенности:

1. очаговая;
2. системная;
3. генерализованная: бактериемия; токсемия; сепсис; септицемия, септикопиемия

#### По числу возбудителей:

1. моноинфекция;
2. смешанная инфекция.

#### По путям инфицирования:

1. эндогенные;
2. экзогенные.

## Занятие № 10.

### Тема: Методы изучения чувствительности микробов к антибиотикам. Биологический метод исследования.

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Химиотерапия и химиопрофилактика инфекционных заболеваний. Группы химиопрепаратов. Требования к химиопрепаратам.</p> <p>Антибиотики, характеристика, классификация. Механизмы противомикробного действия. Лекарственная устойчивость микробов, механизмы, методы ее определения.</p> <p>Биологический метод исследования, оценка, этапы. Применение в микробиологии. Методы заражения животных. Вскрытие.</p>	<p><b>Источники:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Материал лекции.</li> <li>2. [1], [4], [5], [8] – (учебники),</li> <li>3. [2], [7] – (практикумы),</li> <li>4. [9], [11], [15], [16], [17] – (доп. литература).</li> </ol>
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

#### Лабораторная работа

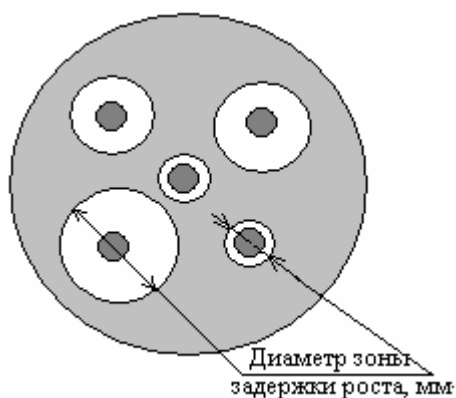
Задание	Методы, результаты															
1. Провести учет посева микрофлоры, приготовить препараты из разных типов колоний, окрасить, микроскопировать.	См. занятие № 9.															
2. Поставить опыт по определению чувствительности бактерий к антибиотикам методом бумажных дисков.	<div style="text-align: center;"> <p style="margin-left: 10%; text-align: center;">Посев на Мюллер-Хинтон агар</p> <p style="margin-left: 10%;">Суспензия бактерий в физ. р-ре</p> <p style="margin-left: 10%; text-align: center;">Инкубация 35°C-24 ч.</p> <p style="margin-left: 10%; text-align: center;">Нанесение дисков с антибиотиками на засеянную газоную среду</p> </div>															
3. Произвести учёт опыта по определению чувствительности микробов к антибиотикам методом количественных разведений в МПА.	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: flex-start;"> <div style="text-align: center;"> <p>Чашки с разведениями ампициллина</p> </div> <div style="text-align: right;"> <p>Критерии интерпретации результатов:</p> <table border="1" style="border-collapse: collapse; text-align: center;"> <thead> <tr> <th rowspan="2">Антибиотик</th> <th colspan="3">МИК, мг/л</th> </tr> <tr> <th>резистентный</th> <th>умеренно-резистентный</th> <th>чувствительный</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Ампициллин</td> <td>≥32</td> <td>16</td> <td>≤8</td> </tr> </tbody> </table> </div> </div>	Антибиотик	МИК, мг/л			резистентный	умеренно-резистентный	чувствительный	Ампициллин	≥32	16	≤8				
Антибиотик	МИК, мг/л															
	резистентный	умеренно-резистентный	чувствительный													
Ампициллин	≥32	16	≤8													
<b>Заключение:</b>	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th>Наименование культуры</th> <th>Величина МИК, мг/л</th> <th>Интерпретация результата</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>культура №1</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>культура №2</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>культура №3</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>культура №4</td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	Наименование культуры	Величина МИК, мг/л	Интерпретация результата	культура №1			культура №2			культура №3			культура №4		
Наименование культуры	Величина МИК, мг/л	Интерпретация результата														
культура №1																
культура №2																
культура №3																
культура №4																

**Выполняется на занятии № 11**

Произвести учёт опыта по определению чувствительности микробов к антибиотикам методом бумажных дисков.

**Антибиотикограмма:**

Антибиотик	Диаметр зоны, мм	Интерпретация результата



Критерии интерпретации результатов определения чувствительности бактерий, пограничные значения диаметров зон ингибиции роста (мм)

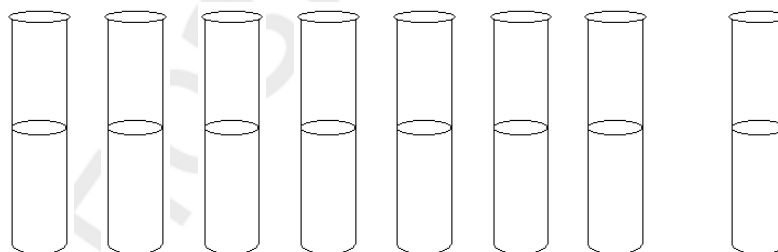
Антибиотик	Диаметр зон ингибиции роста (мм)		
	резистентный	умеренно-резистентный	чувствительный
<b>Staphylococcus spp.:</b>			
Бензилпенициллин	≤28	–	≥29
Оксациллин			
• <i>S. aureus</i>	≤10	11–12	≥13
• КОС	≤17	-	≥18
Канамицин	≤13	14–17	≥18
Гентамицин	≤12	13–14	≥15
Ципрофлоксацин	≤15	16–20	≥21
Тетрациклин	≤14	15–18	≥19
Эритромицин	≤13	14–22	≥23
Линкомицин	<17	17–20	≥21
Хлорамфеникол	≤12	13–17	≥18
<b>Enterobacteriaceae:</b>			
Ампициллин	≤13	14-16	≥17
Цефазолин	≤14	15-17	≥18
Цефотаксим	≤14	15-22	≥23
Канамицин	≤13	14-17	≥18
Гентамицин	≤12	13-14	≥15
Ципрофлоксацин	≤15	16-20	≥21
Ломефлоксацин	≤18	19-21	≥22
Тетрациклин	≤14	15-18	≥19
Доксициклин	≤12	13-15	≥16
Хлорамфеникол	≤12	13-17	≥18

**Демонстрация:**

1. Метод дисков.
2. Метод серийных разведений в МПА и в пробирках.
3. Ускоренный метод определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам.
4. *Bacillus anthracis* в мазке-отпечатке органов мыши, окраска по Граму.

Метод серийных разведений в жидкой среде:

мкг/мл  
0,5    1,0    2,0    4,0    8,0    16,0    32,0



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

Контроль - среда без антибиотика

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

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

## Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 10.

**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 иммунопрепаратов.
7. Проверка безвредности и эффективности лечебных препаратов (в т.ч. химиопрепаратов, иммунопрепаратов) 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 микроба.
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.

### Метод Е-тестов.

Е-тест представляет собой пластиковую полоску размером 5x50 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.

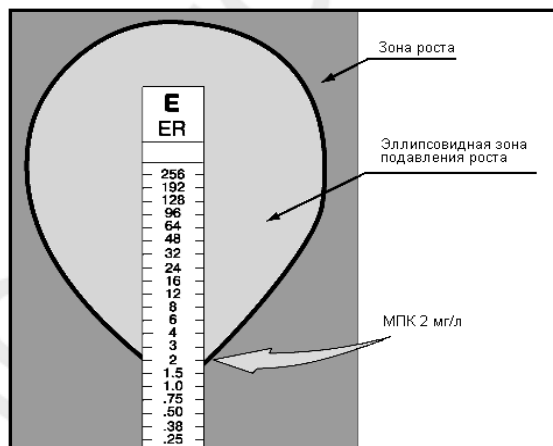
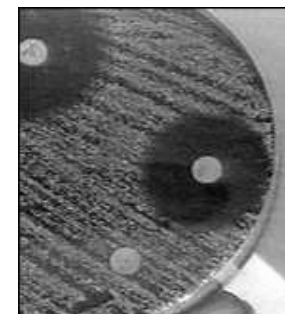


Рис. 10. Е-тест

**Метод диффузии в агар**, при котором используются диски, импрегнированные специально подобранными концентрациями антимикробных 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).

**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 материалоемкий и трудоемкий по сравнению с методом бумажных дисков. Более целесообразен для научных исследований.

**Автоматизированные системы для определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам.**

Автоматические бактериологические анализаторы WalkAway-40, WalkAway-96 ATB-expression; Sceptor и др. укомплектованы: автоматическим анализатором с поддержанием постоянной температуры и влажности; компьютером; программным обеспечением; принтером для нанесения штриховых кодов; принтером для распечатки результатов; прибором для стандартизации мутности.

**Недостатки метода:**

Система может давать ошибочные результаты при классификации микроорганизмов, которые гетерорезистентны к  $\beta$ -лактамам антибиотикам; обладает индуцибельными механизмами резистентности; отличаются высокой скоростью мутации в генах, контролирующих чувствительность, то есть их фенотип чувствительности проявляется только после более длительного, чем 3-5 часов периода инкубации; отличаются по ряду биохимических характеристик от стандартных представителей вида.



## Занятие № 11.

### ИТОГОВОЕ ЗАНЯТИЕ ПО ТЕМЕ: «Морфология и физиология микроорганизмов. Инфекция».

#### Перечень вопросов к итоговому занятию:

1. Микробиология как наука, основные этапы развития. Медицинская микробиология, задачи, методы.
2. Характеристика бактериоскопического метода исследования.
3. Световые микроскопы. Принципы устройства простого, фазово-контрастного, темнопольного, люминесцентного микроскопов и их применение в микробиологии. Техника иммерсионной микроскопии.
4. Типы микроскопических препаратов. Этапы приготовления фиксированного мазка. Простые методы окраски.
5. Сложные методы окраски микробов. Окраска по Граму, механизм и техника окраски.
6. Морфология бактерий. Отличия прокариотов от эукариотов. Основные формы бактерий.
7. Структура бактериальной клетки. Поверхностные образования, функции. Методы выявления капсулы.
8. Структура и функции клеточной стенки грамположительных и грамотрицательных бактерий. Формы бактерий с дефектами клеточной стенки.
9. Цитоплазматические структуры бактерий, функции, методы выявления. Кислотоустойчивые микробы. Метод окраски.
10. Покоящиеся формы микробов. Спорообразование у бактерий, стадии, методы выявления спор.
11. Подвижность бактерий, методы выявления подвижности.
12. Принципы систематики микробов. Систематическое положение микробов. Таксономические категории. Понятие и критерии вида.
13. Систематическое положение и морфология спирохет. Методы изучения.
14. Систематическое положение и морфология актиномицетов.
15. Систематическое положение и морфология микоплазм. Методы изучения.
16. Систематическое положение и морфология риккетсий.
17. Систематическое положение и морфология хламидий.
18. Питание микробов. Источники углерода, азота, ростовых факторов и микроэлементов. Способы питания. Способы проникновения питательных веществ через мембрану.
19. Дыхательный аппарат бактерий. Пути биологического окисления. Классификация микробов по типу дыхания.
20. Способы размножения микробов. Механизм и фазы клеточного деления.
21. Характеристика бактериологического метода исследования.
22. Питательные среды для аэробов и анаэробов. Требования, предъявляемые к питательным средам, классификация.
23. Методы выделения чистых культур аэробов.
24. Методы выделения чистых культур анаэробов.
25. Идентификация микроорганизмов: морфологическая, культуральная, серологическая, биологическая, генетическая.
26. Биохимический метод идентификации: определение протеолитических, сахаролитических, липолитических свойств, выявление гемолизина и оксидоредуктаз. Использование автоматических микробиологических анализаторов.
27. Генетический аппарат бактерий (нуклеоид, плазмиды, транспозоны, *Is*-последовательности), характеристика, биологическая роль.
28. Виды изменчивости бактерий. Фенотипическая и генотипическая изменчивость. Понятие о популяционной изменчивости.
29. Мутационная изменчивость. Генетические рекомбинации. Практическое значение изменчивости микроорганизмов. Понятие о геномной инженерии и биотехнологии.
30. Молекулярная диагностика. Цель. Задачи. Методы. Молекулярная гибридизация.
31. Полимеразная цепная реакция.
32. Учение об инфекции. Условия возникновения инфекционного процесса. Отличительные признаки инфекционных заболеваний. Типы инфекций.
33. Роль микроорганизма в инфекционном процессе. Патогенность и вирулентность. Факторы патогенности.
34. Роль макроорганизма, физической и социальной среды в инфекционном процессе.
35. Эволюция микроорганизмов и инфекционных заболеваний.
36. Биологический метод исследования: задачи, оценка, этапы.
37. Химиотерапия и химиопрофилактика. Антибиотики, определение, классификация.
38. Механизм действия антибиотиков.
39. Побочное действие антибиотиков.
40. Устойчивость микроорганизмов к антибиотикам.
41. Методы изучения чувствительности микробов к антибиотикам.
42. Экология микроорганизмов. Типы экологических связей.
43. Характеристика нормальной микрофлоры человека и её биологическая роль. Методы изучения. Гнобиология. Дисбактериоз, причины развития, принципы коррекции.
44. Стерилизация, дезинфекция. Определение понятий, методы проведения.
45. Асептика, антисептика. Определение понятий. Способы проведения.

#### Перечень практических навыков.

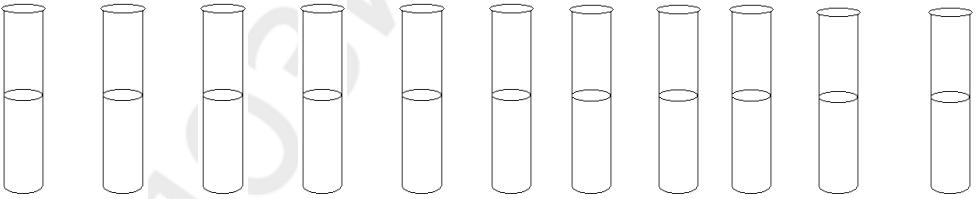
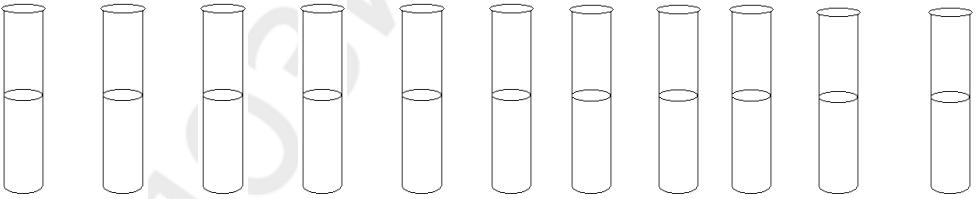
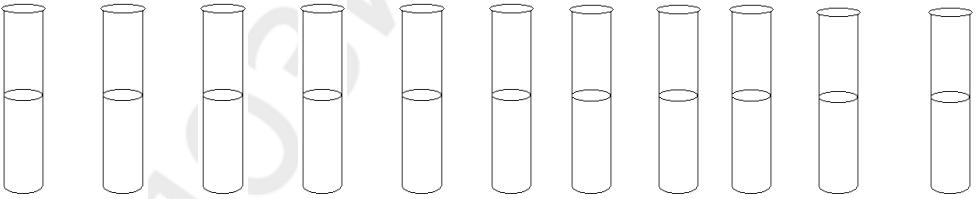
1. Приготовить микропрепарат из бульонной культуры бактерий.
2. Приготовить микропрепарат из агаровой культуры бактерий.
3. Окрасить препарат водным раствором фуксина.
4. Окрасить препарат водным раствором метиленовой синьки.
5. Окрасить препарат по Граму.
6. Техника иммерсионной микроскопии.
7. Определить морфологию чистой культуры стафилококка, окраска по Граму.
8. Определить морфологию чистой культуры *E. coli*, окраска по Граму.
9. Определить морфологию грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов в смеси, окраска по Граму.
10. Определить морфологию культуры в мазке, окрашенной по Гинсу-Бурри.
11. Определить морфологию чистой культуры стрептобацилл, окраска по Граму.

## Занятие № 12.

### Тема: Методы клинической и инфекционной иммунологии. Иммунная система. Методы изучения естественного иммунитета.

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Иммунная система организма человека: органы, клетки, молекулы (CD-антигены, рецепторы, молекулы I, II, III классов ГКГС, цитокины, адгезины и др.).</p> <p>Иммунитет, определение понятия, виды иммунитета. Факторы иммунной и неиммунной природы естественного врожденного иммунитета). Система комплемента: состав, пути активации, функции. Лизоцим. Бета-лизины. Белки острой фазы.</p> <p>Система полиморфноядерных и мононуклеарных фагоцитов. Фагоцитарная реакция: фазы, механизмы внутриклеточной бактерицидности, исходы. Механизмы распознавания в системе врожденного иммунитета. Рецепторы, распознающие структуры микробов. Toll-подобные рецепторы.</p> <p>Антигенпрезентирующие клетки (АПК). Естественные киллеры.</p> <p>Методы определения активности комплемента и показателей фагоцитоза.</p>	<p><b>Источники:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Материал лекции.</li> <li>2. [1], [4], [5], [6], [8] – (учебники),</li> <li>3. [2], [7] – (практикумы),</li> <li>4. [9], [13], [15], [16], [18], [19], [20] – (доп. литература).</li> </ol>
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

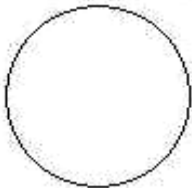
#### Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты									
<p>1. Определить показатели фагоцитоза в готовых препаратах, окрашенных по Романовскому-Гимзе.</p>	$\text{ФП} = \frac{\text{количество фагоцитирующих фагоцитов}}{\text{количество всех фагоцитов}} \times 100\% \quad N = 40 - 60\%$ $\text{ФЧ} = \frac{\text{количество фагоцитированных микробов}}{\text{количество фагоцитирующих фагоцитов}} \quad N = 4 - 7$									
<p>2. Учесть активность комплемента по 50% гемолизу.</p>	<table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="text-align: center; padding: 5px;">Количество сыворотки 1:10, мл</td> <td style="text-align: center; padding: 5px;">Стандарт</td> <td></td> </tr> <tr> <td style="text-align: center; padding: 5px;">0,05   0,10   0,15   0,20   0,25   0,30   0,35   0,40   0,45   0,50</td> <td style="text-align: center; padding: 5px;">(50% гемолиз)</td> <td></td> </tr> <tr> <td style="text-align: center; padding: 5px;">  </td> <td style="padding: 5px;"> <p>1 CH<sub>50</sub> – в _____ мл сыворотки</p> <p>X CH<sub>50</sub> – в _____ мл сыворотки</p> </td> <td style="padding: 5px; vertical-align: bottom;"> <p>N 40 – 60 CH<sub>50</sub></p> </td> </tr> </table>	Количество сыворотки 1:10, мл	Стандарт		0,05   0,10   0,15   0,20   0,25   0,30   0,35   0,40   0,45   0,50	(50% гемолиз)			<p>1 CH<sub>50</sub> – в _____ мл сыворотки</p> <p>X CH<sub>50</sub> – в _____ мл сыворотки</p>	<p>N 40 – 60 CH<sub>50</sub></p>
Количество сыворотки 1:10, мл	Стандарт									
0,05   0,10   0,15   0,20   0,25   0,30   0,35   0,40   0,45   0,50	(50% гемолиз)									
	<p>1 CH<sub>50</sub> – в _____ мл сыворотки</p> <p>X CH<sub>50</sub> – в _____ мл сыворотки</p>	<p>N 40 – 60 CH<sub>50</sub></p>								

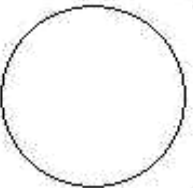
**Зарисовать демонстрационные препараты:**

1. Незавершенный фагоцитоз *N. gonorrhoeae*
2. Незавершенный фагоцитоз *K. rhinoscleromatis*

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



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



Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

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

**Рецепторы (маркеры) клеток неспецифического иммунного ответа *Моноциты/макрофаги*:**

Маркеры фагоцитов				Методы оценки функции фагоцитов	
Маркер	Моноцит/макрофаг	Нейтрофил	Функция	Стадия фагоцитоза	Метод
Scavenger (CD163 a, b)	+	-	Специфичен к полианионным лигандам (ЛПС Г-, липотейхоевые кислоты Г+), фагоцитоз, слабая активация фагоцитов	Хемотаксис	Хемотаксис лейкоцитов под агарозой
FcR1 (CD64)	+	-		Адгезия	
CD115	+	-		Поглощение	Прямые методы: фагоцитоз стафилококка, кандид (расчет фагоцитарного индекса и числа). Непрямые методы: фагоцитоз красителей, частиц латекса, карбонильного железа и т.д.
CD163	+	-		Разрушение микробов	Прямые методы: показатель завершенности фагоцитоза, определение индекса бактерицидности. Непрямые методы: НСТ (МТТ) тест, определение активности миелопероксидазы, катионных белков и др.
CD66, CD92	-	+		Презентация АГ	

**Рецепторы фагоцитов**

Рецепторы, преимущественно вовлеченные в процессы фагоцитоза	
Scavenger (CD163 a, b), MCP	Распознавание объектов фагоцитоза
Рецепторы СК 1, 2, 3	Опсонизация, усиление фагоцитоза, активация фагоцита
Рецепторы к Fc фрагментам Ig 1, 2, 3 (CD64, CD32, CD16)	Опсонизация, усиление фагоцитоза, активация фагоцита, АЗКЦ
Рецепторы, вовлеченные в организацию ИО (распознавание сигналов опасности и повреждения)	
CD14, TLRs, MCP	Распознавание типа патогена, активация клетки, секреция цитокинов определенного профиля
Рецепторы, вовлеченные в хемотаксис и миграцию фагоцитов	
Рецепторы к хемокинам	Хемотаксис
L-селектин (CD62)	Качение, остановка, трансмиграция клеток в очаг воспаления
LFA I, III (CD11a/CD18, CD58)	
ICAM I, II (CD54, CD102), CD31	
Рецепторы, вовлеченные в антигенпрезентацию и костимуляцию	
HLA I	Презентация антигенов по цитоплазматическому пути (внутренние антигены) CD8+ Т-лимфоцитам
HLA II	Презентация антигенов по эндосомному пути (внешние антигены) CD4+ Т-лимфоцитам
CD80/86, CD40	Костимуляция Т-клеток
Рецепторы к цитокинам	

ИФН-гамма	Сильная активация фагоцита, повышение цитолитического потенциала и бактерицидности
ИЛ10	Инактивация фагоцитов

**Естественные киллеры (ЕК)**

**Маркеры ЕК**

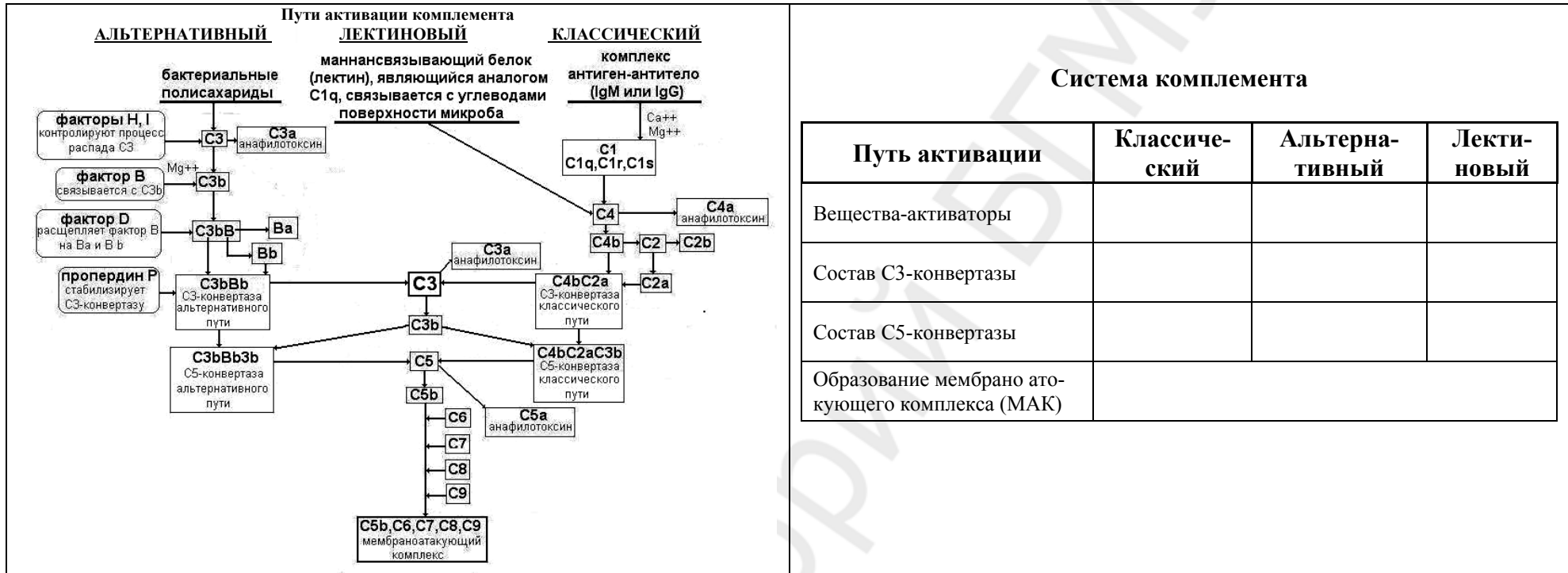
Маркер	Функция
CD56	Молекула адгезии
CD57	Олигосахарид клеточной поверхности
CD16	Рецептор Fc фрагмента Ig 3 типа

**Основные рецепторы ЕК**

Рецепторы, вовлеченные в процессы киллинга	
Рецепторы, активирующие киллинг (КАР)	
CD161	Принадлежит к семейству С-лектинов, распознает углеводы клеточных поверхностей (хондроитин-сульфат, пентоманнозафосфат, ганглиозиды, N-ацетил-глюкозамины и др.).
CD16	Рецептор Fc фрагмента Ig 3 типа, участвует в антитело-зависимой клеточной цитотоксичности (АЗКЦ)
Рецепторы, угнетающие киллинг (КИР)	
CD94, gp49B	Угнетение киллинга
p70	Распознавание HLA A, В антигенов, угнетение киллинга
CD158a, b	Распознавание HLA С антигенов, угнетение киллинга
Молекулы адгезии, необходимые для межклеточных взаимодействий	
Рецепторы, вовлеченные в хемотаксис и миграцию фагоцитов	
Рецепторы к хемокинам	Хемотаксис
L-селектин (CD62)	Качение, остановка, трансмиграция клеток в очаг воспаления
LFA I, III (CD11a/CD18, CD58)	
ICAM I, II (CD54, CD102), CD31	
Рецепторы к цитокинам	
Рецепторы к ИЛ 2, 4, 10, 12, 15, ИФН-гамма	Активация киллинга, повышение цитотоксичности, секреция цитокинов

**Субпопуляции ЕК**

Маркер/функция	Активные ЕК	Покоящиеся ЕК
CD56	±	+++
CD57	+	+
CD16	±	++
CD69	++	-
Молекулы межклеточных взаимодействий	++	-
Лизис К-562	++	±
АЗКЦ	±	++
Пролиферация на ИЛ2	++	±
Циркуляция	Печень, слизистая матки, ткани	Кровь, селезенка



Система комплемента

Путь активации	Классический	Альтернативный	Лектиновый
Вещества-активаторы			
Состав C3-конвертазы			
Состав C5-конвертазы			
Образование мембрано атакующего комплекса (МАК)			

**Регуляторные механизмы системы комплемента**

А. Ферменты плазмы крови: расщепляют и инактивируют компоненты комплемента

- Фактор I расщепляет C3b как в растворе, так и на поверхности клетки
  - расщепленный C3b не способен функционировать в составе комплекса C4b2a3b
  - образуются биоактивные продукты расщепления: C3c и C3e
  - фактор I расщепляет также C4b, но только в присутствии C4b связывающего белка
- Инактиватор анафилатоксинов (сывороточная карбоксипептидаза N) - разрушает C3a, C5a, C4a

Б. Белки плазмы крови: связывают и угнетают активность компонентов комплемента

- C1 INH - (альфа-глобулин плазмы) -
  - угнетает активность C1-эстеразы путем диссоциации комплекса на субъединицы. Ингибирует также плазмин, калликреин, активированный фактор Хагемана и Xia фактор свертывания
  - клиническая значимость: недостаточность ингибитора ассоциируется с врожденным ангионевротическим отеком
- Фактор H - работает вместе с фактором I, связывая и инактивируя C3b. При этом образуется неактивный iC3b
- C4bBP - контролирует активность связанного с клеточной мембраной C4b. Подобно фактору H в случае с C3b, C4bBP связывается с C4b и делает его доступным атаке фактора I
- S-белок (витронектин) - защищает клетки-мишени от лизиса, путем связывания неустойчивого комплекса C5b67.
  - результирующий комплекс не может встроиться в мембрану

В. Регуляторные белки клеточных мембран

- Фактор, ускоряющий разрушение (DAF) и мембранный кофакторный белок (MCP) выполняют те же функции, что фактор H и C4bBP, но действуют на C3b и C4b на поверхности клетки.

- DAF препятствует образованию C3 конвертаз путем ускорения диссоциации C4b с C2a и C3b с Bb
- Клиническая значимость: дефицит DAF ассоциируется с пароксизмальной ночной гемоглобинурией - эритроциты таких людей характеризуются повышенной чувствительностью к комплемент-опосредованному лизису
- MCP - интегральный мембранный белок, способствующий протеолитической инактивации C3b и C4b фактором I.
- Гомологичный ограничивающий фактор (HRF) или C8-связывающий белок; препятствует ассоциации C8 с комплексом C5b67.

### Белки острой фазы

Белки острой фазы относят к гуморальным факторам системы врожденного иммунитета. Эти факторы постоянно присутствуют в норме в плазме крови, однако при системном воспалении, под воздействием ИЛ1, ФНОα и, особенно, ИЛ6, их синтез клетками ретикуло-эндотелиальной системы и гепатоцитами повышается на несколько порядков. К белкам острой фазы относят фибриноген, С-реактивный белок, амилоидный белок плазмы, маннозо-связывающий белок, альфа-1-антитрипсин и др. Определение некоторых белков острой фазы (ЦРБ) применяется в клинике для оценки интенсивности воспаления.

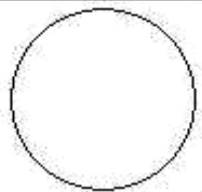
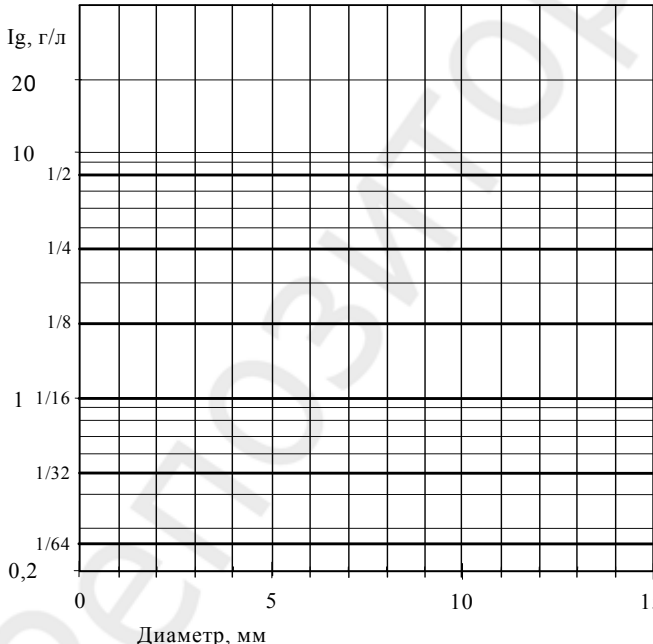
Белок острой фазы	Семейство, характеристика	Функция
ЦРБ Амилоидный белок	Оба фактора относят к семейству пентраксинов (состоят из 5 субъединиц. Молекулярная масса ЦРБ = 23000x5=110000-115000. Концентрация в норме ~ 1 мг/л; при системном воспалении – до 2 г/л. По химическому строению и свойствам они относятся к лектинам С-типа, т.е. связываются с углеводными молекулами на поверхности клеток микробов (также реагируют с фосфорилхлином Грам+ бактерий, ДНК, белками внеклеточного матрикса и др.)	При связывании пентраксины изменяют конформацию центрального участка и активируют комплемент по классическому и альтернативному пути. Связанный ЦРБ является хемоаттрактантом для нейтрофилов и способен усиливать фагоцитоз, т.е. является опсоином. При деградации пентраксинов высвобождаются фрагменты, активирующие макрофаги и стимулирующие синтез провоспалительных цитокинов.
Маннозо-связывающий белок	Относится к семейству коллектинов (по структуре напоминает C1q). Нормальная концентрация в крови 0,1-1 мг/л; при системном воспалении повышается до 10 раз. Состоит из 18 полипептидных цепей 3-х типов (букет тюльпанов). Каждая цепь содержит коллагеноподобный участок и С-лектиновый участок, специфичный к терминальным сахарам микробов (маннозе, фукозе, глюкозамину).	При связывании соответствующих сахаров на фрагментах клеточной стенки микробов белок изменяет конформацию и превращается в сериновую протеазу. Этот фермент способен активировать протеазы, ассоциированные с маннозо-связывающим белком (запуск лектинового пути активации комплемента), а также расщеплять факторы C2 и C4 (запуск классического пути активации системы комплемента).

### Занятие № 13.

#### Тема: Методы клинической и инфекционной иммунологии. Гуморальный иммунный ответ

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Иммунный ответ организма, определение, условия развития.          Антигены: строение, свойства, классификация.          В-система лимфоцитов. В-клеточный рецептор. CD-антигены. Ростовые и дифференцировочные факторы В-лимфоцитов. Динамика развития гуморального иммунного ответа.          Антитела: структура молекулы, классы, функции. Моноклональные антитела, принципы получения, применение.          Методы оценки В-системы лимфоцитов: количественные и функциональные тесты.</p>	<p><b>Источники:</b>          1. Материал лекции.          2. [1], [4], [5], [6], [8] – (учебники),          3. [2], [7] – (практикумы),          4. [9], [13], [15], [16], [18], [19], [20] – (доп. лит.).</p>
-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

#### Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты																												
<p>1. Определить количественное содержание В-лимфоцитов методом иммунных розеток в готовых препаратах.</p>	<div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="flex: 1;"> <p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p> </div> <div style="flex: 1; text-align: center;">  </div> <div style="flex: 2; padding-left: 10px;"> <p>Метод выявляет маркер CD20 на поверхности В-лимфоцитов;            N В-лимфоцитов – (CD20) = 8-20% от общего числа лимфоцитов.</p> </div> </div>																												
<p>2. Определить содержание иммуноглобулинов G класса в сыворотке крови методом простой радиальной иммунодиффузии в геле по Манчини.</p> <p>Стандарт IgG = 16 г/л</p>	<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="flex: 1;">  </div> <div style="flex: 2; text-align: center;"> <p><b>Построение калибровочного графика по стандарту сыворотки</b></p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; margin-bottom: 10px;"> <thead> <tr> <th style="width: 15%;"></th> <th style="width: 25%;">Разведение</th> <th style="width: 25%;">Концентрация, г/л</th> <th style="width: 35%;">Диаметр, мм</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>1 точка</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>2 точка</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>3 точка</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>4 точка</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>5 точка</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>опыт</td><td></td><td></td><td></td></tr> </tbody> </table> <p>N IgG 11,4 (9,5-14,5) г/л</p> <p>Заключение: _____</p> <p>Подпись преподавателя _____</p> </div> </div>		Разведение	Концентрация, г/л	Диаметр, мм	1 точка				2 точка				3 точка				4 точка				5 точка				опыт			
	Разведение	Концентрация, г/л	Диаметр, мм																										
1 точка																													
2 точка																													
3 точка																													
4 точка																													
5 точка																													
опыт																													

## Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 13.

### 1. Маркеры и рецепторы В-лимфоцитов

В настоящее время на В-лимфоцитах идентифицированы более 38 поверхностных молекул, для большей части из которых известны и изучены функции, структура, первичная последовательность, локализованы соответствующие гены.

Для удобства изучения эти молекулы условно можно разделить на ряд групп в соответствии с выполняемой функцией:

#### А. Молекулы, вовлеченные в распознавание антигена и сигнальные процессы

- а) поверхностные иммуноглобулины (в отличие от секретируемых всегда являются мономерными и содержат дополнительную С-концевую последовательность в тяжелой цепи – для крепления молекулы в мембране. Синтез двух форм иммуноглобулина возможен благодаря альтернативной транскрипции гена тяжелой цепи).
- б) CD79 альфа и бета (проводят основной сигнал о распознавании антигена - о его связывании с поверхностным иммуноглобулином).
- в) CD21 – рецептор системы комплемента 2 типа (C3d).
- г) CD19 – интегральный мембранный гликопротеид, образует комплекс с CD21 и ТАРА1 (CD81). Экспрессирован на всех В-клетках, начиная с про-В-лимфоцитов. Отсутствует на плазмацитах.
- д) CD81 (ТАРА) – принадлежит к семейству ТМ4 (одноцепочечные белки с четырьмя трансмембранными доменами), является корецептором ВКР.
- е) CD45 – мембран-ассоциированная фосфатаза. Она дефосфорилирует тирозиновые фосфатазы, связанные с ВКР и ассоциированными молекулами. Т.о. CD45 приводит сигнальную систему в состояние готовности и регулирует ее активность. Различные изоформы CD45 (в основном, CD45RA) присутствуют на всех В клетках.
- ж) CD40 – гликозилированный фосфопротеин, член суперсемейства рецептора фактора некроза опухолей (РФНО). Необходим для активации В клеток, отмены активационного апоптоза и переключения изотипа антител.

#### Б. Молекулы, предназначенные для контактного межклеточного взаимодействия и презентации антигена Т-лимфоцитам

- а) CD40 – CD154 (CD40L) – наиболее мощный костимуляторный сигнал для В-клеток
- б) CD80, CD86 – CD28, СТLА – взаимная костимуляция Т и В клеток (важнейший костимулятор для Т-клеток)
- в) CD72 – CD5 – адгезия Т и В клеток, стимуляция пролиферации В клеток
- г) CD54 (ICAM1) – LFA1(CD11a/CD18) адгезия, костимуляция
- д) CD58(LFA3) – CD2 адгезия, костимуляция
- е) молекулы ГКГС II типа – CD4 – рестрикция иммунного ответа

#### В. Молекулы для дистантного взаимодействия

- а) рецептор для ИЛ2 – CD25, CD122, CD132
- б) рецептор для ИЛ4 – CD124, CD132
- в) рецептор для ИЛ5 – CD125, CD131
- г) рецептор для ИЛ6 – CD126, CD130
- д) рецептор для ИФН-гамма – CD119
- е) рецептор для ИЛ1 – CD121.
- ж) рецептор для ФНО-альфа – CD120.

### Регуляция изотипа антител цитокинами Т-лимфоцитов

Цитокин	IgG1	IgG2a	IgG2b	IgG3	IgA	IgE	IgM
<i>IL-4</i>							
<i>IL-5</i>					↑ продукцию		
<i>IFN-gamma</i>							
<i>TGF-beta</i>							
Цитокины могут стимулировать (серый) или угнетать (черный) переключение на указанный изотип.							

#### Г. Маркеры активации

- а) CD25, а также экспрессия других высокоаффинных рецепторов к цитокинам
- б) CD69 – передача сигнала о пролиферации
- в) CD71 – рецептор для трансферрина, важен для пролиферации
- г) CD23 – низкоаффинный рецептор для Fc фрагмента IgE II типа, необходим для клеточного деления.
- д) Гиперэкспрессия молекул ГКГС II типа
- е) CD30 – передача сигнала о пролиферации/ апоптозе (лиганд – CD153)

#### Д. Другие важные молекулы

- CD32 – рецептор к Fc фрагменту IgG II типа – при связывании передает отрицательный сигнал (угнетает активацию).
- CD5 – молекула из семейства скавенжер-подобных рецепторов. Ассоциирована с ВКР, возможно, помогает распознавать/активирует В клетки I типа.
- CD49 – опосредует взаимодействие с внеклеточным матриксом.
- CD24 – участвует в костимуляции и активации В лимфоцитов.
- CD35 – рецептор для комплемента I типа (C3в).



## 2. Субпопуляции В-лимфоцитов

Признак	В-1 лимфоциты	В-2 лимфоциты
Происхождение	Отдельная СК-предшественник; покидает ККМ в раннем онтогенезе	ККМ, общая СК-предшественник
Место обитания	Прибарьерные полости (плевральная, брюшная) и др.	ККМ, периферические органы иммунной системы
Специфичность	Общие структуры микробов (сигналы инфекционного чужого), невариабельные участки иммуноглобулинов, ТКР, HLA I антигены, Fc-рецепторы, молекулы межклеточной адгезии и др.	Практически неограниченная специфичность (до $10^{16}$ вариантов), молекулы любого происхождения, эволюционный отбор не выражен
Изотип	Преимущественно IgM	Любой
Функция	Синтез нормальных (естественных) антител; быстрый ответ на распространенные микробные патогены; удаление апоптических клеток; поддержание тонуса иммунной системы; поддержание гомеостаза иммунной системы	Все известные функции В-лимфоцитов

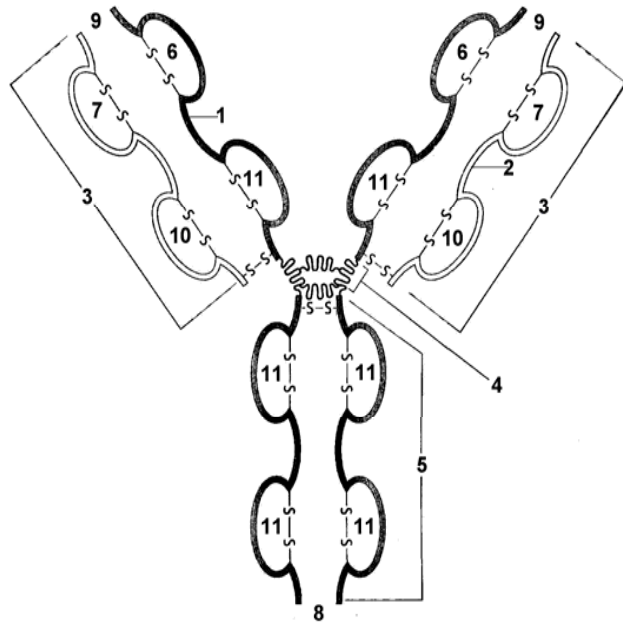


Рис. 11. Строение молекулы иммуноглобулина.

**Впишите цифры, обозначающие элементы молекулы иммуноглобулина, представленного на схеме слева**

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	

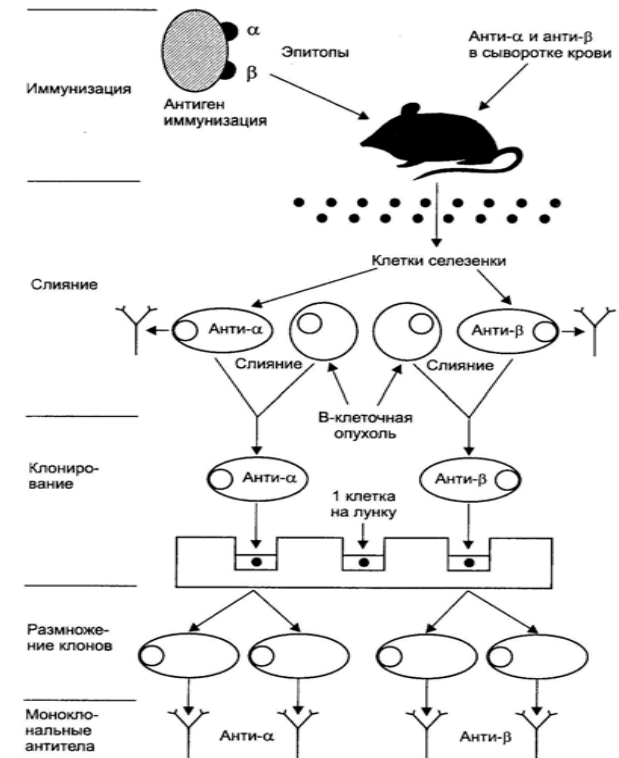

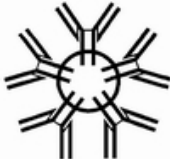
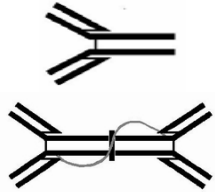
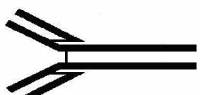



Рис. 12. Получение моноклональных АТ.

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 противoinфекционной 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 цитотропность. 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__

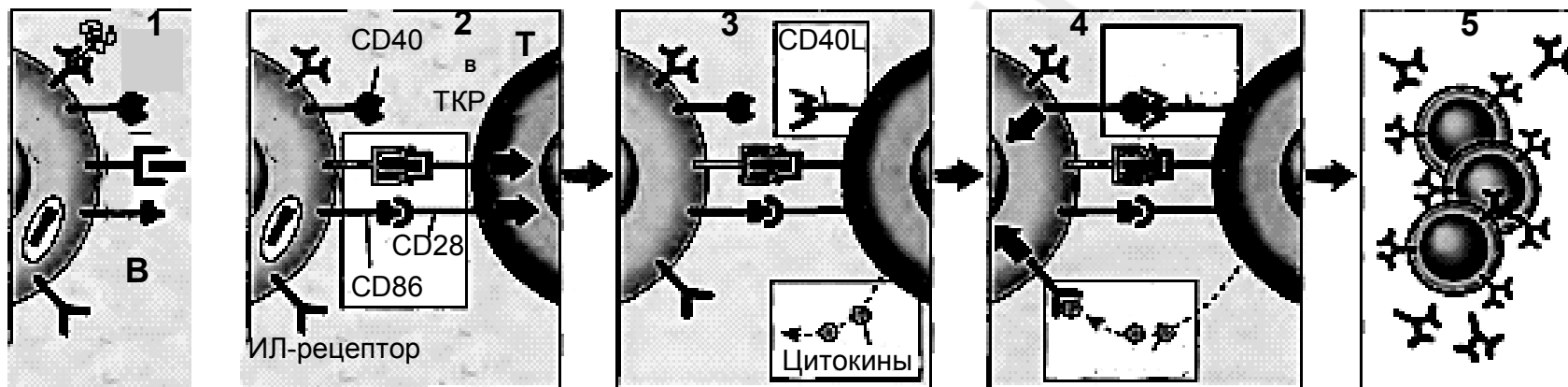
### Схема развития ГИО (первичный иммунный ответ)

Локализация	Этапы
<b>I. Индукция Т-эффекторов (хелперов)</b>	
Ткани	1. Антиген (белки, бактерии) захватывается АПК (клетки Лангерганса), процессируется и транспортируется в регионарные лимфоузлы.
Вторичные лимфоидные органы	2. АПК процессируют и презентуют антигены по эндосомному пути CD4+ наивным Т-лимфоцитам. 3. Т-лимфоциты активируются, пролиферируют и дифференцируются в эффекторные клетки (Th1, Th2, Th3, Tr1, Tr2, CD4+CD25+ и др).

## II. Индукция В-эффекторов (плазматиков)

**Ткани**

1. Антиген захватывается фолликулярными ДК и транспортируется во вторичные лимфоидные органы (лимфоузлы, пейеровы бляшки и др.). Антиген не процессируется, сохраняется на мембране (например, в составе иммунных комплексов) в течение длительного времени (до года и более).



1. В-лимфоцит захватывает антиген и презентует его в контексте ГКГС II типа, на его поверхности возрастает плотность CD86.
2. Т-эффектор получает активирующие сигналы (распознает антиген и костимулируется через CD28).
3. Активированный Т-эффектор экспрессирует CD40L (лиганд) и секретирует цитокины (ИЛ 4, 5, 6).
- 4-5. В-лимфоцит пролиферирует и дифференцируется в плазмоцит.

**Вторичные органы лимфоидной системы, красный костный мозг, кровь**

2. В-лимфоцит захватывает антиген, процессирует и презентует его Т-эффектору. Специфический эффектор активируется и активирует В-лимфоцит с помощью контактных (молекулы адгезии) и дистантных (цитокины) взаимодействий.
3. В-лимфоцит пролиферирует, выходит в кровь и перемещается во вторичные лимфатические органы и костный мозг.
4. В-лимфоциты превращаются в плазматичекие клетки и синтезируют иммуноглобулины в течение ограниченного времени (до 3 месяцев).
5. Отдельные В-лимфоциты возвращаются в состояние покоя и превращаются в клетки памяти.

## III. Реализация функции антител

## Занятие № 14.

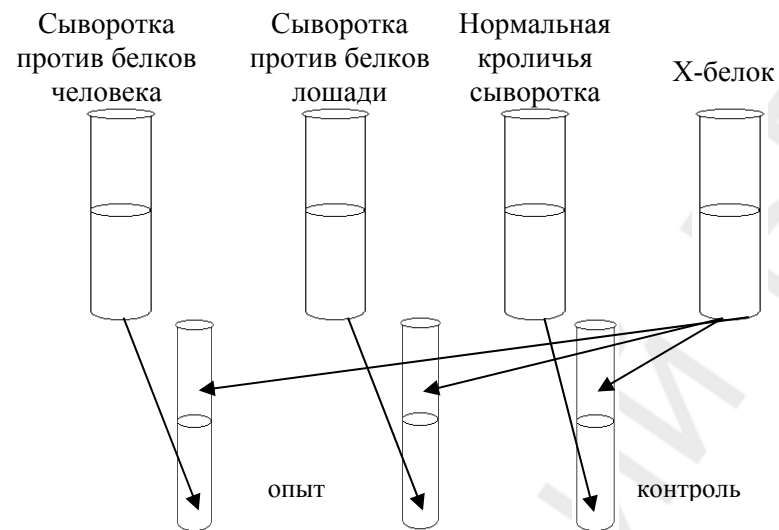
### Тема: Методы клинической и инфекционной иммунологии. Серологический метод исследования

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Серологический метод исследования, характеристика (см. методичку). Титр антител. Диагностический титр. Диагностикумы. Диагностические сыворотки.</p> <p>Реакция агглютинации (РА), пассивной гемагглютинации и обратной пассивной гемагглютинации (РПГА, РОПГА), латексагглютинации.</p> <p>Реакция преципитации. Варианты реакции преципитации: а) кольцепреципитации; б) двойной диффузии в агаре; в) простой радиальной иммунодиффузии в агаре по Манчини; г) иммуноэлектрофорез; д) встречный иммуноэлектрофорез.</p>	<p><b>Источники:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Материал лекции.</li> <li>2. [1], [4], [5], [6], [8] – (учебники),</li> <li>3. [2], [7] – (практикумы),</li> <li>4. [9], [13], [15], [16], [18], [19], [20] – (доп. литература).</li> </ol>
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

#### Лабораторная работа

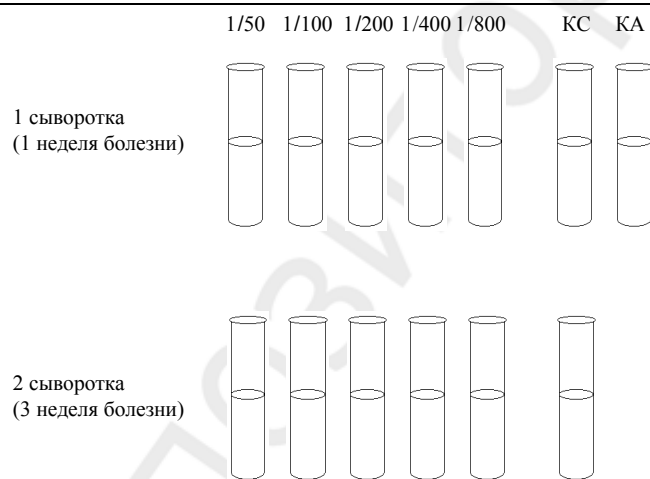
Задание	Методы, результаты														
<p>1. Поставить реакцию агглютинации на стекле для идентификации X-микроба.</p>	<div style="text-align: center;"> </div> <p style="text-align: right;">1. Сыворотка против <i>S. typhi</i>                  2. Сыворотка против <i>E. coli</i>                  3. Физ. раствор</p> <p style="text-align: right;">Закключение: X-микроб - _____</p>														
<p>2. Учесть реакцию пассивной гемагглютинации.</p>	<div style="text-align: center;"> <table style="margin: 0 auto; border: none;"> <tr> <td style="padding: 0 10px;">1/10</td> <td style="padding: 0 10px;">1/20</td> <td style="padding: 0 10px;">1/40</td> <td style="padding: 0 10px;">1/80</td> <td style="padding: 0 10px;">1/160</td> <td style="padding: 0 10px;">КС</td> <td style="padding: 0 10px;">КА</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">○</td> <td style="text-align: center;">○</td> <td style="text-align: center;">○</td> <td style="text-align: center;">○</td> <td style="text-align: center;">○</td> <td style="text-align: center;">○</td> <td style="text-align: center;">○</td> </tr> </table> <p>Закключение: _____</p> </div>	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	КС	КА	○	○	○	○	○	○	○
1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	КС	КА									
○	○	○	○	○	○	○									

3. Поставить реакцию кольце-преципитации для идентификации X-антигена



Заключение: \_\_\_\_\_

4. Учесть реакцию агглютинации в пробирках с парными сыворотками, оценить динамику титра антител.



Заключение: \_\_\_\_\_

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

## 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 компонента	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
Иммуноблот	Высокая (подтверждающий метод, определение антител к нескольким индивидуальным антигенам)	$10^{-7}$ - $10^{-9}$ , то же

### 2. Схема постановки развернутой реакции агглютинации в пробирках

А. Произвести раскапывание реагентов согласно таблице:

- расставить и пронумеровать агглютинационные пробирки
- раскапать физраствор
- внести сыворотку больного в первую, вторую и седьмую (контроль) пробирки. Далее перемешать содержимое второй пробирки и перенести 0,5 мл содержимого в следующую, каждый раз меняя пипетку (наконечник дозатора). Из пятой пробирки после перемешивания удалить 0,5 мл жидкости;
- внести по 0,5 мл стандартного диагностикума в каждую пробирку;
- энергично встряхнуть и поместить в термостат при  $37^{\circ}\text{C}$  на 2 часа;
- произвести предварительный учет результатов;
- оставить пробирки на 18-20 часов при комнатной температуре ( $20-25^{\circ}\text{C}$ );
- произвести окончательный учет результатов реакции.

#### Схема постановки реакции агглютинации

Реагенты	1	2	3	4	5	6	7
	Физ.раствор	1/50	1/100	1/200	1/400	1/800	КА
Сыв.больного	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Диагностикум	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	—
Инкубация 2 часа при $37^{\circ}\text{C}$							
Учет							
Инкубация 18-20 часов при $20-25^{\circ}\text{C}$							
Учет							

Б. Учет результатов реакции проводят по плюсовой системе:

- ++++ выраженный осадок, мелкодисперсная (пылевидная) взвесь антигена отсутствует;
- +++ выраженный осадок, незначительное количество взвеси антигена
- ++ присутствует осадок и достаточно плотная пылевидная взвесь антигена
- + незначительный осадок, выраженная плотная взвесь антигена
- отсутствие осадка, пылевидная взвесь антигена (идентичная контролю антигена)

В. В зависимости от природы антигена различают:

- крупнохлопчатый рыхлый осадок, образующийся при агглютинации бактерий сывороткой против жгутиковых антигенов (обычно выпадает уже через 2 часа инкубации);
- мелкозернистый осадок, образующийся при агглютинации бактерий сывороткой против соматических антигенов (окончательно формируется через 18-20 часов инкубации).

### Занятие № 15.

#### Тема: Методы клинической и инфекционной иммунологии. Серологический метод исследования.

**Перечень изучаемых вопросов:** Серологический метод исследования, характеристика.

Реакции иммунного лизиса, применение. Реакция связывания комплемента: характеристика ингредиентов, постановка, учёт, оценка.

Реакция иммунофлюоресценции (РИФ). Прямой и непрямой варианты. Иммуноферментный анализ (ИФА).

Радиоиммунный анализ (РИА).

**Источники:**

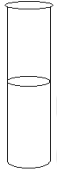
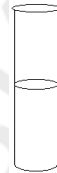
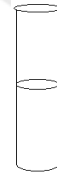

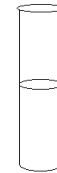
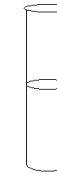

1. Материал лекции.
2. [1], [4], [5], [6], [8] – (учебники),
3. [2], [7] – (практикумы),
4. [9], [13], [15], [16], [18], [19], [20] – (доп. лит.).

#### Лабораторная работа

##### Задание

1. Постановка и учёт результатов реакции связывания комплемента (РСК)

##### Методы, результаты

Реагенты	1	2	3	4	5	КС	КА	Гем. система:
	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160			
Физ. р-р	-	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	4 мл 3% взвеси эритроцитов + 4 мл гем. сы-воротки
Сыворотка обследуемого	0,5	-	-	-	-	0,5	-	
Диагностикум	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	-	0,5	
Комплемент	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	
Инкубация 30 минут при 37°C								
Гем. система	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	
Инкубация 30 минут при 37°C								
Учет								

Заключение: \_\_\_\_\_

2. Поставить и учесть ИФА для определения HBs-антигена в донорской сыворотке:  
 а) раскапать конъюгат по 50 мкл в каждую лунку;  
 б) раскапать контроли и образцы по 100 мкл согласно карте постановки;  
 в) инкубировать 1 час при 37° С;  
 г) промыть стрип 5 раз;  
 д) раскапать хромоген по 100 мкл в каждую лунку;  
 е) инкубировать 30 минут при 37° С;  
 ж) раскапать стоп-реагент по 50 мкл в каждую лунку;  
 з) учесть ИФА на ридере, распечатать результаты;  
 и) заполнить протокол постановки, провести оценку верности анализа и интерпретацию результатов.

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

1. Дата постановки
2. ФИО лаборанта
3. Карта постановки

	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											

4. Оценка достоверности теста:
  - а) ОП отрицательных контролей (ОПК<sup>-</sup>) < 0,15  
ОПК<sup>-</sup> =
  - б) ОПК<sup>-</sup> должны находиться в пределах от 0,6 до 1,4 средней ОПК<sup>-</sup>  
средняя ОПК<sup>-</sup> =  
0,6 средней ОПК<sup>-</sup> =  
1,4 средней ОПК<sup>-</sup> =
  - в) ОП положительного контроля (ОПК<sup>+</sup>) должна превышать среднюю ОПК<sup>-</sup> более чем в 4 раза:  
ОПК<sup>+</sup>/ средняя ОПК<sup>-</sup> =
  - г) значение ОП слабоположительного контроля должно превышать уровень cut-off
5. Расчет уровня cut-off:  
ОП cut-off = средняя ОПК<sup>-</sup> + 0,04
6. Интерпретация результатов:

Номер образца	ОП образца	Заключение
1		
2		
3		
4		

Врач-лаборант

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_



## 1. Упрощенная схема постановки ИФА\* для диагностики гепатита В (тест-система D-0556 для обнаружения HBs-Ag, ВЕКТОР-БЕСТ, РФ).

### А. Подготовка растворов

1. Промывочный раствор: 1 мл концентрата ФСБ-Т (фосфатно-солевой буфер с твином)+24 мл дист. воды.
2. Слабоположительный контроль: к содержимому пробирки добавить 500 мкл дист. воды, перемешать 5 мин.
3. Раствор конъюгата: 50 мкл конъюгата развести в 500 мкл буфера для разведения конъюгата.
4. Раствор хромогена: 50 мкл концентрата ТМБ (тетраметил-бензидин) развести в 1 мл ЦФР (цитратно-фосфатный буфер с перекисью водорода).

### Б. Проведение ИФА

1. Вынуть из упаковки 1 стрип (полоска с 8 лунками) и установить в рамку-держатель.
2. Внести в лунки стрипа контроли и образцы по 100 мкл согласно схеме.
3. Внести во все лунки по 50 мкл раствора конъюгата
4. Заклеить стрип пленкой и инкубировать при 37° С 2 часа.
5. Удалить содержимое лунок в емкость с дезинфектантом (6% перекись водорода).
6. Промыть лунки стрипа 5 раз промывочным раствором (полностью заполнить каждую лунку раствором (300 мкл), выдержать 30 секунд, стряхнуть содержимое, постучать опрокинутым стрипом по фильтровальной бумаге для полного удаления раствора).
7. Промыть 1 раз дист.водой и высушить на воздухе 5 минут.
8. Внести в каждую лунку по 100 мкл раствора хромогена.
9. Инкубировать в темном месте при 20-25° С (комнатная температура) 25 минут.
10. Остановить реакцию добавлением 100 мкл стоп-реагента.

### В. Регистрация результатов

Результаты учесть на планшетном фотометре (ИФА-ридере). Длина волны основного фильтра = 450 нм; референс-фильтра = 620-650 нм.

### Г. Верность анализа и критическое значение оптической плотности

1. Оптическая плотность (ОП) отр.контроля (К-) <0,15
2. Значения ОП К<sup>-</sup> должны находиться в пределах 0,6xСредняя ОП К<sup>-</sup> – 1,4xСредняя ОП К<sup>-</sup>
3. Среднее значение ОП К+ > 4xСредняя ОП К<sup>-</sup>
4. Критическое значение ОП = Средняя ОП К+ + 0,04
5. ОП слабоположительного контроля > критическое значение ОП.

### Д. Пример расчета показателей верности анализа и критической ОП

1. Данные анализа: ОП К<sup>-</sup>: 0,070; 0,060;  
Средняя ОП К<sup>-</sup> = 0,065  
ОП К+: 1,8;  
ОП слабоположительного контроля = 0,165
2. Показатели верности  
ОП К<sup>-</sup> <0,15  
ОП К<sup>-</sup> лежит в пределах 0,6x0,065 = 0,039 – 1,4x0,065 = 0,091  
ОП К+/ОП К<sup>-</sup> = 1,8/0,065 = 27,7 >4  
ОП слабоположительного контроля 0,165 >критического значения ОП 0,105
3. Критическое значение ОП  
ОП крит. = 0,065 + 0,04 = 0,105

### Е. Интерпретация данных анализа

Отрицательными (не содержащими HBs-Ag) считаются образцы, ОП которых меньше критического значения ОП.

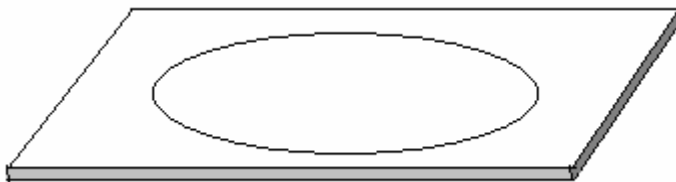
Положительными (содержащими HBs-Ag) считаются образцы, ОП которых равна или превышает критическое значение ОП. Такие образцы следует тестировать повторно и подтверждать специфичность реакции в тесте с блокирующей (анти-HBs-сывороткой).

\* приготовление растворов приводится из расчета на 1 стрип.

Титр антител – \_\_\_\_\_  
Диагностический титр антител – \_\_\_\_\_  
Диагностикум – \_\_\_\_\_  
Диагностическая сыворотка – \_\_\_\_\_

### Схема реакции иммунофлуоресценции (РИФ)

Прямой вариант



Непрямой вариант



(нарисуйте)

## Занятие № 16.

### . Тема: Методы клинической и инфекционной иммунологии. Клеточный иммунный ответ. Аллергия.

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Клеточный тип иммунного ответа и его проявления. Т-система лимфоцитов. Маркёры Т-клеток. Т-клеточный рецептор (ТКР). Генетический контроль разнообразия ТКР.</p> <p>Характеристика субпопуляций Т-лимфоцитов: хелперов, киллеров, эффекторов ГЗТ, регуляторов. Т-хелперы 1-го и 2-го типов.</p> <p>Методы оценки Т-системы лимфоцитов: количественные и функциональные тесты.</p> <p>Аллергия, стадии, типы аллергических реакций. Механизмы ГНТ: медиаторный (I тип), цитотоксический (II тип), иммунокомплексный (III тип). Механизмы ГЗТ (IV тип). Лекарственная аллергия.</p> <p>Методы диагностики аллергических состояний.</p>	<p><b>Источники:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Материал лекции.</li> <li>2. [1], [4], [5], [6], [8] – (учебники),</li> <li>3. [2], [7] – (практикумы),</li> <li>4. [9], [13], [15], [16], [18], [19], [20] – (доп. лит.).</li> </ol>
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

#### Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты	
<p>1. Определить количественное содержание CD3+ Т-лимфоцитов методом иммунных розеток в готовых препаратах.</p>	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: 45%;"> <p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p> </div> <div style="width: 45%; text-align: center;">  </div> </div>	
<p><b>Зарисовать демонстрационные препараты:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Е-РОК для определения Т-лимфоцитов.</li> <li>2. Реакция бласттрансформации лимфоцитов.</li> <li>3. Реакция дегрануляции тучных клеток.</li> </ol>	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: 45%;"> <p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p> </div> <div style="width: 45%; text-align: center;">  </div>	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: 45%;"> <p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p> </div> <div style="width: 45%; text-align: center;">  </div>

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

#### Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 16.

##### Классы иммуноглобулинов, синтезируемые на стадии сенсибилизации разных типов ГНТ

Типы ГНТ	Классы иммуноглобулинов
I ТИП	
II ТИП	
III ТИП	

<b>1. Рецепторы и маркеры Т-клеток.</b>	<b>Костимуляторные молекулы.</b> Необходимы для развития как гуморального, так и
-----------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------

#### Основные маркеры Т-лимфоцитов:

CD2 – рецептор к эритроцитам барана, молекула адгезии (лиганд - CD58)

CD3 – корецептор ТКР (см. ниже)

#### Молекулы, вовлеченные в распознавание антигена:

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

В настоящее время обнаружены две разновидности ТКР:

■ около 95% Т-клеток периферической крови несут на поверхности ТКР второго типа, состоящий из альфа-бета цепей. Эти клетки отвечают за все известные функции лимфоцитов, циркулируют в тканях и периферической крови, заселяют лимфоузлы;

■ оставшиеся 5% лимфоцитов экспрессируют ТКР первого типа, состоящий из цепей гамма-дельта. Такие лимфоциты первыми появляются в онтогенезе, обнаруживаются в коже и слизистых специфические функции неизвестны. Такие лимфоциты имеются у всех животных в небольших количествах, в основном представляют собой CD8+ клетки. Как и другие лимфоциты, они продуцируют широкий спектр цитокинов, обладают цитотоксичностью, хорошо отвечают на внутриклеточные антигены.

#### Ко-рецепторы:

Молекулы ТКР ассоциированы с молекулами **CD3 и CD4/CD8**. CD3 - комплексная молекула – гетерополимер, состоящий как минимум из пяти полипептидных цепей (гамма, дельта, эпсилон, зетта), которые расположены на мембране как единый кластер, распознаются моноклональными антителами как CD3 специфичность и участвуют в передаче сигнала о распознавании и связывании антигена.

Корецепторы **CD4 и CD8** тесно связаны с ТКР и распознают свои молекулы гистосовместимости соответственно II и I классов. Эти рецепторы экспрессируются в соответствии с функцией лимфоцитов (субпопуляционной принадлежностью) и обеспечивают рестрикцию распознавания Т-лимфоцитов, поскольку антигены, ассоциированные с молекулами ГКГС II типа это продукты переработки экзоантигенов, а ассоциированные с молекулами ГКГС I типа – это продукты переработки эндоантигенов (антигенов, синтезированных внутри клетки).

**Молекулы адгезии.** Молекулы адгезии обеспечивают контактное взаимодействие клеток, а также облегчают/усиливают передачу сигнала с ТКР. Основные молекулы – CD2 (рецептор к эритроцитам барана, LFA2) - LFA3 (CD58); LFA1 (гетеродимер CD11a и CD18) - ICAM-1(CD54); VLA4 (гетеродимер CD49/CD29) – VCAM (CD106); CD43 – ICAM-1 (CD54). Дефект взаимодействия посредством молекул адгезии приводит к отсутствию иммунного ответа.

клеточного ответа. Их роль заключается в усилении сигнала активации Т-лимфоцитов и отсрочка/отмена срабатывания механизмов апоптоза. Основные пары рецептор-лиганд: CD2 – LFA3; LFA-1 – ICAM-1; CD40 – CD40; CD5 – CD72; CD24 – CD24; CD28 – B7.1 (CD80); CD28 – B7.2 (CD86); CTLA-4 – B7.1 (CD80); CTLA-4 – B7.2 (CD86). Дефект взаимодействия по костимуляторным молекулам приводит к анергии Т (В) лимфоцитов и их апоптозу. Необходимо выделить пару рецепторов **CD28** и **CTLA-4**, регулирующих интенсивность иммунного ответа. CTLA-4 – высокоаффинный рецептор с негативной функцией. В условиях низкой активности иммунного взаимодействия (слабая активность АПК, непрофессиональные АПК) и слабой экспрессии молекулы B7 преимущественная активация CTLA-4 приводит к угнетению ответа. В случае значительной экспрессии B7 активируются низкоаффинные рецепторы CD28 с позитивной функцией, что обеспечивает развитие полноценного ответа. Активация Т-лимфоцитов приводит к повышению экспрессии молекул CTLA-4 на их поверхности, что ограничивает активацию и пролиферацию специфических лимфоцитов.

#### Маркеры активации:

CD69 – гликопротеид ранней активации (функции не установлены)

CD25 – альфа цепь рецептора к ИЛ2

CD71 – рецептор к трансферрину

CD95 – рецептор активационно-индуцируемого апоптоза

HLA-II – антигены гистосовместимости второго типа

#### Молекулы для дистантного взаимодействия

CD25/122/132 – альфа, бета и гамма цепи рецептора к ИЛ2

CD121 – рецептор к ИЛ1

CD117 – рецептор к фактору роста стволовых клеток

CD124/132 – рецептор к ИЛ4

CD127/132 – рецептор к ИЛ7

CD129/132 – рецептор к ИЛ9

Молекулы HLA

HLA I – конститутивные

HLA II – индуцибельные (после активации).

## 2. Т-лимфоциты с регуляторными функциями

**Т-хелперы 3** – открыты в 1994 г, субпопуляция T<sub>H</sub>, обнаружены в мезентериальных л/у, продуцируют много трансформирующего фактора роста бета и переменные количества ИЛ4 и ИЛ10.

**Трегуляторы 1 и 2** открыты в 1997 г. Это субпопуляции CD4+ клеток, вырабатывающая много ИЛ10, а также немного ИЛ2 и ИЛ4.

**CD4+CD25+** лимфоциты описаны в 1995 г. Свое действие реализуют контактно, через костимуляторную молекулу CTLA, или дистантно, через синтез большого количества ТФР-бета.

**Естественные киллеры с ТКР (ЕКТ)**-клетки описаны как активные регуляторы иммунных реакций в последние годы (с 1998). Характерной особенностью является экспрессия инвариантного ТКР и маркеров ЕК. Способны быстро синтезировать ИЛ4 или IFN-γ, и, таким образом, регулировать направление (и силу) иммунного ответа.

## 3. Схема развития КИО (первичный иммунный ответ)

Локализация	Этапы
<b>I. Индукция CD4+ Т-эффекторов</b>	
Ткани	1. Антиген (белки, бактерии) захватывается АПК (клетки Лангерганса), процессируется и транспортируется в регионарные лимфоузлы.
Вторичные лимфоидные органы	<p>2. АПК процессируют и презентуют антигены по эндосомному пути CD4+ наивным Т-лимфоцитам.</p> <div data-bbox="734 316 1729 842" style="text-align: center;"> </div> <p>3. Т-лимфоциты активируются, пролиферируют и дифференцируются в CD4+ _эффекторные клетки (Th1, Th2, Th3, Tr1, Tr2, CD4+CD25+ и др.):</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>Т-лимфоцит и АПК сближаются (LFA1+ICAM1 и др.);</li> <li>Происходит распознавание антигена (TKP+ ГКГС II-Ag);</li> <li>Происходит коstimуляция (CD28 – CD80, 86);</li> <li>на Т-клетках появляется альфа цепь ИЛ2-рецептора (формируется полный ИЛ2Р) и начинается синтез ИЛ2; после стимуляции ИЛ2 лимфоцит начинает пролиферировать;</li> <li>дифференцировка в Th1 происходит под влиянием ИЛ12, выделяемого АПК. Этому способствуют внешние цитокины – ИФН-гамма; дифференцировка в Th2 происходит по умолчанию. Этому способствует внешний ИЛ4; дифференцировка в Th3 в лабораторных условиях происходит под влиянием больших количеств ИЛ10 и/или ТФР-бета;</li> <li>зрелые Т-эффекторы поступают в циркуляцию.</li> </ol>
Кровь, ткани, вторичные лимфоидные органы	<p>4. Т-эффекторы характеризуются:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>способностью активироваться при взаимодействии с непрофессиональными АПК;</li> <li>способностью синтезировать различные цитокины (различного профиля);</li> <li>способностью к рециркуляции в определенных тканях в нормальных условиях (кожа, слизистые респираторного, желудочно-кишечного, моче-полового трактов, полостей и т.д.);</li> <li>способностью выходить в любые ткани при воспалении;</li> <li>быстрой гибелью от апоптоза без активации;</li> <li>отсроченным апоптозом при активации (в течение короткого времени);</li> <li>способностью переходить в состояние покоя (клетки памяти, незначительное количество).</li> </ol>

	<p>5. CD4+ Т-эффекторы отличаются, т.е. могут быть идентифицированы по:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>а) набору адресных молекул для миграции в определенные ткани;</li> <li>б) спектру синтезируемых цитокинов;</li> <li>в) набору рецепторов для хемокинов;</li> <li>г) набору молекул контактного взаимодействия.</li> </ul>	
	<p>6. CD4+ Т-эффекторы выполняют функции:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>а) Т-хелперов: <ul style="list-style-type: none"> <li>помощь В-лимфоцитам в синтезе антител:</li> <li>активация и пролиферация В-лимфоцитов (ИЛ6, 2);</li> <li>переключение изотипа иммуноглобулинов, дифференцировка в плазматциты)</li> <li>помощь наивным CD8+ Т-лимфоцитам:</li> <li>активация и пролиферация (ИЛ2)</li> <li>дифференцировка</li> </ul> </li> <li>б) Т-эффекторов ГЗТ: выделение цитокинов (провоспалительные цитокины, хемокины, противовоспалительные цитокины, факторы роста сосудов, фибробластов)</li> <li>в) Т-регуляторов: выделение супрессорных цитокинов ИЛ10, ТФР-бета, контактная супрессия;</li> <li>г) Т-киллеров (незначительная часть): киллинг клеток мишеней путем апоптоза при герпетических инфекциях.</li> </ul>	
<p><b>II. Индукция CD8+ Т-эффекторов</b></p>		
<p><b>Ткани, вторичные органы лимфоидной системы, кровь, ткани</b></p>	<p>1. <b>Индукция CD4+ Т-эффекторов</b> (см. выше).</p> <p>2. <b>АПК захватывают антиген и транспортируют его во вторичные лимфоидные органы (лимфоузлы):</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>а) АПК инфицируются вирусами (маловероятно);</li> <li>б) АПК захватывают клетки, погибшие от внутриклеточной инфекции, опухолевые клетки, клетки трансплантата и т.д. путем фагоцитоза, а также молекулы белков путем макропиноцитоза.</li> </ul>	
	<p>3. АПК презентуют антиген CD8+ наивным Т-лимфоцитам <b>по цитоплазматическому пути:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>а) АПК презентуют захваченные антигены по цитоплазматическому пути благодаря <b>механизму перекрестной презентации</b> (т.е. происходит передача антигенов из эндосомного пути в цитоплазматический);</li> <li>б) считается, что <b>наивный CD8+ Т-лимфоцит не обладает цитотоксичностью и не убивает АПК при первоначальной активации.</b></li> </ul>	
	<p>4. <b>CD8+ лимфоциты пролиферируют, дифференцируются, выходят в кровь и рециркулируют по организму</b> (см. выше п. 4):</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>а) CD8+ лимфоциты нуждаются в ИЛ2 от CD4+ Т-эффекторов;</li> <li>б) необходимость одновременной активации CD4+ и CD8+ лимфоцитов свидетельствует в пользу трехкомпонентной модели (АПК+Т-хелпер+Т-киллер) и перекрестной презентации.</li> </ul>	

5. CD8+ Т-эффекторы выполняют следующие функции:

а) **киллинг**. Активированные Т-киллеры не нуждаются в дополнительных сигналах и при распознавания антигена на клетке-мишени немедленно ее лизируют. Активированный Т-киллер способен лизировать несколько клеток-мишеней. Спустя короткое время Т-киллер подвергается апоптозу. Отдельные Т-киллеры возвращаются в состояние покоя и превращаются в **клетки памяти**;

б) **секреция цитокинов** (уступают CD4+ Т-эффекторам). Выделяют CD8+ Т-эффекторы I и II типов;

в) **регулирование иммунного ответа** (уничтожение АПК, синтез про- и противовоспалительных цитокинов).

#### 4. Некоторые тесты для диагностики аллергий:

##### 1. Общие положения

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, цетиризина за 96 ч, а астемизола за 4 недели до исследования. Теофиллин, адrenomиметики (ингаляционные и для приема внутрь), препараты из группы кромолина натрия не влияют на кожную чувствительность. Единого мнения о влиянии ингаляционных кортикостероидов 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 обезжиривают 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.

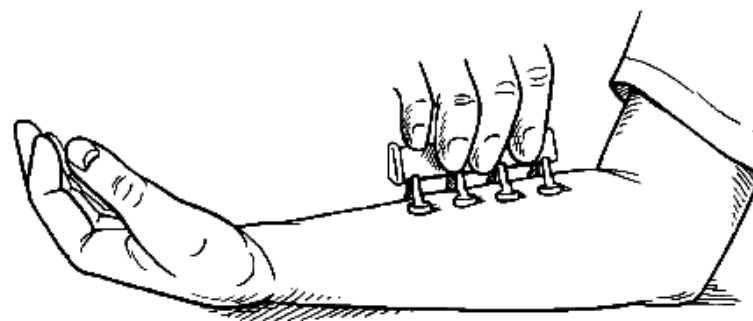


Рис. 13. Постановка прик-тестов с помощью одноразового аппликатора (+ контроль, - контроль и 6 аллергенов)

##### 3. Критерии оценки prick-тестов

Результат реакции	Условные обозначения	Описание реакции
Отрицательный	–	Размеры, как в контроле с разводящей жидкостью
Слабopоложительный	+	Волдырь диаметром 3–5 мм с гиперемией до 10 мм, замечен только при натягивании кожи
Положительный	++	Волдырь диаметром 5–10 мм, окруженный зоной гиперемии, диаметром 5–10 мм
Резко положительный	+++	Волдырь диаметром 10–15 мм, окруженный зоной гиперемии, диаметром более 10 мм
	++++	Волдырь диаметром более 15 мм, с псевдоподиями, гиперемия диаметром более 20 мм
Сомнительный	±	Наличие гиперемии без волдыря

##### 4. Достоинства и недостатки прик-тестов

Достоинства:

1. Легко выполняемы
2. Безопасны

##### 5. Ошибки при диагностике аллергии с помощью кожных тестов:

А. Ложно-отрицательные 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.);

<p>3. Безболезненны 4. Недороги 5. Высоко специфичны Недостатки: относительно невысокая чувствительность (в 10-100 раз по сравнению со скарификационными и внутрикожными тестами).</p>	<p>5) 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. Ложно-положительные 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.</p>
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

### Некоторые 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 конъюгат, который сорбирует на себе специфические по отношению к использованному аллергену антитела класса Е. После отмывания этот конъюгат обрабатывается меченой радиоактивным изотопом (I125) сывороткой, содержащей антитела против человеческого IgE. В дальнейшем с помощью гамма-счетчика оценивается степень радиоактивности этого конъюгата 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 конъюгаты 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 тесте, однако в качестве индикатора реакции используются фотореагенты, 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.

Согласно ВОЗ 1МЕ/мл (МЕ – международная единица) соответствует 2.4 нг. Обычно концентрация IgE выражается в МЕ/мл или кЕ/л (кЕ – килоединица).

Содержание IgE в сыворотке крови здоровых		Полуколичественная оценка специфических IgE (по классам)		
Возрастная группа	Содержание IgE (кЕ/л)	Класс	Трактовка	Уровень IgE
Новорожденные	0–2	0	реакция отрицательная	Не определяется
Дети: 3–6 месяцев	3–10	1		реакция сомнительная
1 год	8–20	2	Умеренный	
5 лет	10–50	3		
10 лет	15–60	4	реакция положительная	Очень высокий
Взрослые	20–100	5		Сверхвысокий

Уровень общего IgE должен определяться только количественно и выражается в кЕ/л. Уровень специфического IgE к пыльцевым, бытовым и пищевым аллергенам определяется количественно (в кЕ/л) или полуколичественно. В последнем случае результат оценивается в классах от 0 до 5. Каждый класс имеет соответствующую клиническую трактовку.

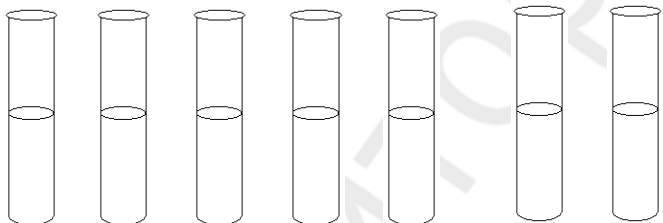
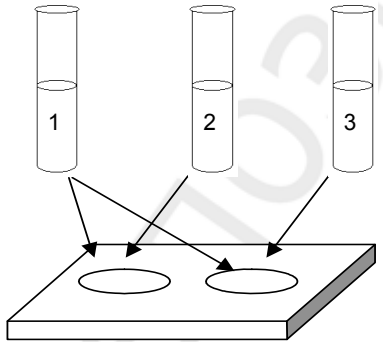
Для определения специфического IgE предлагаются коммерческие тест-системы для большого перечня пыльцевых, бытовых, пищевых, лекарственных и профессиональных аллергенов. Определить объем лабораторного обследования и составить перечень возможных причинно значимых аллергенов может врач-аллерголог (иммунолог), 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 № 17.

### Тема: Иммунопрофилактика и иммунотерапия. Методы оценки поствакцинального иммунитета.

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Иммунопрофилактика и иммунотерапия.</p> <p>Вакцины, виды, требования, предъявляемые к вакцинам. Поствакцинальный иммунитет, факторы, влияющие на его формирование. Первичный и вторичный иммунный ответ. Бустерная реакция. Методы оценки поствакцинального иммунитета. Пассивная иммунопрофилактика. Иммунные сыворотки и сывороточные препараты. Способы получения, применение.</p> <p>Клиническая иммунология: определение, задачи. Иммунный статус организма. 1-й и 2-й уровни оценки иммунного статуса. Иммунограмма и её типы.</p> <p>Первичные и вторичные иммунодефициты.</p> <p>Аутоиммунные болезни. Причины возникновения, проявления. Аутоантитела, диагностическое значение, методы определения.</p> <p>Противоопухолевый иммунитет.</p> <p>Методы коррекции нарушений иммунного статуса. Иммуносупрессия. Иммуностимуляция. Иммуномодуляторы. Препараты тимуса, селезенки, костного мозга. Интерлейкины, интерфероны.</p>	<p><b>Источники:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Материал лекции.</li> <li>2. [1], [4], [5], [6], [8] – (учебники),</li> <li>3. [2], [7] – (практикумы),</li> <li>4. [9], [13], [15], [16], [18], [19], [20] – (доп. лит.).</li> </ol>
--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

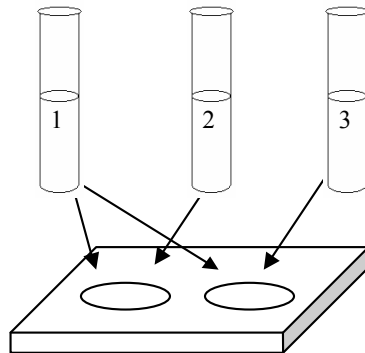
#### Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
<p>1. Учёт РА для определения напряжённости иммунитета к коклюшу</p>	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: flex-start;"> <div style="text-align: center;"> <p>1/50   1/100   1/200   1/400   1/800   КС   КА</p>  </div> <div style="margin-left: 20px;"> <p>Закключение: _____</p> </div> </div>
<p>2. Постановка и учет РПГА для определения ревматоидного фактора.</p> <p>Эритроцитарный диагностикум = 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>	<div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="margin-right: 20px;">  </div> <div> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Эритроцитарный д-к-ум ревматоидного фактора</li> <li>2. Сыворотка больного</li> <li>3. Физ. раствор</li> </ol> </div> </div> <p style="text-align: right; margin-top: 20px;">Закключение: _____</p>



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

Латексный диагностикум = микросферы латекса, покрытые молекулами тиреоглобулина

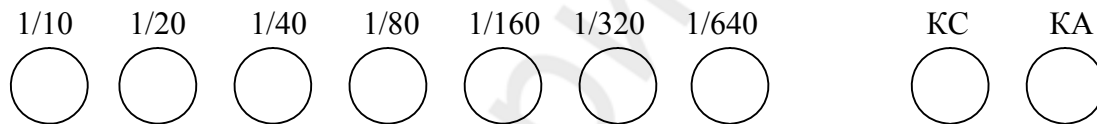


1. Латексный диагностикум
2. Сыворотка больного
3. Физ. раствор

Заключение: \_\_\_\_\_

### Демонстрация:

Учет РПГА для определения напряжённости противодифтерийного иммунитета.



Заключение: \_\_\_\_\_

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

### Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 17.

Постановка и учёт РПГА для оценки поствакцинального иммунитета к дифтерии

#### 1. Постановка

- а) расставить и пронумеровать агглютинационные пробирки
- б) раскапать физраствор
- в) внести сыворотку больного в первую, вторую и восьмую пробирки. Далее перемешать содержимое второй пробирки и перенести 0,5 мл содержимого в следующую, каждый раз меняя пипетку (наконечник дозатора). Из шестой пробирки после перемешивания удалить 0,5 мл жидкости;
- г) внести по 0,5 мл стандартного диагностикума в каждую пробирку;
- д) энергично встряхнуть и поместить в термостат при 37° С на 2 часа;
- е) произвести учет результатов.

#### Схема постановки РПГА

Реагенты	Пробирки (№, разведение)							Контроли	
	1 (1/10)	2 (1/20)	3 (1/40)	4 (1/80)	5 (1/160)	6 (1/320)	7 (1/640)	КС	КА
Физ. раствор		0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5		0,5
Сыв. б-го	0,5	0,5	-	-	-	-	-	0,5	-
Диагностикум	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	-	0,5
Инкубация 2 часа при 37° С (до оседания эритроцитов)									
Учет									

2. Учет результатов реакции проводят по плюсовой системе:

- ++++ агглютинированные эритроциты равномерно покрывают дно пробирки в виде бахромчатого «зонтика», скопление эритроцитов в центре пробирки отсутствует (при чрезмерной агглютинации края «зонтика» могут заворачиваться к центру, симулируя отрицательную реакцию);
- +++ выраженный «зонтик», незначительное скопление эритроцитов в центре пробирки;
- ++ слабовыраженный «зонтик», много эритроцитов в центре пробирки;
- ± незначительные элементы агглютинации, выраженный осадок эритроцитов;
- отсутствие агглютинации, плотный осадок эритроцитов в центральной зоне пробирки («пуговка»).

## 1. Новые виды вакцин:

<p><b>Векторные</b> Состоят из двух компонентов: А. Ген консервативного белка патогена, способного индуцировать протективный иммунный ответ Б. Собственно вектор: непатогенный (в идеале) микроорганизм, обеспечивающий продукцию и доставку нужного антигена в определенный компартмент организма, достаточно длительную персистенцию антигена и управляемое микроокружение для развития нужного типа иммунного ответа. В качестве перспективных векторов предложены:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- вирус осповакцины и все существующие аттенуированные противовирусные вакцины. Обеспечивают доставку антигена и презентацию его по цитоплазматическому пути (подходят для создания клеточного киллерного иммунного ответа); позволяют использовать Т-хелперный потенциал, выработанный в ходе предшествующей вакцинации вектором (решение проблемы низкой иммуногенности отдельных пептидов возбудителя);</li> <li>- БЦЖ: геном микобактерии позволяет разместить генноинженерные конструкции больших размеров; БЦЖ является сильным стимулятором клеточного иммунного ответа по типу ГЗТ;</li> <li>- Мутантные штаммы сальмонелл («идеальный» вариант для профилактики кишечных заболеваний): доставка антигена в лимфоидную ткань, ассоциированную с кишечником, стимуляция презентации по эндосомному пути, развитие контролируемого воспаления.</li> </ul> <p>Антиидиотипические: Представляют молекулы иммуноглобулинов, выработанные в ответ на антигена, специфичные к антигенам возбудителя. Позволяют преодолеть некоторые проблемы вакцинологии:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- токсичность некоторых вакцинных антигенов (коклюшная вакцина)</li> <li>- сложность или опасность производства антигенов возбудителя;</li> <li>- низкую иммуногенность полисахаридных и липидных антигенов некоторых возбудителей;</li> <li>- отсутствие иммунологической памяти при иммунизации указанными антигенами.</li> </ul>	<p><b>ДНК-вакцины («революция» вакцинологии).</b> В данном случае основой иммунизации является плазмидный материал. Плазмидная ДНК проникает в миоциты при внутримышечном введении, может быть введена в ткани путем бомбардирования частицами золота, покрытыми ДНК, или путем интраназального закапывания. Один микрограмм ДНК потенциально может содержать тысячу различных генов, кодирующих протективные антигены микроорганизмов.</p> <p><b>Преимущества ДНК-иммунизации</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Плазмиды легко изготавливаются в больших количествах</li> <li>2. ДНК является высокостабильной структурой</li> <li>3. ДНК устойчива в широком диапазоне температур</li> <li>4. Последовательность ДНК легко можно изменить, т.е. такая вакцина позволит гибко реагировать на возможные изменения микроорганизма.</li> <li>5. Использование ДНК-вакцинации позволяет иммунизировать антигенами полностью соответствующими естественным вирусным антигенам – они синтезируются внутриклеточно и проходят те же этапы посттрансляционной модификации в клетках человека (недостаток рекомбинантных вакцин).</li> <li>6. Для иммунизации можно использовать смеси плазмид, кодирующих различные протективные эпитопы одного или многих возбудителей.</li> <li>7. Плазмиды не размножаются и кодируют только нужные для иммунизации белки.</li> <li>8. Такие вакцины не содержат белков (антигенов) и не вызывают иммунного ответа к самим себе.</li> <li>9. Благодаря заведомой реализации цитоплазматического пути презентации антигена ДНК-вакцины вызывают образование Т-киллерного ответа против протективных антигенов. Такой ответ весьма важен для защиты от вирусных и бактериальных инфекций, вызываемых бактериями-внутриклеточными паразитами (микобактерии туберкулеза).</li> </ol> <p><b>Возможные проблемы</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Интеграция в геном хозяина и индукция соматических мутаций</li> <li>2. Возникновение аутоиммунных реакций (появление анти-ДНК-антител)</li> <li>3. Индукция иммунологической толерантности к конкретным антигенам.</li> </ol>
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

## 2. Серотерапия. Антисыворотки и иммуноглобулины

<i>По направленности</i>	
<p>Противоинфекционные:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Антимикробные</li> <li>• Антитоксические</li> <li>• Антивирусные</li> </ul>	<p>Для лечения неинфекционных заболеваний:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Антитоксические (против яда змей)</li> <li>• Антилимфоцитарные</li> <li>• Антицитокиновые</li> </ul>
<i>По происхождению</i>	
<p>Ксеногенные:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>сыворотки лошадиные:</b> противодифтерийная, противогангренозная, противоботулинические (поливалентная А+С+Е, моновалентные В и F), противостолбнячная, против яда кобры, эфы, поливалентная (против ядов гюрзы, кобры, эфы и каракурта) и др.</li> <li>• <b>Иммуноглобулины лошадиные:</b> противосинегнойный, антирабический и др.</li> <li>• <b>мышинные моноклональные антитела:</b> антилимфоцитарные (против отдельных CD), антицитокиновые и др.</li> <li>• <b>гибридные антитела</b> (мышинные F(ab)+человеческие Fc фрагменты):</li> <li>• против отдельных вирусов (PC);</li> <li>• против CD4 (терапия ревматоидного артрита, аутоиммунных заболеваний);</li> <li>• против цитокинов воспаления (ФНО-альфа) (терапия эндотоксинемического шока, аутоиммунных заболеваний);</li> <li>• против IgE (лечение тяжелых аллергий, бронхиальной астмы);</li> <li>• против отдельных хемокинов и рецепторов хоуминга (лечение органоспецифических аутоиммунных заболеваний); другие.</li> </ul>	<p>Аллогенные:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• донорская плазма, донорский нормальный иммуноглобулин (применяется для профилактики/лечения кори, гепатита А(Е), коклюша, менингококковой инфекции, полиомиелита).</li> <li>• Чигаин (препарат молозива, обогащенный IgA).</li> <li>• донорские гипериммунные иммуноглобулины:</li> <li>• антистафилококковый (донорский и плацентарный; применяют для лечения стафилококковой инфекции, резистентной к противомикробным препаратам);</li> <li>• противогепатитный (для профилактики гепатита В у новорожденных от матерей-носительниц HBs-Ag, а также в случаях вероятного инфицирования);</li> <li>• противогриппозный (для лечения токсических форм гриппа); противостолбнячный;</li> <li>• противовицевирусный (для лечения острой ЦМВ инфекции у недоношенных и грудных детей, лиц с первичными и вторичными ИДС, реципиентов трансплантатов).</li> <li>• иммуноглобулины для внутривенного введения (пентаглобин, октагам, сандоглобулин, интраглобин)</li> </ul>

## Занятие № 18.

### Итоговое занятие по теме: «Иммунология. Иммунитет. Аллергия». Зачет.

#### Перечень вопросов:

1. Иммунология, определение, задачи, методы. История развития иммунологии.
2. Иммунная система организма. Характеристика. Органы, иммунокомпетентные клетки.
3. Молекулы иммунной системы – CD-антигены, рецепторы, молекулы I, II, III классов ГКГС, адгезины, молекулы суперсемейства иммуноглобулинов.
4. Цитокины, определение, классификация, биологическая роль, клиническое использование. Хемокины.
5. Иммунитет, определение понятия, виды иммунитета. Факторы неиммунной и иммунной природы естественного (врожденного) иммунитета, характеристика.
6. Система комплемента, пути активации, функции, значение в противоинфекционной защите. Методы определения активности комплемента, показатели.
7. Фагоцитоз. Фагоциты. Стадии и исходы фагоцитоза (завершённый, незавершённый). Механизмы внутриклеточной бактерицидности. Хемотаксины, опсонины, происхождение и роль в противоинфекционном иммунитете.
8. Методы определения показателей фагоцитоза.
9. Механизмы распознавания в системе врожденного иммунитета. Рецепторы, распознающие структуры микробов. Toll-подобные рецепторы.
10. Антигенпрезентирующие клетки, дендритные клетки, функции, роль в индукции иммунного ответа. Естественные киллеры.
11. Иммунный ответ и факторы, определяющие его выраженность. Генетический контроль гуморального и клеточного иммунного ответа.
12. В-лимфоциты, развитие, основные маркеры. В-клеточный-рецептор. Методы определения содержания и функциональной активности В-лимфоцитов.
13. ГИО ответ, этапы. Отличительные черты первичного и вторичного иммунного ответа.
14. Антигены: структура, классификация, характеристика.
15. Антигенная структура бактерий. Групповые, видовые, типовые антигены. Перекрёстно-реагирующие антигены. Антигенная формула.
16. Антитела, структурно-функциональная организация молекулы, свойства. Моноклональные антитела, принцип получения, применение. Антиидиотипические антитела.
17. Классы иммуноглобулинов, характеристика. Субклассы, аллотипы, изотипы, идиотипы иммуноглобулинов.
18. Механизмы взаимодействия антигенов и антител. Специфичность. Фазы. Проявления. Аффинность. Авидность.
19. Серологический метод исследования. Задачи, этапы, оценка. Титр сыворотки, диагностический титр. Диагностикумы, диагностические сыворотки, применение.
20. Реакция агглютинации. Цели и методы постановки, учёт, оценка. Применение.
21. РПГА, ингредиенты. Методика постановки, учёт, оценка. Применение. Реакция обратной пассивной геммагглютинации. Реакция латексагглютинации.
22. Реакция преципитации. Цели и методы постановки, учёт, оценка. Применение.
23. Реакция иммунофлюоресценции, прямой и непрямой методы. Применение.
24. ИФА. Ингредиенты, постановка, учёт, оценка. Области применения. РИА.
25. Реакции иммунного лизиса, применение. РСК. Ингредиенты, постановка, учёт, оценка. Применение.
27. Т-лимфоциты, развитие, основные маркеры, субпопуляции. Т-клеточный рецептор (ТКР), структура, генетический контроль разнообразия.
28. Активация Т-лимфоцитов. Костимуляция. Модель двух сигналов. Анергия. Апоптоз.
29. Методы определения количества и функциональной активности Т-лимфоцитов.
30. Местный иммунитет, значение. Основные компоненты.
31. Аллергия, определение. Стадии аллергии. Типы аллергических реакций.
32. Аллергены, классификация, характеристика.
33. Медиаторный (I) тип ГНТ, механизм, проявления. Способы предупреждения.
34. Цитотоксический (II) и иммунокомплексный (III) типы ГНТ, механизмы, проявления.
35. Гиперчувствительность замедленного (IV) типа (ГЗТ), механизм, проявления.
36. Методы диагностики ГНТ (in vivo и in vitro).
37. Методы диагностики ГЗТ (in vivo и in vitro).
38. Иммунологическая толерантность. Определение, механизмы, биологическое значение.
39. Трансплантационный иммунитет. Трансплантационные антигены. Типы трансплантационных реакций. Механизмы отторжения трансплантата. Предупреждение.
40. Противоопухолевый иммунитет. Опухолевые антигены. Механизмы ускользания опухолей от иммунного надзора.
41. Противоинфекционный иммунитет.
42. Иммунопрофилактика и иммунотерапия инфекционных болезней. Достижения и проблемы. Расширенная программа иммунизации.
43. Вакцины, требования к вакцинам. Виды вакцин, характеристика, методы приготовления. Новые подходы к созданию вакцин.
44. Поствакцинальный иммунитет: факторы, влияющие на его развитие, методы определения напряжённости. Значение коллективного иммунитета, методы его оценки.
45. Пассивная иммунопрофилактика. Показания к проведению. Лечебно-профилактические иммунные сыворотки и сывороточные препараты, способы получения, области применения.
46. Клиническая иммунология, определение, цели, задачи. Понятие об экологической иммунологии, основные иммунотропные экологические факторы.
47. Иммунный статус организма, принципы и уровни оценки. Методы определения показателей. Иммунограмма. Влияние условий и образа жизни на функции иммунной системы.
48. Иммунодефицитные состояния: врождённые и приобретённые. Структура первичных иммунодефицитов.
49. Аутоиммунные болезни, классификация. Аутоантигены. Механизмы аутоиммунитета.
50. Иммунокоррекция. Показания к проведению. Методы подавления и стимуляции иммунного ответа, препараты для иммунокоррекции.

#### Перечень практических навыков.

1. Учёт результаты реакции агглютинации.
2. Учёт результаты реакции иммунопреципитации в агаре.
3. Учёт результаты реакции связывания комплемента.
4. Учёт результаты РПГА.
5. Проставить реакцию агглютинации на стекле.
6. Определить концентрацию иммуноглобулинов.
7. Определить количество Т-лимфоцитов в препаратах иммунных розеток.

26. Клеточный иммунный ответ (КИО), этапы, проявления. Иммунологическая память.

8. Рассчитать показатели фагоцитоза в готовых препаратах.

Репозиторий БГМУ

## Занятие № 1(19)

### . Тема: Методы вирусологических исследований. Бактериофаги.

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Вирусы. Систематика и морфология вирусов. Механизм репродукции вирусов. Строгий паразитизм и цитотропизм вирусов.</p> <p>Типы вирусной инфекции. Механизмы противовирусного иммунитета.</p> <p>Культивирование вирусов в куриных эмбрионах и на лабораторных животных. Методы заражения, индикации и идентификации вирусов в них. Культивирование вирусов в культурах клеток. Характеристика культур клеток. Методы индикации и идентификации вирусов.</p> <p>Вирусы бактерий (бактериофаги). Вирулентные и умеренные бактериофаги. Методы титрования бактериофагов. Практическое использование бактериофагов. Фагодиагностика и фаготипирование.</p>	<p><b>Источники:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Материал лекции.</li> <li>2. [1], [3], [4], [5], [8] – (учебники),</li> <li>3. [2], [7] – (практикумы),</li> <li>4. [9], [10], [11], [12], [15], [16], [17] – (доп. литература).</li> </ol>
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

#### Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты																							
<p>1. Зарисовать демонстрационные препараты:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Фибробласты кур, эозин;</li> <li>2. Культура Нер-2;</li> <li>3. ЦПД аденовирусов</li> <li>4. Реакция гемадсорбции.</li> </ol>	<table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 50%; border: 1px solid black; padding: 5px;"> <p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p> </td> <td style="width: 50%; border: 1px solid black; padding: 5px;"> <p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p> </td> </tr> <tr> <td style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> <p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p> </td> <td style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> <p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p> </td> </tr> </table>	<p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p>	<p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p>	<p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p>	<p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p>																			
<p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p>	<p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p>																							
<p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p>	<p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p>																							
<p>2. Титрование вируса по цветной пробе.</p> <p style="margin-left: 20px;">Ингредиенты:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- культура клеток,</li> <li>- разведения вируса</li> </ul>	<table style="width: 100%; text-align: center;"> <tr> <td><math>10^{-1}</math></td> <td><math>10^{-2}</math></td> <td><math>10^{-3}</math></td> <td><math>10^{-4}</math></td> <td><math>10^{-5}</math></td> <td><math>10^{-6}</math></td> <td>КК</td> <td>КВ</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </table> <p>Заключение:</p>	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	КК	КВ									<p style="text-align: center;"><b>Цветная проба</b></p> <table style="width: 100%; text-align: center;"> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Исходный цвет среды</td> <td>Изменение цвета в результате метаболизма клеток</td> <td>Сохранение цвета среды в результате гибели клеток под действием вируса</td> </tr> </table>				Исходный цвет среды	Изменение цвета в результате метаболизма клеток	Сохранение цвета среды в результате гибели клеток под действием вируса
$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	КК	КВ																	
Исходный цвет среды	Изменение цвета в результате метаболизма клеток	Сохранение цвета среды в результате гибели клеток под действием вируса																						

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

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

### Метод титрования бактериофагов по Грациа.

А. Готовят стерильные чашки с МПА для подложки (агар должен быть хорошо подсушен).  
 Б. Готовят серийные разведения фильтрата, содержащего искомый фаг 1:10, 1:100, 1:1000 и т.д.  
 В. 1мл каждого разведения смешивают с 0,1 мл фагочувствительной культуры и 2,5 мл расплавленного и охлажденного 0,7% агара, выливают и равномерно распределяют по агаровой подложке.  
 Г. Инкубируют при 37° С 24 часа.  
 Д. Подсчитывают зоны задержки роста (лизиса бактерий) в разведении, пригодном для репрезентативного подсчета. Активность фага выражают титром (последним разведением, в котором фаг еще проявляет литическое действие). Более точная характеристика – количество активных фагов в мл:  $N = n$  (количество зон задержки роста)  $\times$  разведение. Например, на чашке с разведением  $10^{-5}$  обнаружено 15 зон задержки роста бактерий.  $N = 15 \times 10^5 = 1,5 \times 10^6$  частиц/мл исходного материала.

### Вирусные включения.

А. Вирусные включения, выявляющиеся при микроскопии зараженных клеток, являются специфическим признаком вирусной инфекции клетки и часто имеют диагностическое значение.  
 Б. Были обнаружены еще Д.И.Ивановским (кристаллы Ивановского – скопления вируса табачной мозаики).  
 В. Обнаруживаются в ядре и/или цитоплазме.  
 Г. По характеру окрашивания бывают базофильными и эозинфильными.  
 Д. Варьируют по форме, количеству, размерам и расположению в клетке.  
 Е. Характерные внутриядерные включения наблюдаются в клетках, зараженных вирусами герпеса, полиомы, ящура, аденовирусами, флавивирусами и др.  
 Ж. Характерные цитоплазматические включения наблюдаются в клетках, зараженных вирусами оспы, гриппа, кори, бешенства, и др.

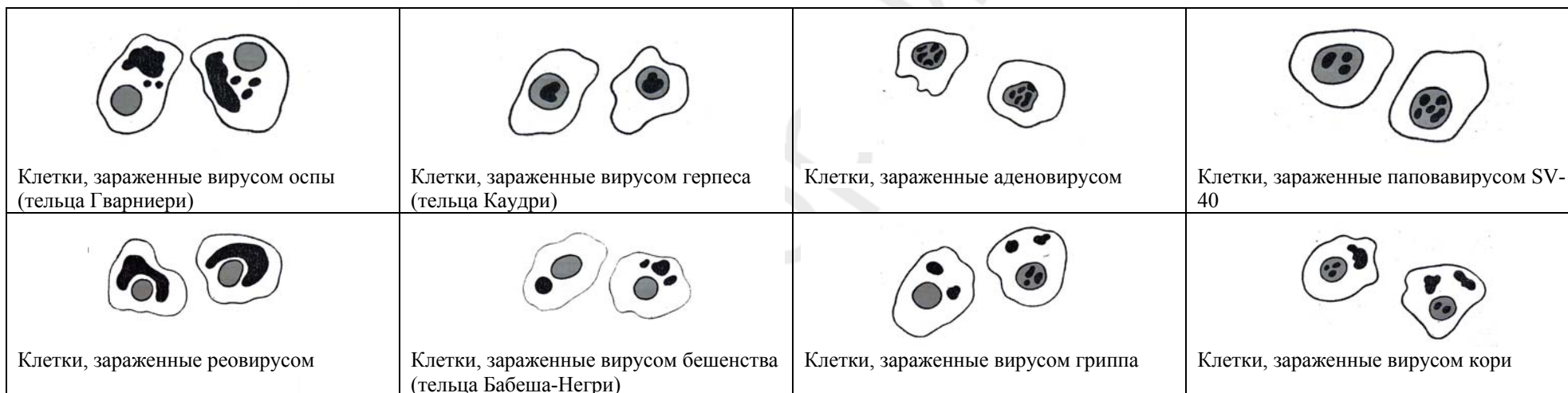


Рис. 14. Внутриклеточные включения при вирусных инфекциях.

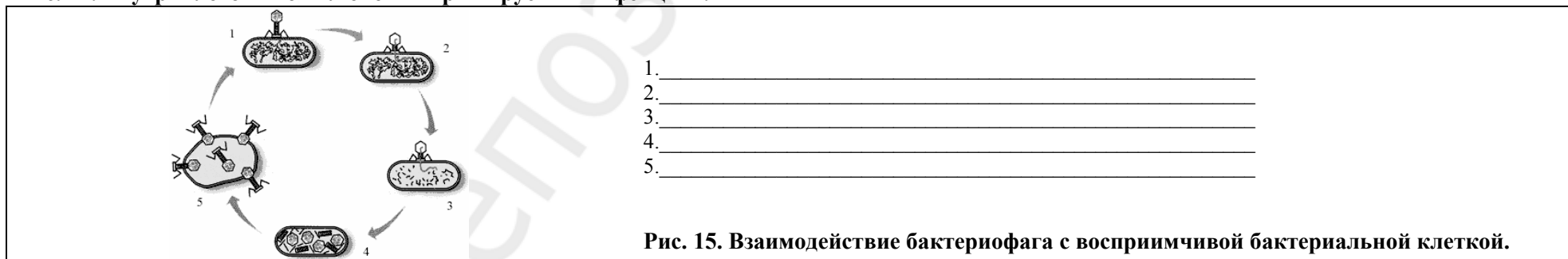


Рис. 15. Взаимодействие бактериофага с восприимчивой бактериальной клеткой.

## Занятие № 2(20).

### Тема: Методы диагностики вирусных инфекций.

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Принципы лабораторной диагностики вирусных инфекций.          Экспресс-методы. Вирусологический метод диагностики.          Серологический метод диагностики. Реакция торможения гемагглютинации (РТГА), торможения гемадсорбции, нейтрализации, иммуноферментный анализ (ИФА).          Молекулярно-генетический метод.</p>	<p><b>Источники:</b>          5. Материал лекции.          6. [1], [3], [4], [5], [8] – (учебники),          7. [2], [7] – (практикумы),          8. [9], [10], [11], [12], [15], [16], [17] – (доп. литература).</p>
---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

#### Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты										
<p>1. Учет РТГА с парными сыворотками для диагностики вирусной инфекции</p> <p>Ингредиенты:            - сыворотка обследуемого              С1 – взята при поступлении,              С2 – взята через 2 недели.            - эритроциты,            - вирус,            - физ. раствор.</p>	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	КС	КВ		
	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>		
	Заключение: _____										

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

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

##### 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.

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.

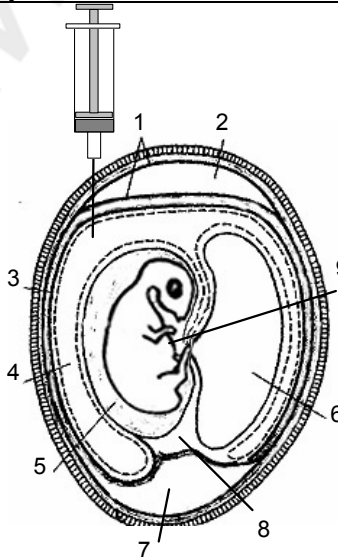
**4 группа** — молекулярно-биологические методы индикации, идентификации и клонирования вирусов. Проводятся с целью выявления вирусспецифических фрагментов генома вирусов в материале.

### Занятие № 3 (21).

#### Тема: Методы вирусологической диагностики заболеваний, вызываемых ортомиксовирусами.

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Ортомиксовирусы. Классификация и характеристика семейства. Вирусы гриппа А, В, С. Морфология вириона. Антигенная структура и серотипы. Антигенная изменчивость (дрейф, шифт) и её следствия.</p> <p>Грипп, распространение, патогенез, иммунитет. Методы диагностики гриппа, ускоренные методы. Принципы терапии и профилактики гриппа, препараты для специфической иммуно- и химиопрофилактики и химиотерапии.</p> <p>Вирус птичьего гриппа.</p>	<p><b>Источники:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Материал лекции.</li> <li>2. [1], [3], [4], [5], [8] – (учебники),</li> <li>3. [2], [7] – (практикумы),</li> <li>4. [9], [10], [11], [12], [15], [16], [17] – (доп. литература).</li> </ol>
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

#### Лабораторная работа

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

**Рис. 16. Схема строения куриного эмбриона**

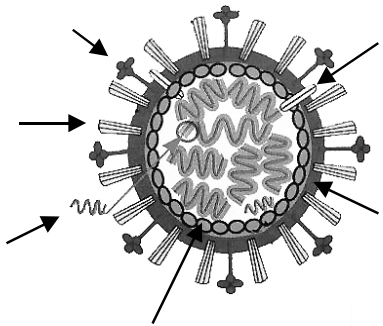
<p><b>Демонстрация.</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Препараты для специфической профилактики и терапии гриппа, кори.</li> <li>2. РТГА с парными сыворотками для серодиагностики гриппа.</li> </ol>	<p><b>Учет РТГА с парными сыворотками</b></p>
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------



	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	КЭ	КС	КВ	
	○	○	○	○	○	○	○	○	○	1 сыв. (1 неделя болезни)
	○	○	○	○	○	○		○		2 сыв. (3 неделя болезни)
	Подпись преподавателя _____									

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

Впишите название семейства, обозначьте цифрами соответствующие структурные элементы вирионов

<p><b>Структура</b> _____ <b>вирионов</b> [9].</p>  <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Гемагглютинин</li> <li>2. Нейраминидаза</li> <li>3. Суперкапсид</li> <li>4. Матриксный белок М1</li> <li>5. Белок М2</li> <li>6. Рибонуклеопротеид</li> </ol>	<p><b>Диагностика гриппа с помощью выделения вируса на куриных эмбрионах*</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>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 холоду 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.</li> <li>2. Заражение эмбриона</li> <li>3. Инкубация 3-4 дня при 35°C</li> <li>4. Вскрытие (см. занятие №2)</li> <li>5. Постановка реакции гемагглютинации для индикации вируса</li> <li>6. Идентификация вируса в реакции РТГА с набором диагностических сывороток (к эталонным штаммам вирусов соответствующих серологических типов).</li> </ol> <p><small>* подробно диагностика гриппа описана в постановлении МЗ РБ от 1 ноября 2000 г. N 48 «О мероприятиях по профилактике гриппа и других острых респираторных вирусных инфекций» и в учебно-методическом пособии кафедры «Вирусология»</small></p>
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

#### 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 диагностикумом). Тем не менее, иногда требуется применение набора свежeweделенных штаммов. Реакцию ставят в несколько этапов:

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

#### Схема постановки РТГА для определения антител против вируса гриппа А

Компоненты	Номера лунок / Разведения								Контроли		
	1	2	3	4	5	6	7	8	Сыв-ки	Эритроцитов	Вируса
Физраствор	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1
Сыворотка пациента	0,1	-	-	-	-	-	-	-	0,1	-	-
Вирус 4ГАЕ	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	-	-	0,1
Инкубация 20 мин при комнатной температуре											
1%взвесь куриных эр-цитов	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Инкубация 30 - 60 мин при комнатной температуре											
Результаты	-	-	-	-	-	+	++	+++	-	-	+++

**Учет результатов** начинают с контролей (см. таблицу). При наличии соответствующих антител в исследуемых сыворотках происходит нейтрализация гемагглютинирующей активности вируса и торможение агглютинации эритроцитов. В первых лунках наблюдают положительную РТГА: эритроциты оседают на дно лунки в виде компактной точки («пуговицы»). В последующих лунках, где имеет место снижение титра антител, отмечают отрицательную РТГА — агглютинация эритроцитов на +, ++ и +++.

В 1-ом и 2-ом контролях агглютинация должна отсутствовать, а в 3-ем — агглютинация эритроцитов должна быть не менее, чем на +++.

РТГА позволяет не только выявить специфические антитела, но и определить их титр. *Титром антител* в РТГА называют наименьшее их количество, способное полностью блокировать гемагглютинацию. В данном примере титр антител составляет 1/32.



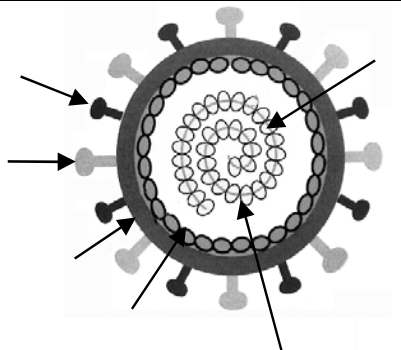
	Заключение: _____																																		
3. Учёт РТГА для определения типа вируса гриппа.	<p><b>Учет РТГА с целью идентификации вируса гриппа</b></p> <table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 15%;"></th> <th colspan="3" style="text-align: center; font-size: small;">Сыв. против вируса</th> <th style="width: 10%;"></th> <th style="width: 10%;"></th> <th colspan="2" style="text-align: center; font-size: small;">КС</th> </tr> <tr> <th></th> <th style="font-size: x-small;">H1N1</th> <th style="font-size: x-small;">H3N2</th> <th style="font-size: x-small;">H5N1</th> <th style="font-size: x-small;">КЭ</th> <th style="font-size: x-small;">КВ</th> <th colspan="2"></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="padding: 5px;">Вирус, выделенный у пациента Ф.</td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td style="padding: 5px;">Вирус, выделенный у пациента Н.</td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td></td> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> <td colspan="2"></td> <td></td> </tr> </tbody> </table> <p>Заключение: _____</p>		Сыв. против вируса					КС			H1N1	H3N2	H5N1	КЭ	КВ			Вирус, выделенный у пациента Ф.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Вирус, выделенный у пациента Н.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>			
	Сыв. против вируса					КС																													
	H1N1	H3N2	H5N1	КЭ	КВ																														
Вирус, выделенный у пациента Ф.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																											
Вирус, выделенный у пациента Н.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>																														

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

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

*Впишите название семейства, обозначьте цифрами соответствующие структурные элементы вирионов*

Структура _____ вирусов [9].	<b>Лабораторная диагностика эпидемического паротита</b>
------------------------------	---------------------------------------------------------



1. Гликопротеин F
2. Гликопротеин HN, H, G
3. Суперкапсид
4. Матриксный белок
5. Нуклеокапсид
6. РНК

1. Обычно не требуется, поскольку симптоматика достаточно характерна и показательна.
2. Применяется при:
  - атипичном течении с поражением внутренних органов и желез (панкреатит, тиреоидит, орхит)
  - при необходимости дифференциальной диагностики с поражениями слюнных желез другого генеза.
3. Серологическая диагностика: определяют прирост антител в ИФА (РСК, РТГА).
4. Вирусологический метод: исследуют слюну (до 3 дня), ликвор (до 6 дня) и мочу (до 9 дня с момента заболевания):
  - а) выделение вирусов паротита на 7-8 дневных куриных эмбрионах. Заражение производят в полость амниона. Эмбрионы инкубируют 6-7 дней при 35° С. Для индикации вируса используют РГА с эритроцитами кур или морских свинок и амниотической жидкостью. Если агглютинирующая активность слабая (отсутствует), проводят пассажи на эмбрионах. В качестве материала используют гомогенат амниотической оболочки. После третьего отрицательного пассажа делают отрицательное заключение;
  - б) выделение вируса на культуре клеток. Заражают культуры клеток почеч эмбриона человека, HELA и инкубируют при 35° С. Индикация по ЦПД: через 48-72 часа в культуре появляются гигантские многоядерные клетки и симпласты с цитоплазматическими включениями. Позже наблюдается полное разрушение клеточного монослоя;
  - в) для идентификации вирусов, выделенных на эмбрионах и культурах клеток, используют РИФ, РН, РТГАдс, РТГА, РСК.
5. Молекулярно-генетический метод (ПЦР).

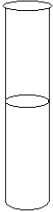

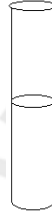
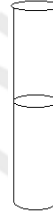
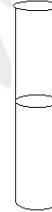

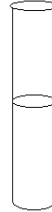



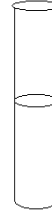


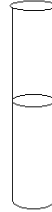
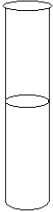

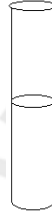
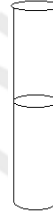
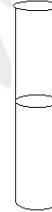

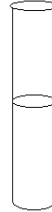



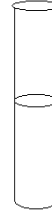


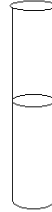
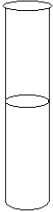

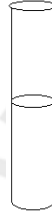
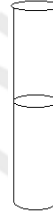
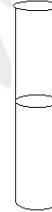

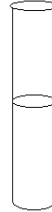



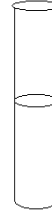


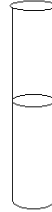
#### Лабораторная диагностика кори

1. Обычно не требуется, поскольку клинические проявления достаточно характерны
2. Необходима для:
  - диагностики атипичных случаев; диагностики массовых заболеваний; расследования летальных случаев.
3. Экспресс методы: выявление антигенов вируса в РИФ, обнаружение характерных многоядерных клеток в окрашенных препаратах. Материалом служат отпечатки слизистой носоглотки, соскобы с элементов сыпи.
4. Вирусологический метод: вирус выделяют из крови и носоглоточного смыва (в период продрома и 1 сутки после появления сыпи). Заражают культуры клеток почеч эмбриона человека, Vero и др. Индикация по ЦПД: через 3-4 суток инкубации при 35°С обнаруживают характерное ЦПД – гигантские вакуолизированные многоядерные клетки и синцитий со включениями в цитоплазме; через 7-9 дней появляются внутриядерные включения. Кроме того, наблюдается круглоклеточная дегенерация и образование веретеновидных клеток с цитоплазматическими и внутриядерными включениями. Идентификацию проводят в РИФ, РН и РТГА.
5. Серологический метод: ИФА, РНГА в парных сыворотках.
6. Молекулярно-генетический метод (ПЦР).

### Занятие № 5 (23).

#### Тема: Методы вирусологической диагностики заболеваний, вызываемых пикорнавирусами и ротавирусами.

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Пикорнавирусы. Классификация и характеристика семейства, роль в патологии человека. Этиология, патогенез, иммунитет, диагностика и иммунопрофилактика полиомиелита. Проблема эрадикации полиомиелита.</p> <p>Вирусы Коксаки и ЭКХО, их роль в патологии человека. Дифференциация.</p> <p>Риновирусы. Состав рода. Структура и свойства вирусов. Распространение, патогенез, иммунитет.</p> <p>Ротавирусы, общая характеристика, роль в патологии человека.</p>	<p><b>Источники:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Материал лекции.</li> <li>2. [1], [3], [4], [5], [8] – (учебники),</li> <li>3. [2], [7] – (практикумы),</li> <li>4. [9], [10], [11], [12], [15], [16], [17] – (доп. литература).</li> </ol>
-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

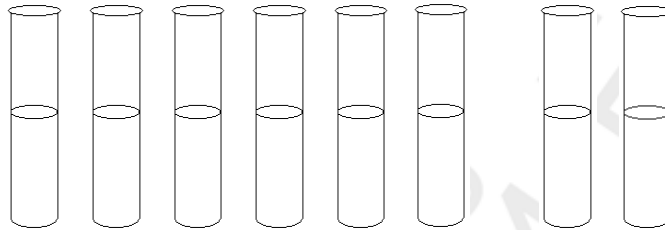
Лабораторная работа	Методы, результаты																																
<p style="text-align: center;"><b>Задание</b></p> <p>1. Учет реакции нейтрализации в культуре клеток с парными сыворотками для серодиагностики полиомиелита.</p>	<p style="text-align: center;"><b>Реакция нейтрализации в культуре клеток с парными сыворотками для серодиагностики полиомиелита</b></p> <table style="width: 100%; text-align: center; margin-bottom: 20px;"> <tr> <td style="width: 10%;"></td> <td style="width: 10%;">1/10</td> <td style="width: 10%;">1/20</td> <td style="width: 10%;">1/40</td> <td style="width: 10%;">1/80</td> <td style="width: 10%;">1/160</td> <td style="width: 10%;">КС1</td> <td style="width: 10%;">КВ</td> <td style="width: 10%;">КК</td> </tr> <tr> <td style="width: 10%; vertical-align: middle;">1 сыворотка (при поступлении)</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </table> <table style="width: 100%; text-align: center; margin-bottom: 20px;"> <tr> <td style="width: 10%;"></td> <td style="width: 10%;">1/10</td> <td style="width: 10%;">1/20</td> <td style="width: 10%;">1/40</td> <td style="width: 10%;">1/80</td> <td style="width: 10%;">1/160</td> <td style="width: 10%;">КС2</td> </tr> <tr> <td style="width: 10%; vertical-align: middle;">2 сыворотка (2 неделя болезни)</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </table> <p>Заключение: титр АТ первой сыворотки равен _____          титр АТ второй сыворотки равен _____</p>		1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	КС1	КВ	КК	1 сыворотка (при поступлении)										1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	КС2	2 сыворотка (2 неделя болезни)						
	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	КС1	КВ	КК																									
1 сыворотка (при поступлении)																																	
	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	КС2																											
2 сыворотка (2 неделя болезни)																																	

**Демонстрация.**

1. Титрование вируса полиомиелита в культуре клеток по цветной пробе.

**Определение титра вируса полиомиелита по цветной пробе титр цитопатических доз, ТЦД)**

$10^{-1}$   $10^{-2}$   $10^{-3}$   $10^{-4}$   $10^{-5}$   $10^{-6}$  КК КВ



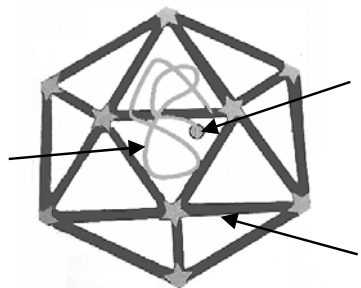
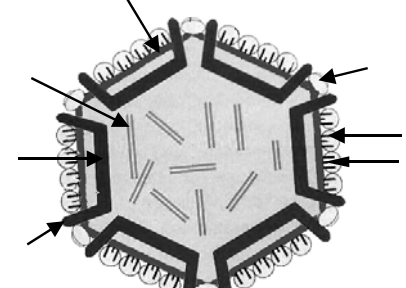
Заключение: ТЦД= \_\_\_\_\_

**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 обнаруживают 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 аденовирусами.

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

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

*Впишите название семейства, обозначьте цифрами соответствующие структурные элементы вирионов*

Структура вирусов [9].	Структура вирусов [9].
 <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Капсид</li> <li>2. РНК</li> <li>3. Кэпирующий белок VPg</li> </ol>	 <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Наружный капсид</li> <li>2. Внутренний капсид</li> <li>3. Белок VP4</li> <li>4. Белок VP6</li> <li>5. Белок VP7</li> <li>6. РНК</li> <li>7. Гликопротеин М-1С</li> </ol>

## Занятие № 6 (24)

### . Тема: Методы вирусологической диагностики заболеваний, вызываемых ретровирусами.

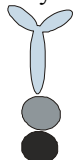

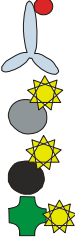
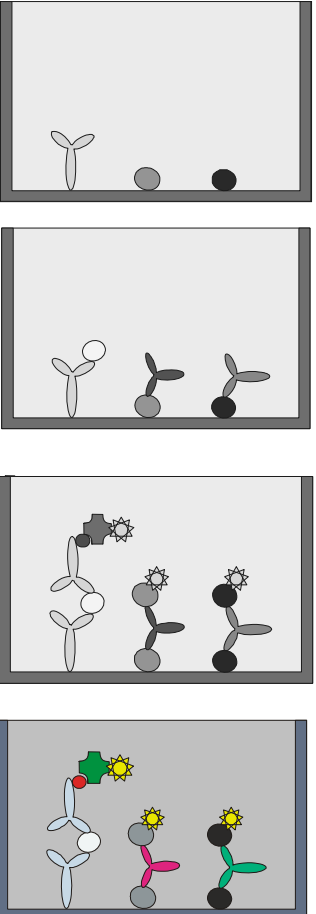
**Перечень изучаемых вопросов:** Ретровирусы. Классификация и характеристика семейства. Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ-1, ВИЧ-2). Морфология вириона. Стадии патогенеза ВИЧ-инфекции, роль CD4+ и CD8+ Т-клеток. СПИД-ассоциированные заболевания. Методы диагностики и профилактики ВИЧ-инфекции. ВИЧ-инфекция в РФ.

**Источники:**

1. Материал лекции.
2. [1], [3], [4], [5], [8] – (учебники),
3. [2], [7] – (практикумы),
4. [9], [10], [11], [12], [15], [16], [17] – (доп. литература).

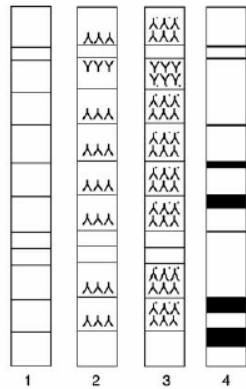
**Лабораторная работа:** 1. Учет ИФА для диагностики ВИЧ-инфекции. **Демонстрация.** Видеофильм "Диагностика ВИЧ-инфекции".

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

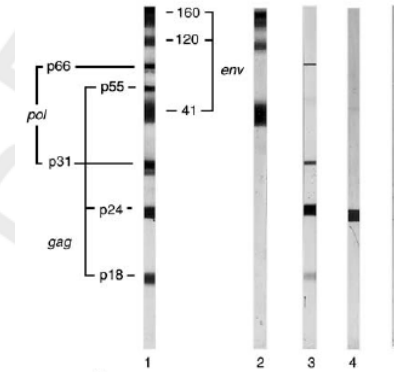
<p><b>ИФА для скрининга ВИЧ-инфекции</b></p> <p>В настоящее время применяются тест-системы для ИФА четвертого поколения (рекомбинантные антигены, моноклональные антитела, одновременное определение антигенов ВИЧ (обычно p24) и антител против антигенов ВИЧ (поверхностных гликопротеинов)</p> <p>Биотин и авидин (стрептавидин) - представляют собой пару рецептор-лиганд, характеризующуюся высокими аффинностью и специфичностью. Характер и размеры молекул позволяют эффективно использовать их для мечения антител/антигенов. Молекула авидина способна связать четыре молекулы биотина (т.о. сигнал о связывании усиливается в четыре раза).</p>	<p><b>Схема постановки ИФА для скрининга ВИЧ-инфекции</b></p> <p>1. В лунках 96-луночного планшета для серологических реакций сорбированы:</p> <div style="display: flex; align-items: center;">  <div style="margin-left: 20px;"> <p>моноклональные антитела к p24, рекомбинантные эпитопы gp41, рекомбинантные эпитопы gp120</p> </div> </div> <p>2. При добавлении сыворотки пациента происходит связывание p24 и антител против гликопротеинов ВИЧ на сорбированных лигандах</p> <div style="display: flex; align-items: center;">  <div style="margin-left: 20px;"> <p>p24</p> </div> </div> <p>3. При добавлении конъюгатов:</p> <div style="display: flex; align-items: center;">  <div style="margin-left: 20px;"> <p>антитела против гликопротеинов ВИЧ антитела против p24 - биотин</p> <p>gp41 – пероксидаза хрена gp120 – пероксидаза хрена стрептавидин - пероксидаза хрена</p> </div> </div> <p>4. При добавлении субстрата происходит дозозависимая ферментация с образованием окрашенного продукта.</p>	
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------



### Иммуноблоттинг для диагностики ВИЧ-инфекции



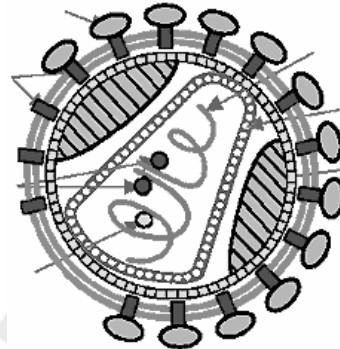
1. Изготовление блотов: электрофоретическое разделение белков ВИЧ по их молекулярной массе и заряду и перенос на мембрану.
2. Инкубация с исследуемой сывороткой
3. Инкубация с антителами против человеческих антител, мечеными ферментом
4. Появление окрашенных полос на мембране после инкубации в присутствии субстрата.



1. Положительный результат у инфицированного ВИЧ-1
2. Результат здорового, вакцинированного белками внешней оболочки ВИЧ-1
3. Сомнительный результат у инфицированного ВИЧ-2
4. Сомнительный результат при наличии в сыворотке антител, перекрестно реагирующих с p24 антигеном
5. Отрицательный результат

Впишите название семейства, обозначьте цифрами соответствующие структурные элементы вирионов

### Структура \_\_\_\_\_ вирусов [9].



1. Капсид (p24)
2. Нуклеокапсид (p6, 9)
3. Матриксный белок (p17)
4. Обратная транскриптаза (p55, 63)
5. Интеграза (p11)
6. gp120
7. gp41

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

## Занятие № 7 (25).

### Тема: Методы вирусологической диагностики заболеваний, вызываемых вирусами гепатитов.

**Перечень изучаемых вопросов:** Вирусы гепатитов А, В, С, D, E, G, TTV и SEN. Классификация и общая характеристика, роль в патологии человека. Патогенез и иммунитет гепатитов А, В, С. Методы лабораторной диагностики вирусных гепатитов. Специфическая и неспецифическая профилактика.

**Источники:**

1. Материал лекции.
2. [1], [3], [4], [5], [8] – (учебники),
3. [2], [7] – (практикумы),
4. [9], [10], [11], [12], [15], [16], [17] – (доп. литература).

#### Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты																										
<p>1. Постановка ИФА для диагностики вирусного гепатита С.</p> <table border="1" style="margin-left: auto; margin-right: auto; border-collapse: collapse;"> <tr> <td></td> <td></td> <td style="text-align: center;">1</td> <td style="text-align: center;">2</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">CORE</td> <td style="text-align: center;">A</td> <td rowspan="5" style="text-align: center; vertical-align: middle;">Отрицат. контроль</td> <td rowspan="5" style="text-align: center; vertical-align: middle;">Сыворотка №1</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">NS<sub>3</sub></td> <td style="text-align: center;">B</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">NS<sub>4</sub></td> <td style="text-align: center;">C</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">NS<sub>5</sub></td> <td style="text-align: center;">D</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">CORE</td> <td style="text-align: center;">E</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">NS<sub>3</sub></td> <td style="text-align: center;">F</td> <td rowspan="4" style="text-align: center; vertical-align: middle;">Положит. контроль</td> <td rowspan="4" style="text-align: center; vertical-align: middle;">Сыворотка №2</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">NS<sub>4</sub></td> <td style="text-align: center;">G</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">NS<sub>5</sub></td> <td style="text-align: center;">H</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> </tr> </table>			1	2	CORE	A	Отрицат. контроль	Сыворотка №1	NS <sub>3</sub>	B	NS <sub>4</sub>	C	NS <sub>5</sub>	D	CORE	E	NS <sub>3</sub>	F	Положит. контроль	Сыворотка №2	NS <sub>4</sub>	G	NS <sub>5</sub>	H			<p>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 конъюгата и последующей ферментативной реакции с образованием окрашенного продукта.</p> <p>2. <b>Схема постановки:</b></p> <p>а) антигены ВГС сорбированы в лунках стрипов следующим образом:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>в рядах А, Е – core</li> <li>в рядах В, F – NS3</li> <li>в рядах С, G – NS4</li> <li>в рядах D, H – NS5</li> </ul> <p>б) раскапать по 100 мкл контролей и образцов согласно карте постановки (см. ниже);</p> <p>в) заклеить стрип клейкой лентой и инкубировать в термостате 1 час при 37°С;</p> <p>г) отмыть стрип 5 раз;</p> <p>д) раскапать 100 мкл конъюгата в каждую лунку;</p> <p>е) инкубировать в термостате 30 минут при 37°С;</p> <p>ж) промыть стрип 5 раз;</p> <p>з) раскапать 100 мкл хромогена в каждую лунку;</p> <p>и) инкубировать в термостате 30 минут при 37°С;</p> <p>к) раскапать по 50 мкл стоп-раствора в каждую лунку;</p> <p>л) учесть результаты на спектрофотометре;</p> <p>м) рассчитать показатели и заполнить протокол исследований.</p>
		1	2																								
CORE	A	Отрицат. контроль	Сыворотка №1																								
NS <sub>3</sub>	B																										
NS <sub>4</sub>	C																										
NS <sub>5</sub>	D																										
CORE	E																										
NS <sub>3</sub>	F	Положит. контроль	Сыворотка №2																								
NS <sub>4</sub>	G																										
NS <sub>5</sub>	H																										

#### Протокол учета ИФА для диагностики вирусного гепатита С

Дата

ФИО лаборанта

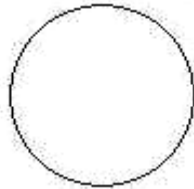
Антигены	Ряд	ОП контролей	ОП образцов	КП	Результат
CORE	A				
NS <sub>3</sub>	B				
NS <sub>4</sub>	C				
NS <sub>5</sub>	D				
CORE	E				
NS <sub>3</sub>	F				
NS <sub>4</sub>	G				
NS <sub>5</sub>	H				

1. Оценка верности постановки:  
 Среднее значение ОП отрицательного контроля < 0,2  
 Среднее ОП К<sup>-</sup> =  
 Среднее значение ОП положительного контроля > 0,8  
 Среднее ОП К<sup>+</sup> =
2. Расчет ОП критической для каждого антигена:  
 ОПкрит (core-Ag) = ОП К<sup>-</sup> (core) + 0,2 =  
 ОПкрит (NS<sub>3</sub>-Ag) = ОП К<sup>-</sup> (NS<sub>3</sub>) + 0,2 =  
 ОПкрит (NS<sub>4</sub>-Ag) = ОП К<sup>-</sup> (NS<sub>4</sub>) + 0,2 =  
 ОПкрит (NS<sub>5</sub>-Ag) = ОП К<sup>-</sup> (NS<sub>5</sub>) + 0,2 =
3. Расчет коэффициента позитивности для каждого антигена:  
 КП(core-Ag) = ОП исслед. сыв (core) / Опкрит (core-Ag) =  
 КП(NS<sub>3</sub>-Ag) = ОП исслед. сыв (NS<sub>3</sub>) / Опкрит (NS<sub>3</sub>-Ag) =  
 КП(NS<sub>4</sub>-Ag) = ОП исслед. сыв (NS<sub>4</sub>) / Опкрит (NS<sub>4</sub>-Ag) =  
 КП(NS<sub>5</sub>-Ag) = ОП исслед. сыв (NS<sub>5</sub>) / Опкрит (NS<sub>5</sub>-Ag) =
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.

Врач-лаборант

**Демонстрация.**

1. Методы определения HBs-антигена.

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

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

**Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 7.**

**Методы обнаружения HbsAg в материалах больных вирусным гепатитом В**

Метод	Количество вирионов в 1 мл. сыворотки крови	Чувствительность (нг\мл)
Реакция преципитации в геле (РП)	$1,0 \times 10^{11}$	2000
Встречный иммунный электрофорез (ВИЭФ)	$2,0 \times 10^{10}$	400
Реакция связывания комплемента (РСК)	$1,0 \times 10^{10}$	200
Реакция обратной пассивной гемагглютинации (РОПГА)	$1,0 \times 10^9$	20
Быстрые, бесприборные методы:		
Иммунохроматографический анализ (ИХА)		20
Иммунокомб (вариант ИФА)	$1,0 \times 10^9$	0,5
Радиоиммунный анализ (РИА)	$0,5 \times 10^6$	0,05
Иммуноферментный анализ (ИФА)	$0,5 \times 10^6$	0,05
Иммунохемилюминесцентный анализ (ФИА)	$0,5 \times 10^6$	0,05

В настоящее время методы не применяются

При этом необходимо учитывать, что в период клинических проявлений в крови больных вирусным гепатитом В содержатся значительные количества HbsAg. У 80% бессимптомных носителей ВГВ концентрация HbsAg превышает 50 нг/мл; около 4% носителей (больных) имеют менее 0,5 нг/мл HbsAg в крови.

**Клинико-эпидемиологическое значение маркеров вирусов гепатитов А, В, С, D и E**

Маркер, обозначение	Клинико-эпидемиологическое значение
Антиген 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 М к вирусу гепатита А (abHAV-IgM)	Маркер острого вирусного гепатита А
РНК вируса гепатита А (RNA-HAV)	Маркер наличия вируса в исследуемом материале
Поверхностный антиген (s) вируса гепатита В (HbsAg)	Маркер вирусного гепатита В (острого или хронического), требует дополнительных исследований на abHBs-суммарные, abHBs-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 (с) 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 М к сердцевинному антигену вируса гепатита В (abHBc-IgM)	Маркер острого вирусного гепатита В, а также обострения хронического
Е-антиген вируса гепатита В (антиген инфекционности) (HbeAg)	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 М (abHSc-	Маркер острого вирусного гепатита С, но может определяться и при реактивации хронического

Маркер, обозначение	Клинико-эпидемиологическое значение
IgM)	
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 М (abHD-IgM)	Маркер острого вирусного гепатита D
РНК вируса гепатита D (RNA-HDV)	Маркер наличия вируса в крови
Суммарные антитела к вирусу гепатита E (abHEV)	Маркер инфицирования вирусом гепатита E в настоящем или в прошлом. Маркер заболевания

Впишите название семейства, обозначьте цифрами соответствующие структурные элементы вирионов:






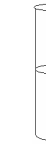

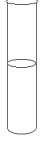






Структура вирусов [9].	Структура вирусов [9].
 <ol style="list-style-type: none"> <li>1. HBs-антиген</li> <li>2. Суперкапсид</li> <li>3. Капсид</li> <li>4. Полимераза</li> <li>5. ДНК</li> </ol>	 <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Капсид</li> <li>2. РНК</li> <li>3. Кэппирующий белок VPg</li> </ol>
Структура вируса [9].	Структура вируса [9].
 <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Суперкапсид</li> <li>2. Нуклеокапсид</li> <li>3. Гликопротеин E1</li> <li>4. Гликопротеин E2</li> <li>5. РНК</li> </ol>	 <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Суперкапсид</li> <li>2. HBs-антиген</li> <li>3. Дельта-антиген (бусинки на РНК)</li> <li>4. РНК</li> </ol>

## Занятие № 8 (26).

**Тема: Методы вирусологической диагностики заболеваний, вызываемых арбовирусами и вирусами с природной очаговостью.**

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Классификация и общие признаки арбовирусов. Тога-, флави-, бунья-, аренавирусы, классификация, структура вирионов, роль в патологии человека. Этиология, патогенез, иммунитет, методы диагностики клещевого энцефалита. Вирус геморрагической лихорадки с почечным синдромом (ГЛПС). Вирус краснухи. Общая характеристика. Роль в патологии человека. Профилактика.</p> <p>Рабдовирусы. Классификация и характеристика рабдовирусов. Патогенез, иммунитет и специфическая профилактика бешенства. Вирусологическая диагностика бешенства.</p> <p>Филовирусы. Вирусы Эбола и Марбург.</p>	<p><b>Источники:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Материал лекции.</li> <li>2. [1], [3], [4], [5], [8] – (учебники),</li> <li>3. [2], [7] – (практикумы),</li> <li>4. [9], [10], [11], [12], [15], [16], [17] – (доп. литература).</li> </ol>
---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

### Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты								
<p>1. Определение прироста антител в парных сыворотках в РСК с целью диагностики клещевого энцефалита.</p>	<b>Схема постановки РСК</b>								
	<b>Реагенты</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>
		1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	КА	КС	ГС
	<b>Физ. р-р</b>	–	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	4 мл 3% взвеси эритроцитов + 4 мл гем. сыворотки
	<b>Сыворотка больного*</b>	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	–	0,5	
	<b>Диагностikum</b>	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	–	
	<b>Комплемент</b>	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	
	<b>Инкубация 30 мин при 37°C</b>								
	<b>Гем. система</b>	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	
	<b>Инкубация 30 мин при 37°C</b>								
<b>Учет:</b>									
<b>1 сыворотка (при поступлении)</b>									
<b>2 сыворотка (2-я неделя болезни)</b>									

*\*Реакция ставится в двух рядах с первой и второй сыворотками больного соответственно.*

**Заключение:** Титр антител в первой сыворотке равен \_\_\_\_\_

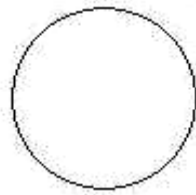
Титр антител во второй сыворотке равен \_\_\_\_\_

**Демонстрация.**

1. Тельца Бабеша-Негри, окраска по Муромцеву.

Препарат \_\_\_\_\_

Окраска \_\_\_\_\_

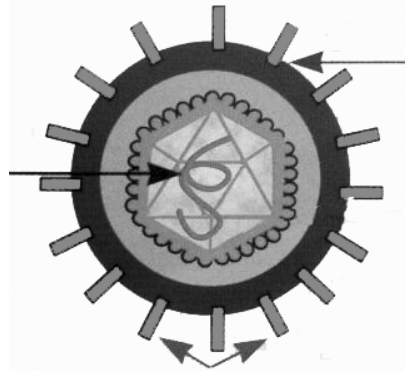


Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

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

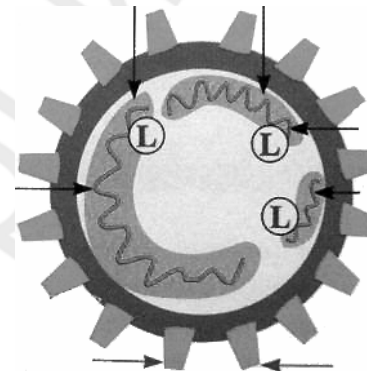
*Впишите название семейства, обозначьте цифрами соответствующие структурные элементы вирионов*

Структура \_\_\_\_\_ вирусов [9].



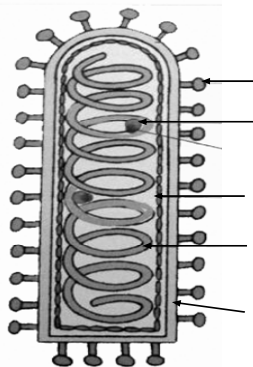
1. Суперкапсид
2. Капсид
3. РНК
4. Гликопротеины

Структура \_\_\_\_\_ вирусов [9].



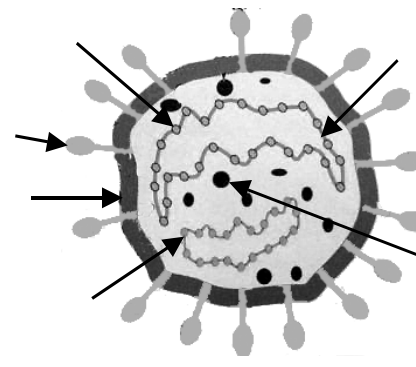
1. Нуклеокапсид
2. Суперкапсид
3. Гликопротеины
4. М-РНК
5. S-РНК
6. L-РНК

Структура \_\_\_\_\_ вирусов [9].



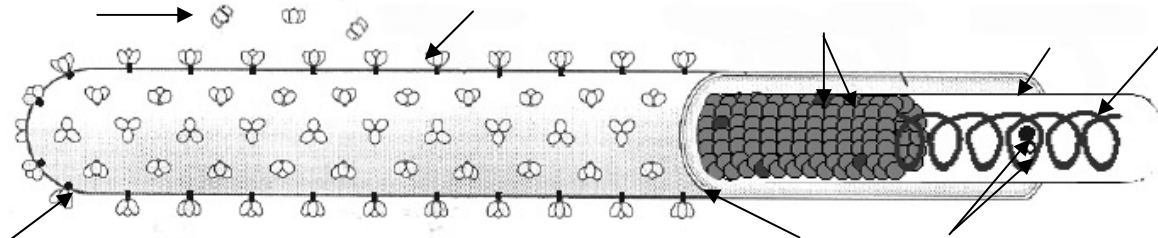
1. Суперкапсид
2. Нуклеокапсид
3. Гликопротеины
4. РНК-полимераза
5. Матричный белок

Структура \_\_\_\_\_ вирусов [9].



1. Суперкапсид
2. Нуклеокапсид (бусинки на РНК)
3. Рибосома-подобные частицы
4. L-сегмент РНК
5. S-сегмент РНК
6. Гликопротеины

### Структура вирусов [9].



1. Гликопротеин (gp1+gp2)
2. Растворимый гликопротеин
3. Суперкапсид
4. М-белок (p40+p24)
5. Нуклеокапсид
6. Нуклеопротеин (NP)
7. РНК-полимераза (p30+p35)
8. РНК

### Диагностика клещевого энцефалита

1. Материалом является кровь, ликвор, моча. В случае гибели больных – кусочки мозга, кровь и ликвор. Для ретроспективной диагностики забирают кровь в течение 1 недели болезни и через 5-7 недель после начала заболевания.
2. Выделение вируса на мышах. После обработки (гомогенизация, добавление антибиотиков, проверка на стерильность) материал вводят в мозг белым мышам. Через 8-12 дней появляются симптомы (раздражительность, шаткость походки, конвульсии, параличи, гибель). При отсутствии заболевания мышей забивают и гомогенатом мозга заражают других мышей (2-3 пассажа). При отсутствии заболеваний в третьем пассаже делают отрицательное заключение.
3. Выделение вируса на культурах клеток. Применяют фибробласты куриного эмбриона и культуры клеток СПЭВ, ВНК21 и др. Вирусы клещевого энцефалита не вызывают ЦПД (индикация проводится заражением мышей в мозг культуральной жидкостью).
4. Идентификация вирусов осуществляется в РН на мышах, РТГА или РСК с применением стандартных типоспецифических сывороток.
5. Серологическая диагностика проводится в РСК, РНГА или РТГА. РСК ставится со стандартными антигенами, постановка реакции проводится по общепринятой схеме с дополнительными контролями типоспецифической и нормальной сывороток (поставляются вместе с антигенами).

### 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, Туревичу 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 (буйная форма) максимальное количество телец обнаруживается в клетках Аммонова рога. При паралитической форме – в продолговатом и спинном мозге. Обнаружение телец имеет абсолютное диагностическое значение. Отсутствие телец не исключает бешенства;
  - 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 мышатам. С 4 дня после заражения забивают по одному животному/день. Вирусы обнаруживают в препаратах мозга методом РИФ.

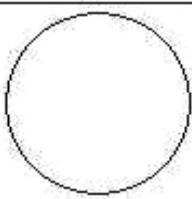


## Занятие № 9 (27).

### Тема: Методы вирусологической диагностики заболеваний, вызываемых герпес- и аденовирусами.

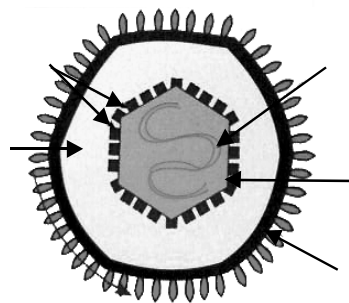
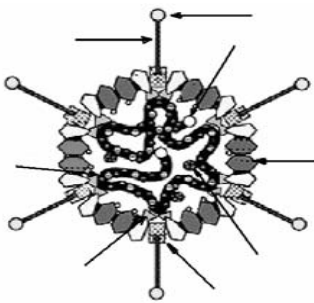
<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Герпесвирусы. Классификация и характеристика семейства. ВПГ-1, ВПГ-2, свойства, роль в патологии человека, патогенез, иммунитет, диагностика, химио- и иммунотерапия. Вирус ветряной оспы и опоясывающего герпеса, свойства, патогенез, иммунитет, диагностика, профилактика ветряной оспы.</p> <p>Цитомегаловирус, свойства, формы инфекции. Вирус Эпштейна-Барр, свойства, роль в патологии человека. Патогенез, иммунитет, диагностика инфекционного мононуклеоза. Вирусы герпеса человека ВГЧ-6, ВГЧ-7, ВГЧ-8, роль в патологии человека.</p> <p>Аденовирусы. Классификация и характеристика семейства. Аденовирусы человека, структура вириона, патогенез, иммунитет, диагностика аденовирусных инфекций.</p>	<p><b>Источники:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Материал лекции.</li> <li>2. [1], [3], [4], [5], [8] – (учебники),</li> <li>3. [2], [7] – (практикумы),</li> <li>4. [9], [10], [11], [12], [15], [16], [17] – (доп. литература).</li> </ol>
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

#### Лабораторная работа

<p><b>Демонстрация.</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. ЦПД аденовирусов.</li> </ol>	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; display: inline-block;"> <p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p> </div> 	<p>Подпись преподавателя _____</p>
----------------------------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------

#### Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 9.

*Впишите название семейства, обозначьте цифрами соответствующие структурные элементы вирионов:*

Структура вирусов [9].	Структура вирусов [9].
 <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Суперкапсид</li> <li>2. Гликопротеины</li> <li>3. Икосаэдрический капсид</li> <li>4. Капсомеры</li> <li>5. Тегумент</li> <li>6. ДНК вируса</li> </ol>	 <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Наружный капсид</li> <li>2. Внутренний капсид</li> <li>3. Белок VP4</li> <li>4. Белок VP6</li> <li>5. Белок VP7</li> <li>6. РНК</li> <li>7. Гликопротеин М-1С</li> </ol>

### Вирусологическая диагностика герпетической инфекции

**А) Ранняя диагностика:** морфологическое исследование материалов из очага поражения и выделение из него вируса. Материалом служит соскоб или мазок-отпечаток с элементов сыпи (герпетические везикулы).

- 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. Заражают на хорион-алантоисную оболочку, инкубируют 48 часов при 37 С. При вскрытии эмбриона на оболочке обнаруживаются макроскопически видимые «оспины». В мазках отпечатках из очагов поражений обнаруживаются одно- и многоядерные клетки с внутриядерными включениями;
  - различных культурах клеток. Типичное ЦПД включает образование многоядерных синцитиальных клеток с ядерными включениями и круглоклеточная дегенерация с образованием клеточных конгломератов;
  - мышатах-сосунках. Заражают внутрибрюшинно или в мозг. Заболевание развивается через 3-4 дня и приводит к гибели животных;
  - 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

Для серологической диагностики применяют ИФА и РСК в парных сыворотках. 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 обнаруживаются 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 (характерно для эпителиальных клеток) и скопления округлившись клеток (характерны для фибробластов). Часто обнаруживаются внутриядерные эозинофильные включения. При отсутствии ЦПД проводят пассажи на культуре клеток. При отсутствии ЦПД в третьем пассаже результат считают отрицательным. Выделенный вирус идентифицируют в РН или РИФ.

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

### Вирусологическая диагностика ВЭБ-инфекции

**1. Выявление гетерофильных антител** — IgM, взаимодействующих с антигенами животных неродственных видов, например барана или быка. Эти антитела выявляются примерно у 90% больных инфекционным мононуклеозом. Гетерофильные антитела в низком титре могут присутствовать и у здоровых людей.

**а) Проба Пауля—Буннелля** — стандартный метод лабораторной диагностики инфекционного мононуклеоза. Он заключается в выявлении гетерофильных антител к эритроцитам барана с помощью реакции гемагглютинации. Гетерофильные антитела при инфекционном мононуклеозе отличаются от гетерофильных антител, присутствующих в сыворотке здоровых и больных сывороточной болезнью, по способности абсорбироваться тканью почек морской свинки и эритроцитами быка. Диагностически значимым считается титр 1:128—1:256. Гетерофильные антитела обычно обнаруживают через 3—4 нед. после начала заболевания. Реакция Пауля—Буннелля бывает положительной при лейкозах, вирусных гепатитах, цитомегаловирусной инфекции, лимфоме Беркитта, ревматоидном артрите и после введения иммунных сывороток. Титр антител не отражает тяжести заболевания, однако при измерении в динамике позволяет следить за течением заболевания.

**б) Экспресс-тест на гетерофильные антитела.** Гетерофильные антитела в этом исследовании выявляются при агглютинации стабилизированных формалином эритроцитов лошади.

**2. Серологический метод.** Инфекционный мононуклеоз не всегда сопровождается появлением гетерофильных антител. Они, в частности, отсутствуют у детей. В этом случае применяют серологический метод, который позволяет выявить:

**а) антитела к капсидному антигену вируса Эпштейна—Барр (РИФ или ИФА).** На ранней стадии заболевания в сыворотке больного появляются IgM к капсидному антигену. Их титр становится максимальным через 2 нед после начала заболевания и снижается в течение 2—3 мес. Присутствие IgM к капсидному антигену вируса Эпштейна—Барр свидетельствует о недавнем заражении, а IgG — о ранее перенесенном заболевании.

**б) антитела к ранним антигенам вируса Эпштейна—Барр (РИФ или ИФА).** Титр этих антител становится максимальным через 2—3 нед после начала заболевания.

**в) антитела к ядерному антигену вируса Эпштейна—Барр (РИФ или ИФА).** Антитела к ядерному антигену появляются примерно через 4 нед после начала заболевания и сохраняются на протяжении всей жизни.

#### Характеристика антител против антигенов ВЭБ

Специфичность	Время появления	Срок циркуляции в организме	Выявление у больных, %
К антигенам капсида			
IgM	Начало заболевания	4-8 недель	100
IgG		Пожизненно	100
К ранним антигенам			
Анти-D	3-5 неделя болезни	3-6 месяцев	70
Анти-R	2 неделя – 4 месяц болезни	2 месяца – несколько лет	небольшой процент
К ядерному антигену	3-4 неделя болезни	Пожизненно	100

#### Вирусологическая диагностика аденовирусной инфекции.

1. Материалом служат смывы и соскобы (назофарингеальный, конъюнктивальный и др), фекалии, моча, биопсийный и аутопсийный материал.  
2. Ранние методы диагностики включают обнаружение антигенов или ДНК вируса в материале больного или экспресс методы выделения и идентификации вируса:

- обнаружить и идентифицировать вирус можно в РИФ, ИФА или РСК. Антигены аденовирусов выявляются в цитоплазме и ядре пораженной клетки.
- выделить вирус можно в различных культурах клеток, однако лучше использовать эпителиальные клетки (HEK, HELA, A-549). Характерное ЦПД:
  - мелкоклеточная дегенерация с образованием конгломератов клеток по типу виноградных гроздьев;
  - образование отдельных мелких круглых клеток по всей культуре;
  - образование цитоплазматических и внутриядерных включений;
  - появление зернистости, вакуолей, изменением ядер (пикноз, распад);
- вирус идентифицируют (типировать) в РН, РИФ, РСК;
- все большее применение находят ПЦР и др. молекулярно-генетические методы;
- электронная микроскопия имеет ограниченное применение.

3. Ретроспективная диагностика (эпидемиологическое значение): антитела выявляют в ИФА, РТГА, РСК, в парных сыворотках.

## Занятие № 10 (28).

### Тема: Семинар на тему: «Онкогенные вирусы. Медленные инфекции».

<p><b>Перечень изучаемых вопросов</b>                  Онкогенные вирусы (ДНК-геномные и РНК-геномные). Механизмы вирусного канцерогенеза.                  Этиология медленных инфекций.                  Прионы.</p>	<p><b>Источники:</b>                  1. Материал лекции.                  2. [1], [3], [4], [5], [8] – (учебники),                  3. [2], [7] – (практикумы),                  4. [9], [10], [11], [12], [15], [16], [17] – (доп. литература).</p>
<p><b>Вопросы к семинару:</b>                  1. РНК-геномные онкогенные вирусы (классификация, характеристика, вызываемые опухолевые процессы).                  2. ДНК-геномные онкогенные вирусы (классификация, характеристика, вызываемые опухолевые процессы).                  3. Механизмы вирусного канцерогенеза. "Ускользание" опухоли от иммунного надзора.                  4. Медленные инфекции человека и животных ( определение, классификация, этиология).                  5. Прионы, их характеристика. Понятие о вириодах.</p>	

#### Дополнительные материалы к занятию № 10.

<p style="text-align: center;"><b>Онкогенные вирусы</b></p> <p>Онкогенные вирусы способны вызывать трансформацию («бессмертие» и опухолевую прогрессию) клеток человека и животных <i>in vitro</i> и <i>in vivo</i>.</p> <p><b>Признаки трансформации клетки:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• ослабление (потеря) адгезии</li> <li>• повышение подвижности</li> <li>• приобретение инвазивных свойств</li> <li>• утрата чувствительности к механизмам контроля пролиферации и дифференцировки</li> <li>• способность формировать опухоли</li> <li>• повышенная частота хромосомных aberrаций, в т.ч. и специфических</li> </ul>	<p style="text-align: center;"><b>РНК-геномные онкогенные вирусы</b></p> <p>Онкогенными РНК-содержащими вирусами являются представители пяти родов ретровирусов (<i>Retroviridae</i>), подсемейство онкорнавирусы (<i>Oncornavirinae</i>) — <i>Alpharetrovirus</i> (вирус миелобластома птиц — AMV, вирус саркомы Рауса — RSV), <i>Betaretrovirus</i> (вирус опухолей молочных желез мышей — MMTV), <i>Gammaretrovirus</i> (вирус лейкемии мышей — MuLV), <i>Deltaretrovirus</i> (вирус лейкоза крупного рогатого скота, вирус Т-клеточного лейкоза человека — BLV, HTLV), <i>Epsilonretrovirus</i> (вирус лейкомы рогаговицы — WDSV).</p> <p>Механизмы онкогенной трансформации включают внесение в клетку высокоактивных генов (гомологов нормальных клеточных генов) способных вызывать трансформацию клеток в культуре (<b>онкогены</b>). Вирусные онкогены обозначают v-onc, а соответствующие клеточные гены — c-onc. В настоящее время идентифицированы многие онкогены и определены их функции (ростовые факторы, рецепторы ростовых факторов, G-белки, сигнальные факторы, транскрипционные факторы, регуляторы апоптоза и клеточного цикла и др.).</p> <p>Онкогенные РНК-геномные вирусы (HTLV) могут вызывать трансформацию и без онкогенов, путем специфической интеграции:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• усиливая собственным промотором активность нормальных клеточных генов (IL2, PИЛ2, c-fos);</li> <li>• нарушая функцию противоопухолевых генов и факторов клетки (ген ретинобластомы, p53 и др.).</li> </ul>
--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

### ДНК-геномные онкогенные вирусы

К онкогенным ДНК-содержащим вирусам относятся представители пяти семейств вирусов: полиомавирусы, папилломавирусы, аденовирусы, герпесвирусы, гепаднавирусы. Следует отметить, что не все вирусы этих семейств обладают онкогенным потенциалом. Кроме того, онкогенные вирусы этих семейств, обладая трансформирующей способностью, не всегда способны вызывать злокачественные опухоли (см. таблицу).

ДНК-геномные онкогенные вирусы используют сходные механизмы трансформации:

- усиление активности промоторов клеточных онкогенов (транслокация либо специфическая интеграция). При этом клеточные онкогены подвергаются действию сильных промоторов других генов. Часто это гены цепей иммуноглобулинов или ТКР).
- внесение в клетку высокоактивных онкогенов: ДНК-геномные онкогенные вирусы имеют собственные онкогены, частично родственные нормальным клеточным белкам

Опухоль	Клеточный онкоген	Промотор
Лимфома Беркита	Myc	Гены тяжелой и легкой цепей иммуноглобулинов
Хронический В-клеточный лимфолейкоз	Bcl1, bcl2	Гены тяжелой цепи иммуноглобулинов
Хронический Т-клеточный лимфолейкоз	tcl1	Гены ТКР
Хронический Т-клеточный лимфолейкоз	Myc	Гены ТКР

Вирус	Онкоген (продукт)
Аденовирусы	Регион E1A
SV40	Большой T-ag
Полиомавирус	Большой T-ag
Лимфотропные вирусы	Большой T-ag
Вирус папилломы человека 16	E7

Механизм действия таких онкогенов опосредуется нарушением апоптоза клеток и приводит к бессмертию и опухолевой прогрессии клеток-мишеней. Ряд вирусов экспрессируют механизмы, угнетающие функцию антионкогенных белков клеток человека. Аденовирусы связывают и нейтрализуют продукт гена ретинобластомы, вирус гепатита С связывает антионкоген p53, а папилломавирусы вызывают разрушение его на протеосомах.

### ДНК-геномные онкогенные вирусы

Семейство, вирус	Способность трансформировать культуру клеток	Способность индуцировать опухоли у лабораторных животных	Способность вызывать рак
<b>Полиомавирусы:</b> Ру мыши SV40 обезьян ВКV человека JCV человека	+ + + +	+ + + +	- - - -
<b>Папилломавирусы:</b> Животных Птиц Человека	+ + +	+ + +	- - Рак шейки матки
<b>Аденовирусы:</b> Животных Человека	+ (все) +	+ (C-E) +	+ -
<b>Герпесвирусы:</b> Вирус простого герпеса Цитомегаловирус Вирус Эпштейна-Барр	+ + +	- - +	- - Лимфома Беркита, рак носоглотки
<b>Гепаднавирусы:</b> Грызунов, птиц Крупного рогатого скота Человека (HBV)	- - -	- - -	+ - Гепатоцеллюлярная карцинома

## Занятие № 11-12 (29-30).

### Тема: Итоговое занятие по теме: «Вирусология».

1. Систематическое положение и классификация вирусов.
2. Формы существования вирусов. Морфология и биохимическая структура вирионов. Прионы.
3. Структура, свойства и функции нуклеиновых кислот, белков, липидов вирионов.
4. Взаимодействие вирусов с восприимчивой клеткой. Строгий паразитизм и цитотропизм вирусов и факторы, его обуславливающие. Клеточные и вирусоспецифические рецепторы.
5. Особенности инфекции, механизмы неспецифического и специфического иммунитета при вирусных заболеваниях. Интерфероны  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ .
6. Типы вирусной инфекции клеток. Изменения клеток хозяина при вирусной инфекции. Цитопатическое действие вирусов, типы.
7. Включения при вирусных заболеваниях. Природа, локализация. Диагностическое значение.
8. Общие принципы диагностики вирусных инфекций. Методы экспресс-диагностики. Молекулярно-биологическое типирование.
9. Культуры клеток, классификация, характеристика. Культивирование вирусов на культурах клеток. Подготовка материала, заражение культуры. Методы индикации и идентификации вирусов.
10. Культивирование вирусов в курином эмбрионе. Методы заражения. Индикация и идентификация вирусов.
11. Выделение вирусов на лабораторных животных. Способы заражения животных, индикация и идентификация вирусов.
12. Серологические реакции при вирусных инфекциях. Реакции торможения гемагглютинации, торможения гемадсорбции, нейтрализации.
13. Этиология острых респираторных вирусных заболеваний. Классификация вирусов гриппа. Общая характеристика. Свойства структурных и неструктурных вирусных белков. Геном вируса.
14. Антигенная структура вирусов гриппа и ее изменчивость, роль в эпидемическом и пандемическом распространении гриппа. Механизмы естественного и приобретенного иммунитета.
15. Механизмы патогенеза, специфическая и неспецифическая терапия и профилактика гриппа.
16. Парамиксовирусы. Состав семейства. Вирусы парагриппа, характеристика, дифференциация с вирусами гриппа. Вирус эпидемического паротита. Респираторно-синцитиальный вирус.
17. Современные методы лабораторной диагностика гриппа и парагриппа.
18. Вирус кори, морфология, культуральные и антигенные свойства. Патогенез и иммунитет при кори. Специфическая профилактика кори: вакцина, иммуноглобулины.
19. Вирус бешенства, морфология, биологические свойства, вирусные включения. Патогенез заболевания. Лабораторная диагностика бешенства.
20. Эпидемиология, специфическая и неспецифическая профилактика бешенства. Антирабическая вакцина и гамма-глобулин. Работы Пастера.
21. Ретровирусы. Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ), характеристика. Эпидемиология, патогенез, методы лабораторной диагностики, профилактики ВИЧ-инфекции.
22. СПИД, определение, стадии развития. Роль  $CD4^+$  и  $CD8^+$  Т-клеток. СПИД-ассоциированные заболевания.
23. Классификация вирусов гепатита. Характеристика вируса гепатита А. Патогенез, иммунитет, методы профилактики гепатита А.
24. Характеристика вируса гепатита В. Геном, основные белки. Патогенез, иммунитет, профилактика, лабораторная диагностика гепатита В.
25. Гепатиты С, D, E, G, TTV и SEN. Характеристика вирусов, эпидемиология, патогенез заболеваний.
26. Классификация и характеристика экологической группы арбовирусов. Тога- и флави-вирусы. Значение в патологии человека. Вирусологическая диагностика клещевого энцефалита.
27. Вирус краснухи. Общая характеристика. Роль в патологии. Профилактика краснухи.
28. Буньявирусы, общая характеристика, вызываемые заболевания.
29. Пикорнавирусы, классификация, общая характеристика семейства.
30. Вирус полиомиелита, морфологические и культуральные свойства, серологические варианты. Патогенез и методы лабораторной диагностики полиомиелита. Специфическая профилактика полиомиелита. Эрадикация полиомиелита. Иммунодефицитные состояния – полиомиелит и вялые параличи.
31. Вирусы Коксаки и ЭКХО, характеристика. Роль в патологии человека. Принципы дифференциации.
32. Риновирусы. Ротавирусы. Общая характеристика. Роль в патологии человека.
33. Аденовирусы, морфология, культуральные, биологические свойства, серологическая классификация. Механизмы патогенеза, лабораторная диагностика аденовирусных инфекций.
34. Герпесвирусы. Классификация. Общая характеристика. Основные белки. Заболевания человека, вызываемые альфа-герпесвирусами первого и второго серотипов.
35. Этиология ветряной оспы, злокачественного герпеса, цитомегалии, инфекционного мононуклеоза. Механизмы патогенеза. Лабораторная диагностика.
36. Теории вирусного канцерогенеза. Онкогенные вирусы. Онкогены клеточные и вирусные.
37. Вирусы бактерий (бактериофаги), свойства, классификация. Взаимодействие бактериофагов с восприимчивой бактериальной клеткой. Вирулентные и умеренные фаги. Лизогения.
38. Практическое использование бактериофагов. Фагодиагностика, фаготипирование, фаготерапия. Методы титрования бактериофагов.

## Занятие № 13 (31).

### Тема: Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых стафилококками,

**Перечень изучаемых вопросов:** Стафилококки, систематика, общая характеристика. Заболевания стафилококковой природы. Методы микробиологической диагностики стафилококковых инфекций. Материал для исследования в зависимости от формы инфекции. Правила забора материала. Схема выделения чистых культур (из гноя, слизи, крови и т.п.). Методы идентификации, фаготипирование стафилококков. Специфическая профилактика и лечение стафилококковых инфекций.

**Источники:**

1. Материал лекции.
2. [1], [4], [5], [8] – (учебники),
3. [2], [7] – (практикумы),
4. [9], [15], [16], [17] – (доп. литература).

#### Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты																		
<p>1. 2-й этап микробиологической диагностики стафилококковой инфекции:</p> <p>а) макро- и микроскопическое изучение колоний на ЖСА;</p> <p>б) постановка пробы на плазмокоагулазу.</p>	 <table border="1" style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <thead> <tr> <th>Признак</th> <th>Колонии стафилококка</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>Форма</td><td></td></tr> <tr><td>Размер</td><td></td></tr> <tr><td>Поверхность</td><td></td></tr> <tr><td>Край</td><td></td></tr> <tr><td>Цвет</td><td></td></tr> <tr><td>Консистенция</td><td></td></tr> <tr><td>Прозрачность</td><td></td></tr> <tr><td>Лецитиназа</td><td></td></tr> </tbody> </table> <p>Цитратная кроличья плазма, 37°C, 2-4-24 ч. (коагуляция)</p> <p><b>Заключение:</b> по морфологическим, культуральным и биохимическим признакам идентифицирован _____</p>	Признак	Колонии стафилококка	Форма		Размер		Поверхность		Край		Цвет		Консистенция		Прозрачность		Лецитиназа	
Признак	Колонии стафилококка																		
Форма																			
Размер																			
Поверхность																			
Край																			
Цвет																			
Консистенция																			
Прозрачность																			
Лецитиназа																			
<p><b>Демонстрация.</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Стафилококк в гное, окраска по Граму.</li> <li>2. Рост стафилококков на ЖСА, кровяном агаре, бульоне.</li> <li>3. Проба на плазмокоагулазу.</li> <li>4. Анаэробная ферментация маннита.</li> <li>5. Фаготипирование стафилококков.</li> <li>6. Препараты для специфической профилактики и лечения стафилококковых инфекций.</li> </ol>	 <p>Подпись преподавателя _____</p>																		

**Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 13.**




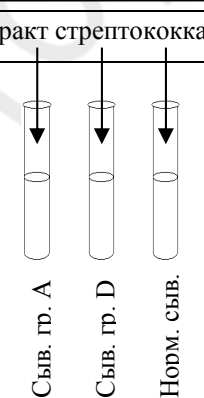
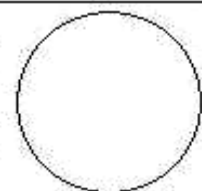


## Занятие № 14 (32).

### Тема: Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых стрептококками, нейссериями.

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Стрептококки. Систематика. Пиогенный стрептококк. Пневмококки. Общая характеристика. Антигенная структура. Острые и хронические заболевания, патогенез, иммунитет. Антитела к токсинам и ферментам стрептококка и их диагностическое значение. Методы диагностики стрептококковых инфекций. Бактериологический метод, схема исследования. Материал для исследования в зависимости от формы инфекции, правила и методы взятия материала. Принципы терапии и профилактики стрептококковых инфекций.</p> <p>Энтерококки, общая характеристика, роль в патологии человека.</p> <p>Нейссерии. Систематика, общая характеристика. Факторы патогенности. Дифференциация патогенных и непатогенных нейссерий.</p> <p>Характеристика возбудителя, механизмы патогенеза, иммунитет, методы диагностики и профилактики менингококковой инфекции.</p> <p>Характеристика возбудителя, механизмы патогенеза, иммунитет, методы микробиологической диагностики острой и хронической гонореи.</p>	<p><b>Источники:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Материал лекции.</li> <li>2. [1], [4], [5], [8] – (учебники),</li> <li>3. [2], [7] – (практикумы),</li> <li>4. [9], [15], [16], [17] – (доп. литература).</li> </ol>
--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

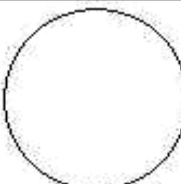
#### Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
<p>1. 3-й этап микробиологической диагностики стрептококковых инфекций:</p> <p>а) описание характера роста в сыровороточном бульоне;</p> <p>б) определение морфологии культуры в мазке, окраска по Граму;</p> <p>в) постановка реакции кольцепреципитации для определения серогруппы стрептококка.</p>	<div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="margin-right: 20px;"> <p>Характер роста _____</p>  <p>Сывороточный бульон</p> </div> <div style="margin-right: 20px;"> <p>Экстракт стрептококка</p>  <p>Сыв. гр. А Сыв. гр. D Норм. сыв.</p> </div> <div style="margin-right: 20px;"> <p>(Реакция кольцепреципитации)</p> </div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; display: flex; align-items: center;"> <div style="margin-right: 10px;"> <p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p> </div>  </div> </div> <p><b>Заключение:</b> по морфологическим, культуральным и биохимическим признакам идентифицирован _____</p>

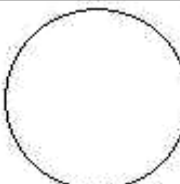
**Демонстрация.**

1. Стрептококк в чистой культуре, окраска по Граму.
2. Пневмококк в чистой культуре, окраска по Граму.
3. Пневмококк в органах белой мыши, окраска по Граму.
4. Рост стрептококков на кровяном агаре и сыворточном бульоне.
5. Гонококк в гное больного гонореей, окраска по Граму.
6. Препарат из ликвора больного менингитом, окраска метиленовым синим.

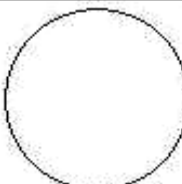
Препарат \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 Окраска \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_



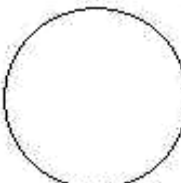
Препарат \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 Окраска \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_



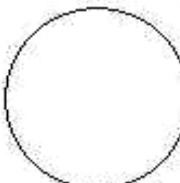
Препарат \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 Окраска \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_



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



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



Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

**Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 14.**
**Характеристика стрептококков и энтерококков**

Основные характеристики	<i>S. pyogenes</i>	<i>S. agalactiae</i>	<i>S. pneumoniae</i>	<i>E. faecalis</i>
Морфология (размеры, форма, взаиморасположение клеток)				
Образование споры				
Наличие капсулы				
Наличие жгутиков				
Окрашивание по Граму				
Наличие оксидазы				
Основные антигены				
Основные факторы патогенности				

**Методы диагностики, специфической профилактики и терапии заболеваний, вызванных стрептококками**

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

**Культуральный метод диагностики стрептококковых инфекций**



**Характеристика нейссерий**

Основные характеристики	<i>N. meningitidis</i>	<i>N. gonorrhoeae</i>
Морфология (размеры, форма, взаиморасположение клеток)		
Образование споры		
Наличие капсулы		
Наличие жгутиков		
Окрашивание по Граму		
Наличие оксидазы		
Основные антигены		
Основные факторы патогенности		

**Методы диагностики, специфической профилактики и терапии заболеваний, вызванных нейссериями**

Название метода	Использование (+/-)	
	<i>N. meningitidis</i>	<i>N. gonorrhoeae</i>
Микроскопический		
Культуральный		
Биологический		
Серологический		
Аллергический		
Молекулярно-генетический		
Специфическая профилактика		
Специфическая терапия		

## Занятие № 15 (33).

### Тема: Методы микробиологической диагностики острых кишечных инфекций (ОКИ), вызываемых энтеробактериями. Диагностика эшерихиозов.

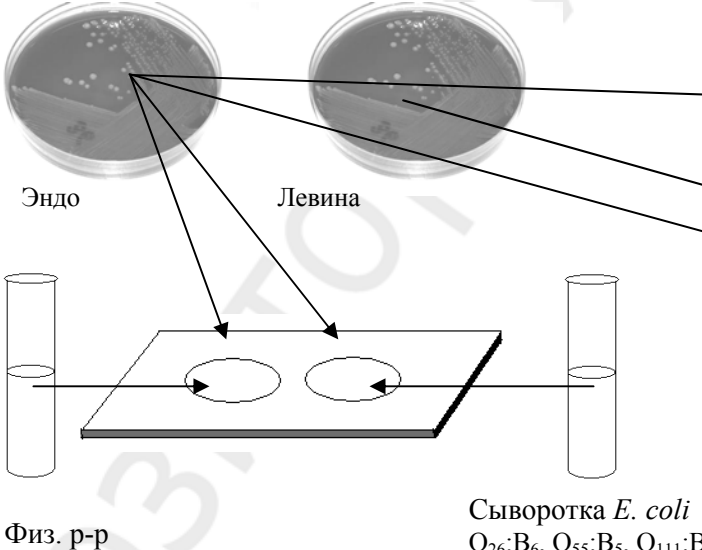
**Перечень изучаемых вопросов:** Общая характеристика представителей семейства энтеробактерий. Различия между родами. Общие принципы диагностики острых кишечных инфекций, вызываемых патогенными энтеробактериями. Дифференциально-диагностические среды, принципы их работы.

Эшерихии, систематическое положение, общая характеристика. Биологическая роль кишечной палочки. Энтеропатогенные, энтеротоксигенные, энтероинвазивные и энтерогеморрагические кишечные палочки. Молекулярные механизмы патогенеза эшерихиозов. Диагностика эшерихиозов. Препараты для антибиотикотерапии.

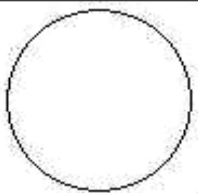
**Источники:**

1. Материал лекции.
2. [1], [4], [5], [8] – (учебники),
3. [2], [7] – (практикумы),
4. [9], [15], [16], [17] – (доп. литература).

**Лабораторная работа**

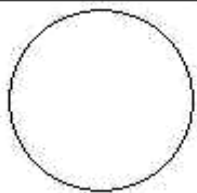
Задание	Методы, результаты																					
<p>1. 2-й этап бактериологической диагностики колиэнтеритов:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>а) исследование колоний кишечной палочки на средах Эндо и Левина;</li> <li>б) приготовление препаратов из колоний с окраской по Граму;</li> <li>в) постановка реакции агглютинации на стекле со смесью поливалентных ОК-сывороток.</li> </ol> <p><b>Демонстрация.</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Чистые среды: Эндо, Левина, Плоскирева, висмут-сульфит агар, среда Рапопорт, магниевая, селенитовая среда, среда Клиглера.</li> <li>2. Эти же среды с ростом эшерихий, сальмонелл, шигелл.</li> <li>3. Биохимическая активность эшерихий</li> <li>4. Развернутая реакция агглютинации с живой и убитой культурами эшерихий.</li> <li>5. Морфология эшерихий, сальмонелл, шигелл (окраска по Граму).</li> </ol>	 <div style="display: flex; justify-content: space-around; margin-top: 10px;"> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> <p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p> </div> <div style="border: 1px solid black; width: 50px; height: 50px; border-radius: 50%;"></div> </div> <table border="1" style="margin-top: 10px; width: 100%; border-collapse: collapse; text-align: center;"> <thead> <tr style="background-color: #cccccc;"> <th>Признак</th> <th>Эндо</th> <th>Левина</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> </tbody> </table> <p style="margin-top: 10px;">Заключение: по морфологическим, культуральным и антигенным свойствам идентифицирован _____</p>	Признак	Эндо	Левина	Форма			Размер			Поверхность			Край			Цвет			Консистенция		
Признак	Эндо	Левина																				
Форма																						
Размер																						
Поверхность																						
Край																						
Цвет																						
Консистенция																						

Препарат \_\_\_\_\_



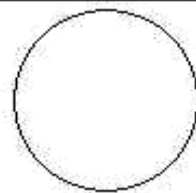
Окраска \_\_\_\_\_

Препарат \_\_\_\_\_



Окраска \_\_\_\_\_

Препарат \_\_\_\_\_



Окраска \_\_\_\_\_

Подпись преподавателя

**Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 15.**

**Роды семейства *Enterobacteriaceae*, имеющие медицинское значение**


**Биологические свойства *E. coli* - представителя нормальной микрофлоры**

Положительные	Отрицательные

**Общая характеристика *Enterobacteriaceae***

Признаки	
Морфология	
Образование споры	
Наличие капсулы	
Наличие жгутиков	
Окрашивание по Граму	
Антигены	
Экзотоксины	
Эндотоксин	

**Характеристика *Escherichia coli***

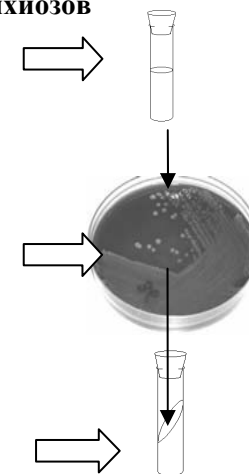
Признаки	<i>Escherichia coli</i>
Морфология	<i>Enterobacteriaceae</i>
Образование споры	
Наличие капсулы	
Наличие жгутиков	
Окрашивание по Граму	
Антигены	
Кол-во серогрупп	
Группы <i>E. coli</i> по факторам патогенности	1. 2. 3. 4.

**Методы диагностики эшерихиозов**

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

**Культуральный метод диагностики эшерихиозов**

<b>Материал для исследования</b>
<b>Среды для выделения чистой культуры</b>
<b>Среда для накопления чистой культуры</b>

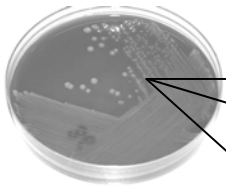
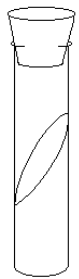
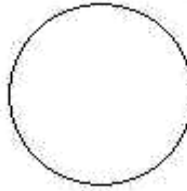
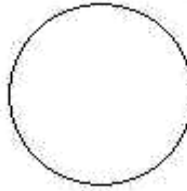
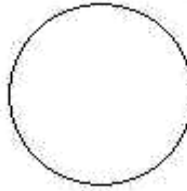


## Занятие № 16 (34).

### Тема: Методы микробиологической диагностики острых кишечных инфекций (ОКИ), вызываемых энтеробактериями (продолжение). Диагностика брюшного тифа, паратифов, сальмонеллезов.

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b>                  Сальмонеллы, классификация и общая характеристика. Серологическая классификация сальмонелл. Идентификация сальмонелл. Молекулярно-биологическое типирование.                  Возбудители брюшного тифа и паратифов. Патогенез брюшного тифа. Микробиологические методы исследования при брюшном тифе в зависимости от этапа патогенеза. Фаготипирование и фагоиндикация сальмонелл.                  Сальмонеллы – возбудители острых гастроэнтеритов. Патогенез и методы диагностики сальмонеллезов.</p>	<p><b>Источники:</b>                  1. Материал лекции.                  2. [1], [4], [5], [8] – (учебники),                  3. [2], [7] – (практикумы),                  4. [9], [15], [16], [17] – (доп. литература).</p>
--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

#### Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты																	
<p>1. 2-й этап выделения копрокультуры при диагностике брюшного тифа и паратифов:</p> <p>а) описание колоний на среде Левина;                  б) микроскопия препарата с окраской по Граму;                  в) отсев на среду Клиглера.</p> <p><b>Демонстрация.</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Чистые среды: Эндо, Левина, Плоскирева, висмут-сульфит агар, среда Рапорт, магниевая, селенитовая среда, среда Клиглера.</li> <li>2. Эти же среды с ростом эшерихий, сальмонелл, шигелл.</li> <li>3. Биохимическая активность сальмонелл.</li> <li>4. Дендрограммы молекулярного типирования сальмонелл.</li> </ol>	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  <p>Среда Левина</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>среда Клиглера</p> </div> </div> <div style="margin-top: 20px; text-align: right;"> <table border="1" style="border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="padding: 2px;">Препарат _____</td> <td rowspan="2" style="text-align: center; vertical-align: middle;">  </td> </tr> <tr> <td style="padding: 2px;">Окраска _____</td> </tr> </table> </div> <div style="margin-top: 20px; text-align: right;"> <table border="1" style="border-collapse: collapse; width: 150px;"> <thead> <tr> <th style="padding: 2px;">Признак</th> <th style="padding: 2px;">Левина</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="padding: 2px;">Форма</td> <td style="padding: 2px;"></td> </tr> <tr> <td style="padding: 2px;">Размер</td> <td style="padding: 2px;"></td> </tr> <tr> <td style="padding: 2px;">Поверхность</td> <td style="padding: 2px;"></td> </tr> <tr> <td style="padding: 2px;">Край</td> <td style="padding: 2px;"></td> </tr> <tr> <td style="padding: 2px;">Цвет</td> <td style="padding: 2px;"></td> </tr> <tr> <td style="padding: 2px;">Консистенция</td> <td style="padding: 2px;"></td> </tr> </tbody> </table> </div>	Препарат _____		Окраска _____	Признак	Левина	Форма		Размер		Поверхность		Край		Цвет		Консистенция	
Препарат _____																		
Окраска _____																		
Признак	Левина																	
Форма																		
Размер																		
Поверхность																		
Край																		
Цвет																		
Консистенция																		

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

## Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 16.

### Основные возбудители сальмонеллезов


### Методы диагностики сальмонеллезов

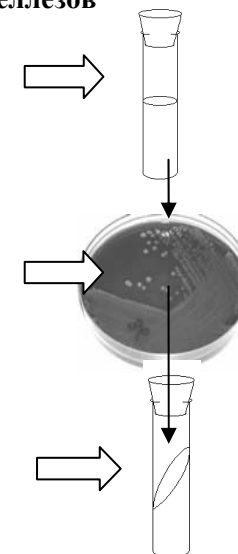
Метод	Использование метода (+/-)
Микроскопический	
Культуральный	
Биологический	
Серологический	
Аллергический	
Молекулярно-генетический	

### Культуральный метод диагностики сальмонеллезов

#### Материал для исследования


#### Среды для выделения чистой культуры


#### Среда для накопления чистой культуры

### Характеристика основных видов рода *Salmonella*

Вид	Ферментация					Образование индола	Образование сероводорода	Наличие каталазы	Антигенная формула (O-, H-, K-антигены)	
	глюкозы	лактозы	маннита	мальтозы	сахарозы					
<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	холекультура	РА по Видально	РПГА с Vi-антигеном
Инкубационный период						
Продромальный период						
Разгар болезни	Бактериемия и интоксикация					
	Паренхиматозная диффузия					
	Аллергически-выделительная					
Реконвалесценция						
Бактерионосительство						

## Занятие № 17 (35).

### Тема: Методы микробиологической диагностики ОКИ, вызываемых энтеробактериями (продолжение). Диагностика дизентерии.

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Шигеллы. Возбудители дизентерии, классификация, общая характеристика. Молекулярные механизмы патогенеза, иммунитет, методы лабораторной диагностики острой и хронической дизентерии. Подходы к профилактике дизентерии. Антибиотикотерапия.</p>	<p><b>Источники:</b>                  1. Материал лекции.                  2. [1], [4], [5], [8] – (учебники),                  3. [2], [7] – (практикумы),                  4. [9], [15], [16], [17] – (доп. лит.).</p>
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Лабораторная работа	Методы, результаты
<p style="text-align: center;"><b>Задание</b></p> <p>1. 3-й этап бактериологической диагностики брюшного тифа и паратифов:</p> <p>а) исследование роста на среде Клиггера;</p> <p>б) определение чистоты культуры, окраска по Граму;</p> <p>в) учёт пробы на подвижность и индолообразование;</p> <p>г) определение антигенной структуры выделенного микроба в РА на стекле с монорецепторными сыворотками.</p>	<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="width: 45%;"> <p>Учет биохимических свойств:</p> <p>Лактоза _____</p> <p>Глюкоза _____</p> <p>Сероводород _____</p> </div> <div style="width: 50%;"> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 10px;"> <p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="text-align: center;">  <p>МПА полужидкий (тест на подвижность) _____</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>МПБ с триптофаном (тест на индолообразование) _____</p> </div> </div> </div> </div> <div style="text-align: center; margin-top: 20px;"> <p><b>Клиггера</b></p>  </div> <div style="text-align: center; margin-top: 10px;"> <p><b>РА с О и Н сыворотками</b></p>  </div> <p style="margin-top: 20px;">Закключение: по морфологическим, культуральным, биохимическим и антигенным свойствам идентифицирован _____</p>



Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 17.

Классификация шигелл

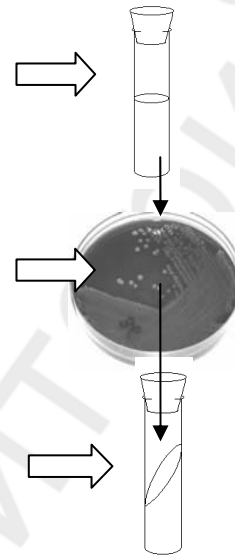
Виды шигелл	Число серовариантов

Культуральный метод диагностики шигеллезов

Материал для исследования

Среды выделения чистой культуры

Среда накопления чистой культуры



Дифференциация шигелл

Признак	<i>S. sonnei</i>	<i>S. flexneri</i>	<i>S. dysenteriae</i>
Глюкоза с газом			
Лактоза			
Маннит			
Серогруппа			

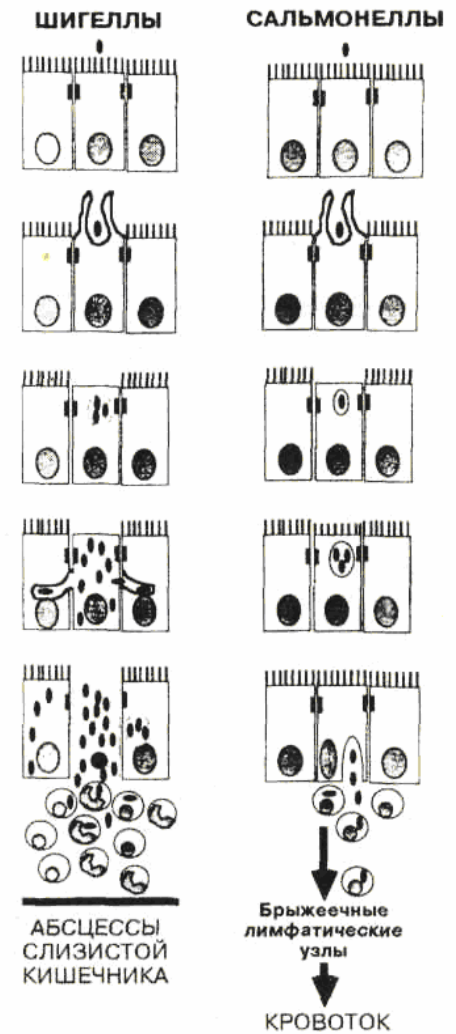


Рис. 17. Патогенез шигеллезов и сальмонеллезов [5].

**Занятие № 18 (36).**

**Тема: Методы микробиологической диагностики ОКИ, вызываемых энтеробактериями (продолжение).  
Серологическая диагностика брюшного тифа, паратифов, дизентерии.**

**Перечень изучаемых вопросов:** Характеристика иммунитета при брюшном тифе, паратифах. Серологическая диагностика брюшного тифа и паратифов. Постановка и анализ реакции Видала. Методы отличия диагностической реакции от анамнестической и прививочной.  
Диагностика бактерионосительства при брюшном тифе.

**Источники:**  
1. Материал лекции.  
2. [1], [4], [5], [8] – (учебники),  
3. [2], [7] – (практикумы),  
4. [9], [15], [16], [17] – (доп. лит.).

**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты																																																																											
<p><b>1. Учёт реакции Видала</b></p> <p align="center"><b>Реакция Видала (РА)</b></p> <table border="1" style="width:100%; text-align: center;"> <tr> <td>Диагностикум</td> <td>1:50</td> <td>1:100</td> <td>1:200</td> <td>1:400</td> <td>1:800</td> <td>КА</td> <td>КС</td> </tr> <tr> <td>O9</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Hd</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>A (OH)</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>B (OH)</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </table> <p>Заключение: _____. (Диагностический титр _____).</p>	Диагностикум	1:50	1:100	1:200	1:400	1:800	КА	КС	O9								Hd								A (OH)								B (OH)								<p align="center"><b>Динамика титров АТ при брюшном тифе</b></p> <table border="1" style="width:100%; text-align: center;"> <tr> <td>Инкубационный, продромальный периоды</td> <td>1 неделя</td> <td>2 неделя</td> <td>3 неделя</td> <td>4 неделя</td> <td>5 неделя</td> <td>6 неделя</td> <td>7 неделя</td> <td>8 неделя</td> </tr> <tr> <td colspan="9"><b>Фазы патогенеза</b></td> </tr> <tr> <td rowspan="2">Лимфаденит</td> <td colspan="2">Бактериemia с интоксикацией</td> <td colspan="3">Паренхиматозная диффузия</td> <td colspan="3">Исход: Выздоровление; Летальный; Бактерионосительство</td> </tr> <tr> <td colspan="6">Аллергически выделительная</td> <td colspan="2"></td> </tr> </table>	Инкубационный, продромальный периоды	1 неделя	2 неделя	3 неделя	4 неделя	5 неделя	6 неделя	7 неделя	8 неделя	<b>Фазы патогенеза</b>									Лимфаденит	Бактериemia с интоксикацией		Паренхиматозная диффузия			Исход: Выздоровление; Летальный; Бактерионосительство			Аллергически выделительная							
Диагностикум	1:50	1:100	1:200	1:400	1:800	КА	КС																																																																					
O9																																																																												
Hd																																																																												
A (OH)																																																																												
B (OH)																																																																												
Инкубационный, продромальный периоды	1 неделя	2 неделя	3 неделя	4 неделя	5 неделя	6 неделя	7 неделя	8 неделя																																																																				
<b>Фазы патогенеза</b>																																																																												
Лимфаденит	Бактериemia с интоксикацией		Паренхиматозная диффузия			Исход: Выздоровление; Летальный; Бактерионосительство																																																																						
	Аллергически выделительная																																																																											

**Демонстрация.**  
1. Рост шигелл и сальмонелл на средах Левина и Плоскирева.  
2. Проба на фаголизис сальмонелл.  
3. Vi-гемагглютинация.  
4. Препараты для специфической профилактики брюшного тифа и паратифов.

**РПГА (Vi – гемагглютинация)**

1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	КС	КА

Заключение: \_\_\_\_\_ (Диагностический титр АТ \_\_\_\_\_).

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

## Занятие № 19 (37).

**Тема: Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых клебсиеллами, иерсиниями,**

**Перечень изучаемых вопросов:** Клебсиеллы, классификация и общая характеристика, вызываемые заболевания. Патогенез, иммунитет, методы микробиологической диагностики острых и хронических клебсиеллёзов.

Возбудитель кишечного иерсиниоза, общая характеристика. Патогенез, иммунитет, методы микробиологической диагностики.

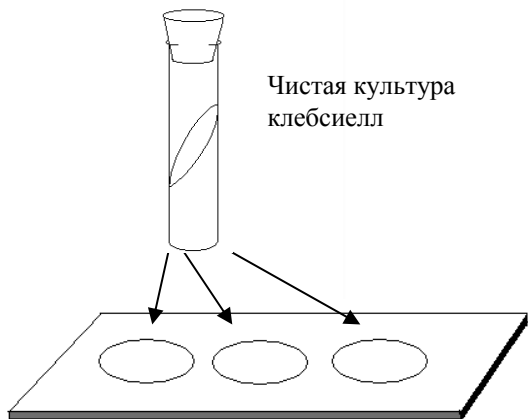
**Источники:**

1. Материал лекции.
2. [1], [4], [5], [8] – (учебники),
3. [2], [7] – (практикумы),
4. [9], [15], [16], [17] – (доп. лит.).

**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты																												
<p>1. Самостоятельная работа по теме «Микробиологическая диагностика клебсиеллёзов»:</p> <p>А. Изучить рост клебсиелл на модифицированной среде Ресселя.</p> <p>Б. Определить наличие капсулы.</p> <p>В. Произвести учет биохимических свойств клебсиелл.</p> <p>Г. Поставить реакцию капсульной агглютинации на стекле для определения К-антигена и установления сероварианта.</p> <p>Д. Произвести учет РСК для серологической диагностики склеромы.</p>	<p><b>Учет биохимических свойств:</b></p> <p>Лактоза _____</p> <p>Глюкоза _____</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center; margin-top: 20px;">  <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-left: 20px;"> <p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p> </div> </div> <p style="text-align: center; margin-top: 10px;"> <span>Ресселя</span> <span>Лактоза</span> <span>Глюкоза</span> <span>Сахароза</span> <span>Цитрат</span> <span>Мочевина</span> <span>Малонат</span>  <span>(среда Симмонса)</span> </p> <p style="text-align: center; margin-top: 20px;"><b>Дифференциация клебсиелл</b></p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; text-align: center;"> <thead> <tr> <th style="width: 30%;">Биохимические свойства</th> <th style="width: 15%;"><i>K. pneumoniae s. rhinoscleromatis</i></th> <th style="width: 15%;"><i>K. pneumoniae s. ozaenae</i></th> <th style="width: 15%;"><i>K. pneumoniae s. pneumoniae</i></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Глюкоза с газом</td> <td>–</td> <td>+/-</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td>Лактоза</td> <td>–</td> <td>+/-</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td>Сахароза</td> <td>– (4 сутки +)</td> <td>+/-</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td>Цитрат аммония</td> <td>–</td> <td>+/-</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td>Мочевина</td> <td>–</td> <td>-/+</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td>Малонат натрия</td> <td>+</td> <td>–</td> <td>+</td> </tr> </tbody> </table>	Биохимические свойства	<i>K. pneumoniae s. rhinoscleromatis</i>	<i>K. pneumoniae s. ozaenae</i>	<i>K. pneumoniae s. pneumoniae</i>	Глюкоза с газом	–	+/-	+	Лактоза	–	+/-	+	Сахароза	– (4 сутки +)	+/-	+	Цитрат аммония	–	+/-	+	Мочевина	–	-/+	+	Малонат натрия	+	–	+
Биохимические свойства	<i>K. pneumoniae s. rhinoscleromatis</i>	<i>K. pneumoniae s. ozaenae</i>	<i>K. pneumoniae s. pneumoniae</i>																										
Глюкоза с газом	–	+/-	+																										
Лактоза	–	+/-	+																										
Сахароза	– (4 сутки +)	+/-	+																										
Цитрат аммония	–	+/-	+																										
Мочевина	–	-/+	+																										
Малонат натрия	+	–	+																										

### Реакция капсульной агглютинации



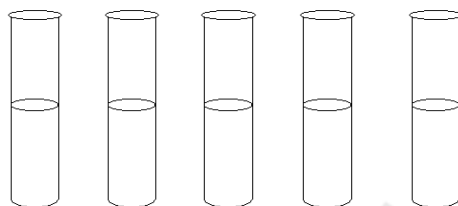
Сыв. К3    Сыв. К4    Физ. р-р

Заключение: \_\_\_\_\_

### Учет РСК по схеме:

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

1:5    1:10    1:20    КС    КА



Заключение: \_\_\_\_\_

### Демонстрация.

1. Рост клебсиелл на дифференциально-диагностических средах.
2. Капсула у клебсиеллы склеромы (окраска по Гинсу-Бурри).
3. *Yersinia enterocolitica*, чистая культура, окраска по Граму.

Препарат \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Окраска \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Препарат \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Окраска \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

### Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 19.

Возбудители	Вызываемые заболевания	Материалы для культуральной диагностики	Методы лабораторной диагностики и специфическая профилактика		
			Метод	Использование метода (+/-)	
				Клебсиеллезы	Иерсиниоз
<i>K. pneumoniae s. rhinoscleromatis</i>			Микроскопический		
<i>K. pneumoniae s. ozaenae</i>			Культуральный		
<i>K. pneumoniae s. pneumoniae</i>			Биологический		
<i>Y. enterocolitica</i>			Серологический		
			Аллергический		
			Молекулярно-генетический		
			Специфическая профилактика		



Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 20.

Возбудители	Вызываемые заболевания	Материалы для культуральной диагностики	Методы лабораторной диагностики и специфическая профилактика		
			Метод	Использование метода (+/-)	
				Кампилобактериоз	Синегнойная инфекция
<i>C. jejuni</i>					
<i>H. pylori</i>					
<i>P. aeruginosa</i>					

**Неферментирующие грамотрицательные бактерии**

**Неферментирующие бактерии** — бактерии, не способные ферментировать глюкозу, оксидазо-положительные, реже — оксидазо-отрицательные. Идентифицируют по цитохромооксидазной реакции, утилизации глюкозы, подвижности, наличию жгутиков, редукции нитрата, продукции пигмента и индола, гидролизу мочевины и эскулина, декарбоксилированию и др.

Способность окислять/ферментировать глюкозу определяют с помощью теста Хью—Лейфсона путем посева в две пробирки со средой, содержащей глюкозу и индикатор ее расщепления: окисление глюкозы учитывают при аэробных условиях роста, а ферментацию — при анаэробных условиях роста, при этом среду заливают сверху стерильным вазелиновым маслом.

**Клинически значимые неферментирующие бактерии**

<p><b>1. Подвижные (полярный жгутик)</b></p> <p><b>рРНК-группа I</b>  <i>Pseudomonas aeruginosa</i>  <i>Pseudomonas fluorescens</i>  <i>Pseudomonas putida</i>  <i>Pseudomonas stutzeri</i>  <i>Pseudomonas mendocina</i>  <i>Pseudomonas alcaligenes</i>  <i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i>  <i>Pseudomonas species group 1</i></p> <p><b>рРНК-группа II</b>  <i>Burkholderia mallei</i> (неподвижные)  <i>Burkholderia pseudomallei</i>,  <i>B. cepacia</i>, <i>B. gladioli</i>, <i>Ralstonia picketti</i>  <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> и др.</p> <p><b>Роды Metylobacterium, Roseomonas, Balneatrix</b></p>	<p><b>рРНК-группа III</b>  <i>Comamonas acidovorans</i>  <i>Comamonas terrigena</i>, <i>C. testosteroni</i></p> <p><b>рРНК-группа IV</b>  <i>Brevundimonas diminuta</i>  <i>Brevundimonas vesicularis</i></p> <p><b>рРНК-группа V</b></p> <p><b>2. Подвижные (перитрихи)</b>  <i>Pod Alcaligenes</i>  <i>Pod Bordetella</i>  <i>Pod Agrobacterium</i>  <i>Pod Achromobacter</i>  <i>Ochrobactrum anthropi</i>  <i>Olligella ureolytica</i>  <i>CDC группа Ivc-2</i>  <i>CDC группа N0-1</i>  <i>Bordetella holmesii</i> (CDC группа N0-2)</p>	<p><b>3. Неподвижные, оксидазоположительные</b>  <i>Pod Ravobacterium</i>  <i>Pod Chryseobacterium</i>  <i>Pod Empedobacter</i>  <i>Pod Weeksella</i>  <i>Pod Bergeyella</i>  <i>Pod Sphingobacterium</i>  <i>Pod Moraxella</i>  <i>Oligella urethralis</i>  <i>CDC группа EO-2, EO-3, Psychrobacter</i>  <i>Палочки Gilardi группа 1</i></p> <p><b>4. Неподвижные, оксидазоотрицательные</b>  <i>Pod Acinetobacter</i></p>
---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

## Занятие № 21 (39).

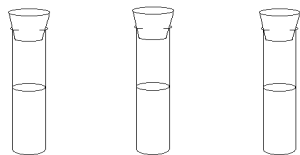
### Тема: Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых коринебактериями, листериями.

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Коринебактерии дифтерии. Систематика, общая характеристика возбудителя. Типы коринебактерий дифтерии, их отличительные признаки. Дифтерийный токсин и анитоксическая сыворотка. Патогенез дифтерии. Методы микробиологической и молекулярно-биологической диагностики дифтерии. Принципы терапии и профилактики дифтерии. Определение эффективности поствакцинального иммунитета (РПГА). Листерии, общая характеристика, роль в патологии человека.</p>	<p><b>Источники:</b>                  1. Материал лекции.                  2. [1] [4], [5], [8] – (учебники),                  3. [2], [7] – (практикумы),                  4. [9], [15], [16], [17] – (доп. лит.).</p>
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

#### Лабораторная работа

<p style="text-align: center;"><b>Задание</b></p> <p>1. Бактериологическая диагностика дифтерии, 2-й этап:                  а) изучение роста колоний коринебактерий на теллуритовой среде,                  б) отсев колоний на пёстрый ряд (глюкоза, сахароза, крахмал).</p>	<p style="text-align: center;"><b>Методы, результаты</b></p> <div style="display: flex; align-items: center; justify-content: center;"> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-right: 10px;"> <p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p> </div> <div style="display: flex; gap: 10px;"> </div> </div> <p style="text-align: center; margin-top: 5px;">Глюкоза    Сахароза    Крахмал</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; margin-top: 10px;"> <thead> <tr> <th style="width: 20%;">Признак</th> <th>Колонии на сывороточном агаре с теллуридом калия</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>Форма</td><td> </td></tr> <tr><td>Размер</td><td> </td></tr> <tr><td>Поверхность</td><td> </td></tr> <tr><td>Край</td><td> </td></tr> <tr><td>Цвет</td><td> </td></tr> </tbody> </table> <div style="margin-top: 20px; text-align: right;"> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; display: inline-block;"> <p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p> </div> </div> <div style="margin-top: 20px; text-align: right;"> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; display: inline-block;"> <p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p> </div> </div>	Признак	Колонии на сывороточном агаре с теллуридом калия	Форма		Размер		Поверхность		Край		Цвет	
Признак	Колонии на сывороточном агаре с теллуридом калия												
Форма													
Размер													
Поверхность													
Край													
Цвет													
<p><b>Демонстрация.</b>                  1. Коринебактерии дифтерии: а) по Нейссеру; б) по Леффлеру.                  2. Проба на токсигенность коринебактерий дифтерии.                  3. Препараты для специфической профилактики и лечения дифтерии.                  4. РПГА для оценки напряжённости противодифтерийного иммунитета.</p>	<p>Учет РПГА для оценки напряженности иммунитета к дифтерии</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; margin-bottom: 10px;"> <tr> <td style="width: 30%;">Консистенция</td> <td style="width: 30%;"></td> <td style="width: 10%; text-align: center;">1/10</td> <td style="width: 10%; text-align: center;">1/20</td> <td style="width: 10%;"></td> </tr> </table> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> </div> <p>Заключение: _____</p>	Консистенция		1/10	1/20								
Консистенция		1/10	1/20										

**Выполняется на занятии № 22.**  
Учет сахаролитической активности коринебактерий, идентификация.



Глюкоза Сахароза Крахмал  
Заключение: на основании морфологических, культуральных и биохимических свойств идентифицирован \_\_\_\_\_

**Биохимические свойства некоторых коринебактерий**

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

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

**Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 21.**

**Характеристика коринебактерий, листерий,**

Признаки	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
Морфология		
Образование споры		
Наличие капсулы		
Наличие жгутиков		
Окрашивание по Граму		
Антигены		

**Клинически значимые коринебактерии**

Виды	Заболевания
<i>C. diphtheriae</i>	Дифтерия
<i>C. ulcerans</i> , <i>C. minutissimum</i> , <i>C. xerosis</i> , <i>C. pseudodiphtheriticum</i> и др.	Оппортунистические инфекции

**Факторы патогенности листерий**

Факторы патогенности	Биологический эффект
Эндотоксин	токсическое действие
Интерналин – мембранный белок	проникновение листерий в макрофаги и эндотелиоциты, в т.ч. из фагосом в цитоплазму
Листерииолизин О	гемолизин, обуславливающий разрушение мембраны фаголизосом
Фосфолипазы	растворение мембраны и проникновение в клетку (что защищает возбудителя от действия АТ)

**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'-диэфир-трегалозы)	Нарушает фагоцитоз
Гиалуронидаза	Нарушают проницаемость тканей
Нейраминидаза	

**Лабораторная диагностика, специфическая профилактика и терапия дифтерии, листериоза**

Метод	Виды материала и использование методов (+/-)			
	Дифтерия		Листериоз	
	Материал	(+/-)	Материал	(+/-)
Микроскопический				
Культуральный				
Серологический				
Аллергический				
Биологический				
Молекулярно-генетический				
Специфическая профилактика				
Специфическая терапия				

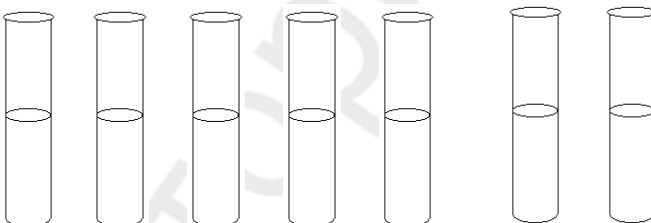
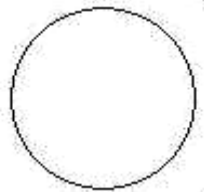


## Занятие № 22 (40).

### Тема: Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых бордетеллами, гемофилами, легионеллами, коксиеллами.

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Бордетелла коклюша. Характеристика возбудителя, факторы патогенности. Дифференциация с возбудителем паракоклюша. Патогенез коклюша, иммунитет, диагностика. Принципы терапии и профилактики коклюша.</p> <p>Гемоглобинофильные бактерии, общая характеристика, роль в патологии человека.</p> <p>Легионеллы, общая характеристика, роль в патологии человека.</p> <p>Коксиеллы. Ку-лихорадка.</p>	<p><b>Источники:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Материал лекции.</li> <li>2. [1], [4], [5], [8] – (учебники),</li> <li>3. [2], [7] – (практикумы),</li> <li>4. [9], [15], [16], [17] – (доп. лит.).</li> </ol>
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

#### Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
1. Учет сахаролитической активности коринебактерий, идентификация.	См. занятие № 20.
2. Учет РА в пробирках с целью серодиагностики коклюша	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: flex-start;"> <div style="text-align: center;"> <p>1/50   1/100   1/200   1/400   1/800   КС   КА</p>  </div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-left: 20px;"> <p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p>  </div> </div> <p>Закключение: _____</p>
<p><b>Демонстрация.</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Рост бордетелл коклюша и паракоклюша на КУА, МПА с тирозином, проба на уреазу.</li> <li>2. Мазок по Граму из бордетелл коклюша.</li> <li>3. Колонии бордетелл коклюша на чашках с КУА в стереоскопическом микроскопе.</li> <li>4. Препараты для специфической профилактики и лечения коклюша.</li> </ol>	

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

#### Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 22.

Характеристика, бордетелл, <i>Haemophilus influenzae</i> , легионелл, коксиелл				
Признаки	<i>Bordetella pertussis</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Coxiella burnetii</i>
Морфология (размеры, форма, взаиморасположение клеток)				
Образование споры				
Наличие капсулы				
Наличие жгутиков				
Окрашивание по Граму				
Антигены				



## Занятие № 23 (41).

### Тема: Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых актиномицетами и микобактериями.

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Актиномицеты, систематическое положение, общая характеристика, роль в патологии человека. Микобактерии, классификация. Возбудители туберкулеза, общая характеристика. Патогенез, иммунитет, методы микробиологической диагностики, принципы терапии и профилактики туберкулёза. Проба Манту.</p> <p>Возбудитель лепры, общая характеристика, роль в патологии человека.</p> <p>Возбудители микобактериозов. Нокардии.</p>	<p><b>Источники:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Материал лекции.</li> <li>2. [1], [4], [5], [8] – (учебники),</li> <li>3. [2], [7] – (практикумы),</li> <li>4. [9], [15], [16], [17] – (доп. лит.).</li> </ol>
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

#### Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты			
<p>1. Микроскопия готовых мазков мокроты больного туберкулёзом, окраска по Цилю-Нильсену.</p> <p><b>Демонстрация.</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Рост микобактерий на питательных средах.</li> <li>2. Метод флотации.</li> <li>3. Определение лекарственной устойчивости микобактерий туберкулёза.</li> <li>4. Корд-фактор микобактерий туберкулёза, окраска по Цилю-Нильсену.</li> <li>5. Актиномицеты, чистая культура, окраска по Граму.</li> <li>6. Микобактерии лепры, окраска по Цилю-Нильсену.</li> <li>7. Микобактерии туберкулёза в мокроте больного, окраска по Цилю-Нильсену.</li> </ol>	Препарат _____ _____ Окраска _____ _____		Препарат _____ _____ Окраска _____ _____	
	Препарат _____ _____ Окраска _____ _____		Препарат _____ _____ Окраска _____ _____	

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 23		Характеристика актиномицетов, микобактерий	
Признаки	<i>Actinomyces israelii</i>	<i>M. tuberculosis</i>	<i>M. leprae</i>
Морфология			
Наличие капсулы			
Наличие жгутиков			
Окрашивание по Граму			
Спец. методы окраски			
Факторы патогенности		Корд-фактор, сульфатиды, антигены...	

Лабораторная диагностика и специфическая профилактика актиномикоза, туберкулеза, лепры						
Метод	Актиномикоз		Туберкулез		Лепра	
	Материал	+/-	Материал	+/-	Материал	+/-
Микроскопический						
Культуральный						
Серологический						
Биологический						
Молекулярно-генетический						
Аллергический						
Специфическая профилактика						
Специфическая терапия						

Подпись преподавателя

## Занятие № 24 (42).

### Тема: Методы микробиологической диагностики анаэробных инфекций.

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b>          Анаэробы, классификация, общая характеристика. Возбудители газовой гангрены, столбняка, ботулизма. Систематика и общая характеристика. Характеристика экзотоксинов. Принципы терапии и профилактики анаэробных инфекций.          Клостридиальные гастроэнтериты. Клостридия диффициле, роль в патологии человека.          Неспорообразующие анаэробы. Бактероиды. Пептококки. Общая характеристика, факторы патогенности, роль в патологии человека.          Общие принципы и методы диагностики анаэробных инфекций. Молекулярно-биологическая диагностика – ПЦР.</p>	<p><b>Источники:</b>          1. Материал лекции.          2. [1], [4], [5], [8] – (учебники),          3. [2], [7] – (практикумы),          4. [9], [15], [16], [17] – (доп. лит.).</p>
-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

#### Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты		
1. Приготовить препарат со среды Китта-Тароцци с посевом шовного материала.	Препарат _____ _____ Окрашка _____ _____	Препарат _____ _____ Окрашка _____ _____	
<b>Демонстрация.</b> 1. Рост анаэробов на питательных средах. 2. Клостридии, окраска по Граму. 3. Бактероиды, окраска по Граму. 4. Вейллонеллы, окраска по Граму	Препарат _____ _____ Окрашка _____ _____	Препарат _____ _____ Окрашка _____ _____	Препарат _____ _____ Окрашка _____ _____

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

#### Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 24

##### Характеристика некоторых анаэробных бактерий

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

**Экологическая группа облигатно-анаэробных бактерий**

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

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

**Факторы патогенности бактероидов**

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

**Основные факторы патогенности *Clostridium tetani***

Факторы патогенности		Биологический эффект
Столбнячный экзотоксин	тетанолизин	
	тетаноспазмин	

**Основные факторы патогенности *Clostridium botulinum***

Факторы патогенности	Биологический эффект
Ботулинический экзотоксин	Блокирует передачу нервного импульса в периферических холинэргических синапсах, оказывая нейротоксическое действие (смертельная доза для человека составляет около 0,3 мкг)

**Лабораторная диагностика и специфическая профилактика анаэробных инфекций**

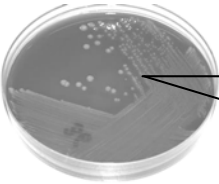

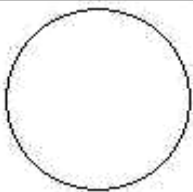
Метод	Газовая гангрена		Столбняк		Ботулизм		Материал
	Материал	+/-	Материал		+/-	+/-	
Микроскопический							
Культуральный							
Серологический							
Биологический							
Молекулярно-генетический							
Аллергический							
Специфическая профилактика							
Специфическая терапия							

## Занятие № 25 (43).

### Тема: Методы микробиологической диагностики особо опасных инфекций. Диагностика холеры.

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Классификация и общая характеристика особо опасных инфекций (ООИ). Правила забора и транспортировки материала при ООИ. Режим работы. Принципы диагностики ООИ.</p> <p>Возбудитель холеры, систематическое положение. Классификация и общая характеристика, факторы патогенности. Биовары. Дифференциация холерных и нехолерных вибрионов. Патогенез холеры. Методы микробиологической диагностики. Ускоренные методы. Принципы терапии и профилактики.</p>	<p><b>Источники:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Материал лекции.</li> <li>2. [1], [4], [5], [8] – (учебники),</li> <li>3. [2], [7] – (практикумы),</li> <li>4. [9], [15], [16], [17] – (доп. лит.).</li> </ol>
---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

#### Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты														
<p>1. Провести 2-й этап бактериологической диагностики холеры:</p> <p>а) описать характер роста в щелочной пептонной воде;</p> <p>б) описать колонии на щелочном агаре;</p> <p>в) приготовить препарат с окраской по Граму и определить морфологию бактерий.</p> <p><b>Демонстрация.</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Рост холероподобного вибриона на щелочном агаре, TCBS, пептонной воде.</li> <li>2. Фаголизательность холерного классического и Эль-Тор вибрионов.</li> <li>3. Развернутая реакция агглютинации.</li> <li>4. Биохимические свойства холерного вибриона.</li> <li>5. Подвижность вибриона.</li> <li>6. Вибрион холеры, чистая культура, окраска по Граму.</li> <li>7. Препараты для иммунопрофилактики и диагностики холеры.</li> </ol>	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  <p>Щелочной агар</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>Пептонная вода</p> </div> </div> <p style="text-align: center; margin-top: 10px;">Характер роста _____</p> <div style="display: flex; justify-content: space-between; margin-top: 20px;"> <div style="width: 60%;"> <p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p> </div> <div style="width: 35%; text-align: center;">  </div> </div> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; margin-top: 20px;"> <thead> <tr> <th style="width: 50%; padding: 5px;">Признак</th> <th style="width: 50%; padding: 5px;">Щелочной агар</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="padding: 5px;">Форма</td> <td style="padding: 5px;"></td> </tr> <tr> <td style="padding: 5px;">Размер</td> <td style="padding: 5px;"></td> </tr> <tr> <td style="padding: 5px;">Поверхность</td> <td style="padding: 5px;"></td> </tr> <tr> <td style="padding: 5px;">Край</td> <td style="padding: 5px;"></td> </tr> <tr> <td style="padding: 5px;">Цвет</td> <td style="padding: 5px;"></td> </tr> <tr> <td style="padding: 5px;">Консистенция</td> <td style="padding: 5px;"></td> </tr> </tbody> </table>	Признак	Щелочной агар	Форма		Размер		Поверхность		Край		Цвет		Консистенция	
Признак	Щелочной агар														
Форма															
Размер															
Поверхность															
Край															
Цвет															
Консистенция															

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 25.

Характеристика возбудителя холеры

Признаки	<i>V. cholerae</i>
Морфология (размеры, форма, взаиморасположение клеток)	
Образование споры	
Наличие капсулы	
Наличие жгутиков	
Окрашивание по Граму	
Факторы патогенности	
Антигены	
Культуральные свойства	
Источник инфекции	
Пути передачи	

Лабораторная диагностика, спец. профилактика и терапия холеры

Метод	Холера	
	Материал	(+/-)
Микроскопический		
Культуральный		
Серологический		
Аллергический		
Биологический		
Молекулярно-генетический		
Специфическая профилактика		
Специфическая терапия		

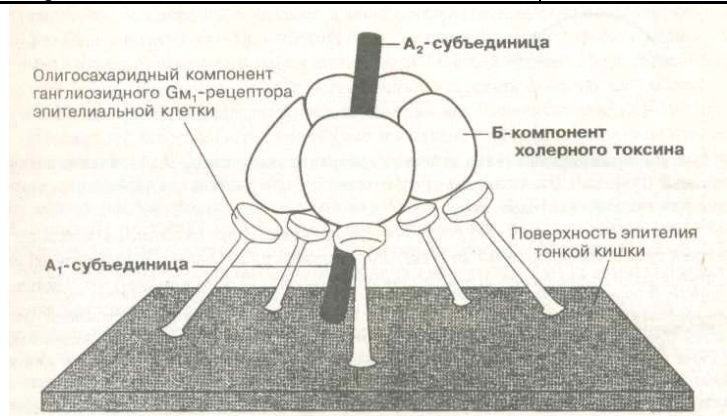


Рис. 18. Строение холерного экзотоксина (холерогена) [5].  
Факторы патогенности *Vibrio cholerae*

Факторы патогенности	Биологический эффект
Экзотоксин (холероген)	нарушение водно-солевого обмена, цитотоксическое действие, вызывающее гибель эпителия тонкой кишки
Эндотоксин	угнетение фагоцитоза, понижение кровяного давления; инфекционно-токсические явления
Пили	адгезия к клеткам слизистой
Фибринолизин, гиалуронидаза	ферменты инвазии (агрессии)

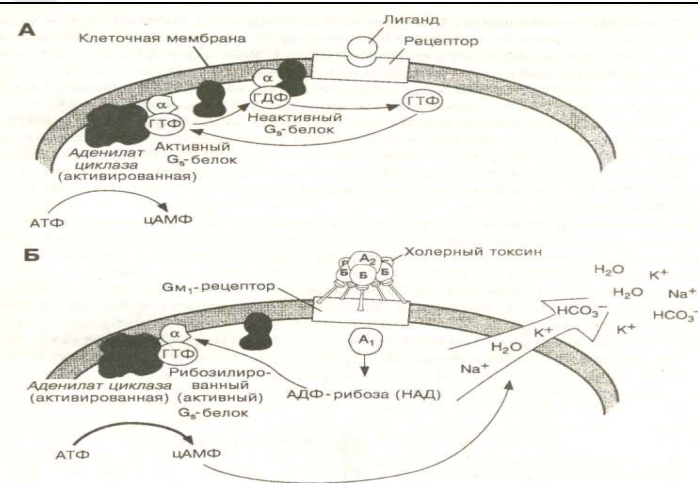


Рис. 19. Принципиальная схема действия холерного экзотоксина [5]. А. Активация аденилатциклазы. В неактивированном состоянии  $G_s$ -белок существует в форме димера, связывающего гуанозин дифосфат (ГДФ). Взаимодействие лиганда с рецептором сопровождается нарушением связи ГДФ с  $G_s$ -белком. ГДФ замещается ГТФ. Взаимодействие ГТФ с  $G_s$ -белком вызывает диссоциацию последнего с высвобождением  $\alpha$ -субъединицы, активирующей аденилатциклазу. Фермент катализирует превращение АТФ в цАМФ. Б. Действие холерного экзотоксина. После связывания  $G_{M1}$ -рецептора А-субъединица катализирует рибозилирование  $\alpha$ -субъединицы  $G_s$ -белка и её активацию. Последняя связывает ГТФ и активирует аденилатциклазу, теряя при этом ГТФазную активность. Массированное образование цАМФ вызывает избыточную  $Na^+$ -зависимую потерю ионов  $Cl^-$  клетками и нарушение всасывания  $Na^+$  и  $K^+$ .

## Занятие № 26 (44).

### Тема: Методы микробиологической диагностики ООИ (продолжение). Диагностика бруцеллёза и сибирской язвы.

#### Перечень изучаемых вопросов:

Возбудители бруцеллеза. Систематика и общая характеристика, факторы патогенности, патогенез. Микробиологическая диагностика бруцеллеза. Принципы терапии и профилактики.

Возбудитель сибирской язвы. Систематика и общая характеристика, факторы патогенности. Отличия от непатогенных бацилл. Патогенез. Микробиологическая диагностика сибирской язвы. Принципы терапии и профилактики.

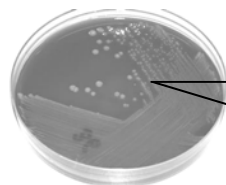
#### Источники:

1. Материал лекции.
2. [1], [4], [5], [8] – (учебники),
3. [2], [7] – (практикумы),
4. [9], [15], [16], [17] – (доп. лит.).

#### Лабораторная работа

##### Задание

1. Провести 2-й этап бактериологической диагностики сибирской язвы:
  - а) описать колонии на МПА
  - б) приготовить препарат, окрасить по Граму.



МПА

##### Методы, результаты

Препарат _____	
Окраска _____	

Признак	МПА
Форма	
Размер	
Поверхность	
Край	
Цвет	
Консистенция	

2. Поставить реакцию агглютинации Райта с целью серодиагностики бруцеллеза

#### Схема постановки реакции агглютинации

Реагенты	1	2	3	4	5	6	7
	1/50	1/100	1/200	1/400	1/800	КА	КС
Физ.раствор	-	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Сыв.больного	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	-	0,5
Диагностикум	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	-
Инкубация 2 часа при 37° С							
Учет							
Инкубация 18-20 часов при 20-25° С							
Учет							

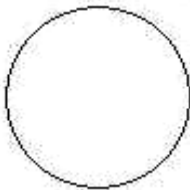
Заключение \_\_\_\_\_



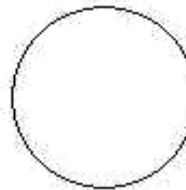
**Демонстрация.**

1. Препараты для иммунопрофилактики и диагностики бруцеллеза и сибирской язвы.
2. Возбудитель бруцеллеза, окраска по Граму.
3. Рост сибирезвездных бацилл на МПА.
4. Бациллы сибирской язвы в органах животных, окраска по Граму.
5. Бациллы сибирской язвы в культуре, окраска по Граму.
6. Споры бациллы сибирской язвы, окраска по Ожешко.

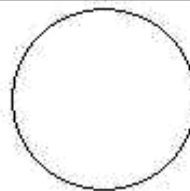
Препарат \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 Окраска \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_



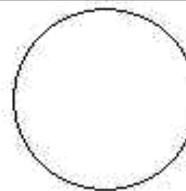
Препарат \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 Окраска \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_



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



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



Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

**Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 26.**

**Характеристика возбудителей бруцеллеза и сибирской язвы**

Признаки	<i>Brucella spp.</i>	<i>B. anthracis</i>
Морфология		
Образование споры		
Наличие капсулы		
Наличие жгутиков		
Окрашивание по Граму		
Факторы патогенности		
Антигены		
Культуральные свойства		
Источник инфекции		
Пути передачи		

**Лабораторная диагностика, спец. профилактика и терапия бруцеллеза и сибирской язвы**

Метод	Бруцеллез		Сибирская язва	
	Материал	(+/-)	Материал	(+/-)
Микроскопический				
Культуральный				
Серологический				
Аллергический				
Биологический				
Молекулярно-генетический				
Специфическая профилактика				
Специфическая терапия				

**Факторы патогенности бруцелл**

Факторы патогенности	Биологический эффект
Эндотоксин	Системный токсический эффект
Гиалуронидаза	Разрушает гиалуроновую кислоту
Белки наружной мембраны	Адгезия
Внутриклеточный паразитизм	

**Факторы патогенности *Bacillus anthracis***

Факторы патогенности	Биологический эффект
Белковый экзотоксин (синтез контролируется плазмидой)	Экзотоксин содержит 3 фактора: <b>летальный фактор</b> – цитотоксический эффект, отек легких, <b>протективный АГ</b> – взаимодействует с мембранами клеток, опосредует активность др. компонентов, <b>отечный фактор</b> – повышение концентрации цАМФ, развитие отеков.
Капсула	Антифагоцитарная активность

### Занятие № 27 (45).

#### Тема: Методы микробиологической диагностики ООИ (продолжение). Диагностика чумы и туляремии.

<b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Возбудитель чумы, систематическое положение, характеристика, факторы патогенности. Отличия от других иерсиний. Патогенез, принципы терапии и профилактики чумы. Возбудитель туляремии, систематика, общая характеристика. Патогенез, принципы терапии и профилактики.	<b>Источники:</b> 1. Материал лекции. 2. [1], [4], [5], [8] – (учебники), 3. [2], [7] – (практикумы), 4. [9], [15], [16], [17] – (доп. лит.).
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

#### Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты														
1. Учет реакции Райта (см. занятие 26).															
<b>Демонстрация.</b> 1. Возбудитель чумы в органах, окраска по Леффлеру. 2. Возбудитель туляремии (чистая культура), окраска по Граму. 3. Препараты для иммунопрофилактики и диагностики чумы, туляремии.	<table border="1"><tr><td data-bbox="1070 579 1361 627">Препарат _____</td><td data-bbox="1373 579 1574 778" rowspan="2"></td></tr><tr><td data-bbox="1070 627 1361 675">_____</td></tr><tr><td data-bbox="1070 675 1361 722">Окраска _____</td><td></td></tr><tr><td data-bbox="1070 722 1361 770">_____</td><td></td></tr><tr><td data-bbox="1070 834 1361 882">Препарат _____</td><td data-bbox="1373 834 1574 1034" rowspan="2"></td></tr><tr><td data-bbox="1070 882 1361 930">_____</td></tr><tr><td data-bbox="1070 930 1361 978">Окраска _____</td><td></td></tr><tr><td data-bbox="1070 978 1361 1026">_____</td><td></td></tr></table>	Препарат _____		_____	Окраска _____		_____		Препарат _____		_____	Окраска _____		_____	
Препарат _____															
_____															
Окраска _____															
_____															
Препарат _____															
_____															
Окраска _____															
_____															

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 27.

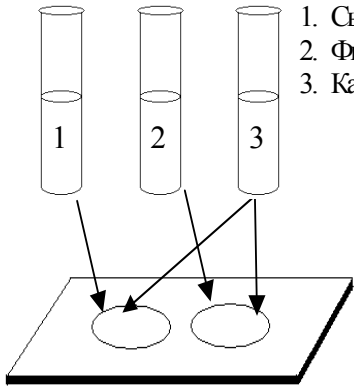

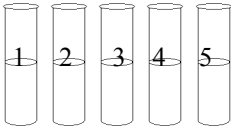
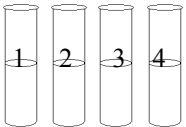
Характеристика возбудителей чумы и туляремии			Лабораторная диагностика, спец. профилактика и терапия чумы и туляремии				
Признаки	<i>Brucella spp.</i>	<i>B. anthracis</i>	Метод	Чума		Туляремия	
Морфология (размеры, форма, взаиморасположение клеток)				Материал	(+/-)	Материал	(+/-)
Образование споры			Микроскопический				
Наличие капсулы			Культуральный				
Наличие жгутиков			Серологический				
Окрашивание по Граму			Аллергический				
Факторы патогенности			Биологический				
Антигены			Молекулярно-генетический				
Культуральные свойства			Специфическая профилактика				
Источник инфекции			Специфическая терапия				
Пути передачи							
Факторы патогенности <i>Y. pestis</i>			Факторы патогенности <i>F. tularensis</i>				
Факторы патогенности	Биологический эффект		Факторы патогенности	Биологический эффект			
Поверхностный гликопротеин (капсульный АГ, F1-АГ, фракция 1)	защита от поглощения фагоцитами, не токсичен, иммуноген		Внутриклеточный паразитизм	Ингибирование лизосомальной функции фагоцитов, благодаря чему бактерии могут длительно находиться в макрофагах ретикулоэндотелиальной системы			
Активатор плазминогена - протеаза	активирует лизис фибриновых сгустков, инактивирует С3в и С5а		Капсула	Защита от фагоцитоза			
V/W(Vi)-АГ	состоит из белка (V-фракция) и ЛП (W-фракция), проявляет антифагоцитарные свойства, способствует внутриклеточному размножению бактерий		Эндотоксин	Системный токсический эффект. Менее активен, чем эндотоксин других грамотрицательных палочек (например, <i>E. coli</i> )			
Мышиный токсин	антагонист адренергических рецепторов, белковоподобное вещество, локализован внутриклеточно						
Бактериоцины (пестицины)	иммуногенные свойства						

## Занятие № 28 (46).

### . Тема: Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых спирохетами.

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Спирохеты, классификация, общая характеристика. Трепонемы. Систематика и общая характеристика. Патогенез и иммунитет при сифилисе. Материал для исследования. Методы микробиологической диагностики сифилиса. Принципы терапии и профилактики сифилиса. Возбудители фузоспирохетозов.</p>	<p><b>Источники:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Материал лекции.</li> <li>2. [1], [4], [5], [8] – (учебники),</li> <li>3. [2], [7] – (практикумы),</li> <li>4. [9], [15], [16], [17] – (доп. лит.).</li> </ol>
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

#### Лабораторная работа

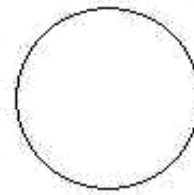
Задание	Методы, результаты
<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Постановка реакции микропреципитации на стекле (VDRL) с целью серодиагностики сифилиса.</li> <li>2. Учёт РСК (реакции Вассермана) с целью диагностики сифилиса.</li> </ol>	<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="width: 45%;"> <p><b>Реакция микропреципитации на стекле</b></p>  <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Сыворотка пациента 1:20</li> <li>2. Физ. раствор</li> <li>3. Кардиолипидный антиген</li> </ol> </div> <div style="width: 50%;"> <p><b>Реакция Вассермана (РСК)</b></p> <p style="text-align: center;">Трепонемный АГ (две серии)</p> <p style="text-align: center;">Кардиолипидный АГ</p> <p style="text-align: center;">Контроли сывороток</p> </div> <div style="width: 45%;"> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Опыт. сыв. 1:5</li> <li>2. Завед. отр. сыв 1:5</li> <li>3. Завед. слабо +, 1:5</li> <li>4. Завед. положит. 1:5</li> <li>5. Контроль АГ</li> </ol> </div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-around; margin-top: 10px;"> <div style="text-align: center;">  </div> <div style="text-align: center;">  </div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-around; margin-top: 10px;"> <div style="text-align: center;">  </div> </div>
<p>Заключение: _____</p>	<p>Заключение: _____</p>

**Демонстрация.**

1. Реакция Вассермана.
2. Трепонема в зубном налёте.
3. Бледная трепонема, чистая культура, окраска по Романовскому-Гимзе.

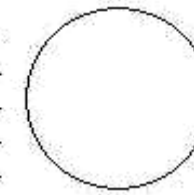
Препарат \_\_\_\_\_

Окраска \_\_\_\_\_



Препарат \_\_\_\_\_

Окраска \_\_\_\_\_

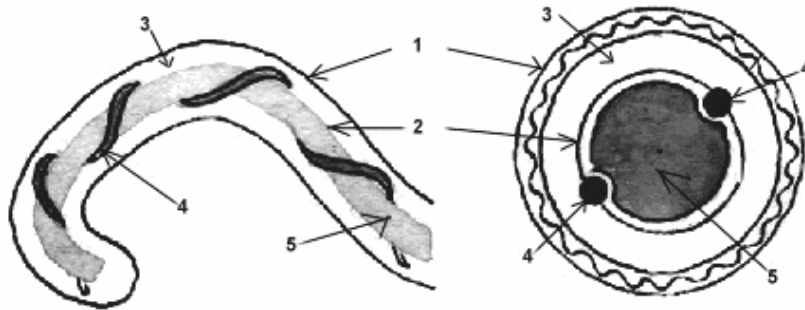


Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

**Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 28.**

Продольный срез

Поперечный срез



1. Клеточная стенка
2. Цитоплазматическая мембрана
3. Периплазматическое пространство
4. Осевые нити (периплазматические жгутики)
5. Цитоплазма

**Рис. 20. Строение спирохет (схема):**

**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	7-14 мкм
	Толщина	0,09-0,5 мкм	0,2-0,5 мкм	0,1-0,15 мкм
Количество завитков		8-12	2-8	12-24
Форма завитков		Равномерные, правильные	Неравномерные, неправильные	Равномерные, правильные, вторичные завитки
Форма клетки (нарисуйте)				
Окрашивание по Романовскому-Гимзе		Розовый цвет	Сине-фиолетовый цвет	Розовый, красный цвет
Культуральные свойства				
Антигены				
Факторы патогенности				

Заболевания, вызываемые спирохетами		Патогенез сифилиса		
Основные виды	Вызываемые заболевания	Стадии болезни	Длительность	Основные патогенетические процессы
<i>Treponema...</i>		Первая стадия		
<i>Treponema...</i>		Вторая стадия		
<i>Treponema...</i>		Третья стадия		
<i>Borrelia...</i>				
<i>Borrelia...</i>				
<i>Borrelia...</i>				
<i>Leptospira...</i>				

**Серологическая диагностика сифилиса:**

РСК (реакция Вассермана) с трепонемным и кардиолипидным антигенами при первичном сифилисе становится положительной на 6-й неделе заболевания у 25-50% больных, на 7-8-й – у 75-90%. При вторичном сифилисе она положительна у 98-100%. В дальнейшем позитивность убывает и при третичном сифилисе реакция положительна только у 60-70% больных. РСК при сифилисе недостаточно чувствительна и специфична. Положительная реакция встречается у здоровых лиц и при ряде заболеваний (гепатиты, туберкулез, онкологические процессы, болезни крови и др.).

Для подтверждения диагноза применяются: реакция иммобилизации трепонем (РИТ) обладает высокой чувствительностью и специфичностью, но трудоемка, субъективна и ставится в лабораториях республиканского уровня (ГКВД); реакция иммунофлюоресценции (РИФ) с сывороткой больного.

Для скрининга используются реакция микропреципитации (РМП) и иммуноферментный анализ (ИФА).

## Занятие № 29 (47).

### Тема: Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых спирохетами (продолжение).

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b>                  Лептоспиры. Систематика и общая характеристика. Патогенез, методы микробиологической диагностики, принципы терапии и профилактики лептоспирозов.                  Боррелии. Систематика и общая характеристика. Механизмы патогенеза и методы микробиологической диагностики возвратных тифов. Возбудитель боррелиоза Лайма, принципы терапии и профилактики.</p>	<p><b>Источники:</b>                  1. Материал лекции.                  2. [1], [4], [5], [8] – (учебники),                  3. [2], [7] – (практикумы),                  4. [9], [15], [16], [17] – (доп. лит.).</p>
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

#### Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты																		
1. Учет РПГА с целью серодиагностики лаймборрелиоза	<table style="width: 100%; text-align: center;"> <tr> <td>1/10</td><td>1/20</td><td>1/40</td><td>1/80</td><td>1/160</td><td>1/320</td><td>1/640</td><td>КС</td><td>КА</td> </tr> <tr> <td><input type="radio"/></td><td><input type="radio"/></td><td><input type="radio"/></td><td><input type="radio"/></td><td><input type="radio"/></td><td><input type="radio"/></td><td><input type="radio"/></td><td><input type="radio"/></td><td><input type="radio"/></td> </tr> </table> <p>Заключение: _____</p>	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	КС	КА	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	КС	КА											
<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>											
<b>Демонстрация.</b> 1. Лептоспиры в тёмном поле. 2. Боррелии в крови больного, окраска по Романовскому-Гимзе.	<table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 50%; border: 1px solid black; padding: 5px;"> <table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 30%;">Препарат _____</td> <td rowspan="2" style="text-align: center; vertical-align: middle;"></td> </tr> <tr> <td>Окраска _____</td> </tr> </table> </td> <td style="width: 50%; border: 1px solid black; padding: 5px;"> <table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 30%;">Препарат _____</td> <td rowspan="2" style="text-align: center; vertical-align: middle;"></td> </tr> <tr> <td>Окраска _____</td> </tr> </table> </td> </tr> </table> <p style="text-align: right;">Подпись преподавателя _____</p>	<table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 30%;">Препарат _____</td> <td rowspan="2" style="text-align: center; vertical-align: middle;"></td> </tr> <tr> <td>Окраска _____</td> </tr> </table>	Препарат _____		Окраска _____	<table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 30%;">Препарат _____</td> <td rowspan="2" style="text-align: center; vertical-align: middle;"></td> </tr> <tr> <td>Окраска _____</td> </tr> </table>	Препарат _____		Окраска _____										
<table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 30%;">Препарат _____</td> <td rowspan="2" style="text-align: center; vertical-align: middle;"></td> </tr> <tr> <td>Окраска _____</td> </tr> </table>	Препарат _____		Окраска _____		<table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 30%;">Препарат _____</td> <td rowspan="2" style="text-align: center; vertical-align: middle;"></td> </tr> <tr> <td>Окраска _____</td> </tr> </table>	Препарат _____			Окраска _____										
Препарат _____																			
Окраска _____																			
Препарат _____																			
Окраска _____																			

#### Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 29.

Методы и материалы для диагностики спирохетозов					
Методы	Материал для диагностики инфекций:				
	Сифилис	Эпидемический возвратный тиф	Эндемический возвратный тиф	Боррелиоз Лайма	Лептоспироз
Микроскопический					
Культуральный					
Биологический					
Серологический					
Аллергический					
Молекулярно-биологический					

**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-положительные результаты из-за перекрестных реакций у пациентов с сифилисом, мононуклеозом, ревматоидным артритом и др. В связи с замедленным иммунным ответом антиборрелиозные антитела выявляются на поздних стадиях болезни.

### Занятие № 30 (48).

#### Тема: Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых риккетсиями, хламидиями, микоплазмами.

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Риккетсии, систематическое положение, классификация, общая характеристика, роль в патологии человека. Риккетсии сыпного тифа, патогенез, иммунитет и методы диагностики сыпного тифа. Возбудители других риккетсиозов.</p> <p>Хламидии, общая характеристика, роль в патологии человека. Возбудители орнитоза, трахомы, респираторных и урогенитальных хламидиозов. Методы микробиологической диагностики хламидиозов. ПЦР при хламидиозах.</p> <p>Микоплазмы, общая характеристика, роль в патологии человека. Методы микробиологической диагностики микоплазмозов.</p>	<p><b>Источники:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Материал лекции.</li> <li>2. [1] [4], [5], [8] – (учебники),</li> <li>3. [2], [7] – (практикумы),</li> <li>4. [9], [15], [16], [17] – (доп. лит.).</li> </ol>
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

#### Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты									
<p>1. Постановка РСК с целью диагностики сыпного тифа.</p> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-top: 10px;"> <p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p> </div>	1	2	3	4	5	6	7	КС	КА	Гем. система:  5 мл 3% взвеси эритроцитов + 5 мл гем. сыворотки
	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280			
	-	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	
	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	
	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	
	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	
	Инкубация 30 минут при 37° С									
	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	
	Инкубация 30 минут при 37° С									
	Учет									
	Заключение:									

<p><b>Демонстрация.</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. РПГА для дифференциальной диагностики эпидемического и рецидивного сыпного тифа.</li> <li>2. Хламидии, окраска по Романовскому-Гимзе.</li> <li>3. Риккетсии Провачека в чистой культуре.</li> </ol>	<table style="width: 100%; text-align: center;"> <tr> <td>1/10</td><td>1/20</td><td>1/40</td><td>1/80</td><td>1/160</td><td>1/320</td><td>1/640</td><td>КС</td><td>КА</td> </tr> <tr> <td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td> </tr> <tr> <td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td> </tr> </table>	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	КС	КА																			<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-top: 10px;"> <p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p> </div>
1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	КС	КА																					
	Заклучение: _____																												

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_



Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 30.

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 *Rochalimaea* 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.

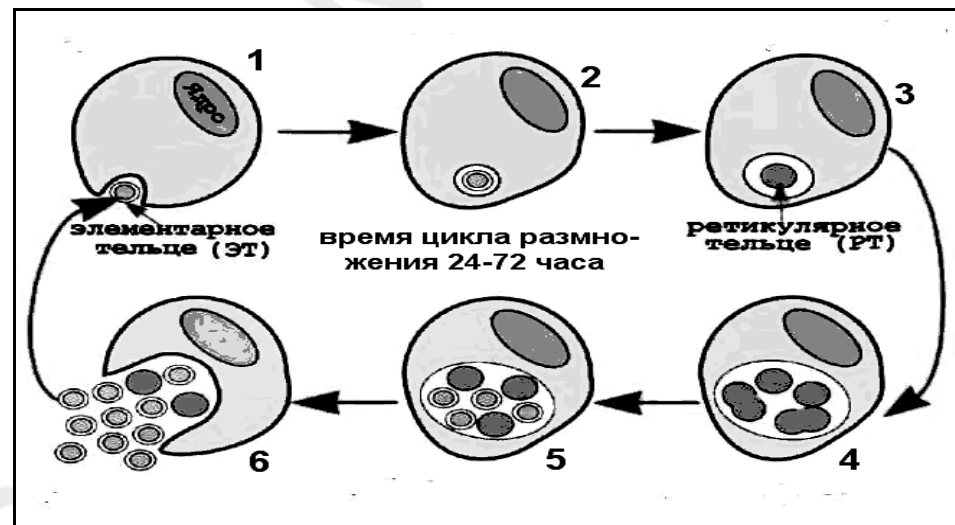
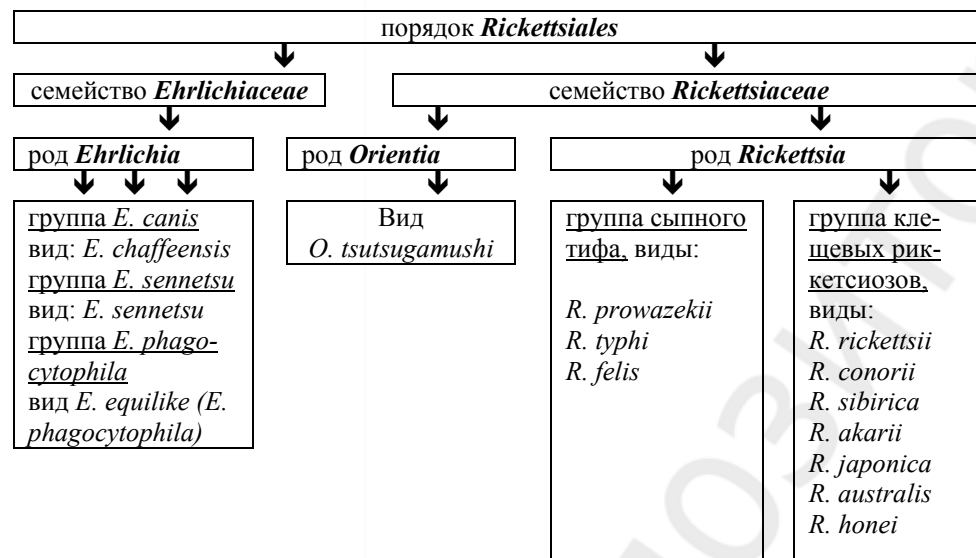


Рис. 21. Схема внутриклеточного цикла размножения хламидий

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

**Методы лабораторной диагностики заболеваний, вызываемых  
риккетсиями, хламидиями, микоплазмами**

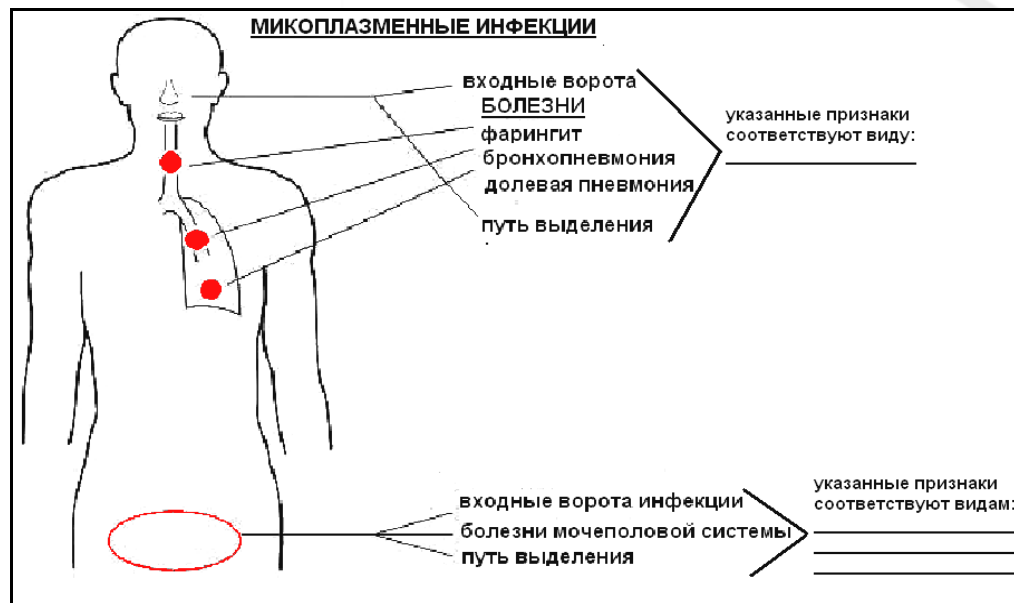
Метод	Использование (+/-) метода при:		
	риккетсиозах	хламидиозах	микоплазмозах
Микроскопический			
Культуральный	Питательная среда		
	Куриный эмбрион		
	Культура клеток		
	Лабораторное животное		
Биологический			
Серологический			
Аллергический			
Молекулярно-генетический			

**Характеристика хламидиозов**

Заболевания	Возбудитель	Источник	Механизм передачи
Трахома (конъюнктивит с включениями)			
Урогенитальный хламидиоз			
Венерическая лимфогранулема			
Орнитоз			
Фарингит, синусит, бронхит, пневмония			

**Характеристика микоплазм и микоплазмозов**

Свойство, признак	<i>Mycoplasma spp</i>
	<i>Заполнить строки ниже</i>
Размеры	
Клеточная стенка, пептидогликан	
Окрашивание по Граму	
Капсула	
Жгутики	
Споры	
Устойчивость к физическим и химическим факторам	
Культуральные свойства, колонии	
Размножение	
Особенности паразитизма	
Источник инфекции	
Механизмы передачи инфекции	
Иммунитет	



**Рис. 22. Инфекции, вызываемые микоплазмами**

## Занятие № 31-32 (49-50)

### Тема: Итоговое занятие по теме: «Частная микробиология».

1. Стафилококки, общая характеристика. Роль в патологии человека. Факторы патогенности и механизмы патогенеза стафилококковых инфекций. Микробиологическая диагностика. Принципы терапии и профилактики стафилококковых инфекций.
2. Стрептококки, классификация. Общая характеристика. Факторы патогенности. Антигенная структура. Патогенез, иммунитет, микробиологическая диагностика, принципы терапии и профилактики стрептококковых инфекций.
3. Классификация нейссерий. Менингококки, общая характеристика. Менингококковые инфекции, механизмы патогенеза, иммунитет, методы диагностики, профилактика.
4. Гонококки, общая характеристика. Механизмы патогенеза и иммунитет. Микробиологическая диагностика острой и хронической гонореи.
5. Общая характеристика семейства энтеробактерий.
6. Общие принципы бактериологической диагностики острых кишечных инфекций (ОКИ). Питательные среды для энтеробактерий. Классификация, принципы работы, применение.
7. Материалы для исследования при ОКИ: методы взятия и характер материала в зависимости от клинической формы болезни и этапа патогенеза.
8. Общие принципы серологической диагностики ОКИ.
9. Кишечная палочка, общая характеристика. Биологическая роль кишечной палочки. Заболевания, вызываемые эшерихиями.
10. Сальмонеллы. Общая характеристика. Представители рода. Серологическая классификация по Кауфману-Уайту. Молекулярно-биологическое типирование.
11. Возбудители брюшного тифа, паратифов А и В, общая характеристика. Фаготипирование. Vi-антиген и его значение.
12. Механизмы патогенеза и методы микробиологической диагностики брюшного тифа и паратифов.
13. Иммунитет при брюшном тифе. Серологическая диагностика брюшного тифа и паратифов. Специфическая профилактика.
14. Этиология пищевых интоксикаций и токсикоинфекций бактериальной природы. Материалы и методы диагностики.
15. Сальмонеллез. Характеристика возбудителей и методы диагностики. Внутробрюшной сальмонеллез.
16. Возбудители дизентерии. Классификация. Характеристика. Патогенез, иммунитет к дизентерии. Методы микробиологической диагностики острой и хронической дизентерии.
17. Клебсиеллы. Классификация, общая характеристика. Патогенез, иммунитет, методы микробиологической диагностики клебсиеллезов.
18. Синегнойная палочка, общая характеристика, факторы патогенности. Роль в патологии человека.
19. Возбудители кишечного иерсиниоза, общая характеристика. Патогенез. Методы диагностики иерсиниоза.
20. Возбудитель дифтерии, общая характеристика. Отличия от непатогенных коринебактерий. Механизмы патогенеза и микробиологическая диагностика дифтерии.
21. Дифтерийный токсин и его свойства. Анатоксин. Иммунитет при дифтерии и его характер. Определение напряженности антитоксического иммунитета. Принципы терапии и профилактики дифтерии.
22. Возбудитель коклюша, общая характеристика. Дифференциация с возбудителем паракоклюша. Патогенез, иммунитет. Микробиологическая диагностика, принципы терапии и профилактики коклюша.
23. Гемофилы, легионеллы. Общая характеристика, роль в патологии человека.
24. Листерии, коксиееллы. Общая характеристика, роль в патологии человека.
25. Общая характеристика возбудителей туберкулеза. Патогенез, иммунитет, методы диагностики и специфическая профилактика туберкулеза. Микобактериозы.
26. Возбудитель лепры. Характеристика, патогенез, иммунитет.
27. Особо опасные инфекции (ООИ). Классификация Основные правила режима работы, взятия, пересылки заразного материала при ООИ. Общие принципы диагностики ООИ.
28. Возбудители холеры. Систематика. Общая характеристика. Дифференциация биоваров. Патогенез, иммунитет, принципы терапии и профилактики. Методы микробиологической диагностики.
29. Возбудитель чумы, общая характеристика. Патогенез чумы. Иммунитет, принципы терапии и профилактики чумы.
30. Возбудитель сибирской язвы, характеристика. Патогенез, иммунитет, принципы терапии и профилактики сибирской язвы.
31. Возбудитель туляремии, общая характеристика. Патогенез, иммунитет, принципы терапии и профилактики туляремии.
32. Возбудители бруцеллеза, общая характеристика. Дифференциация видов бруцелл. Патогенез, иммунитет, принципы терапии и профилактики бруцеллеза.
33. Семейство спирилл. Кампилобактерии, характеристика, роль в патологии человека. Хеликобактер.
34. Классификация и общая характеристика анаэробов. Клостридии. Бактероиды, пептококки и другие неспорообразующие анаэробы. Факторы патогенности. Роль в патологии человека.
35. Возбудитель столбняка, общая характеристика. Патогенез, иммунитет, принципы терапии и профилактики столбняка.
36. Возбудители газовой гангрены, общая характеристика. Патогенез, принципы терапии и профилактики газовой гангрены.
37. Возбудитель ботулизма, общая характеристика. Патогенез, принципы терапии и профилактики ботулизма. Клостридиальные гастроэнтериты.
38. Методы диагностики анаэробных инфекций.
39. Классификация и общая характеристика спирохет.
40. Классификация трепонем и трепонематозов. Характеристика возбудителя сифилиса. Патогенез, иммунитет, методы диагностики сифилиса.
41. Лептоспиры. Общая характеристика. Патогенез лептоспирозов, иммунитет, специфическая профилактика. Микробиологическая диагностика лептоспирозов.
42. Боррелии, общая характеристика. Патогенез, иммунитет при возвратном тифе. Микробиологическая диагностика. Возбудитель боррелиоза Лайма.
43. Систематическое положение и характеристика риккетсий. Возбудители риккетсиозов. Патогенез, иммунитет, методы диагностики сыпного тифа.
44. Характеристика хламидий. Возбудители трахомы, орнитоза, респираторных и урогенитальных хламидиозов. Механизмы патогенеза и методы диагностики хламидиозов.
45. Общая характеристика микоплазм, факторы патогенности, роль в патологии человека. Методы диагностики микоплазмозов.

#### Практические навыки:

1. Определить морфологию стафилококка, чистая культура, окраска по Граму.
2. Определить морфологию стрептококка, чистая культура, окраска по Граму.
3. Определить морфологию гонококка в гное, окраска по Граму.
4. Определить морфологию энтеробактерии, чистая культура, окраска по Граму.
5. Определить морфологию смеси стафилококка и кишечной палочки, окраска по Граму.
6. Определить морфологию бацилл сибирской язвы, чистая культура, окраска по Граму.
7. Определить морфологию вибриона, чистая культура, окраска по Граму.
8. Определить морфологию бруцелл, чистая культура, окраска по Граму.
9. Определить морфологию коринебактерий, чистая культура, окраска по Леффлеру.
10. Определить морфологию клебсиелл, чистая культура, окраска по Гинсу-Бурри.
11. Определить морфологию микобактерий в мокроте, окраска по Цилю-Нильсену.
12. Определить биохимические свойства культуры на среде Клиглера.

### Занятие № 33 (51).

#### Тема: Микробиологическая диагностика микозов.

**Перечень изучаемых вопросов:**

Классификация и общая характеристика грибов. Возбудители дерматомикозов, кератомикозов, глубоких микозов. Кандидоз и условия, способствующие его возникновению. Общие принципы диагностики микозов. Возбудитель пневмоцистоза.

**Источники:**

1. Материал лекции.
2. [1], [4], [5], [8] – (учебники),
3. [2], [7] – (практикумы),
4. [9], [14], [15], [16], [17] – (доп. лит.).

**Лабораторная работа**

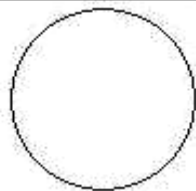
1. Приготовить препарат чистой культуры кандид, окрасить по Граму

**Демонстрация.**

1. Кандиды (по Граму).
2. Рост кандид и дерматофитов на питательных средах.

Препарат \_\_\_\_\_

Окраска \_\_\_\_\_



Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 33.

<b>Характеристика эукариотической клетки (грибы, простейшие) в сравнении с прокариотической (бактерии)</b>		
<b>Основные признаки клетки</b>	<b>Прокариотическая клетка</b>	<b>Эукариотическая клетка</b>
Размеры клетки	Обычно 0,2-2,0 мкм. Некоторые имеют большие размеры	
Ядро	Не имеет истинного ядра. Нуклеоид, не отделен от цитоплазмы мембраной	
Хромосомы	Кольцевидные	
Число хромосом в клетке	Обычно одна	
Наличие митохондрий	Нет. Аналогичную функцию выполняют мезосомы	
Эндоплазматический ретикулум	Нет	
Расположение рибосом	Распределены в цитоплазме	
Константа седиментации рибосом	70S	
Наличие в клеточной стенке тейхоевых кислот	Имеются у Gr+ бактерий	
Наличие в клеточной стенке пептидогликана	У всех, кроме микоплазм и архебактерий	
Наличие эндоспор	Образуются некоторыми видами	
Клеточное деление	Бинарное (амитоз)	
Образование гамет, зигот	Нет	

#### 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 °С) и не требовательны к питательным средам, рН 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 °С. 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 № 34 (52).**  
**Тема: Микробиологическая диагностика протозойных инвазий.**

**Перечень изучаемых вопросов:** Общая характеристика и классификация простейших. Патогенные представители. Лабораторная диагностика малярии, токсоплазмоза, амебиаза, лямблиоза, трихомониаза. Возбудитель криптоспоридиоза.

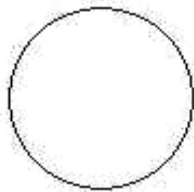
**Источники:**

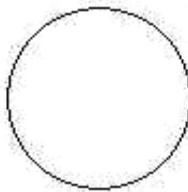
1. Материал лекции.
2. [1], [4], [5], [8] – (учебники),
3. [2], [7] – (практикумы),
4. [9], [14], [15], [16], [17] – (доп. лит.).

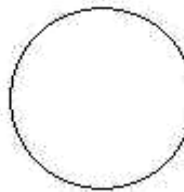
**Лабораторная работа**

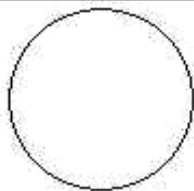
**Демонстрация.**

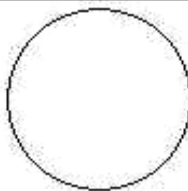
1. Патогенные простейшие.

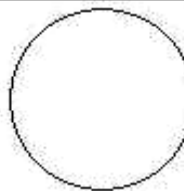
Препарат _____ _____ _____	
Окраска _____ _____ _____	

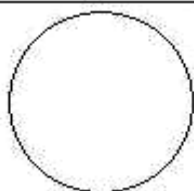
Препарат _____ _____ _____	
Окраска _____ _____ _____	

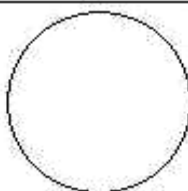
Препарат _____ _____ _____	
Окраска _____ _____ _____	

Препарат _____ _____ _____	
Окраска _____ _____ _____	

Препарат _____ _____ _____	
Окраска _____ _____ _____	

Препарат _____ _____ _____	
Окраска _____ _____ _____	

Препарат _____ _____ _____	
Окраска _____ _____ _____	

Препарат _____ _____ _____	
Окраска _____ _____ _____	

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

## Дополнительные материалы к занятию № 34.

### МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ПРОТОЗОЙНЫХ ИНФЕКЦИЙ

<p><b><u>АМЕБИАЗ</u></b> <b>Микроскопический метод (основной).</b> Микроскопия испражнений, содержимого абсцессов внутренних органов. Мазки окрашивают раствором Люголя или гематоксилином. Обнаруживают тканевые формы с фагоцитированными эритроцитами или четырехъядерные цисты. В нативных препаратах изучается характерная подвижность вегетативных форм. Для идентификации используется РИФ <b>Серологический метод:</b> РПГА, ИФА, РСК и др. Наиболее высокий титр антител выявляют при внешнем амебиозе. Некоторые непатогенные амёбы морфологически идентичны <i>Entamoeba histolytica</i>. Поэтому дифференциация основана на ферментативных, иммунологических или молекулярных-генетических анализах.</p>	<p><b><u>ЛЕЙШМАНИОЗ</u></b> <b>Микроскопический метод.</b> В мазках из кожных поражений (бугорки, содержимое язв), костного мозга, окрашенных по Романовскому-Гимзе, обнаруживают амастиготы (безжгутиковые), у которых ядро и кинетопласт окрашиваются в красно-фиолетовый цвет, а цитоплазма - в голубовато-сиреневый. Используется РИФ. <b>Культуральный метод.</b> При посеве на питательную среду (кровяной агар) амастиготы превращаются в промастиготы (жгутиковые). <b>Биологический метод.</b> Заражение мышей, хомячков. <b>Серологический метод.</b> Выявляют антитела в РСК, РПГА. <b>Аллергический метод.</b> Кожно-аллергическая проба на ГЗГ к лейшманину (препарат из убитых промастигот) при эпидемиологических исследованиях.</p>
<p><b><u>ТРИПАНОСОМЫ</u></b> <b>Микроскопический метод.</b> Мазки из крови, пунктата шейных лимфатических узлов, цереброспинальной жидкости красят по Романовскому-Гимзе. В нативных мазках обнаруживают подвижные трипаносомы. <b>Культуральный метод.</b> Культура трипаносом может быть получена посевом на питательные среды с кровью, а также заражением белых мышей или крыс. <b>Серологический метод.</b> Определение IgM можно проводить многими серологическими реакциями (ИФА, РСК, непрямой РИФ и др.)</p>	<p><b><u>ЛЯМБЛИОЗ</u></b> <b>Микроскопический метод (основной).</b> В мазках из испражнений выявляют цисты, в случае диареи – вегетативные формы, которые так же обнаруживают и в дуоденальном содержимом. Окрашивание раствором Люголя. В испражнениях выделение паразита может быть непостоянным. <b>Культуральный метод.</b> Возможно культивирование на питательных средах. <b>Серологический метод.</b> Используется определение антител в непрямой РИФ. Титры антител выше при клинически выраженном лямблиозе.</p>
<p><b><u>ТРИХОМОНИАЗ</u></b> <b>Микроскопический метод.</b> Мазки из отделяемого мочеиспускательного канала, секрета предстательной железы или осадка ночи окрашивают по Романовскому-Гимзе (ядро трофозои фиолетово-рубинового цвета, цитоплазма, - голубого, а блефаропласт, жгутики, аксостиль - розово-красного цвета), метиленовым синим. Возможно использование нативных мазков. Применяют РИФ. <b>Культуральный метод.</b> При хронических формах трихомонады выращивают на питательных средах с белком. Метод дает хорошие результаты при установлении наступившего освобождения от трихомонад после лечения.</p>	<p><b><u>МАЛЯРИЯ</u></b> <b>Микроскопический метод.</b> Исследование препаратов крови (мазок, толстая капля), окрашенных по Романовскому-Гимзе. Выявляются различные формы возбудителя (красное ядро, голубая цитоплазма). Дифференцировка видов проводится на основании морфологических особенностей паразитов и пораженных эритроцитов. Если паразиты не обнаружены в крови взятой на высоте лихорадки, то повторяют исследование мазков крови через 12 ч и т.д. <b>Серологический метод.</b> Антитела определяют в непрямой РИФ, РПГА, ИФА. С помощью РИФ проводится серологическая идентификация антигенов. <b>Молекулярно-генетический метод.</b> Для дифференцировки от других внутриэритроцитарных паразитов используют ПЦР.</p>
<p><b><u>ТОКСОПЛАЗМОЗ</u></b> <b>Микроскопический метод.</b> Мазки из биоптатов, биологических жидкостей (крови, ликвора, пунктатов лимфоузлов, плодных оболочек и др), окрашенные по Романовскому-Гимзе. Возможно выявление антигенов токсоплазм с помощью РИФ. <b>Культуральный метод.</b> Возможно культивирование токсоплазм на культурах клеток, куриных эмбрионах (заражение на хорион-аллантаическую оболочку). <b>Серологический метод (основной).</b> Выявление IgM свидетельствует о ранних сроках заболевания. IgG достигают максимума на 4-8 неделе болезни. Применяются непрямая РИФ, РПГА, РСК, ИФА. <b>Аллергический метод.</b> Внутрикожная проба с токсоплазмином, выявляющая ГЗГ. <b>Биологический метод.</b> Мыши погибают через 7-10 дней после парентерального (в брюшную полость или головной мозг) введения им инфицированного материала больных людей. В их органах обнаруживаются токсоплазмы при микроскопии. Если животные не погибают, то в дальнейшем у них можно обнаружить специфические антитела.</p>	<p><b><u>БАЛАНТИДИАЗ</u></b> <b>Микроскопический метод.</b> Проводится микроскопия мазков из фекалий. Исследуют нативный мазок (раздавленная капля) под малым увеличением микроскопа, наблюдая активное движение крупных балантидий. <b>Культуральный метод.</b> Возможен, но к нему прибегают редко.</p>

## Литература

### Основная

1. *Борисов, Л. Б.* Медицинская микробиология, вирусология, иммунология / Л. Б. Борисов. М.: МИА. 2001; 2005. 736 с.
2. *Борисов, Л. Б.* Руководство к практическим занятиям по микробиологии / Л. Б. Борисов. М.: 1994.
3. *Букринская, А. Г.* Вирусология: Учеб. пособие для мед. ин-тов / А. Г. Букринская. М.: Медицина, 1986. 336 с.
4. *Коротяев, А. И.* Медицинская микробиология, иммунология и вирусология: учебник для медицинских вузов / А. И. Коротяев, С. А. Бабичев. СПб: «Специальная литература». 1998. 592 с.
5. *Медицинская микробиология, вирусология, иммунология: учеб.* / Л. Б. Борисов [и др.]; по ред. Л. Б. Борисова, А. М. Смирновой. М.: Медицина. 1994. 528 с.
6. *Новиков, Д.К.* Медицинская иммунология: учеб. пособ. / Д. К. Новиков, Минск: Выш. шк. 2005. 301 с.
7. *Павлович, С. А.* Медицинская микробиология: практикум / С. А. Павлович, К. Д. Пяткин. Минск: Выш. шк 1993. 200 с.
8. *Павлович, С. А.* Микробиология с вирусологией и иммунологией: учеб. пособ. / С. А. Павлович. Минск: Выш. шк. 2005. 799 с.

### Дополнительная

9. *Атлас по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии* / А. А. Воробьев [и др.]; под ред. А. А. Воробьева, А. С. Быкова. М.: МИА. 2003. 236 с.
10. *Вирусология* (характеристика возбудителей, патогенез и диагностика вирусных инфекций): учеб.-метод. пособ. / Л. П. Титов [и др.]. Минск: БГМУ. 2003. 76 с.
11. *Красильников, А. П.* Микробиологический словарь-справочник / А. П. Красильников, Т. Р. Романовская. 2 изд., доп. и перераб. Минск. «Асар». 1999. 400 с.
12. *Медицинская вирусология: учебное пособие* / под ред. Д. К. Новикова. Витебск: ВГМУ. 2002.
13. *Новиков, Д. К.* Медицинская иммунология: учеб. пособие. / Д. К. Новиков. Минск.: Выш. шк. 2005. 301 с.
14. *Поздеев, О. К.* Медицинская микробиология: учебник для вузов / О. К. Поздеев. М.: ГЭОТАР-МЕД. 2001.
15. *Покровский, В. И.* Медицинская микробиология / В. И. Покровский [и др.]; по ред. В. И. Покровского, О. К. Поздеева. М.: ГЭОТАР Медицина. 1999. 1200 с.
16. *Пособие для самостоятельной подготовки к занятиям по микробиологии для иностранных студентов: Учеб. пособие* / Л. С. Змушко [и др.]; под общ. ред. Л. П. Титова. Минск: МГМИ. 1995. 63 с.
17. *Ройт, А.* Иммунология / А. Ройт, Дж. Бростофф, Д. Мейл; пер.с англ. – М.: Мир. 2000. 592 с.
18. *Титов, Л. П.* Иммунология: терминологический словарь / Л. П. Титов. 2-е изд. Минск: БГМУ, 2002, 2004. 213 с.
19. *Ярилин, А. А.* Основы иммунологии: учеб. / А. А. Ярилин. М.: Медицина. 1999. 608 с.



**Приложение 1**  
**Классификация микробов (прокариоты)**  
**по Берджи, 2001 (сокращенная) ДОМЕН (Domain) – БАКТЕРИЯ**

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

	<i>Epsilon-proteobacteria</i>	<i>Campylobacteriales</i>	<i>Campylobacteriaceae</i>	<i>Campylobacter</i>	<i>C.jejuni, C.fetus, C.coli</i> u òп.
			<i>Helicobacteriaceae</i>	<i>Helicobacter</i>	<i>H.pylori, H.heilmanii</i> u òп.
				<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</i> u òп.		
			<i>Peptostreptococcaceae</i>	<i>Peptostreptococcus</i>	<i>P.anaerobius</i> u òп.		
			<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>Mollicutes</i>	<i>Mycoplasmatales</i>	<i>Mycoplasmataceae</i>	<i>Mycoplasma</i>	<i>M.pneumoniae, M.hominis, M.fermentans, M.salivarum, M. orale, M.arthritis</i> u òп.		
				<i>Ureaplasma</i>	<i>U.urealiticum</i> u òп.		
	<i>Bacilli</i>	<i>Bacillales</i>		<i>Bacillaceae</i>	<i>Bacillus</i>	<i>B.anthraxis, B.cereus</i> u òп.	
				<i>Listeriaceae</i>	<i>Listeria</i>	<i>L.monocytogenes</i> u òп.	
				<i>Staphylococcaceae</i>	<i>Staphylococcus</i>	<i>S.aureus, S.epidermidis, S.saprophyticus</i> u òп.	
		<i>Lactobacillales</i>			<i>Lactobacillaceae</i>	<i>Lactobacillus</i>	<i>L.caseii, L.fermentum,</i> u òп.
					<i>Enterococcaceae</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>E.faecalis, E.faecium</i> u òп.
					<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.mitis, S.salivarius, S.sanguis, S.milleri</i> u òп.
<i>Lactococcus</i>						<i>L.lactis</i> u òп.	
<i>Actinobacteria</i>	<i>Actinobacteria</i>	<i>Actinomycetales</i>	<i>Actinomycetaceae</i>	<i>Actinomyces</i>	<i>A.israelii, A.naehlundii, A.viscosus, A.odontolyticus, A.pyogenes,</i>		
			<i>Micrococcaceae</i>	<i>Micrococcus</i>	<i>M.lysodeicticum, M.luteus</i> u òп.		
			<i>Corynebacteriaceae</i>	<i>Corynebacterium</i>	<i>C.diphtheriae, C.ulcerans, C.urealyticum, C.xerosis</i> u òп.		
			<i>Mycobacteriaceae</i>	<i>Mycobacterium</i>	<i>M.tuberculosis, M.bovis, M.africanum, M.leprae, M.kasasii, M.avium, M.ulcerans, M.fortuitum</i> u òп.		
			<i>Nocardiaceae</i>	<i>Nocardia</i>	<i>N.asteroides, N.farcinica</i> u òп.		
		<i>Propionibacteriaceae</i>	<i>Propionibacterium</i>	<i>P.acnes, P.propionicus</i> u òп.			
		<i>Bifidobacteriales</i>	<i>Bifidobacteriaceae</i>	<i>Bifidobacterium</i>	<i>B.bifidum</i> u òп.		
<i>Chlamydiae</i>	<i>Chlamydiae</i>	<i>Chlamydiales</i>	<i>Chlamydiaceae</i>	<i>Chlamydia</i>	<i>C.trachomatis</i>		
				<i>Chlamydophila</i>	<i>C.pittaci, 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</i> u òп.		
				<i>Treponema</i>	<i>T.pallidum</i> (подвиды – <i>pallidum, endemicum, pertenuis</i> ), <i>T.carateum, T.denticola, T.minutum, T.refringens, T.scoliodontum, T.vincentii</i> u òп.		
<i>Bacteroidetes</i>	<i>Bacteroidetes</i>	<i>Bacteroidales</i>	<i>Leptospiraceae</i>	<i>Leptospira</i>	<i>L.inerrogans, L.biflexa</i>		
			<i>Bacteroidaceae</i>	<i>Bacteroides</i>	<i>B.fragilis, B.gingivalis</i> u òп.		
			<i>Porphyromonadaceae</i>	<i>Porphyromonas</i>	<i>P.gingivalis, P.endodontales</i> u òп.		
	<i>Flavobacteria</i>	<i>Flavobacteriales</i>	<i>Flavobacteriaceae</i>	<i>Prevotellaceae</i>	<i>Prevotella</i>	<i>P.melaninogenica, P.denticola</i> u òп.	
<i>Flavobacterium</i>				<i>F.meningosepticum, F.breve</i> u òп.			
<i>Fusobacteria</i>	<i>Fusobacteria</i>	<i>Fusobacteriales</i>	<i>Fusobacteriaceae</i>	<i>Fusobacterium</i>	<i>F.nucleatum, F.necroforum, F.vincentii</i> u òп.		
				<i>Leptotrichia</i>	<i>L.buccalis</i> u òп.		
				<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
<b>ДНК-ГЕНОМНЫЕ ВИРУСЫ</b>				
<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 однонитчатым 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
<b>РНК-ГЕНОМНЫЕ ВИРУСЫ</b>				
<i>Arenaviridae</i>	фрагментированная, однонитчатая	+	50-300	Вирусы Ласса, Мачупо
<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 С, 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	Суперкапсид	Форма, размер вириона (нм)	Число вирусов	Типовые представители (основные заболевания)
<i>Arenaviridae</i> ( <i>Arenavirus</i> )	фрагментированная, однонитчатая -РНК	+	сферическая, 50-300	12	Вирусы Ласса, Мачупо, Такарибе, ЛХМ (геморрагическая лихорадка Ласса, аргентинская геморрагическая лихорадка, лимфоцитарный хориоменингит)
<i>Bunyaviridae</i> ( <i>Bunyavirus</i> ) ( <i>Phlebovirus</i> ) ( <i>Nairovirus</i> ) ( <i>Uukivirus</i> ) ( <i>Hantavirus</i> )	фрагментированная, однонитчатая, кольцевая, -РНК	+	сферическая, 90-100	227 124 34 21 6 6	Вирусы геморрагических лихорадок и энцефалитов (калифорнийский энцефалит, лихорадка Буньямвера, Конго-крымская геморрагическая лихорадка, москитная лихорадка, лихорадка Укумieni, геморрагическая лихорадка с почечным синдромом)
<i>Togaviridae</i> ( <i>Alfavirus</i> )	однонитчатая +РНК, нефрагментированная	+	сферическая, 30-90	31	Вирусы Синдбис, лошадиных энцефалитов (венесуэльский западный и восточный энцефалит лошадей, геморрагическая лихорадка Чикунгунья, лихорадка карельская, лихорадка Синдбис, лихорадка О'Нонг-О'Ньонг)
<i>Flaviviridae</i> ( <i>Flavivirus</i> )	однонитчатая +РНК, нефрагментированная	+	сферическая, 30-90	63	Вирусы клещевого энцефалита, жёлтой лихорадки, Денге, японского энцефалита, (клещевой энцефалит, японский энцефалит, жёлтая геморрагическая лихорадка, лихорадка Денге, западно-нильская лихорадка)
<i>Rhabdoviridae</i> ( <i>Lyssavirus</i> ) ( <i>Vesiculiviridae</i> )	однонитчатая -РНК, нефрагментированная	+	пулевидная, 130-380, 50-95	60 2 10	Вирус бешенства, вирус везикулярного стоматита (бешенство, везикулярный стоматит)
<i>Reoviridae</i> ( <i>Orbivirus</i> )	двунитчатая +РНК, фрагментированная	-	сферическая, 60-80	60	Вирус колорадской клещевой лихорадки
<i>Filoviridae</i>	однонитчатая +РНК, неф-	+	плеоморфная, ни-	2	Вирусы лихорадки Эбола, Марбург

	рагментированная		тевидная, 200-4000		
--	------------------	--	--------------------	--	--

Репозиторий БГМУ

### Приложение 3. Классификация грибов

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

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

**Не имеют медицинского значения:**

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

царству *Stramenopila*, типу *Oomycota*).

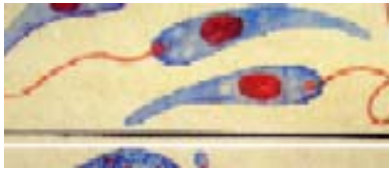

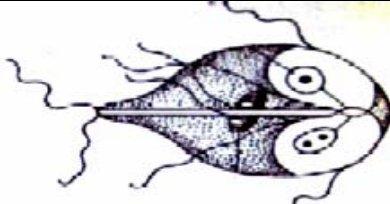
Репозиторий БГМУ

## Клиническая классификация микозов

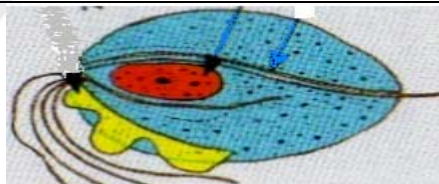
Клиническая классификация	Названия грибов	Болезни
Возбудители поверхностных микозов (кератомикозов)	<i>Malassezia furfur</i>	Пестрый лишай (отрубевидный лишай)
	<i>Exophiala werneckii</i>	Черный лишай
	<i>Piedraia hortae</i>	Черная пьедра
	<i>Trichosporon beigeli</i>	Белая пьедра
Возбудители эпидермофитий (дерматомикозов)	<b>Антропофильные дерматофиты:</b>	
	<i>Epidermophyton floccosum</i>	Эпидермофития
	<i>Microsporum audouinii, 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
	<b>Зоофильные дерматофиты:</b>	
	<i>Microsporum canis, M. gallinae</i>	Микроспория
	<i>Trichophyton verrucosum, T. equinum</i>	Трихофития
<b>Геофильные дерматофиты:</b>		
<i>Microsporum cookie, M. gypseum, M. nanum, M. fulvum</i>	Микроспория	
Возбудители подкожных (субкутанных) микозов	<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
	Виды родов: <i>Aureobasidium, Curvularia, Alternaria, Phoma, Madurella, Phialophora, Exophiala, Acremonium</i> и др.	Мицетома
Возбудители системных (глубоких) микозов	<i>Histoplasma capsulatum</i>	Гистоплазмоз
	<i>Blastomyces dermatitidis</i>	Бластомикоз
	<i>Paracoccidioides brasiliensis</i>	Паракокцидиоидомикоз
	<i>Coccidioides immitis</i>	Кокцидиоидомикоз
	<i>Cryptococcus neoformans</i>	Криптококкоз
Возбудители оппортунистических микозов	<i>Candida 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 loboii</i>	Лобомикоз
	<i>Rhinosporidium seeberi</i>	Риноспоридиоз


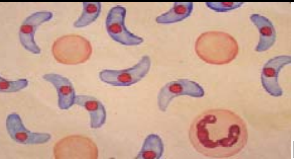
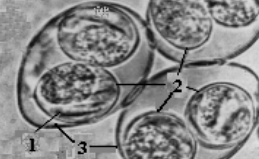
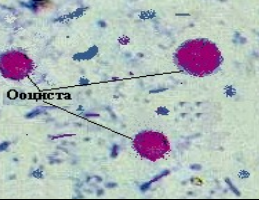
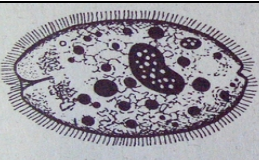
**Приложение 4.  
Классификация простейших**

Простейшие относятся к домену – *EUKARYA*, царству – *ANIMALIA*, подцарству – *PROTOZOA*, включают 7 типов, из которых 4 (представлены в таблице) имеют медицинское значение

ТАКСОНЫ	ПРЕДСТАВИТЕЛИ	БОЛЕЗНИ	МОРФОЛОГИЯ
<b>ТИП <i>SARCOMASTIGOPHORA</i></b> подтип <i>Sarcodina</i> (саркодовые)	<b>АМЕБЫ</b> <i>Entamoeba histolytica</i>	Амебиаз	
	Неглерии, акантамебы, гартманеллы	Амебный менингоэнцефалит, кератит	
подтип <i>Mastigophora</i> (жгутиконосцы)	<b>ЛЕЙШМАНИИ</b> <i>Leishmania species</i>	Лейшманиозы	
	<b>ТРИПАНОСОМЫ:</b> <i>Trypanosoma gambiense</i> , <i>Trypanosoma rodesiense</i> <i>Trypanosoma cruzi</i>	Африканский трипаносомоз (сонная болезнь) Болезнь Шагаса (американский трипаносомоз)	
	<b>ЛЯМБЛИИ:</b> <i>Lambliа intestinalis</i> ( <i>Giardia lamblia</i> )	Диарея, синдром мальабсорбции (нарушение всасывания)	



	<b><u>ТРИХОМОНАДЫ:</u></b> <i>Trichomonas vaginalis</i>	Вагинит, уретрит, простатит	
--	------------------------------------------------------------	-----------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------

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

<b><u>Микробы спорного таксономического положения:</u></b>	<b><u>БЛАСТОЦИСТЫ:</u></b> <i>Blastocystis hominis</i>	Бластоцистоз (диарея)	
------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------	-----------------------	--

Репозиторий БГМУ

**Приложение 5.**

**Заболеваемость инфекционными и паразитарными болезнями населения Беларуси в 2007 году**

Редко распространённые		Мало распространённые		Средне распространённые		Широко распространённые		Наиболее распространённые	
Нозологическая форма	Забол. на 100000	Нозологическая форма	Забол. на 100000	Нозологическая форма	Забол. на 100000	Нозологическая форма	Забол. на 100000	Нозологическая форма	Забол. на 100000
Б/н бр. тифа	0,01	Б/н дизентерии	1,08	Носители ВИЧ	10,27	Педикулез	116,86	Грипп	2845,20
ВАПП	0,01	Коклюш	1,62	Инф.мононукл	14,27	Хламидиоз (др.)	152,45	ОРЗ	28653,35
Корь	0,01	Менинг. Инф.	2,22	ОКИ/неуст	14,73	Уроген.трихомон.	169,73		
Брюшной тиф	0,02	ВГА	2,26	Герпетич. инф	17,79	Энтеробиоз	368,35		
Туляремия	0,02	Киш. иерсин.	2,55	Хронич. ВГС	21,9	Ветряная оспа	635,73		
Б/н токс. шт.дифт.	0,03	ВГВ	2,86	Скарлатина	22,64				
ВГЛ	0,03	Эпид. паротит	3,30	Сифилис	22,69				
Дифтерия	0,05	Б/н сальмонел.	3,75	Носит ВГВ	23,32				
Краснуха	0,07	Д/Флекснера	4,31	Гепатит хронич.	28,67				
Гименолепидоз	0,09	Хронич. ВГВ	6,39	Ротавирусн. инф	37,26				
Малярия	0,10	Трихоцефалез	6,43	Сальмонеллез	38,37				
Паракоклюш	0,15	Болезнь Лайма	6,71	Микроспория	38,82				
Псевдотуберкулез	0,17	Д/Зонне	7,10	Туберкулез ор. д.	43,65				
Лептоспироз	0,25			Носит ВГС	45,65				
ЦМВИ	0,25			Туберкулез (все ф.)	47,07				
Трихинеллез	0,37			Гонорея	56,99				
Описторхоз	0,42			Аскаридоз	59,43				
Трихофития	0,50			ОКИ/уст	77,10				
ОВП	0,53			Чесотка	86,62				
ВГС	0,79								
Клещ. энцефалит	0,85								

Примечания: б/н – бактерионосительство, ЦМВИ – цитомегаловирусная инфекция, ВГ – вирусный гепатит, ВГЛ – вирусные геморрагические лихорадки, ВАПП – вакциноассоциированный паразитический полиомиелит, ОВП – острые вялые параличи.

## Приложение 6.

### Состав и принцип работы некоторых дифференциальных сред для микроорганизмов.

Среда Левина		Среда используется для дифференциации энтеробактерий. Метиленовый синий и эозин подавляют рост грам+ бактерий и служат индикаторами ферментации лактозы. На этой среде могут вырастать дрожжи и некоторые грам+ бактерии, например, энтерококки.
Ингредиенты	г/л	
Пептический перевар животной ткани	10,00	
Калия гидрофосфат	2,00	
Лактоза	10,00	
Эозин Y	0,40	
Метиленовый синий	0,065	
Агар-агар	15,00	
Конечное значение pH (при 25°C) 7,1 ± 0,2		

Среда Эндо		Среда для дифференциации микроорганизмов, ферментирующих и неферментирующих лактозу. Сульфит натрия и основной фуксин подавляют рост грам+ микроорганизмов. Лактоза разлагается микроорганизмами до альдегида и кислоты. Альдегид в свою очередь освобождает фуксин из фуксин-сульфитного комплекса, усиливая красное окрашивание колоний. У кишечных палочек эта реакция очень выражена и сопровождается кристаллизацией фуксина, что проявляется зеленоватым металлическим блеском колоний.
Ингредиенты	г/л	
Пептический перевар животной ткани	10,00	
Лактоза	10,00	
Калия гидрофосфат	3,50	
Натрия сульфит	2,50	
Фуксин основной	0,50	
Агар-агар	15,00	
Конечное значение pH (при 25°C) 7,5 ± 0,2		

Среда Ресселя		Готовая среда имеет вид геля красного (малинового) цвета в пробирках, имеет скошенную часть и столбик высотой 2,5 см. Модифицированная среда Ресселя вместо фенолового красного содержит бромтимоловый синий индикатор (исходный цвет среды – оливковый (зеленый), при закислении – желтый, при защелачивании – синий).
Ингредиенты	г/л	
Пептический перевар животной ткани	2,50	
Гидролизат казеина	7,50	
Мясной экстракт	3,00	
Лактоза	10,00	
Глюкоза	1,00	
Натрия хлорид	5,00	
Феноловый красный	0,025	
Агар-агар	15,00	
Конечное значение pH (при 25°C) 7,3 ± 0,2		

Образование кислоты в ходе инкубирования определяют по изменению цвета индикатора в скошенной части (аэробная ферментация) и в столбике среды. На образование газа в ходе ферментации указывают пузырьки и разрывы среды в столбике. По мере расхода глюкозы в аэробных условиях выделяющиеся амины снова защелачивают среду. В анаэробных условиях (в столбике) среда остается кислой.

Среда Клиглера		Готовая среда имеет вид геля красного (малинового) цвета в пробирках, имеет скошенную часть и столбик высотой 2,5 см. Лучшие результаты получают на свежеприготовленной среде. Три основных типа реакций на среде Клиглера и ее аналогах: 1. <b>Неферментирующие бактерии</b> не способствуют «закислению» среды, цвет среды не изменен. 2. <b>Лактозонегативные бактерии.</b> В случае ферментации глюкозы вначале происходит «закисление» скошенной части и столбика, затем pH среды сдвигается в щелочную сторону под влиянием аминов, образованных в результате декарбоксилирования пептидов в присутствии кислорода (скошенная часть). <b>Лактозоферментирующие бактерии.</b> Постоянное «закисление» всей среды большим количеством кислот, образующихся при одновременной ферментации глюкозы и лактозы. Тиосульфат натрия и сульфат железа усиливают и визуализируют образование H <sub>2</sub> S (черное окрашивание среды).
Ингредиенты	г/л	
Пептический перевар животной ткани	15,00	
Мясной экстракт	3,00	
Дрожжевой экстракт	3,00	
Протеозопептон	5,00	
Лактоза	10,00	
Глюкоза	1,00	
Железа сульфат	0,20	
Натрия хлорид	5,00	
Натрия тиосульфат	0,30	
Феноловый красный	0,024	
Агар-агар	15,00	
Конечное значение pH (при 25°C) 7,4 ± 0,2		

Среда Раппопорта (модифицированная)		Среды рекомендуют для селективного обогащения и выделения сальмонелл из пищевых продуктов и других объектов внешней среды.
Ингредиенты	г/л	
Гидролизат казеина	5,00	
Натрия хлорид	8,00	
Калия дигидрофосфат	1,60	
Магния хлорид (x 6 H <sub>2</sub> O)	40,00	
Малахитовый зеленый	0,04	
Конечное значение pH (при 25°C) 5,2 ± 0,2		

Разливается в пробирки или флаконы. Среду рекомендуют для селективного обогащения и выделения сальмонелл из пищевых продуктов и других объектов внешней среды. Гидролизат казеина стимулирует рост сальмонелл.

Среда Плоскирева (модифицированная).		Эта дифференциально-селективная среда используется для выделения сальмонелл и шигелл из патологического материала, подозрительных пищевых материалов и т.п.
Ингредиенты	г/л	
Протеозопептон	5,00	
Мясной экстракт	5,00	
Лактоза	10,00	
Желчные кислоты, смесь	8,50	
Натрия цитрат	8,50	
Натрия тиосульфат	8,50	
Железа цитрат	1,00	
Бриллиантовый зеленый	0,00033	
Нейтральный красный	0,025	
Агар-агар	13,50	
Конечное значение pH 7,0 ± 0,2		

Пептон и мясной экстракт обеспечивают присутствие необходимых питательных веществ. Лактоза является ферментируемым субстратом. Желчные кислоты, тиосульфат и бриллиантовый зеленый подавляют рост грам+ и колиформных бактерий. Некоторые кишечные микроорганизмы восстанавливают тиосульфат натрия до сульфита и газообразного сероводорода. Продукцию сероводорода определяют по образованию черного преципитата сульфида железа, такие микроорганизмы образуют на среде колонии с черным центром. Высокая селективность среды позволяет непосредственно засеивать их большим объемом инокулюма (фекалиями, ректальными тампонами и другим материалом, подозрительным на содержание патогенных кишечных бактерий).

При росте ферментирующих лактозу представителей нормальной кишечной микрофлоры образуются кислые продукты – колонии окрашиваются в красный цвет. Колонии не ферментирующих лактозу бактерий бесцветны, прозрачны с черным центром или без него. Рост сальмонелл не подавляется: они образуют бесцветные колонии с черным центром (продукция H<sub>2</sub>S). Шигеллы растут в виде бесцветных колоний, но без черного центра, т.к. не продуцируют H<sub>2</sub>S.

## Оглавление

Введение. Список сокращений .....	3
<b>Первый семестр</b>	
Занятие № 1. Методы исследования в микробиологии. Бактериоскопический метод исследования. Характеристика основных форм бактерий. Простые методы окраски .....	4
Занятие № 2. Бактериоскопический метод исследования. Структура бактериальной клетки. Сложные методы окраски .....	7
Занятие № 3. Бактериоскопический метод исследования. Структура бактериальной клетки. Сложные методы окраски .....	9
Занятие № 4. Бактериоскопический метод исследования. Морфология спирохет, актиномицетов, риккетсий, хламидий, микоплазм .....	11
Занятие № 5. Противомикробные мероприятия. Методы стерилизации и дезинфекции. Асептика, антисептика .....	13
Занятие № 6. Культуральный (бактериологический) метод исследования. Методы выделения чистых культур бактерий .....	15
Занятие № 7. Культуральный (бактериологический) метод исследования. Методы идентификации чистых культур бактерий .....	18
Занятие № 8. Методы изучения генетики микроорганизмов. Методы молекулярной диагностики .....	21
Занятие № 9. Экология микробов. Методы изучения нормальной микрофлоры тела человека. Инфекция .....	24
Занятие № 10. Методы изучения чувствительности микробов к антибиотикам. Биологический метод исследования .....	26
Занятие № 11. ИТОГОВОЕ ЗАНЯТИЕ ПО ТЕМЕ: «Морфология и физиология микроорганизмов. Инфекция» .....	29
Занятие № 12. Методы клинической и инфекционной иммунологии. Иммунная система. Методы изучения естественного иммунитета .....	30
Занятие № 13. Методы клинической и инфекционной иммунологии. Гуморальный иммунный ответ .....	34
Занятие № 14. Методы клинической и инфекционной иммунологии. Серологический метод исследования .....	39
Занятие № 15. Методы клинической и инфекционной иммунологии. Серологический метод исследования .....	42
Занятие № 16. Методы клинической и инфекционной иммунологии. Клеточный иммунный ответ. Аллергия .....	45
Занятие № 17. Иммунопрофилактика и иммунотерапия. Методы оценки поствакцинального иммунитета .....	51
Занятие № 18. ИТОГОВОЕ ЗАНЯТИЕ ПО ТЕМЕ: «Иммунология. Иммунитет. Аллергия». Зачет .....	54
<b>Второй семестр</b>	
Занятие № 1 (19). Методы вирусологических исследований. Бактериофаги .....	55
Занятие № 2 (20). Методы диагностики вирусных инфекций .....	57
Занятие № 3 (21). Методы вирусологической диагностики заболеваний, вызываемых ортомиксовирусами .....	58
Занятие № 4 (22). Методы вирусологической диагностики заболеваний, вызываемых парамиксовирусами .....	60
Занятие № 5 (23). Методы вирусологической диагностики заболеваний, вызываемых пикорнавирусами и ротавирусами .....	62
Занятие № 6 (24). Методы вирусологической диагностики заболеваний, вызываемых ретровирусами .....	64
Занятие № 7 (25). Методы вирусологической диагностики заболеваний, вызываемых вирусами гепатитов .....	66
Занятие № 8 (26). Методы вирусологической диагностики заболеваний, вызываемых арбовирусами и вирусами с природной очаговостью .....	70
Занятие № 9 (27). Методы вирусологической диагностики заболеваний, вызываемых герпес- и аденовирусами .....	73
Занятие № 10 (28). Семинар на тему: «Онкогенные вирусы. Медленные инфекции» .....	76
Занятие № 11–12 (29–30). ИТОГОВОЕ ЗАНЯТИЕ ПО ТЕМЕ: «Вирусология» .....	78

<b>Занятие № 13 (31).</b> Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых стафилококками.....	79
<b>Занятие № 14 (32).</b> Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых стрептококками, нейссериями.....	81
<b>Занятие № 15 (33).</b> Методы микробиологической диагностики острых кишечных инфекций (ОКИ), вызываемых энтеробактериями. Диагностика эшерихиозов .....	84
<b>Занятие № 16 (34).</b> Методы микробиологической диагностики ОКИ, вызываемых энтеробактериями (продолжение). Диагностика брюшного тифа, паратифов, сальмонеллезов.....	86
<b>Занятие № 17 (35).</b> Методы микробиологической диагностики ОКИ, вызываемых энтеробактериями (продолжение). Диагностика дизентерии .....	88
<b>Занятие № 18 (36).</b> Методы микробиологической диагностики ОКИ, вызываемых энтеробактериями (продолжение). Серологическая диагностика брюшного тифа и паратифов.....	90
<b>Занятие № 19 (37).</b> Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых клебсиеллами, иерсиниями.....	91
<b>Занятие № 20 (38).</b> Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых кампилобактериями, псевдомонадами .....	93
<b>Занятие № 21 (39).</b> Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых коринебактериями, листериями .....	95
<b>Занятие № 22 (40).</b> Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых бордетеллами, гемофилами, легионеллами, коксиеллами.....	97
<b>Занятие № 23 (41).</b> Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых актиномицетами и микобактериями .....	99
<b>Занятие № 24 (42).</b> Методы микробиологической диагностики анаэробных инфекций.....	100
<b>Занятие № 25 (43).</b> Методы микробиологической диагностики особо опасных инфекций. Диагностика холеры.....	102
<b>Занятие № 26 (44).</b> Методы микробиологической диагностики ООИ (продолжение). Диагностика бруцеллеза и сибирской язвы.....	104
<b>Занятие № 27 (45).</b> Методы микробиологической диагностики ООИ (продолжение). Диагностика чумы и туляремии .....	106
<b>Занятие № 28 (46).</b> Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых спирохетами.....	108
<b>Занятие № 29 (47).</b> Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых спирохетами (продолжение).....	110
<b>Занятие № 30 (48).</b> Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых риккетсиями, хламидиями, микоплазмами.....	111
<b>Занятие № 31–32 (49–50).</b> ИТОГОВОЕ ЗАНЯТИЕ ПО ТЕМЕ: «Частная микробиология» .....	114
<b>Занятие № 33 (51).</b> Микробиологическая диагностика микозов .....	115
<b>Занятие № 34 (52).</b> Микробиологическая диагностика протозойных инвазий .....	116
<b>Литература</b> .....	118
<b>Приложение 1.</b> Классификация микробов (Прокариоты) по Берджи, 2001 (сокращенная) Домен (Domain) – <i>Bacteria</i> .....	119
<b>Приложение 2.</b> Классификация и некоторые свойства вирусов человека и животных (царство <i>Vira</i> ) .....	121
<b>Приложение 3.</b> Классификация грибов. Клиническая классификация микозов .....	122
<b>Приложение 4.</b> Классификация простейших .....	124
<b>Приложение 5.</b> Заболеваемость инфекционными и паразитарными болезнями населения Беларуси в 2007 году.....	126
<b>Приложение 6.</b> Состав и принцип работы некоторых дифференциальных сред для микроорганизмов.....	127

Учебное издание

**Канашкова** Татьяна Александровна,  
**Горбунов** Владимир Анатольевич,  
**Черношей** Дмитрий Александрович  
**Каскевич** Леонид Иванович,

## **МЕДИЦИНСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ, ВИРУСОЛОГИЯ, ИММУНОЛОГИЯ**

Практикум

*2-е издание, переработанное и дополненное*

Ответственная за выпуск Т. А. Канашкова  
В авторской редакции  
Компьютерная верстка В. А. Горбунова

Подписано в печать 22.12.08. Формат 60×84/8. Бумага писчая «Снегурочка». Печать офсетная. Гарнитура «Times».  
Усл. печ. л. 15,34. Уч.-изд. л. 7,92. Тираж 180 экз. Заказ 12.

Издатель и полиграфическое исполнение:  
учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет».  
ЛИ № 02330/0133420 от 14.10.2004.  
ЛП № 02330/0131503 от 27.08.2004.  
Ул. Ленинградская, 6. 220030, Минск.