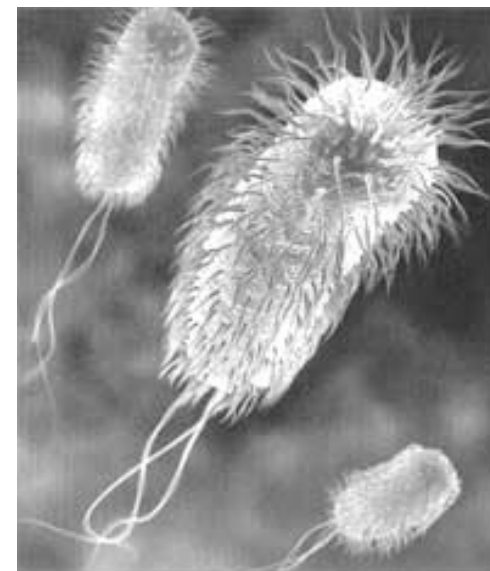


МИКРОБИОЛОГИЯ С ОСНОВАМИ ИММУНОЛОГИИ

Практикум для фармацевтического факультета

Студента _____ группы фармацевтического факультета



Минск БГМУ 2022

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

МИКРОБИОЛОГИЯ С ОСНОВАМИ ИММУНОЛОГИИ

Практикум для фармацевтического факультета

6-е издание



Минск БГМУ 2022

УДК 579(076.5)(075.8)
ББК 52.64я73
М59

Рекомендовано Научно-методическим советом университета
в качестве практикума 17.11.2021 г., протокол № 9

А в т о р ы: канд. мед. наук, доц. Т. А. Канашкова; канд. мед. наук, доц. Т. Г. Адамович; канд. мед. наук, доц. Д. А. Черношей; канд. мед. наук, доц. Е. Ю. Кирильчик; канд. мед. наук, доц. Л. И. Каскевич; канд. мед. наук, доц. В. А. Горбунов

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

Микробиология с основами иммунологии : практикум для фармацев-
М59 тического факультета / Т. А. Канашкова [и др.]. – 6-е изд. – Минск :
БГМУ, 2022. – 106 с.

ISBN 978-985-21-0954-3.

Отражены вопросы общей и частной медицинской микробиологии, вирусологии, иммунологии. Даны алгоритмы, схемы, некоторые справочные сведения, методики выполнения лабораторных работ на кафедре микробиологии, вирусологии, иммунологии. Первое издание вышло в 2017 году.

Предназначен для студентов 2–3-го курсов фармацевтического факультета.

УДК 579(076.5)(075.8)
ББК 52.64я73

ISBN 978-985-21-0954-3

© УО «Белорусский государственный
медицинский университет», 2022

Введение

Уважаемые студенты!

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

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

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

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

Коллектив авторов

Список сокращений:

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

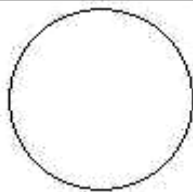
Занятие № 1

Дата _____ г.

ТЕМА: Основные методы исследования морфологии микроорганизмов. Простые методы окраски

<p>Перечень изучаемых вопросов: 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 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>Источники:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Материал лекции. 2. [3] – (учебник), 3. [1], [4] – (практикумы), 4. [10], [11], [13] – (доп. литература).
--	--

Лабораторная работа

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

Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 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:

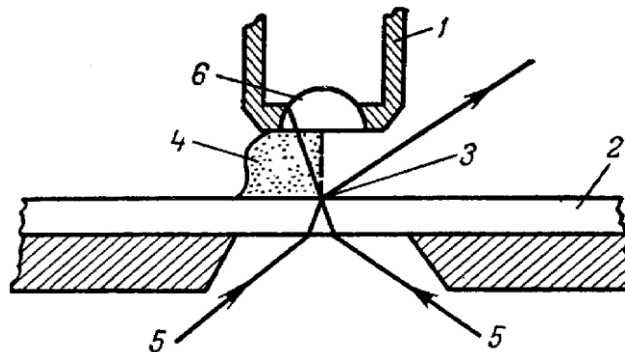
1. Забор материала (гной, мокрота, кровь, моча, испражнения, промывные воды бронхов и желудка, ликвор, содержимое полостей носа, вагины, трупный материал и др.).
2. Транспортировка материала, хранение, подготовка к исследованию.
3. Приготовление микропрепарата.
4. Микроскопия.
5. Заключение.

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).



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

Рассчитать разрешающую способность светового микроскопа при суховоздушной и иммерсионной системах.

Разрешающая способность = $0,61 \times \lambda / n \times \sin \alpha$, где:
 λ (длина световой волны) = 0,55 мкм;
 n - показатель среды преломления между препаратом и фронтальной линзой объектива;
 α - половина апертурного угла.

$\lambda = 0,55$ мкм,
 $n \times \sin \alpha$ для суховоздушной системы = 0,95
 для иммерсионной системы = 1,6

Результат:

Разрешающая способность иммерсионного микроскопа _____ мкм

Разрешающая способность суховоздушного микроскопа _____ мкм

Рис. 1. Устройство светового микроскопа (слева), схема лучей в иммерсионной системе (справа).

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

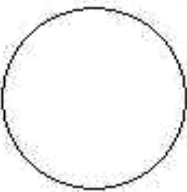
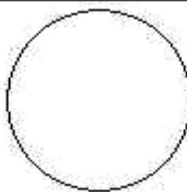
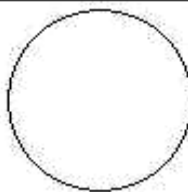
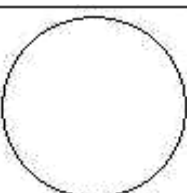
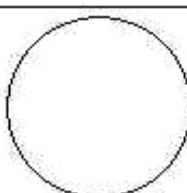
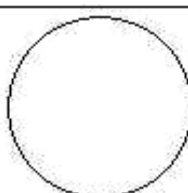
Занятие № 2

Дата _____ г.

ТЕМА: Основные методы исследования морфологии микроорганизмов. Структура бактериальной клетки. Сложные методы окраски

<p>Перечень изучаемых вопросов: Отличия прокариотов от эукариотов. Структура поверхностных образований бактериальных клеток: капсулы, клеточной стенки, цитоплазматической мембраны, жгутиков, фимбрий. Методы их выявления. Грамположительные и грамотрицательные микробы. Техника и механизм окраски по Граму. Методы обнаружения капсул. Структура цитоплазматических образований бактериальных клеток (нуклеоида, включений). Методы выявления нуклеоида, воллютиновых зерен. Окраска по Нейссеру и Леффлеру. Кислотоустойчивость бактерий, методы ее выявления. Техника и механизм окраски по Цилю-Нильсену. Формы бактерий с дефектами клеточной стенки (протопласты, сферопласты, L-формы). Фазово-контрастная микроскопия. Покоящиеся формы бактерий. Споры, методы их выявления.</p>	<p>Источники:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Материал лекции. 2. [3] – (учебник), 3. [1], [4] – (практикумы), 4. [10], [11], [13] – (доп. литература).
--	--

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты		
<p>1. Приготовить препарат из смеси грамположительных и грамотрицательных микробов, окрасить по Граму, микроскопировать.</p>	<p>Препарат _____</p> <p>Окраска _____</p> 	<p>Препарат _____</p> <p>Окраска _____</p> 	<p>Препарат _____</p> <p>Окраска _____</p> 
<p>2. Зарисовать демонстрационные препараты:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Смесь <i>Staphylococcus spp.</i> и <i>E. coli</i>, окраска по Граму. 2. Капсула клебсиелл (<i>Klebsiella spp.</i>), окраска по Гинса-Бурри. 3. Смесь <i>Mycobacterium tuberculosis et Sarcina</i>. Окраска по Цилю-Нильсену. 4. Зерна воллютина <i>Corynebacterium diphtheriae</i>. Окраска по Нейссеру, Леффлеру. 5. Споры <i>Bacillus anthracis</i>. Окраска по Ожешко. 	<p>Препарат _____</p> <p>Окраска _____</p> 	<p>Препарат _____</p> <p>Окраска _____</p> 	<p>Препарат _____</p> <p>Окраска _____</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				
Грамотрицательные				

Нарисуйте варианты расположения жгутиков бактерий:

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

Структура, функции поверхностных образований бактериальной клетки

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

Особенности строения клеточной стенки грамположительных и грамотрицательных бактерий

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

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

Структура, функции цитоплазматических образований бактериальной клетки

Образования	Строение	Функции
ЦПМ		
Нуклеоид		
Плазмиды		
Мезосомы		
Рибосомы		
Включения		

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

Бактерии	После окрашивания фуксином Циля	После обработки серной кислотой	После окрашивания метиленовым синим
Кислотоустойчивые			
Некислотоустойчивые			

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 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 метахромазии, то есть к окраске в иной цвет, чем краситель.
 Протоплазма окрашивается в голубой, зерна волютина – в фиолетово-красный цвет.
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 хризидин) – 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.

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-коричневом фоне.

Укажите названия структур

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

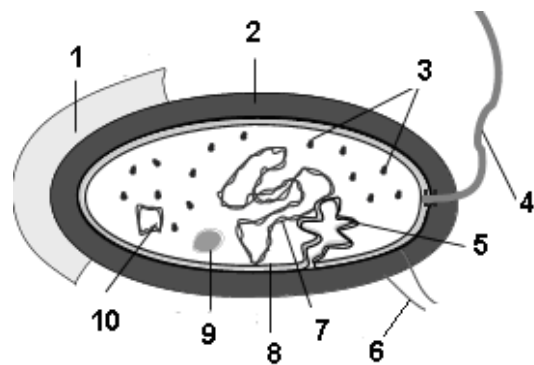


Рис.2. Принципиальная схема строения гетеротрофной прокариотической клетки.

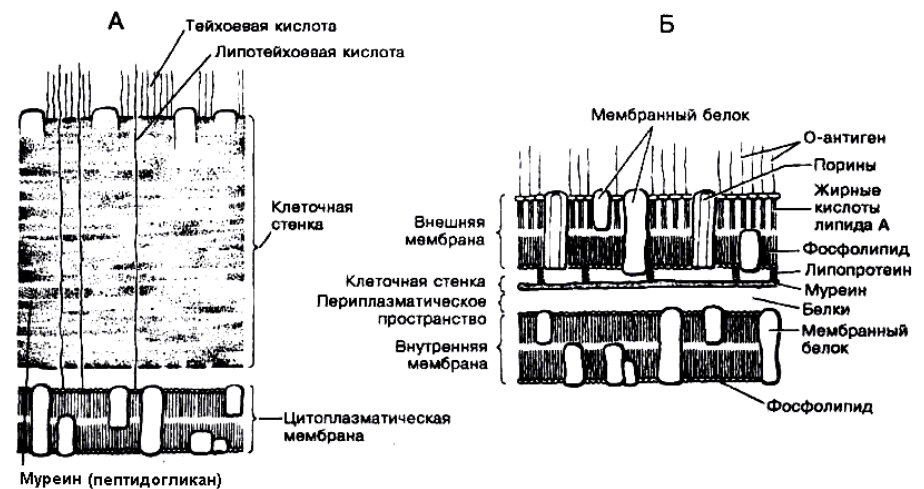
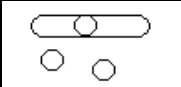
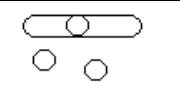
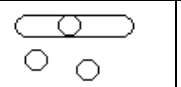
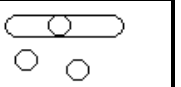


Рис. 3. Клеточная стенка грамположительных (А) и грамотрицательных (Б) бактерий

В какие цвета окрашиваются споры и вегетативная часть бактерии по этапам проведения окраски по методу Ожешко? Раскройте таблицу.				
Бактерия со спорой и споры без вегетативной части клетки	После обработки соляной кислотой	После окрашивания фуксином Циля	После обработки серной кислотой	После окрашивания метиленовым синим
				
<p>Формы бактерий с дефектами клеточной стенки:</p> <p>Протопласты – бактерии полностью лишены клеточной стенки, не способны к размножению.</p> <p>Сферопласты - бактерии частично лишены клеточной стенки, не способны к размножению.</p> <p>L-формы - это бактерии, полностью или частично лишены клеточной стенки, поэтому имеют своеобразную морфологию в виде крупных и мелких сферических клеток. Способны к размножению. Название дано по названию института имени Листера, где этот феномен был впервые обнаружен. L-трансформации могут подвергаться все бактерии, имеющие клеточную стенку. Она может быть обратимой, если генетический контроль синтеза клеточной стенки сохраняется.</p> <p>L-трансформация происходит под действием различных индуцирующих факторов (антибиотики, угнетающие биосинтез клеточной стенки, а также лизоцим и другие ферменты). Медицинское значение L-форм: устойчивость к антибиотикам - ингибиторам синтеза клеточной стенки, переход острых заболеваний в хронические, (напр., при сепсисе, ревматизме, гонорее, пиелонефрите и др.), форма персистенции бактерий (напр., при брюшном тифе); трудность лабораторной диагностики (морфологически неразличимы). L-формы могут быть нестабильные и стабильные.</p>				
<p>Окраска по Ожешко.</p> <p>Для выявления спор.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Нефиксированный мазок – 0,5% соляной к-ты при подогревании, промывание и фиксация в пламени; 2. Затем окраска по Цилю-Нильсену (см.) <p>При микроскопии споры ярко-красного цвета, вегетативные тела бактерий – голубого (синего).</p> <p>Спорообразование у бактерий.</p> <p>Для спорообразующих бактерий характерно образование в цитоплазме круглой или овальной споры. Спорообразование - это способ сохранения вида во внешней среде при неблагоприятных условиях, а не способ размножения. Спора образуется в цитоплазме в течение 18-20 часов и может располагаться у собственно бацилл - центрально, у клостридий - центрально или субтерминально. Прорастание спор длится 4-5 часов.</p> <p><i>Стадии спорообразования.</i></p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Подготовительная. В цитоплазме образуется уплотненный участок, не имеющий свободной воды («спорогенная зона»), в которой содержится нуклеоид. 2. Стадия предспоры (проспоры). Вокруг спорогенной зоны образуется оболочка из двойной цитоплазматической мембраны. 3. Образование кортекса, состоящего из пептидогликана и наружной мембраны с повышенным содержанием солей кальция и липидов. 4. Стадия созревания. С внешней стороны наружной мембраны образуется оболочка споры, после чего вегетативная часть клетки лизируется. <p>Споры очень устойчивы во внешней среде, что обусловлено:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Низким содержанием воды, которая находится в связанном состоянии; 2. Повышенным содержанием солей кальция и липидов; 3. Многослойностью оболочки. <p>Споры можно обнаружить в клетках специальной окраской по методу Ожешко или с помощью фазово-контрастной микроскопии.</p> <p>Примеры спорообразующих бактерий: <i>Bacillus anthracis</i>, <i>Clostridium perfringens</i>, <i>Clostridium tetani</i>, <i>Clostridium botulinum</i>.</p>				

Занятие № 3

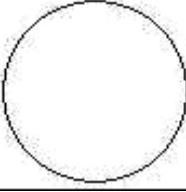
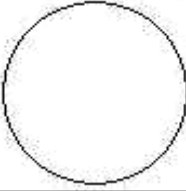
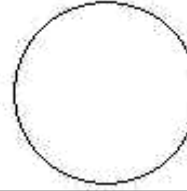
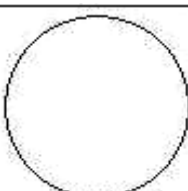
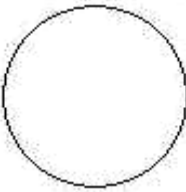
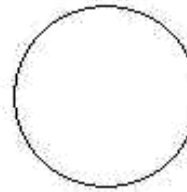
Дата _____ г.

ТЕМА: Особенности строения актиномицетов, спирохет, риккетсий, хламидий, микоплазм

Перечень изучаемых вопросов: Систематическое положение и морфология спирохет, актиномицетов, риккетсий, хламидий, микоплазм. Формы существования, ультраструктура, отличия от истинных бактерий, методы изучения. Окраска по Романовскому-Гимзе. Темнопольная микроскопия. Люминесцентная микроскопия.

Источники:
 1. Материал лекции.
 2. [3] – (учебник),
 3. [1], [4] – (практикумы),
 4. [10], [11], [13] – (доп. литература).

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты			
1. Приготовить препарат из взвеси <i>Rickettsia spp.</i> окрасить водным р-ром фуксина, микроскопировать.	Препарат _____ _____ Окраска _____ _____ 			
3. Зарисовать демонстрационные препараты: <ul style="list-style-type: none"> • <i>Treponema denticola</i> в зубном налёте, окраска по Граму. • <i>Borrelia recurrentis</i> в крови больного возвратным тифом, окраска по Романовскому-Гимзе. • <i>Rickettsia prowazekii</i>, чистая культура, окраска по Граму. • Цитоплазматические включения <i>Chlamydia spp.</i>, окраска по Романовскому-Гимзе. • <i>Actinomyces spp.</i>, чистая культура, окраска по Граму. 	Препарат _____ _____ Окраска _____ _____ 	Препарат _____ _____ Окраска _____ _____ 	Препарат _____ _____ Окраска _____ _____ 	
	Препарат _____ _____ Окраска _____ _____ 	Препарат _____ _____ Окраска _____ _____ 		

Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 3

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

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

Основные признаки патогенных для человека спирохет

Показатель		Роды спирохет		
		<i>Treponema</i>	<i>Borrelia</i>	<i>Leptospira</i>
Размеры	Длина	5-20 мкм	3-20- мкм	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

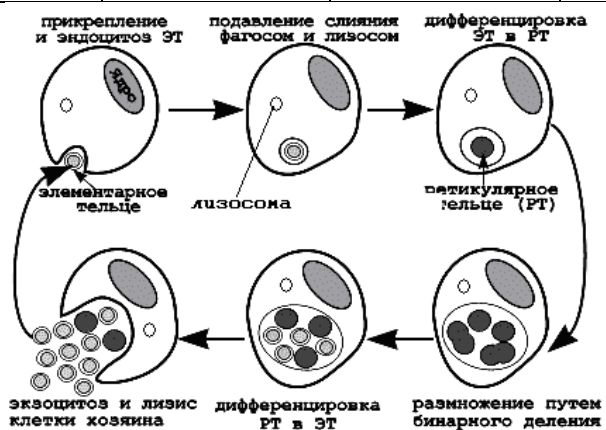


Рис. 4. Репликативный цикл хламидий.

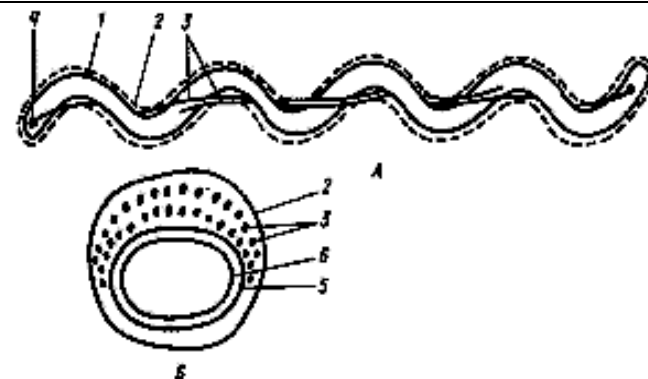


Рис. 5. Клетка спирохеты в продольном (А) и поперечном (Б) разрезе. На рис. А изображена клетка, содержащая по одной аксиальной фибрилле у каждого конца; на рис. Б — поперечный разрез, прошедший через среднюю часть клетки, где показаны два пересекающихся пучка, состоящих из множества аксиальных фибрилл: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

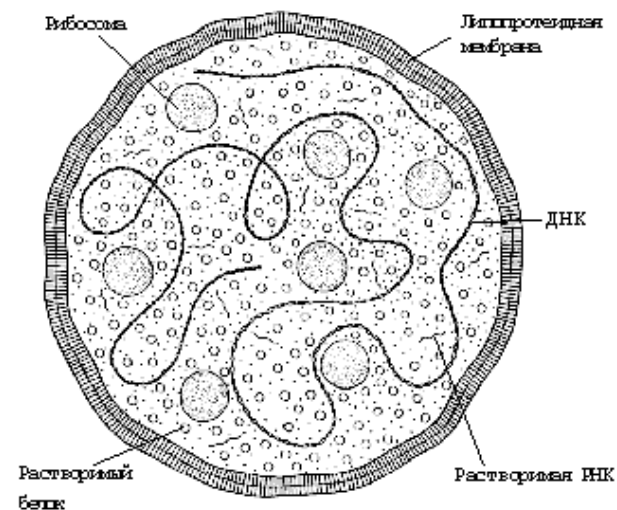


Рис. 6. Структура клетки микоплазмы

ТЕМА: Основные принципы и методы культивирования микроорганизмов. Бактериологический метод исследования

Перечень изучаемых вопросов: Обмен веществ и энергии у микробов. Конструктивный и энергетический метаболизм. Типы и способы питания, транспорт питательных веществ через мембрану. Дыхание микробов, дыхательный аппарат, пути биологического окисления. Аэробы, анаэробы, факультативные анаэробы. Методы культивирования микроорганизмов. Питательные среды, общая характеристика и классификация. Требования, предъявляемые к питательным средам. Принципы приготовления. Условия выращивания микробов. Термостат. Методы и аппаратура для создания анаэробноза. Культуральный (бактериологический) метод исследования, задачи, этапы, оценка. Методы выделения чистых культур аэробных и анаэробных бактерий. Характеристика колоний микроорганизмов.

Источники:
 1. Материал лекции.
 2. [3] – (учебник),
 3. [1], [4] – (практикумы),
 4. [10], [11], [13] – (доп. литература).

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты																								
<p>1. 2-й этап бактериологического исследования (выделение чистой культуры аэробов):</p> <ul style="list-style-type: none"> • охарактеризовать колонии, • определить морфологию и чистоту культуры, • произвести посев грамотрицательных бактерий для накопления биомассы чистой культуры. 	<p>I этап бактериологического исследования:</p> <div style="display: flex; align-items: center; justify-content: space-around;"> <div style="text-align: center;">  Материал </div> <div style="text-align: center;"> → Взятие материала, доставка в лабораторию, микроскопия, посев </div> <div style="text-align: center;">  Инкубация, 24 ч., 37°C </div> </div> <p>II этап бактериологического исследования (выделение чистой культуры):</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; margin-bottom: 10px;"> <thead> <tr> <th style="width: 20%;">Признак</th> <th style="width: 20%;">Колония №1</th> <th style="width: 20%;">Колония №2</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>Форма</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Размер</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Поверхность</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Край</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Цвет</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Консистенция</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Прозрачность</td><td></td><td></td></tr> </tbody> </table> <div style="display: flex; justify-content: space-between; align-items: flex-start;"> <div style="width: 45%;">  <p style="text-align: center;">МПА</p> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 10px;"> <p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p> </div> </div> <div style="width: 45%; text-align: right;">  <p style="text-align: center;">МПА (среда накопления) инкубация 24 ч., 37°C</p> </div> </div>	Признак	Колония №1	Колония №2	Форма			Размер			Поверхность			Край			Цвет			Консистенция			Прозрачность		
Признак	Колония №1	Колония №2																							
Форма																									
Размер																									
Поверхность																									
Край																									
Цвет																									
Консистенция																									
Прозрачность																									

Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 4

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

Культуральный метод исследования

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

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

Этапы метода:

1. Забор материала для исследования, транспортировка, хранение, подготовка, микроскопия, посев на питательные среды с целью выделения чистых культур бактерий

Вид исследуемого материала зависит от цели исследования (диагностика - от больного; эпиданализ - из внешней среды, продуктов питания, больного и (или) бактерионосителя). Посев материала (после предварительной микроскопии) на чашку с плотной питательной средой (лучше дифференциально-диагностической или селективной) с целью получения изолированных колоний. Производят его чаще всего методом механического разобщения. В некоторых случаях (например, кровь) материал предварительно засевают в жидкую среду обогашения 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 культуры для биохимической или др. идентификации; **или** учет идентификации в тест-системе.

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

Оценка метода:

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

Методы выделения чистых культур микроорганизмов

1. Методы механического разобщения микроорганизмов:

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

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

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

Методы создания анаэробных условий (для выделения чистых культур анаэробов)

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

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

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

Выращивание в анаэростатах (метод Цейслера). Анаэростат - вакуумная металлическая или пластиковая камера (рис. 8). Из анаэростата откачивают воздух, заполняют его газовой смесью: N_2 (90—80%) и CO_2 (10—20%). Избыточное давление (500 мм рт. ст.) исключает диффузию кислорода воздуха. Для создания анаэробноз в анаэростате также используются газогенерирующие системы типа *GasPak*, образующие газы (H_2 и CO_2) и поглощающие кислород. В качестве поглотителя кислорода используют щелочной раствор пирогаллола, дитионита натрия, металлическое железо и другие реактивы. Полноту поглощения кислорода контролируют индикатором.

Анаэробные боксы. Для культивирования строгих анаэробов применяются специальные камеры, заполненные газовыми смесями (чаще всего 90% N_2 , 5% CO_2 и 5% H_2), которые содержат внутри все необходимое для выполнения микробиологических работ, включая термостат. Это оборудование сложно и дорого, но оно имеет преимущество — контакт клеток с кислородом остается минимальным почти на всех этапах работы.

Питательные среды для создания анаэробных условий:



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

ОТВЕТ: _____

**СХЕМА ВЫДЕЛЕНИЯ ЧИСТЫХ КУЛЬТУР БАКТЕРИЙ МЕТОДОМ МЕХАНИЧЕСКОГО РАЗОБЩЕНИЯ
(посев бактериологической петлей)**

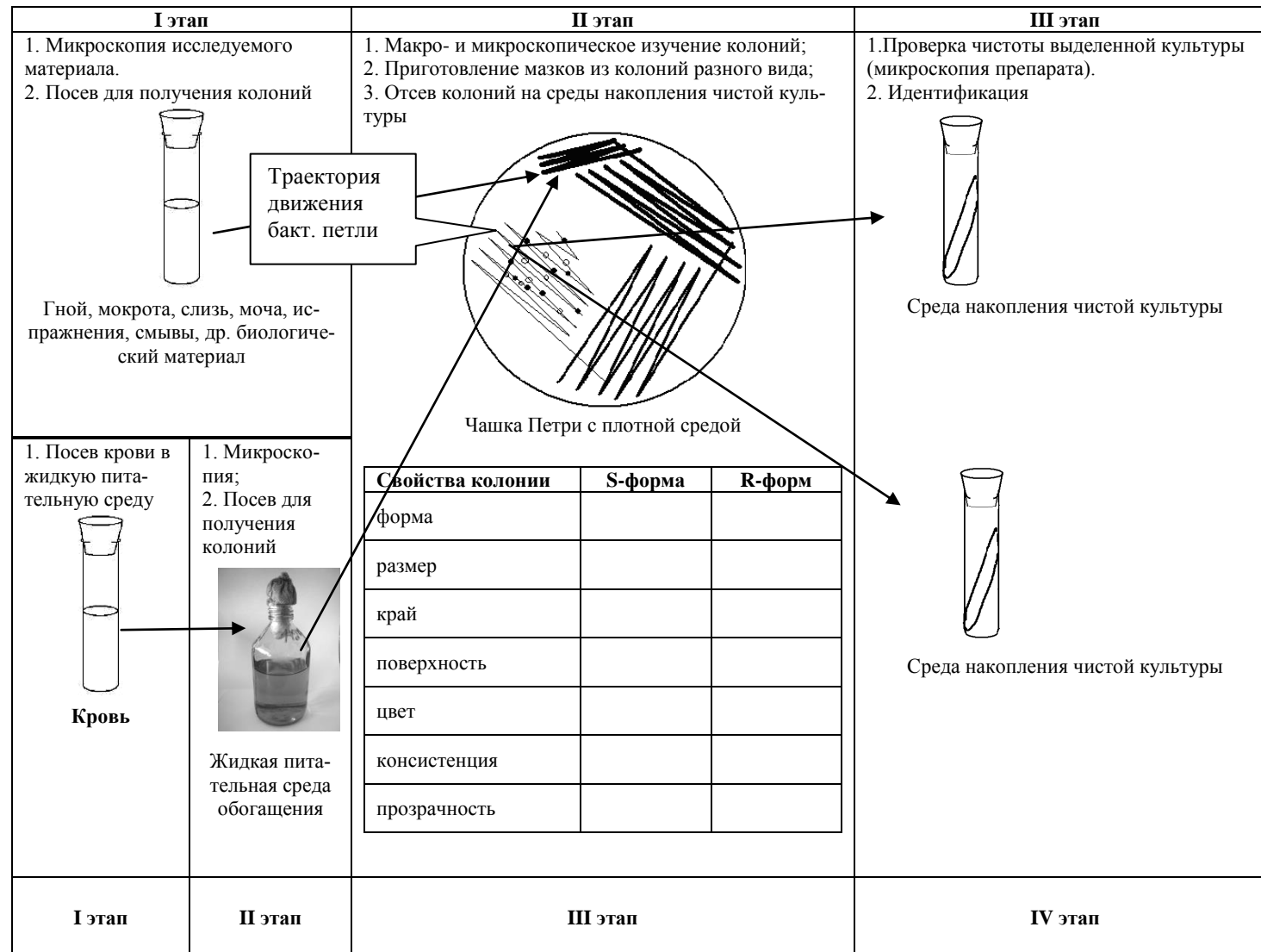


Рис. 7. Анаэростаты

Занятие № 5

Дата _____ г.

ТЕМА: Бактериологический метод исследования. Биохимическая идентификация микроорганизмов

<p>Перечень изучаемых вопросов: Идентификация микробов, её принципы и методы. Вид у микробов, критерии вида. 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>Источники:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Материал лекции. 2. [3] – (учебник), 3. [1], [4] – (практикумы), 4. [10], [11], [13] – (доп. литература).
---	--

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
<p>1. Третий этап выделения чистых культур аэробов (идентификация культуры):</p> <ul style="list-style-type: none"> • определить морфологию и провести контроль чистоты культуры бактерий на среде Клиглера, • осуществить посев на среды с сахарозой, мальтозой, маннитом, поставить пробы на индол и на подвижность. <p>Демонстрация.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Среды Гисса с различными индикаторами, жидкие и полужидкие. 2. Гемолиз, лецитиназная и оксидазная активность. 3. Тест-системы для идентификации микроорганизмов. 	<p>МПА</p> <p>Лактоза Глюкоза H₂S</p> <p>среда Клиглера</p> <p>МПБ с триптофаном (индол)</p> <p>МПА п/ж (подвижность)</p> <p>среда с сахарозой и ВР</p> <p>среда с мальтозой и ВР</p> <p>среда с маннитом и ВР</p> <p>Препарат _____</p> <p>Окраска _____</p>

Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 5

Определение биохимических свойств микробов.

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

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

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

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

Липазы - ферменты разложения липидов и липоидов.

Ферменты-токсины:

Гемолизины - ферменты расщепления фосфолипидной 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).

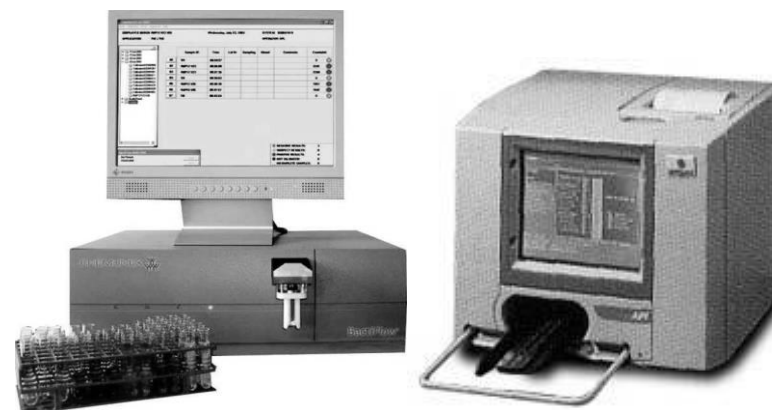
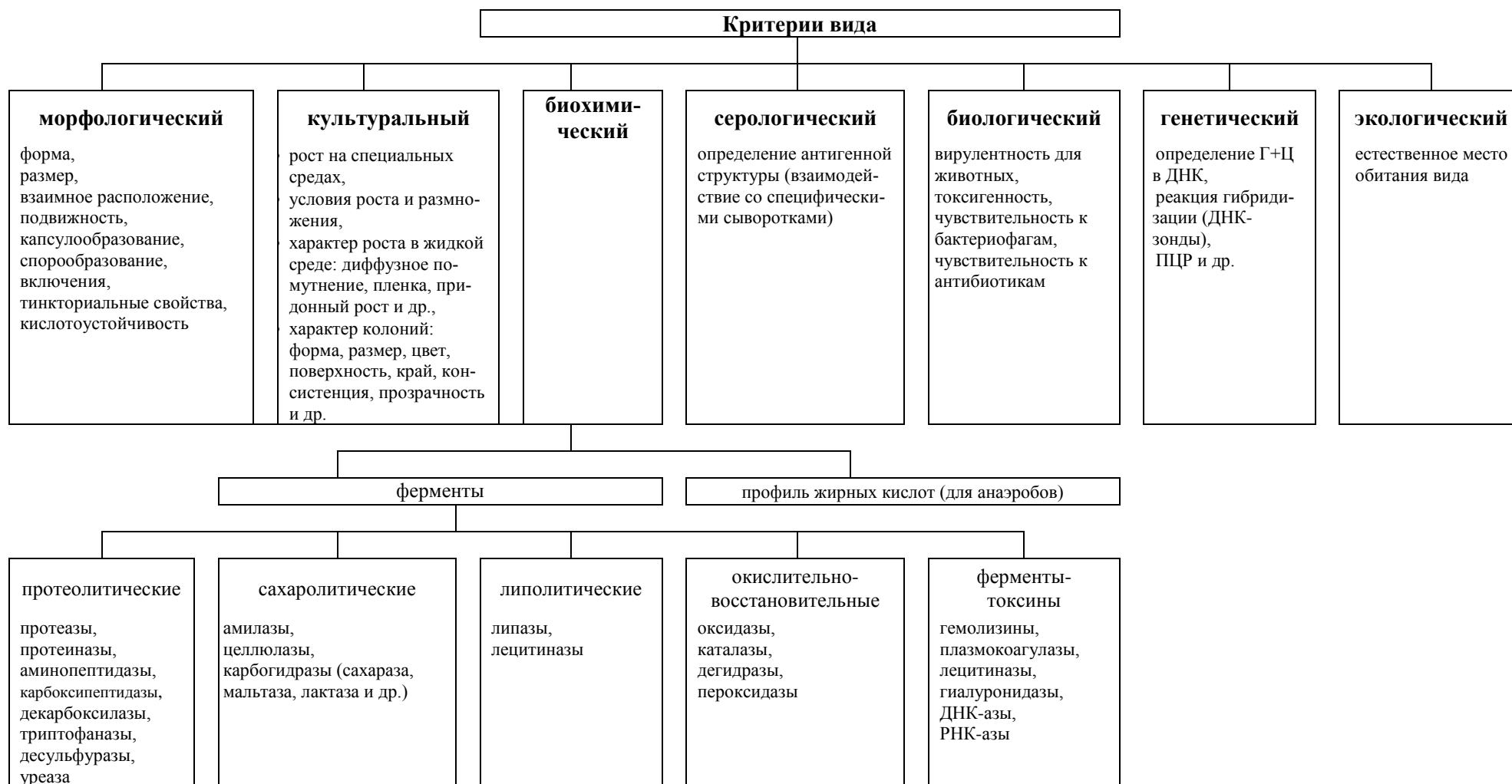


Рис. 9. Автоматические микробиологические анализаторы (внешний вид).

МЕТОДЫ ИДЕНТИФИКАЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ



Занятие № 6

Дата _____ г.

ТЕМА: Генетика микроорганизмов

<p>Перечень изучаемых вопросов: Устройство генетического аппарата бактерий. Виды изменчивости микроорганизмов. Практическое значение изменчивости. Методы выделения мутантов. Плазмиды и их функции. Значение мутаций, рекомбинаций и репараций в эволюции микроорганизмов. Теоретическое и практическое значение учения о генетике бактерий для микробиологии и медицины. Цели и задачи генной инженерии. Практическое использование генной инженерии в медицинской микробиологии и в биотехнологии. Методы молекулярной диагностики (молекулярная гибридизация, полимеразная цепная реакция), определение, задачи, преимущества, учёт и интерпретация результата, области применения. Геномика микроорганизмов, ее взаимоотношения с геномикой человека. Протеомика микроорганизмов.</p>	<p>Источники: 1. Материал лекции. 2. [3] – (учебники), 3. [1], [4] – (практикумы), 4. [10], [11], [13], [16] – (доп. литература).</p>
--	--

Лабораторная работа

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

<p>Демонстрация. Метод реплик.</p>	<p>Метод реплик 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 data-bbox="1518 391 1937 670" style="text-align: center;"> </div>
---	---

Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 6

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 - дезоксинуклеотидтрифосфатов и фермента, осуществляющего их полимеризацию – Таq-полимеразы (выделяется из термофильных микроорганизмов *Thermophilus aquaticus*). Как и любой другой фермент, Таq требует определенных условий – рН, концентрации солей, что достигается внесением в реакционную смесь буфера для Таq и MgCl₂. 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 (10⁸) позволяет выявлять их путем электрофореза в агарозном или акриламидном геле с последующей окраской ДНК-красителем - этидием-бромидом, флюоресцирующим в УФ-свете (290 нм) трансллюминатора. 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.

**Сравнительная характеристика методов типирования
возбудителей инфекций**

Метод типирования	Доля типлируемых штаммов	Воспроизводимость	Разрешающая сила	Легкость	
				интерпретации	выполнения
Фенотипические:					
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 энзимэлектрофорез)	Все	5	4	5	4
Генотипические:					
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

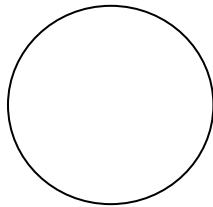
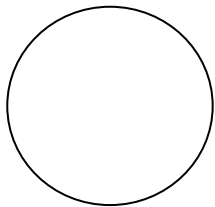
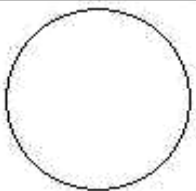
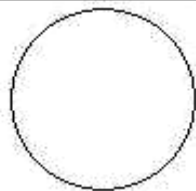
Занятие № 7

Дата _____ г.

ТЕМА: Экология микробов. Инфекция. Биологический метод исследования

<p>Перечень изучаемых вопросов: Экология микроорганизмов. Формы экологических связей. Практическое использование микробного антагонизма. Понятие о бактериоциногении. Микрофлора организма человека Дисбактериоз Факторы, влияющие на формирование дисбактериоза. Препараты для лечения и профилактики дисбактериоза. Инфекция, определение понятия, причины и условия возникновения, классификация инфекционного процесса. Патогенность и вирулентность микробов, факторы патогенности, единицы вирулентности. Островки патогенности, третья секторная система микробов. Методы определения адгезинов, токсигенности, ферментов-токсинов, капсульного вещества. Биологический метод исследования, оценка, этапы, применение в микробиологии.</p>	<p>Источники: 1. Материал лекции. 2. [3] – (учебник), 3. [1], [4] – (практикумы), 4. [10], [11], [13] – (доп. литература).</p>
--	---

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты	
<p>1. Посев для изучения нормальной микрофлоры и выявления дисмикробиоза.</p>	<p>Стерильные кусочки фильтровальной бумаги 1x1 см в чашке Петри увлажнить стерильным физ.р-ром. Стерильным пинцетом поместить кусочек бумаги на исследуемую поверхность кожи рук, лица и др., слизистой оболочки полости рта - 0,5 мин. Поместить бумагу на поверхность плотной питательной среды (отпечаток) – 1 мин. Бумагу удалить Чашки с отпечатками инкубировать при 37⁰ С 24-48 ч.</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  <p>Кровяной агар</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>Среда Эндо</p> </div> </div>	
<p>Демонстрация. 1. Пепарат зубного налета, окраска по Граму 2. <i>Bacillus anthracis</i> в мазке-отпечатке органов мыши, окраска по Граму.</p>	<p>Препарат _____ _____ _____ Окраска _____ _____</p> 	<p>Препарат _____ _____ _____ Окраска _____ _____</p> 

Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 7

КЛАССИФИКАЦИЯ ИНФЕКЦИЙ

<p><u>В зависимости от возбудителя:</u> бактериозы; вирусозы; микозы; паразитозы; гельминтозы.</p>	<p><u>По механизмам передачи - инфекции с:</u> 1. аэрозольным механизмом передачи; 2. фекально-оральным механизмом передачи; 3. трансмиссивным механизмом передачи; 4. контактным механизмом передачи; 5. трансплацентарным (вертикальным)..</p>
<p><u>По источникам инфекции:</u> 1. антропонозы (источник - человек); 2. зоонозы (источник - животные); 3. сапронозы (источник внешняя - среда).</p>	<p><u>В зависимости от поражаемых систем органов:</u> 1. инфекции дыхательных путей; 2. инфекции ЖКТ; 3. инфекции крови; 4. инфекции кожи и др.</p>
<p><u>По кратности инфицирования:</u> 1. вторичная; 2. реинфекция; 3. суперинфекция; 4. рецидив.</p>	<p><u>По распространенности:</u> 1. очаговая; 2. системная; 3. генерализованная: бактериемия; токсемия; сепсис: септицемия, септикопиемия</p>
<p><u>По длительности:</u> 1. острые; 2. хронические: первично-хроническая; вторично-хроническая; медленные.</p>	<p><u>По числу возбудителей:</u> 1. моноинфекция; 2. смешанная инфекция.</p>
<p><u>По месту заражения:</u> 1. внутрибольничная; 2. внебольничная.</p>	<p><u>По путям инфицирования:</u> 1. эндогенные; 2. экзогенные.</p>
<p><u>По выраженности:</u> 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.</p> <p>Стадии инфекционного заболевания:</p> <ul style="list-style-type: none"> • инкубационный период; • продромальный период (неспецифичные симптомы: температура, головная боль, миалгии и др.); • разгар заболевания (специфические диагностические симптомы); • исходы заболевания: (выздоровление, микробоносительство, хронизация, летальный). 	

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.

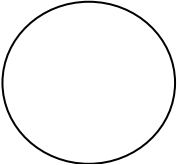
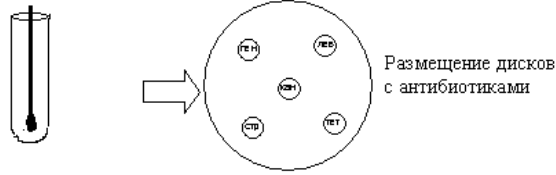
Занятие № 8

Дата _____ г.

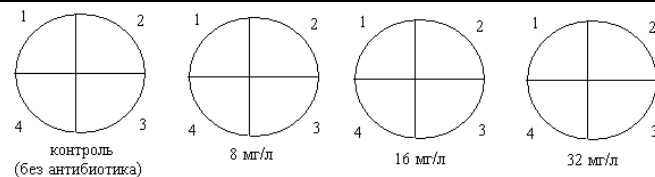
ТЕМА: Микробиологические основы химиотерапии и антисептики бактериальных инфекций

<p>Перечень изучаемых вопросов: Антибиотики, характеристика, классификация. Механизмы противомикробного действия. Лекарственная устойчивость микробов, механизмы, методы ее определения. Противомикробные мероприятия. Определение понятий асептики, стерилизации, дезинфекции, антисептики. Антисептические средства, происхождение, свойства, группы, механизмы действия на микробы. Типы антисептики.</p>	<p>Источники:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Материал лекции. 2. [3] – (учебник), 3. [1], [4] – (практикумы), 4. [8], [10], [11], [13], – (доп. литература).
---	--

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
<p>1. Поставить опыт по антисептике.</p>	<p>Опыт по антисептике:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Отпечаток кожи без обработки (контроль); 2. Мытье водой с мылом – отпечаток (опыт 1); 3. Обработка антисептиком (1% раствор йодоната); 4. Обработка нейтрализатором (1% раствор тиосульфата натрия); 5. Отпечаток (опыт 2). <div style="text-align: right;">  <p>Схема постановки опыта</p> </div>
<p>2. Поставить опыт по определению чувствительности бактерий к антибиотикам методом бумажных дисков.</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Приготовить взвесь исследуемых микроорганизмов, соответствующий по плотности 0,5 по стандарту МакФарланда и содержащий примерно $1,5 \times 10^8$ КОЕ/мл. 2. Стерильный тампон погрузить в стандартную суспензию микроорганизма, затем избыток суспензии удалить, отжав тампон о стенки пробирки. Посев проводят штриховыми движениями в трех направлениях, поворачивая чашку Петри на 60°. 2. Фламбируем пинцет и накладываем диск с антибиотиком на агар, слегка прижимаем, чтобы поверхность диска равномерно контактировала с поверхностью агара. 3. Повторяем п.2 с разными антибиотиками (не более 5 на чашку). <div style="text-align: center;"> <p>Культура бактерий Мюллер-Хинтон</p>  <p>Размещение дисков с антибиотиками</p> </div>

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



Чашки с разведениями ампициллина

Критерии интерпретации результатов:

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

Заключение:

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

Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 8

Методы изучения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам:

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

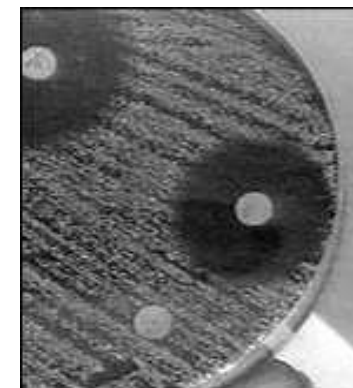
Недостатки метода: полуколичественная оценка чувствительности, неприемлем для тестирования медленно растущих микроорганизмов (*M. tuberculosis*) и медленно диффундирующих антибиотиков (полипептиды).

2. Метод разведений – определение минимальной ингибирующей концентрации

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

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

Недостатки метода: более материалоемкий и трудоемкий по сравнению с методом бумажных дисков. Более целесообразен для научных исследований.

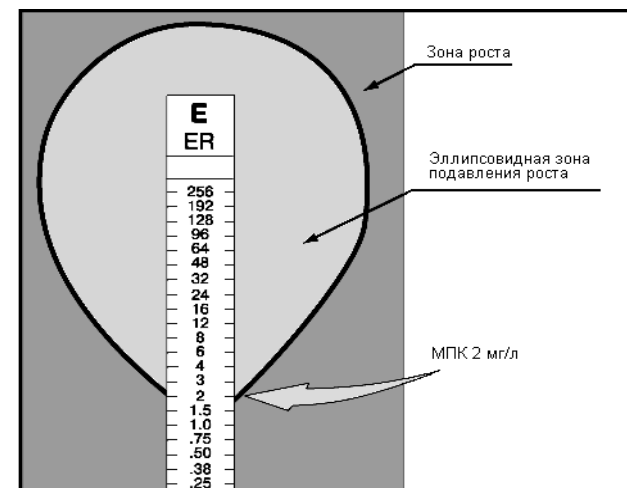


3. Метод Е-тестов.

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.



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 β -лактамам; обладает индуцибельными механизмами резистентности; отличаются высокой скоростью мутации в генах, контролирующей 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.

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

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

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

Занятие № 9

Дата _____ г.

ТЕМА: Санитарно-бактериологические методы исследования

<p>Перечень изучаемых вопросов: Микрофлора воздуха. Показатели санитарного состояния воздуха. Методы определения микробного числа.</p> <p>Микрофлора воды, источники ее загрязнения. Показатели санитарного состояния воды. Определение микробного числа воды. Методы определения общих и термотолерантных колиформных бактерий.</p> <p>Микрофлора почвы, показатели ее санитарного состояния.</p> <p>Термические, механические, химические и другие методы стерилизации. Отличия стерилизации от дезинфекции, микробиологический контроль качества стерилизации. Виды дезинфектантов. Механизмы действия на микроорганизмы.</p>	<p>Источники:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Материал лекции. 2. [3] – (учебник), 3. [1], [4] – (практикумы), 4. [8], [10], [11], [13] – (доп. литература).
---	---

Лабораторная работа

дание	Методы, результаты		
1. Провести учет опыта определения устойчивости бактерий к антибиотикам методом бумажных дисков	Учет результатов:		
	Антибиотик	Диаметр зоны задержки роста, мм	Уровень чувствительности
2. Провести учет опыта по антисептике.	<p>Учет результатов</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Просмотреть чашку в зоне отпечатков: <ol style="list-style-type: none"> а) подсчитать число колоний в каждой зоне б) отметить характер колоний в каждой зоне (определить число разновидностей колоний по размерам, форме, характеру поверхности, края, прозрачности, окраске) 2. Приготовить мазки с окраской по Граму из характерных (доминирующих) колоний 3. Сформулировать выводы: <ul style="list-style-type: none"> об эффективности механической (мытьё рук с мылом) и химической антисептики (обработка раствором галогена - йодом) по изменению обсемененности кожи (по сравнению с контролем) о влиянии метода антисептики на состав флоры кожи рук (на основании морфологии колоний и микробов из них). <p>Заключение _____</p> <p>_____</p>		

Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 9

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

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

САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВОДЫ

Под централизованным водоснабжением понимается использование жителями населенных мест воды для удовлетворения питьевых и хозяйственных нужд из сети разводящих труб от одного источника воды (подземного или поверхностного)

Под нецентрализованным водоснабжением понимается использование жителями населенных мест подземных источников водоснабжения для удовлетворения питьевых и хозяйственных нужд при помощи водозаборных устройств без разводящей сети – шахтные и трубчатые колодцы, копчажи родников.

Кроме питьевой воды санитарно-микробиологическому исследованию подвергается вода: объектов питьевого, хозяйственно-бытового и рекреационного водопользования; источников централизованного хозяйственно-питьевого водоснабжения; бассейнов; сточные воды и др.

Питьевая вода централизованного водоснабжения. Нормативы питьевой воды централизованного водоснабжения по микробиологическим показателям

Наименование показателя	Единица измерения	Норматив
Термотолерантные колиформные бактерии 1)	Число бактерий в 100 см ³	Отсутствие
Общие колиформные бактерии 1), 2)	Число бактерий в 100 см ³	Отсутствие
Общее микробное число 2)	Число образующих колонии бактерий в 1 см ³	Не более 50
Колифаги 3)	Число бляшкообразующих единиц (БОЕ) в 100 см ³	Отсутствие
Споры сульфитредуцирующих клостридий 4)	Число спор в 20 см ³	Отсутствие
Цисты лямблий 3)	Число цист в 50 дм ³	Отсутствие

Примечания:

1. При определении проводится трехкратное исследование по 100 см³ отобранной пробы воды.
2. Превышение норматива не допускается в 95% проб, отбираемых в точках водоразбора наружной и внутренней водопроводной сети в течение 12 мес., при количестве исследуемых проб не менее 100 за год.
3. Определение проводится в системах водоснабжения из поверхностных источников перед подачей воды в распределительную сеть
4. Определение проводится при оценке эффективности технологии обработки воды

При исследовании микробиологических показателей качества питьевой воды централизованного водоснабжения в каждой пробе проводится определение термотолерантных колиформных бактерий, общих колиформных бактерий, общего микробного числа. Порядок исследования других нормируемых микробиологических показателей определяется при составлении рабочей программы производственного контроля качества воды.

При обнаружении в пробе термотолерантных колиформных бактерий и (или) общих колиформных бактерий, и (или) колифагов проводится их определение в повторно взятых в экстренном порядке (в течение суток) пробах

При обнаружении в повторно взятых пробах общих колиформных бактерий в количестве более 2 в 100см (или) термотолерантных колиформных бактерий, и (или) колифагов проводится исследование проб воды для определения патогенных бактерий кишечной группы и (или) энтеровирусов.

Исследования питьевой воды на наличие патогенных бактерий кишечной группы и энтеровирусов проводится также по эпидемиологическим показаниям по решению территориального органа государственного надзора.

Исследования воды на наличие патогенных микроорганизмов могут проводиться только в лабораториях, имеющих разрешение на выполнение этих работ.

Питьевая вода нецентрализованного водоснабжения. Нормативы питьевой воды нецентрализованного водоснабжения по микробиологическим показателям

Наименование показателя	Единица измерения	Норматив
Число бактерий группы кишечной палочки (коли-индекс)	Количество БГКП в 1000 мл воды	Не более 10

В зависимости от местных природных и санитарных условий, а также эпидемической обстановки в населенном месте, перечень контролируемых показателей качества воды расширяется по постановлению органов государственного санитарного надзора РБ.

Для исследования микрофлоры воздуха используют различные методы.

Седиментационный метод (метод Коха) применяется обычно для качественной характеристики микробного загрязнения. Метод основан на естественном осаждении микроорганизмов под действием силы тяжести. Метод чрезвычайно прост, но слабо чувствителен и мало достоверен.

В большей степени является качественным, чем количественным и позволяет, в основном, определить лишь спектр присутствующих микроорганизмов.

Аспирационный метод - более точный метод. Забор проб воздуха проводится пробоотборными устройствами различной конструкции, которые обеспечивают отбор биологического аэрозоля с величиной частиц диаметром до 1,4 мкм.

Импакторы - приборы, в которых происходит принудительное осаждение микроорганизмов из прокачиваемого через прибор воздуха на поверхность плотной питательной среды (прибор Кротова, ПАБ-1, ПАБ-2 и др.).

Импинджеры - группа приборов, в которых воздух проходит через жидкость (питательную среду, стерильную воду, физиологический раствор), в результате чего микроорганизмы задерживаются в ней и могут быть обнаружены.

Фильтрационный метод. Используются мембранные фильтры из нитроцеллюлозы или ацетата целлюлозы. При отборе пробы, проходя через фильтр, воздух вызывает его электризацию, поэтому улавливание микроорганизмов происходит только в самом поверхностном слое фильтра толщиной около 0,3 мкм. Это не только обеспечивает высокую эффективность улавливания, но и позволяет элюировать (десорбировать) задержанные частицы, бактерии и вирусы для дальнейшего исследования.

Санитарно-показательные микроорганизмы, характеризующие микробное загрязнение воздуха

Общее количество микроорганизмов воздуха (общее микробное число – ОМЧ).

Staphylococcus aureus (золотистый стафилококк)

Грамотрицательные бактерии – грамотрицательные бактерии, способные образовывать видимые невооруженным глазом колонии на питательном агаре в течение 24 часов при 37°C. При исследовании воздуха лечебно-профилактических учреждений дополнительно рекомендуется определять принадлежность выявленных микроорганизмов к родам *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Enterobacter*.

Гемолитическая микрофлора – количество микроорганизмов, образующих на 5% кровяном агаре в течение 24 часов при 37°C колонии, окруженные зонами альфа- или бета-гемолиза. Основную массу гемолитической микрофлоры воздуха составляют гемолитические стрептококки.

Грибы (дрожжеподобные и плесневые) – количество дрожжей и плесневых грибов, вырастающих на питательном агаре или на агаре Сабуро за 96 часов инкубации при 22 —28°C.

По эпидемиологическим или специальным показаниям в воздухе ЛПУ определяют наличие и количество патогенных микроорганизмов (*Salmonella spp.*, *Mycobacterium spp.*), а также вирусную (чаще энтеровирусную) контаминацию.

Основная задача санитарно-микробиологического исследования почвы – дать оценку санитарно-гигиенического состояния почвы и интенсивности ее загрязнения (степень и давность его).

Санитарно-микробиологическое исследование почвы проводится:

В зонах повышенного риска.

В зонах санитарной охраны водоемов.

В санитарно-защитных зонах.

Схема оценки эпидемической опасности почв населенных пунктов

Категория загрязненности	объекты	Показатели загрязнения (клеток в 1 г почвы)			
		кишечная палочка	энтеробактерии	патогенные энтеробактерии	энтерорусы
чистая	Зона повышенного риска: территории детских дошкольных и школьных учреждений, зон рекреации (парки, скверы и др), огородов, выгульных площадок	1-9	1-9	–	–
загрязненная		10 и выше	10 и выше	10 и выше	+
чистая	Зоны санитарной охраны водозаборов	1-9	1-9	1-9	–
загрязненная		10 и выше	10 и выше	10 и выше	+
чистая	Санитарно-защитные зоны	1-99	1-99	–	–
загрязненная		100 и выше	100 и выше	+	+

Примечание: «-» - отсутствие в почве, «+» - наличие в почве

Краткий санитарно-микробиологический анализ почвы предусматривает определение:

Показатели	Характеристика
Общее микробное число (ОМЧ)	Микроорганизмы, растущие на мясопептонном агаре, при культивировании посевов в аэробных условиях при температуре 37°C в течение 24 часов.
Бактерии группы кишечных палочек (БГКП)	Грамотрицательные, не образующие спор короткие палочки, сбраживающие лактозу и глюкозу с образованием кислоты и газа при 37±0,5°C в течение 24-48 часов, не обладающие оксидазной активностью.
Энтерококки	Грамположительные кокки, расположенные парами короткими или длинными цепочками, каталазо-отрицательные, спор и капсул не образуют. Для всей группы энтерококков характерны: устойчивость к 40% желчи, 6,5% хлористого натрия, pH – 9,6-9,2, не ферментируют раффинозу и не разлагают H ₂ O ₂ , рост в молоке с 0,1% метиленового синего.
<i>C. perfringens</i>	Грамположительные палочки с закругленными концами расположенные в одиночку, попарно, в виде цепочек или штакетообразных скоплений. Сбраживают лакмусовое молоко, ферментируют глюкозу, мальтозу, лактозу, сахарозу, галактозу с образованием кислоты и газа, не ферментируют маннит и дульцит.
Термофильные бактерии	Полиморфная группа преимущественно спорообразующих бактерий, способных размножаться при температуре 50-70°C.
Нитрифицирующие бактерии	Морфологически разнообразны: палочковидные, сферические, эллипсоидные, спиралевидные. Грамотрицательные, аэробы. Численность этих микроорганизмов указывает на степень органического загрязнения, скорости и окончание распада органики в почве.

Краткий анализ почвы осуществляется при проведении текущего санитарного надзора за состоянием почвы. Полученные показатели указывают на наличие и степень фекального загрязнения и состояние процессов самоочищения почвы.

Полный анализ почвы проводится при осуществлении предупредительного санитарного надзора, первичном обследовании при выборе территории для размещения отдельных объектов и др. Он включает определение всех показателей краткого анализа, а также: общую численность сапрофитов, процентное содержание спорных микроорганизмов, аэробных бактерий, разрушающих клетчатку, бактерий амонификаторов, количество грибов и актиномицетов, индикацию и выделение патогенных микроорганизмов, определение сибиреязвенной палочки, энтеровирусов, патогенных клостридий.

Занятие № 10

Дата _____ г.

ТЕМА: Микрофлора растительного сырья и готовых лекарственных форм

<p>Перечень изучаемых вопросов: Понятие об эпифитных и фитопатогенных микроорганизмах. Ризосфера, микориза, роль для растений. Инфекционные болезни растений, вызываемые фитопатогенными микроорганизмами, их проявление. Способы заражения растений и пути распространения бактерий в пораженных растениях. Меры борьбы с бактериозами. Источники и причины микробного загрязнения лекарственного растительного сырья и готовых лекарственных средств. Признаки микробной порчи лекарственных форм и меры ее предупреждения. Определение микробной загрязненности лекарственных средств и способы устранения их антимикробного действия. Определение стерильности инъекционных растворов. Пирогены.</p>	<p>Источники:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Материал лекции. 2. [3] – (учебник), 3. [1], [4] – (практикумы), 4. [10], [11], [13]– (доп. литература).
---	---

Лабораторная работа

Задача	Методы, результаты				
Учет опыта по определению стерильности ГЛС.	Лекарственное средство	Рост на МПА	Рост на среде Сабу-ро	Рост на среде Эндо	Рост на среде Китта-Тароцци
	Заключение _____ _____ _____				
Подпись преподавателя _____					

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

<p>Перечень вопросов к итоговому занятию:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. История становления и развития микробиологии как науки. Этапы. Основоположники микробиологии и ее основных направлений. 2. Характеристика бактериоскопического метода исследования. 3. Световые микроскопы. Принципы устройства простого, фазово-контрастного, темнопольного, люминесцентного микроскопов и их применение в микробиологии. 4. Техника иммерсионной микроскопии. 5. Типы микроскопических препаратов. Этапы приготовления фиксированного мазка. Простые методы окраски. 6. Дифференциально-диагностические методы окраски микробов. Окраска по Граму, механизм и техника окраски. 7. Морфология бактерий. Отличия прокариотов от эукариотов. Основные формы бактерий. 8. Структура и функции поверхностных образований бактериальной клетки. Капсула. Методы выявления. 9. Структура и функции клеточной стенки грамположительных и грамотрицательных бактерий. Формы бактерий с дефектами клеточной стенки. 10. Цитоплазматические структуры бактерий, функции, методы выявления. Кислотоустойчивые микробы. Метод окраски. 11. Покоящиеся формы микробов. Спорообразование у бактерий, стадии, методы выявления спор. 12. Подвижность бактерий, методы выявления подвижности. 13. Принципы систематики микробов. Систематическое положение микробов. Таксономические категории. Понятие и критерии вида. 14. Систематическое положение и морфология спирохет. Методы изучения. 15. Систематическое положение и морфология актиномицетов. 16. Систематическое положение и морфология микоплазм. Методы изучения. 17. Систематическое положение и морфология риккетсий и хламидий. 18. Питание микробов. Источники углерода, азота, ростовых факторов и зольных элементов. Способы питания. Способы проникновения питательных веществ в клетку через мембрану. 19. Дыхательный аппарат бактерий. Пути биологического окисления. Классификация микробов по этому признаку. 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. 	<ol style="list-style-type: none"> 26. Биохимический метод идентификации: определение протеолитических, сахаролитических, липолитических свойств, выявление гемолизина и оксидоредуктаз. Использование автоматических микробиологических анализаторов. 27. Генетический аппарат бактерий (хромосомы, плазмиды), характеристика бактериальных транспозонов. Биологическая роль плазмид. 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. Полимеразная цепная реакция. 31. Учение об инфекции. Условия возникновения инфекционного процесса. Отличительные признаки инфекционных заболеваний. Типы инфекций. 32. Роль микроорганизма в инфекционном процессе. Патогенность и вирулентность. Генетический контроль. Факторы патогенности. 33. Роль макроорганизма, физической и социальной среды в инфекционном процессе. 34. Биологический метод исследования: задачи, оценка, этапы. 35. Химиотерапия и химиопрофилактика. Антибиотики, определение, классификация. Механизм действия антибиотиков. Побочное действие антибиотиков. 36. Устойчивость микроорганизмов к антибиотикам, механизмы. 37. Методы изучения чувствительности микробов к антибиотикам. 38. Экология микроорганизмов. Типы экологических связей. 39. Стерилизация, дезинфекция. Определение понятий, методы проведения. Антисептика. Способы проведения. 40. Микрофлора воздуха, воды, почвы. Показатели санитарного состояния. Методы определения микробного числа. 41. Понятие об эпифитных и фитопатогенных микроорганизмах. Инфекционные болезни растений, вызываемые фитопатогенными микроорганизмами, их проявление. 42. Источники и причины микробного загрязнения лекарственного растительного сырья и готовых лекарственных средств. Признаки микробной порчи лекарственных форм и меры ее предупреждения. 43. Определение микробной загрязненности лекарственных средств и способы устранения их антимикробного действия. 44. Определение стерильности инъекционных растворов. Пирогены. <p>Перечень практических навыков:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Приготовить мазок из бульонной культуры бактерий. 2. Приготовить мазок 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 кишечной палочки, окраска по Граму. 9. Определить морфологию грамположительных и грамотрицательных бактерий в смеси, окраска по Граму. 10. Определить морфологию культуры в мазке, окрашенном по Гинсу-Бурри. 11. Определить морфологию чистой культуры стрептобацилл, окраска по Граму..
--	--

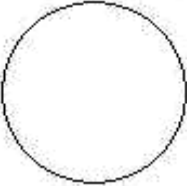
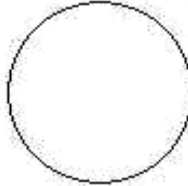
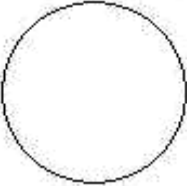
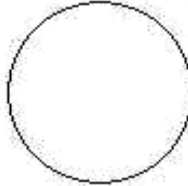
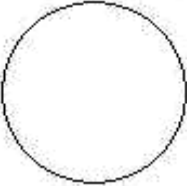
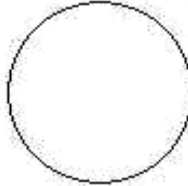
Занятие № 12

Дата _____ г.

ТЕМА: Иммуниет. Виды, системы иммуниета. Иммунокомпетентные клетки и молекулы

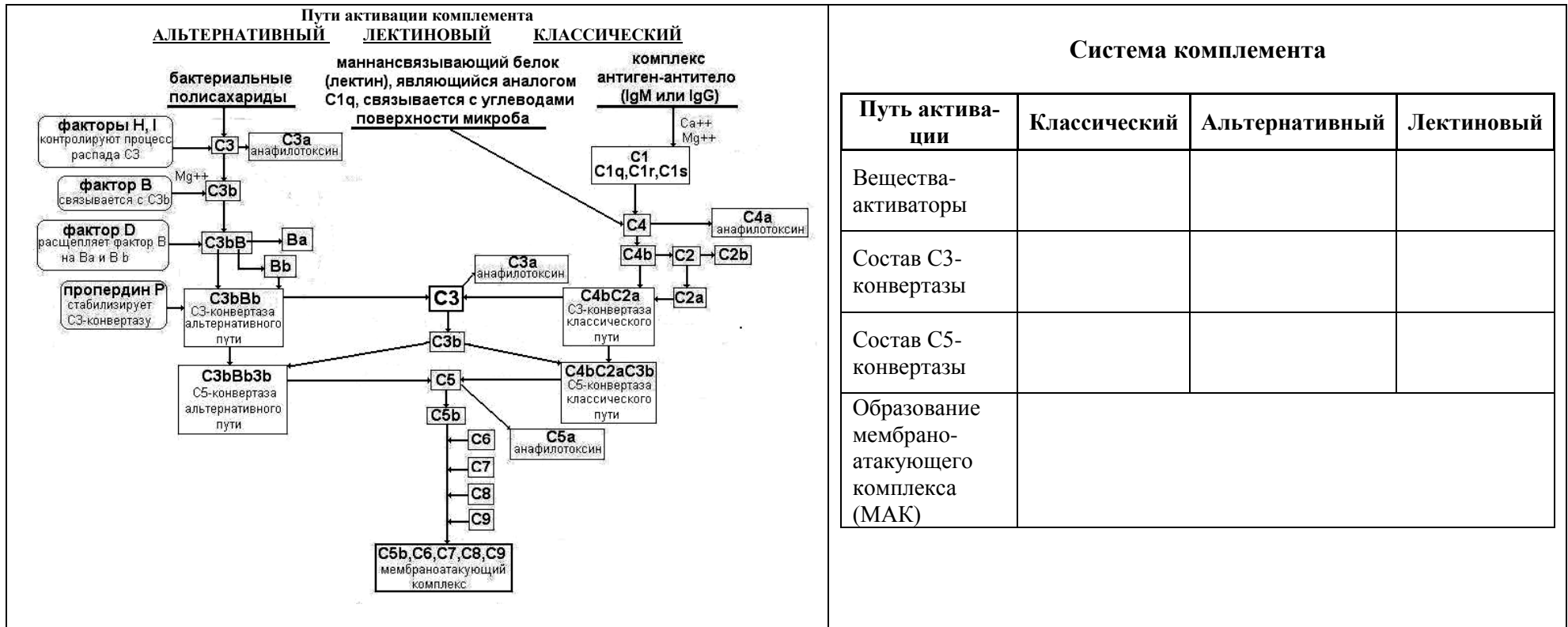
<p>Перечень изучаемых вопросов: Иммуная система организма человека: органы, клетки, молекулы. Иммуниет, виды иммуниета. Естественный иммуниет. Факторы иммуной и неиммуной природы. Система комплемент: состав, пути активации, функции, методы определения активности. Лизоцим, бета-лизины. Система полинуклеарных и моноклеарных фагоцитов. Фагоцитарная реакция: фазы, механизмы внутриклеточной бактерицидности, исходы. Методы определения активности фагоцитоза. Антигенпрезентирующие клетки (АПК). Естественные киллеры.</p>	<p>Источники:</p> <ol style="list-style-type: none">1. Материал лекции.2. [3] – (учебник),3. [1], [4] – (практикумы),4. [12], [15], [17]– (доп. литература).
--	--

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты		
<p>1. Определить показатели фагоцитоза в готовых препаратах, окрашенных по Романовскому-Гимзе. Микробы смешивают с фагоцитами в пробирке или в организме лабораторных животных, через 15-120 мин из смеси готовят микропрепараты, окрашивают по Романовскому-Гимзе, подсчитывают число фагоцитирующих фагоцитов и число фагоцитированных микробов. Рассчитывают показатели.</p>	<p>$\text{ФП} = \frac{\text{количество фагоцитирующих фагоцитов}}{\text{количество всех фагоцитов}} \times 100\% \quad N = 40 - 60\%$</p> <p>$\text{ФЧ} = \frac{\text{количество фагоцитированных микробов}}{\text{количество фагоцитирующих фагоцитов}} \quad N = 4 - 7$</p>		
<p>2. Зарисовать демонстрационные препараты:</p> <ol style="list-style-type: none">1. Незавершенный фагоцитоз <i>N. gonorrhoeae</i>2. Незавершенный фагоцитоз <i>K. rhinoscleromatis</i>	<table border="1"><tr><td data-bbox="584 930 1108 1150"><p>Препарат _____</p><p>_____</p><p>Окраска _____</p><p>_____</p></td><td data-bbox="1108 930 1688 1150"><p>Препарат _____</p><p>_____</p><p>Окраска _____</p><p>_____</p></td></tr></table>	<p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p> 	<p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p> 
<p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p> 	<p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p> 		

Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 12



Система комплемента

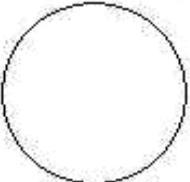
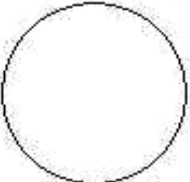
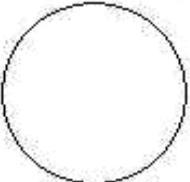
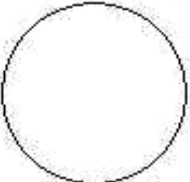
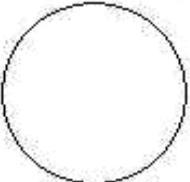
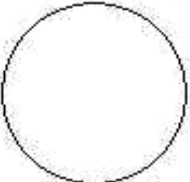
Путь активации	Классический	Альтернативный	Лектиновый
Вещества-активаторы			
Состав C3-конвертазы			
Состав C5-конвертазы			
Образование мембрано-атакующего комплекса (МАК)			

Занятие № 13**ТЕМА: Антигены. Антитела**

Дата _____ г.

<p>Иммунный ответ организма, определение, условия развития. Антигены: строение, свойства, классификация. В-система лимфоцитов, развитие, основные маркеры. В-клеточный рецептор. Гуморальный иммунный ответ. Антитела: структура молекулы, классы, функции. Моноклональные антитела, принципы получения, применение. Т-система лимфоцитов, развитие, основные маркеры. Т-клеточный рецептор. Характеристика субпопуляций Т-лимфоцитов: хелперов, киллеров, эффекторов ГЗТ, регуляторов. Хелперы 1-го, 2-го и 3-го типов. Клеточный тип иммунного ответа и его проявления. Методы оценки Т- и В-системы лимфоцитов: количественные и функциональные тесты.</p>	<p>Источники:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Материал лекции. 2. [3] – (учебники), 3. [1], [4] – (практикумы), 4. [12], [15], [17] – (доп. литература).
--	---

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты				
<p>1. Зарисовать демонстрационные препараты:</p> <ul style="list-style-type: none"> • реакция бласттрансформации лимфоцитов • определение В-лимфоцитов методом иммунных розеток. 	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 50%; padding: 5px;"> Препарат _____ _____ Окраска _____ _____ </td> <td style="width: 50%; text-align: center; vertical-align: middle;">  </td> </tr> <tr> <td style="padding: 5px;"> Препарат _____ _____ Окраска _____ _____ </td> <td style="text-align: center; vertical-align: middle;">  </td> </tr> </table>	Препарат _____ _____ Окраска _____ _____		Препарат _____ _____ Окраска _____ _____	
Препарат _____ _____ Окраска _____ _____					
Препарат _____ _____ Окраска _____ _____					

Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 13

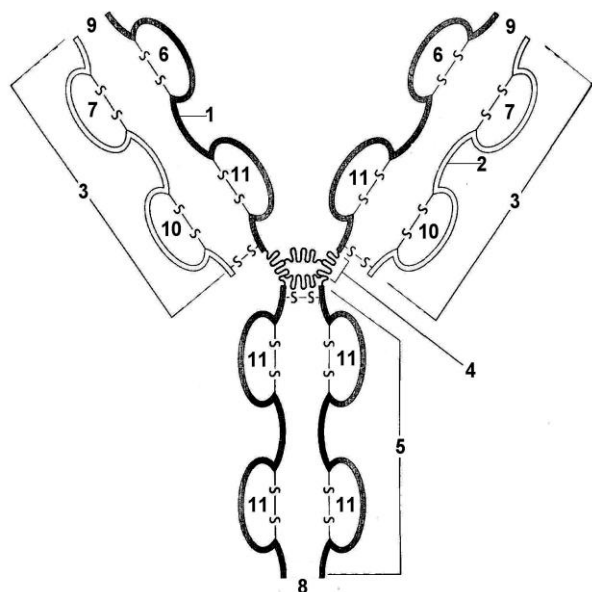


Рис. 10. Строение молекулы иммуноглобулина

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

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

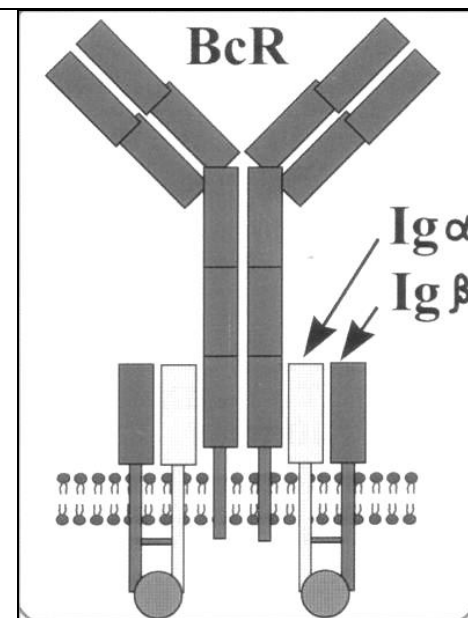


Рис. 11. Строение В-клеточного рецептора

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 противоинойфекционной 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 цитотоксичность. 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 (<i>первичный иммунный ответ</i>)	
Локализация	Этапы
I. Индукция Т-эффекторов (хелперов)	
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).
Кровь, ткани	4. Т-эффекторы рециркулируют по организму.
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).
<p>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 стимулируется через CD28). 3. Активированный Т-эффектор экспрессирует CD40L (лиганд) и секретирует цитокины (ИЛ4, 5, 6). 4-5. В-лимфоцит пролиферирует и дифференцируется в плазматит.</p>	
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 плазматиты 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	

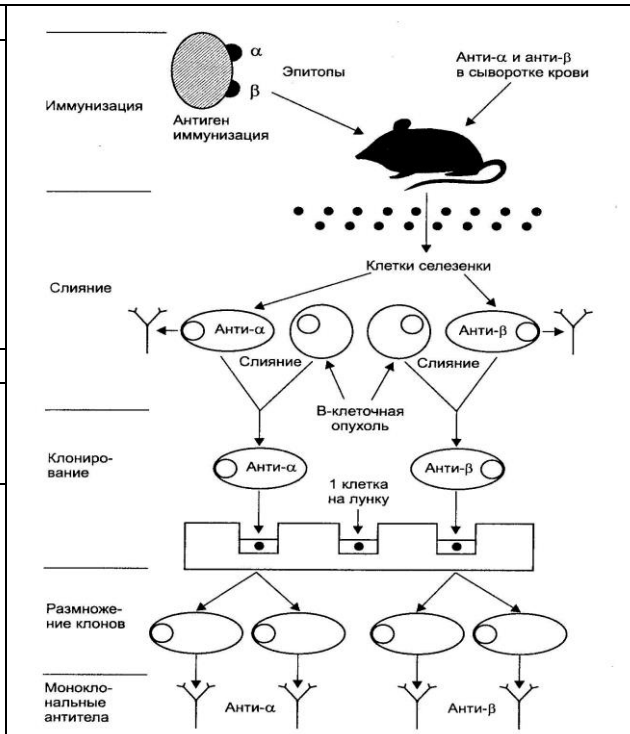


Рис. 12. Получение моноклональных АТ.

Схема развития КИО (первичный иммунный ответ)

Локализация	Этапы	
I. Индукция CD4+ Т-эффекторов		
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 CD4+ эффекторные клетки (Th1, Th2, Th3, Tr1, Tr2, CD4+CD25+ и др): а) Т-лимфоцит и АПК сближаются (LFA1+ICAM1 и др.); б) Происходит распознавание антигена (ТКР+ ГКГС II-Ag); в) Происходит коstimуляция (CD28 – CD80, 86); г) на Т-клетках появляется альфа цепь ИЛ2-рецептора (формируется полный ИЛ2Р) и начинается синтез ИЛ2; после стимуляции ИЛ2 лимфоцит начинает пролиферировать;	д) 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; е) зрелые Т-эффекторы поступают в циркуляцию.
Кровь, ткани, вторичные лимфоидные органы	4. Т-эффекторы характеризуются: а) способностью активироваться при взаимодействии с непрофессиональными АПК; б) способностью синтезировать различные цитокины (различного профиля); в) способностью к рециркуляции в определенных тканях в нормальных условиях (кожа, слизистые респираторного, желудочно-кишечного, мочеполового трактов, полостей и т.д.);	г) способностью выходить в любые ткани при воспалении ; д) быстрой гибелью от апоптоза без активации; е) отсроченным апоптозом при активации (в течение короткого времени); ж) способностью переходить в состояние покоя (клетки памяти, незначительное количество).
	5. CD4+ Т-эффекторы отличаются, т.е. могут быть идентифицированы по: а) набору адресных молекул для миграции в определенные ткани; б) спектру синтезируемых цитокинов;	в) набору рецепторов для хемокинов; г) набору молекул контактного взаимодействия.
	6. CD4+ Т-эффекторы выполняют функции: а) Т-хелперов: помощь В-лимфоцитам в синтезе антител: активация и пролиферация В-лимфоцитов (ИЛ6, 2); переключение изотипа иммуноглобулинов, дифференцировка в плазматциты) помощь наивным CD8+ Т-лимфоцитам: активация и пролиферация (ИЛ2) дифференцировка	б) Т-эффекторов ГЗТ: выделение цитокинов (провоспалительные цитокины, хемокины, противовоспалительные цитокины, факторы роста сосудов, фибробластов) в) Т-регуляторов: выделение супрессорных цитокинов ИЛ10, ТФР-бета, контактная супрессия; г) Т-киллеров (незначительная часть): киллинг клеток мишеней путем апоптоза при герпетических инфекциях.

II. Индукция CD8+ Т-эффекторов

<p>Ткани, вторичные органы лимфоидной системы, кровь, ткани</p>	<p>1. Индукция CD4+ Т-эффекторов (см. выше).</p>	
	<p>2. АПК захватывают антиген и транспортируют его во вторичные лимфоидные органы (лимфоузлы): а) АПК инфицируются вирусами (маловероятно); б) АПК захватывают клетки, погибшие от внутриклеточной инфекции, опухолевые клетки, клетки трансплантата и т.д. путем фагоцитоза, а также молекулы белков путем макропиноцитоза.</p>	
	<p>3. АПК презентуют антиген CD8+ наивным Т-лимфоцитам по цитоплазматическому пути: а) АПК презентуют захваченные антигены по цитоплазматическому пути благодаря механизму перекрестной презентации (т.е. происходит передача антигенов из эндосомного пути в цитоплазматический); б) считается, что наивный CD8+ Т-лимфоцит не обладает цитотоксичностью и не убивает АПК при первоначальной активации.</p>	
	<p>4. CD8+ лимфоциты пролиферируют, дифференцируются, выходят в кровь и рециркулируют по организму (см. выше п. 4): а) CD8+ лимфоциты нуждаются в ИЛ2 от CD4+ Т-эффекторов; б) необходимость одновременной активации CD4+ и CD8+ лимфоцитов свидетельствует в пользу трехкомпонентной модели (АПК+Т-хелпер+Т-киллер) и перекрестной презентации.</p>	
	<p>5. CD8+ Т-эффекторы выполняют следующие функции: а) киллинг. Активированные Т-киллеры не нуждаются в дополнительных сигналах и при распознавании 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).</p>	

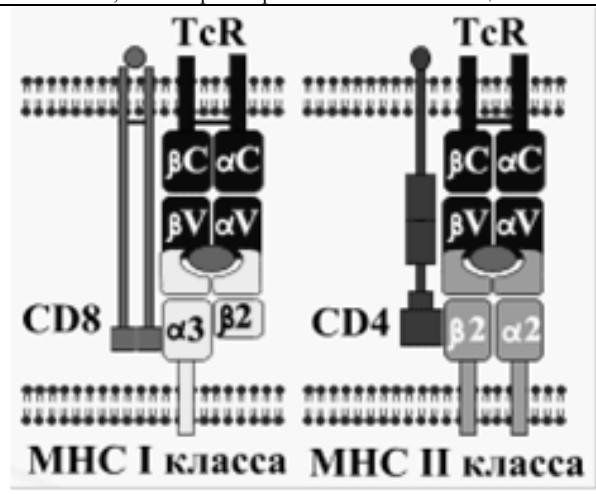


Рис. 13. Схема строения Т-клеточного рецептора

Занятие № 14

ТЕМА: Иммунодиагностика. Серологические и клеточные реакции

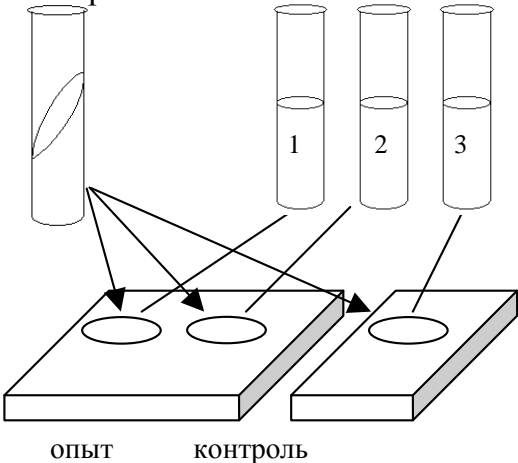
Дата _____ г.

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

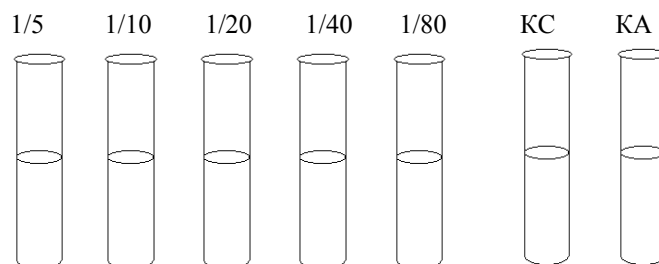
Источники:

1. Материал лекции.
2. [3] – (учебники),
3. [1], [4] – (практикумы),
4. [12], [15], [17], [18] – (доп. литература).

Лабораторная работа

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

2. Провести учет реакции связывания комплемента (РСК) с целью определения титра антител в сыворотке крови.



Заключение: _____

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

- а) раскапать контроли и образцы по 100 мкл согласно карте постановки;
- б) раскапать конъюгат по 50 мкл в каждую лунку;
- в) инкубировать 1 час при 37° С;
- г) промыть стрип 5 раз;
- д) раскапать хромоген по 100 мкл в каждую лунку;
- е) инкубировать 30 минут при 37°С;
- ж) раскапать стоп-реагент по 100 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⁻) < 0,15

ОПК⁻ =

б) ОПК⁻ должны находиться в пределах от 0,6 до 1,4 средней ОПК⁻

средняя ОПК⁻ =

0,6 средней ОПК⁻ =

1,4 средней ОПК⁻ =

в) ОП положительного контроля (ОПК⁺) должна превышать среднюю ОПК⁻ более чем в 4 раза:

ОПК⁺ / средняя ОПК⁻ =

г) значение ОП слабоположительного контроля должно превышать уровень cut-off

5. Расчет уровня cut-off:

ОП cut-off = средняя ОПК⁻ + 0,04

6. Интерпретация результатов:

Номер образца	ОП образца	Заклучение
1		
2		
3		
4		

Врач-лаборант _____

Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 14

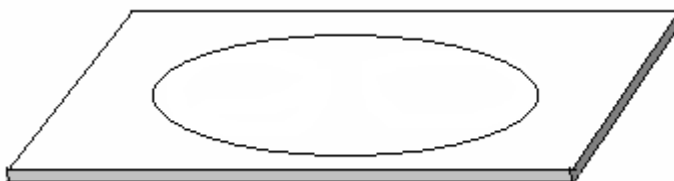
1. Сравнительная чувствительность серологических реакций

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 комплемента	Вариабельная	10^{-5} - 10^{-6}
Преципитации	Высокая (сильные белковые антигены)	10^{-5} - 10^{-7} (маленький размер иммунных комплексов (осадка))
Пассивной агглютинации	Высокая, то же	10^{-6} - 10^{-8} (крупные комплексы (осадок))
РИФ	Высокая (неспецифическое связывание)	10^{-7} - 10^{-8} (низкая концентрация антигенов, неспецифическое связывание)
ИФА	Высокая (в последних поколениях рекомбинантные и синтетические антигены и моноклональные антитела)	10^{-9} - 10^{-11} (неспецифическое связывание)
РИА	Высокая, то же	10^{-10} - 10^{-12} , то же
Иммуноблот	Высокая (подтверждающий метод, определение антител к нескольким индивидуальным антигенам)	10^{-7} - 10^{-9} , то же

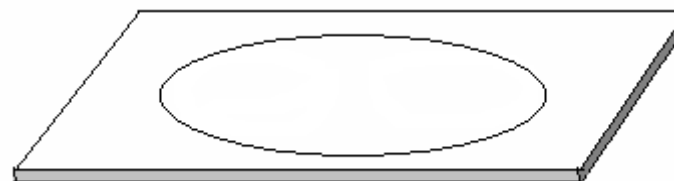
Титр – _____
 Диагностический титр – _____
 Диагностикум - _____
 Диагностическая сыворотка – _____

Схема реакции иммунофлюоресценции (РИФ)

Прямой вариант



Непрямой вариант



(нарисуйте)

Занятие № 15

Дата _____ г.

ТЕМА: Иммунопрофилактика и иммунотерапия инфекционных болезней

Иммунопрофилактика и иммунотерапия. Вакцины, виды, требования, предъявляемые к вакцинам. Поствакцинальный иммунитет, факторы, влияющие на его формирование. Методы оценки поствакцинального иммунитета. Пассивная иммунопрофилактика. Иммунные сыворотки и сывороточные препараты.	Источники: 1. Материал лекции. 2. [3] – (учебник), 3. [1], [4] – (практикумы), 4. [5], [9], [12], [15], [17], – (доп. литература).
--	---

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
1. Решение ситуационных задач	Задача 1 _____ Задача 2 _____ Задача 3 _____

Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 15

<p>Новые вакцины. Векторные – 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: - 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); - БЦЖ: геном микобактерии позволяет разместить генноинженерные конструкторы больших размеров; БЦЖ является сильным стимулятором клеточного иммунного ответа по типу ГЗТ; - 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.</p> <p>Антиидиотипические: Представляют молекулы иммуноглобулинов, выработанные в ответ на антитела, специфичные к антигенам возбудителя. Позволяют преодолеть некоторые проблемы вакцинологии: - токсичность некоторых вакцинных антигенов (коклюшная вакцина)</p>
--

- сложность или опасность производства антигенов возбудителя;
- низкую иммуногенность полисахаридных и липидных антигенов некоторых возбудителей;
- отсутствие иммунологической памяти при иммунизации указанными антигенами.

ДНК-вакцины («революция» вакцинологии). 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.

Преимущества ДНК-иммунизации

1. Плазмиды легко изготавливаются в больших количествах
2. ДНК является высокостабильной структурой
3. ДНК устойчива в широком диапазоне температур
4. Последовательность ДНК легко можно изменить, т.е. такая вакцина позволит гибко реагировать на возможные изменения микроорганизма.
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).
6. Для иммунизации можно использовать смеси плазмид, кодирующих различные протективные эпитопы одного или многих возбудителей.
7. Плазмиды не размножаются и кодируют только нужные для иммунизации белки.
8. Такие вакцины не содержат белков (антигенов) и не вызывают иммунного ответа к самим себе.
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).

Возможные проблемы

1. Интеграция в геном хозяина и индукция соматических мутаций
2. Возникновение аутоиммунных реакций (появление анти-ДНК-антител)
3. Индукция иммунологической толерантности к конкретным антигенам.

2. Серотерапия. Антисыворотки и иммуноглобулины

По направленности

Противоинфекционные: • Антимикробные • Антитоксические • Антивирусные	Для лечения неинфекционных заболеваний: • Антитоксические (против яда змей) • Антилимфоцитарные • Антицитоклиновые
--	---

По происхождению

Ксеногенные: • сыворотки лошадиные: 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. • Имуноглобулины лошадиные: противосинегнойный, антирабический и др. • мышинные моноклональные антитела: антилимфоцитарные (против отдельных CD), антицитоклиновые и др. • гибридные антитела (мышинные F(ab)+человеческие Fc фрагменты): • против отдельных вирусов (PC); • против CD4 (терапия ревматоидного артрита, аутоиммунных заболеваний); • против цитокинов воспаления (ФНО-альфа) (терапия эндотоксинемического шока, аутоиммунных заболеваний); • против IgE (лечение тяжелых аллергий, бронхиальной астмы); • против отдельных хемокинов и рецепторов хоминга (лечение органоспецифических аутоиммунных заболеваний); другие.	Аллогенные: • донорская плазма, донорский нормальный иммуноглобулин (применяется для профилактики/лечения кори, гепатита А(Е), коклюша, менингококковой инфекции, полиомиелита). • чигаин (препарат молозива, обогащенный IgA). • донорские гипериммунные иммуноглобулины: • антистафилококковый (донорский и плацентарный; применяют для лечения стафилококковой инфекции, резистентной к противомикробным препаратам); • противогепатитный (для профилактики гепатита В у новорожденных от матерей-носительниц HBs-Ag, а также в случаях вероятного инфицирования); • противогриппозный (для лечения токсических форм гриппа); противостолбнячный; • противоцитомегаловирусный (для лечения острой ЦМВ инфекции у недоношенных и грудных детей, лиц с первичными и вторичными ИДС, реципиентов трансплантатов). • иммуноглобулины для внутривенного введения (пентаглобин, октагам, сандоглобулин, интраглобин)
---	---

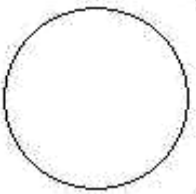
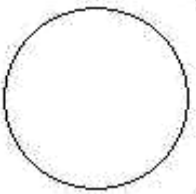
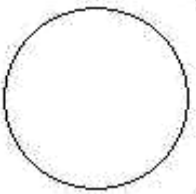
Занятие № 16

ТЕМА: Аллергия

Дата _____ г.

Аллергия, стадии, типы аллергических реакций. Механизмы ГНТ: медиаторный (I тип), цитотоксический (II тип), иммунокомплексный (III тип). Механизмы ГЗТ (IV тип). Лекарственная аллергия. Аллергены в стоматологии. Методы диагностики аллергических состояний.	Источники: 5. Материал лекции. 6. [3] – (учебник), 7. [1], [4] – (практикумы), 8. [5], [9], [12], [15], [17], – (доп. литература).
--	---

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты					
1. Зарисовать демонстрационный препарат	<table border="1"><tr><td>Препарат _____</td><td rowspan="4"></td></tr><tr><td>_____</td></tr><tr><td>Окраска _____</td></tr><tr><td>_____</td></tr></table>	Препарат _____		_____	Окраска _____	_____
Препарат _____						

Окраска _____						

Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 16.

<p>Некоторые тесты для диагностики аллергий:</p> <p>1. Общие положения</p> <ol style="list-style-type: none">1. Кожное тестирование проводят только в период ремиссии заболевания.2. В случае расхождения данных анамнеза и данных, полученных при проведении кожно-скарификационного тестирования возможно проведение внутрикожной пробы.3. Любое кожное тестирование может дать системную реакцию в виде анафилактического шока или обострения со стороны шокового органа.4. Кожные пробы должна проводить специально обученная медицинская сестра; врач обязан присутствовать во время проведения кожных проб и оценивать результаты.5. Перед постановкой проб следует отменить приём антигистаминных препаратов, причём срок отмены во многом зависит от группы, к которой относится этот препарат. Прием большинства H1-блокаторов прекращают за 48 ч, лоратадина, 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. <p>2. Прик-тест.</p> <p>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.</p>

3. Критерии оценки prick-тестов

Результат реакции	Условные обозначения	Описание реакции
Отрицательный	–	Размеры, как в контроле с разводящей жидкостью
Слабоположительный	+	Волдырь диаметром 3–5 мм с гиперемией до 10 мм, заметен 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 выполнимы
2. Безопасны
3. Безболезненны
4. Недороги
5. Высоко специфичны

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

5. Ошибки при диагностике аллергии с помощью кожных тестов:

А. 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.);

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.

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

Возрастная группа	Содержание IgE (кЕ/л)
Новорожденные	0–2
Дети: 3–6 месяцев	3–10
1 год	8–20
5 лет	10–50
10 лет	15–60
Взрослые	20–100

Полуколичественная оценка специфических IgE (по классам)

Класс	Трактовка	Уровень IgE
0		Не определяется
1	реакция отрицательная	Низкий
2	реакция сомнительная	Умеренный
3		Высокий
4	реакция положительная	Очень высокий
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.

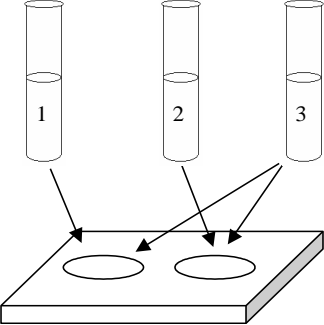
Занятие № 17

Дата _____ г.

ТЕМА: Иммунопатология. Оценка иммунного статуса

Клиническая иммунология: определение, задачи. Иммунный статус организма. Уровни оценки иммунного статуса. Первичные и вторичные иммунодефициты. Аутоиммунные болезни. Аутоантитела, диагностическое значение, методы определения. Противоопухолевый иммунитет. Методы коррекции нарушений иммунного статуса. Иммуносупрессия. Иммуностимуляция. Иммуномодуляторы. Препараты тимуса, селезенки, костного мозга. Интерлейкины, интерфероны.	Источники: 9. Материал лекции. 10. [3] – (учебник), 11. [1], [4] – (практикумы), 12. [5], [9], [12], [15], [17], – (доп. литература).
---	--

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
<p>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: flex-start;">  <div style="margin-left: 20px;"> <ol style="list-style-type: none"> 1. Физ. раствор 2. Сыв. больного 3. Эритроцитарный диагностикум ревматоидного фактора (DRF) </div> </div> <p style="text-align: right; margin-top: 20px;">Заключение: _____</p>

Подпись преподавателя _____

ИТОГОВОЕ ЗАНЯТИЕ ПО РАЗДЕЛУ: «Теоретическая и прикладная иммунология»

Перечень вопросов:

1. Иммунология. Определение, задачи, методы.
2. Иммунная система организма. Характеристика. Органы, клетки, биомолекулы.
3. Цитокины. Определение. Классификация. Биологическая роль.
4. Иммунитет, виды иммунитета. Характеристика противoinфекционного иммунитета.
5. Естественный иммунитет. Определение. Факторы неиммунной и иммунной природы и их характеристика.
6. Комплемент, пути активации, функции. Значение в противoinфекционной защите. Методы определения активности.
7. Фагоцитоз. Фагоциты. Фазы фагоцитоза. Исходы. Хемотаксины, опсонины, происхождение и роль в противoinфекционном иммунитете.
8. Методы определения показателей фагоцитоза.
9. Иммунный ответ и факторы, определяющие его выраженность.
10. В-система лимфоцитов. Гуморальный иммунный ответ, этапы.
11. Методы определения количества и функциональной активности В-лимфоцитов.
12. Антигены: структура, классификация, характеристика.
13. Антигенная структура бактерий. Перекрёстно реагирующие антигены.
14. Антитела, структура молекулы, свойства. Моноклональные и антиидиотипические антитела.
15. Классы иммуноглобулинов, характеристика.
16. Механизмы взаимодействия антигенов и антител. Специфичность. Фазы. Проявления. Авидность.
17. Серологический метод исследования. Задачи, этапы, оценка.
18. Реакция агглютинации. Цели и методы постановки, учет, оценка. Применение.
19. Реакция пассивной гемагглютинации, ингредиенты. Методика постановки, учет, оценка. Применение. Реакции обратной пассивной гемагглютинации, латексагглютинации.
20. Реакция преципитации. Цели и методы постановки, учет, оценка. Применение.
21. Реакция иммунофлюоресценции, прямой и непрямой методы. Применение.
22. Иммуноферментный анализ. Ингредиенты, постановка, учет, оценка. Области применения. Радиоиммунный анализ.
23. Реакции иммунного лизиса. Гемолиз.
24. Реакция связывания комплемента. Ингредиенты, постановка, учет, оценка. Применение.
25. Т-система лимфоцитов, характеристика. Динамика формирования клеточного иммунного ответа.
26. Методы определения количества и функции Т-лимфоцитов.

27. Аллергия. Стадии аллергии. Типы аллергических реакций.
28. Аллергены, определение, классификация, характеристика.
29. Аллергические реакции гиперчувствительности немедленного типа (ГНТ), виды, клинические проявления.
30. Медиаторный (I) тип ГНТ, механизмы, клинические проявления. Способы предупреждения.
31. Цитотоксический (II) и иммунокомплексный (III) типы ГНТ.
32. Гиперчувствительность замедленного типа (IV). Виды, клинические проявления.
33. Методы диагностики ГНТ (in vivo и in vitro).
34. Методы диагностики ГЗТ (in vivo и in vitro).
35. Иммунологическая толерантность. Определение, механизмы, биологическое значение.
36. Трансплантационная реакция. Антигены гистосовместимости. Типы реакций. Механизмы отторжения. Предупреждение.
37. Клиническая иммунология, определение, цели, задачи.
38. Иммунный статус организма, уровни и принципы оценки, методы.
39. Иммунодефицитные состояния: врождённые и приобретённые.
40. Аутоиммунные болезни. Аутоантигены. Механизмы аутоиммунитета.
41. Иммунопрофилактика и иммунотерапия инфекционных болезней. Достижения и проблемы.
42. Вакцины, требования к вакцинам. Виды вакцин, характеристика. Методы приготовления. Новые подходы к созданию вакцин.
43. Поствакцинальный иммунитет. Факторы, влияющие на его развитие.
44. Пассивная иммунопрофилактика. Иммунные сыворотки и сывороточные препараты (лечебные, профилактические, диагностические).
45. Иммунокоррекция. Показания к проведению. Методы подавления и стимуляции иммунного ответа.

Перечень практических навыков:

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

Занятие № 19. ЗАЧЕТ

Перечень вопросов к зачетному занятию

1. Микробиология: определение, разделы, связь с другими науками. Задачи медицинской микробиологии, вирусологии. Достижения и проблемы микробиологии, вирусологии, иммунологии. Значение микробиологии в деятельности провизора.
2. Основные этапы развития микробиологии. Работы Л. Пастера, Р. Коха, И. И. Мечникова, их роль в становлении и развитии мировой науки. Развитие микробиологии в Республике Беларусь.
3. Мир микроорганизмов. Общие с другими организмами и специфические черты микроорганизмов. Отличия прокариотов от эукариотов. Основные формы бактерий.
4. Принципы систематики микроорганизмов. Классификация и номенклатура бактерий. Таксономические единицы. Вид и критерии вида микроорганизмов. Понятие о типовом виде.
5. Структура бактериальной клетки. Цитоплазматические структуры бактериальной клетки (цитоплазматическая мембрана, мезосомы, цитоплазма, нуклеоид, рибосомы, включения): функции, методы выявления. Кислотоустойчивость бактерий, окраска по Циллю-Нильсену.
6. Поверхностные структуры бактериальной клетки (капсула, клеточная стенка, жгутики, фимбрии): строение, функции, методы выявления. Механизм окраски по Граму. Формы бактерий с дефектом клеточной стенки, значение.
7. Питание микроорганизмов, его способы. Питательные вещества: источники органических веществ, факторы роста, микроэлементы. Механизмы проникновения питательных веществ в бактериальную клетку.
8. Особенности метаболизма у прокариотов. Ферменты бактерий. Конструктивный метаболизм.
9. Энергетический метаболизм. Дыхание микроорганизмов, его типы. Ферменты и структуры клетки, участвующие в процессе дыхания. Классификация бактерий по отношению к кислороду воздуха.
10. Рост и способы размножения бактерий. Механизм и фазы простого деления. Покоящиеся формы микроорганизмов: причины образования, значение.
11. Принципы организации, аппаратура и режим работы бактериологической, вирусологической, иммунологической лабораторий. Правила техники безопасности при работе с возбудителями 3-4 групп патогенности.
12. Микроскопический (бактериоскопический) метод исследования: определение, Цели, этапы, оценка. Типы микроскопических препаратов.
13. Методы окраски микроорганизмов. Виды микроскопов. Принципы светлой, темной, фазово-контрастной, люминесцентной, электронной микроскопии.
14. Материал для микробиологического исследования: виды, правила забора, хранения, транспортировки в лабораторию. Особенности взятия материала при подозрении на анаэробную инфекцию.
15. Культуральный (бактериологический) метод исследования: определение, цели, этапы, оценка.
16. Питательные среды: требования, классификации (по происхождению, составу, консистенции, назначению, цели использования), приготовление. Рост бактерий в жидких и на плотных питательных средах.
17. Методы выделения чистых культур аэробных, факультативно-анаэробных и облигатно-анаэробных бактерий.
18. Методы идентификации выделенной чистой культуры бактерий. Идентификация микроорганизмов без выделения чистой культуры.
19. Генетический аппарат бактерий (нуклеоид, плазмиды, транспозоны, IS-элементы): характеристика, функции, значение. Секвенирование геномов микроорганизмов. Генетическая карта. Геномика и протеомика.
20. Наследственность и изменчивость микроорганизмов. Типы изменчивости. Факторы изменчивости. Мутации. Генетические рекомбинации. Фенотипическая изменчивость. Практическое значение изменчивости микроорганизмов в диагностике, терапии и профилактике инфекционных заболеваний. Понятие о геномной инженерии и биотехнологии.
21. Принципы молекулярно-генетического анализа. Методы, основанные на изучении фрагментов ДНК (плазмидное типирование, рестриционно-эндонуклеазный анализ). Методы, основанные на гибридизации нуклеиновых кислот (молекулярная гибридизация).
22. Методы, основанные на амплификации нуклеиновых кислот (ПЦР, этапы проведения). Сферы использования молекулярно-генетических методов в микробиологии. Оценка молекулярно-генетических методов.
23. Экология микроорганизмов. Экологические понятия. Типы экологических связей микроорганизмов. Роль микроорганизмов в возникновении и развитии биосферы (концепция микробной доминанты). Распространение микроорганизмов в природе.

24. Аутохтонная микрофлора кожи, ротовой полости, дыхательных путей, желудочно-кишечного тракта, мочеполовой системы, её характеристика, значение и методы изучения.
25. Дисмикробиоз: причины, следствия, профилактика, принципы коррекции.
26. Микрофлора воздуха, воды, почвы. Санитарно-показательные микроорганизмы. Методы определения микробного числа.
27. Понятие об эпифитных и фитопатогенных микроорганизмах. Инфекционные болезни растений, вызываемые фитопатогенными микроорганизмами, их проявление.
28. Источники и причины микробного загрязнения лекарственного растительного сырья и готовых лекарственных форм. Признаки микробной порчи лекарственных средств и меры ее предупреждения.
29. Определение микробной загрязненности лекарственных средств и способы устранения их антимикробного действия.
30. Определение стерильности инъекционных растворов.
31. Влияние физических и химических факторов на микроорганизмы. Противомикробные мероприятия. Асептика. Понятие о противомикробном режиме.
32. Антисептика: определение понятия, типы, категории, способы проведения. Антисептические средства: классификация, механизм действия, побочное действие.
33. Стерилизация: определение понятия, способы проведения, оценка качества проведения. Последствия нарушения режимов стерилизации.
34. Дезинфекция: определение понятия, цели, типы, способы проведения, оценка качества проведения.
35. Учение об инфекции (инфекционном процессе): определение понятия, причины и условия возникновения. Отличия инфекционных и неинфекционных заболеваний. Периоды инфекционного заболевания. Исходы инфекционного заболевания.
36. Роль микроорганизма в инфекционном процессе. Патогенность и вирулентность: определение понятий, характеристика, генетический контроль. Острова патогенности. Внутриклеточный паразитизм микроорганизмов (кроме вирусов). Механизмы персистенции микроорганизмов.
37. Факторы патогенности (вирулентности) микроорганизмов: адгезины, инвазины, факторы подавления иммунной системы, токсины. Типы экзотоксинов и их биологические свойства.
38. Роль макроорганизма в инфекционном процессе и иммунитете. Значение наследственности и образа жизни человека.
39. Роль природных и социальных факторов внешней среды в инфекционном процессе. Способы контроля репродукции и сохранения жизнедеятельности инфекционных агентов во внешней среде.
40. Классификации инфекционных заболеваний.
41. Понятие об источнике и механизмах передачи инфекции, Зоонозы, антропонозы, сапронозы. Микробиологические методы выявления источников и факторов передачи инфекции.
42. Биологический (экспериментальный) метод исследования: определение, цели, этапы, оценка.
43. Химиотерапия и химиопрофилактика инфекционных заболеваний. Группы химиотерапевтических препаратов, свойства. Химиотерапевтический индекс.
44. Антибиотики: характеристика, классификация, механизмы действия на микробную клетку.
45. Принципы рациональной антибиотикотерапии. Побочное действие антибиотиков.
46. Естественная и приобретённая резистентность микроорганизмов к антибиотикам и химиотерапевтическим препаратам. Генетические и биохимические механизмы образования резистентных форм микроорганизмов.
47. Генотипические и фенотипические методы определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам. Мониторинг резистентности микроорганизмов к антибиотикам в клинической практике. Понятие об эмпирической терапии. Профилактическое назначение антибиотиков.
48. Иммунология: определение, задачи, методы, история развития, направления.
49. Иммунная система организма. Центральные и периферические органы иммунной системы. Имунокомпетентные клетки: классификация, функции.
50. Молекулы I, II, III классов главного комплекса гистосовместимости: строение, функции. Факторы межклеточного взаимодействия в иммунной системе (интегрины, цитоадгезины, селектины).
51. Цитокины: определение, клетки-продуценты, группы, функции. Интерлейкины, хемокины, факторы некроза опухолей: строение, функции. Колонистимулирующие факторы.
52. Иммунитет: определение, виды иммунитета. Врождённый и приобретённый иммунитет. Факторы иммунной и неиммунной природы врождённого иммунитета.
53. Система комплемента, пути активации. Биологические функции белков системы комплемента.

54. Фагоциты, классификация. Распознавание микроорганизмов. Фагоцитарная реакция: этапы, механизмы внутриклеточной бактерицидности, исходы.
55. Антигенпрезентирующие клетки. Дендритные клетки. Естественные киллеры и механизмы цитотоксичности.
56. Иммунный ответ организма: определение, условия развития. Антигены: строение, свойства, классификация, Т-зависимые и Т-независимые антигены. Суперантигены.
57. Антигены микроорганизмов. Антигенная структура бактерий. Типовые, видовые, групповые антигены. Протективные антигены, перекрёстно-реагирующие антигены, значение.
58. В-лимфоциты: развитие, маркёры, антигенспецифический В-клеточный рецептор. Методы определения количества и функциональной активности В-лимфоцитов.
59. Гуморальный иммунный ответ: определение, этапы развития. Активация, пролиферация и дифференцировка клеток. Элиминация антигена. Т-зависимый и Т-независимый ответ. Проявления первичного и вторичного гуморального иммунного ответа.
60. Антитела: определение, функции. Структуры и функции иммуноглобулинов. Классы иммуноглобулинов, их основные характеристики. Функции антител. Динамика антителообразования.
61. Механизм взаимодействия антител с антигенами: специфичность, фазы, проявления. Аффинность и авидность. Получение и применение моноклональных антител. Методы определения концентрации иммуноглобулинов. Реакция Манчини.
62. Серологический метод исследования: определение, задачи, основные понятия (диагностикум, диагностическая сыворотка, титр, диагностический титр, парные сыворотки). Материал для серологического исследования, оценка метода. Использование серологических реакций для определения неинфекционных маркеров.
63. Реакция агглютинации: ингредиенты, механизм, способы постановки, учёт, оценка, практическое применение.
64. Реакция пассивной (непрямой) и обратной пассивной гемагглютинации: ингредиенты, механизм, практическое применение. Реакция латексагглютинации. Реакция коагглютинации.
65. Реакция иммунопреципитации: ингредиенты, механизм, способы постановки, практическое применение.
66. Реакции иммунного лизиса. Реакция связывания комплемента: ингредиенты, механизм, практическое применение.
67. Реакции твёрдофазного иммунологического анализа. Реакция иммунофлюоресценции, варианты. Иммуноблоттинг. Радиоиммунный анализ. Иммунная электронная микроскопия, Практическое применение РИФ, ИФА, РИА, ИЭМ.
68. Т-лимфоциты: развитие, маркёры, субпопуляции. Т-клеточный рецептор. Методы определения количества и функциональной активности Т-лимфоцитов.
69. Клеточный иммунный ответ: определение, этапы развития, проявления. Активация, пролиферация и дифференцировка клеток. Иммунологическая память.
70. Иммунопрофилактика и иммунотерапия инфекционных заболеваний: определение понятий, достижения и проблемы. Активная иммунопрофилактика. Вакцины: требования, понятие «идеальной вакцины». Адьюванты, механизмы действия.
71. Вакцины: живые, инактивированные (корпускулярные, химические, конъюгированные, сплит, субъединичные), анатоксины, генноинженерные. Ассоциированные вакцины. Новые подходы к созданию вакцин. Побочные явления при вакцинации: поствакцинальные реакции, поствакцинальные осложнения.
72. Пассивная иммунопрофилактика и иммунотерапия инфекционных заболеваний: показания к применению, принципы проведения, осложнения. Классификации сывороток (по специфичности, способу получения, объекту действия антител, назначению).
73. Аллергология: определение, задачи. Аллергены. Аллергия: стадии развития, типы реакций.
74. Гиперчувствительность немедленного типа (ГНТ). Медиаторный тип (I) ГНТ: аллергены, механизм развития, проявления. Анафилаксия. Пассивная анафилаксия. Способы предупреждения анафилаксии.
75. Цитотоксический (II) тип ГНТ: аллергены, механизмы развития, проявления.
76. Иммунокомплексный (III) тип ГНТ: аллергены, механизмы развития, проявления.
77. Гиперчувствительность замедленного (IV) типа: аллергены, механизм развития. Инфекционная и контактная аллергия.
78. Лекарственная аллергия: основные аллергены, механизмы и типы аллергических реакций, способы диагностики и предупреждения.
79. Клиническая иммунология: определение, задачи, объекты исследования. Иммунный статус организма: принципы, уровни, методы оценки. Иммунограмма.
80. Иммунодефицитные состояния: классификация, причины развития, методы выявления, принципы коррекции.
81. Аутоиммунные болезни: определение, классификация, причины развития, механизмы повреждения тканей, проявления.
82. Иммунокоррекция: показания к проведению, методы, препараты.

Занятие № 20 (1)

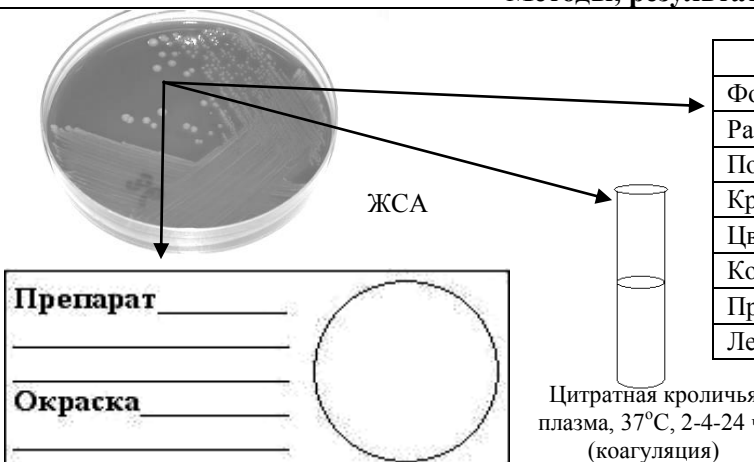
Дата _____ г.

ТЕМА: Лабораторная диагностика раневых инфекций и гнойно-воспалительных процессов, вызванных стафилококками, стрептококками

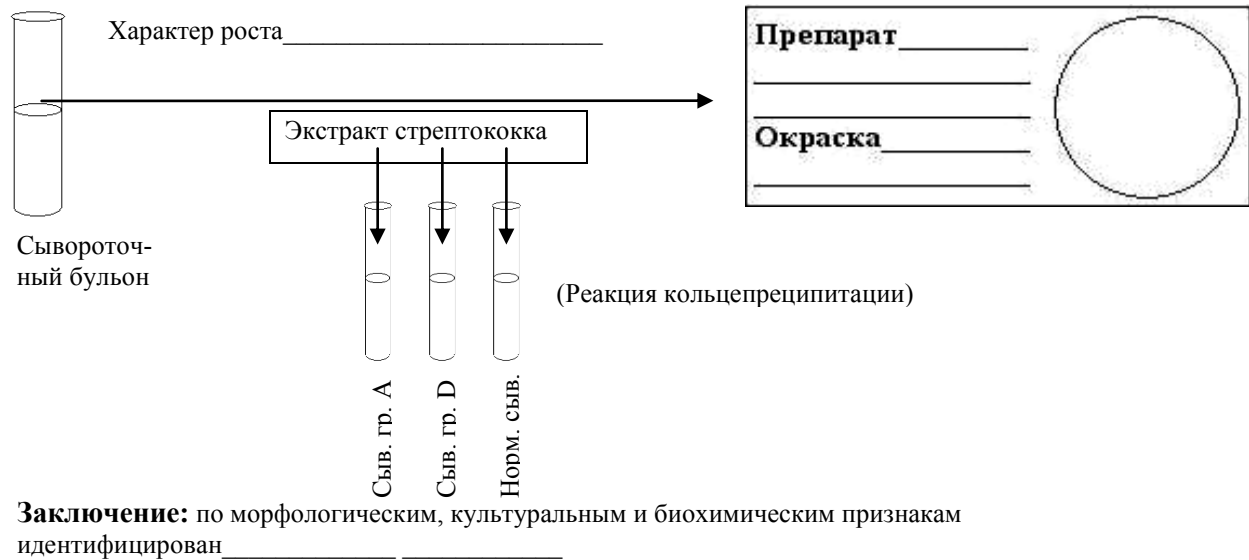
Перечень изучаемых вопросов: Стафилококки, общая характеристика. Факторы патогенности. Заболевания стафилококковой природы. Стафилококки – возбудители внутрибольничных инфекций. Методы микробиологической диагностики стафилококковых инфекций. Материал для исследования в зависимости от формы инфекции, правила и методы взятия. Схема бактериологического исследования гноя, слизи, крови. Фаготипирование стафилококков. Принципы терапии и профилактики стафилококковых инфекций.
Стрептококки, систематика, общая характеристика. Антигенная структура. Пиогенный стрептококк, пневмококк. Острые и хронические стрептококковые инфекции. Патогенез, иммунитет. Методы микробиологической диагностики. Материал для исследования, правила и методы взятия, схема бактериологического исследования. Принципы терапии и профилактики.

Источники:
1. Материал лекции.
2. [3] – (учебники),
3. [1], [4] – (практикумы),
4. [6], [10] – (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 style="width: 20%;">Признак</th> <th style="width: 80%;">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>Закключение: по морфологическим, культуральным и биохимическим признакам идентифицирован _____</p>	Признак	Колонии стафилококка	Форма		Размер		Поверхность		Край		Цвет		Консистенция		Прозрачность		Лецитиназа	
Признак	Колонии стафилококка																		
Форма																			
Размер																			
Поверхность																			
Край																			
Цвет																			
Консистенция																			
Прозрачность																			
Лецитиназа																			

2. 3-й этап микробиологической диагностики стрептококковых инфекций:
 а) описание характера роста в сывроточном бульоне;
 б) определение морфологии культуры в мазке, окраска по Граму;
 в) постановка реакции кольцепреципитации для определения серогруппы стрептококка.



Зарисовать демонстрационные препараты:

1. Стафилококк в гное, окраска по Граму.
2. Стрептококк и пневмококк в чистой культуре, окраска по Граму.
3. Пневмококк в органах белой мыши, окраска по Граму.

Демонстрация.

1. Рост стафилококков на ЖСА, кровяном агаре, бульоне.
2. Рост стрептококков на кровяном агаре и сывроточном бульоне.
3. Проба на плазмокоагулазу.
4. Анаэробная ферментация маннита.
5. Фаготипирование стафилококков.
6. Препараты для специфической профилактики и лечения стафилококковых инфекций.

Препарат _____	
Окраска _____	
Препарат _____	
Окраска _____	
Препарат _____	
Окраска _____	

Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 20

Характеристика бактерий рода <i>Staphylococcus</i>		Культуральный метод диагностики стафилококковых инфекций					
Латинские названия основных видов, вызывающих инфекции у человека		Материал для исследования			Стафилококковые инфекции		
Морфология (размеры, форма, взаиморасположение клеток)							
Образование споры							
Наличие капсулы		Среды для выделения чистой культуры					
Наличие жгутиков							
Окрашивание по Граму							
Наличие каталазы		Среда для накопления чистой культуры					
Основные факторы патогенности							
Методы диагностики стафилококковых инфекций		Идентификация стафилококков					
Название метода	Использование (+/-)	Виды	Плазмокоагулаза	Ферментация маннита в анаэробных условиях	ДНК-аза	Лецитиназа	А-протеин
Микроскопический		<i>S. aureus</i>					
Культуральный		<i>S. epidermidis</i>					
Биологический		<i>S. saprophyticus</i>					
Серологический							
Аллергический							
Молекулярно-генетический							

Занятие № 21 (2)

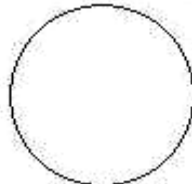
Дата _____ г.

ТЕМА: Лабораторная диагностика раневых инфекций и гнойно-воспалительных процессов, вызванных синегнойной палочкой, протейями

Перечень изучаемых вопросов: Синегнойная палочка, общая характеристика, роль в патологии человека. Протеи, провиденции и морганеллы. Классификация. Виды. Дифференцирующие признаки. Этиологическая и патогенетическая роль протей при гнойной и смешанных инфекциях, при пищевой токсикоинфекции. Роль во внутрибольничных инфекциях. Профилактика, лечение. Принципы микробиологической диагностики.

Источники:
1. Материал лекции.
2. [3] – (учебники),
3. [1], [4] – (практикумы),
4. [6], [10] – (доп. литература).

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты														
<p>Зарисовать демонстрационные препараты: 1. Синегнойная палочка, чистая культура, окраска по Граму. Демонстрация. 1. Проба на оксидазу. 2. Рост синегнойной палочки на фурагиновом агаре. Решение ситуационных задач.</p>	<p style="text-align: center;">Методы лабораторной диагностики синегнойной инфекции</p> <table border="1" data-bbox="728 614 2085 869"><thead><tr><th data-bbox="728 614 1115 654">Метод</th><th data-bbox="1115 614 2085 654">Использование метода (+/-)</th></tr></thead><tbody><tr><td data-bbox="728 654 1115 694">Микроскопический</td><td data-bbox="1115 654 2085 694"></td></tr><tr><td data-bbox="728 694 1115 734">Культуральный</td><td data-bbox="1115 694 2085 734"></td></tr><tr><td data-bbox="728 734 1115 774">Биологический</td><td data-bbox="1115 734 2085 774"></td></tr><tr><td data-bbox="728 774 1115 813">Серологический</td><td data-bbox="1115 774 2085 813"></td></tr><tr><td data-bbox="728 813 1115 853">Аллергический</td><td data-bbox="1115 813 2085 853"></td></tr><tr><td data-bbox="728 853 1115 869">Молекулярно-генетический</td><td data-bbox="1115 853 2085 869"></td></tr></tbody></table> <div data-bbox="761 933 1265 1133" style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-top: 20px;"><p>Препарат _____</p><p>_____</p><p>Окраска _____</p><p>_____</p></div>	Метод	Использование метода (+/-)	Микроскопический		Культуральный		Биологический		Серологический		Аллергический		Молекулярно-генетический	
Метод	Использование метода (+/-)														
Микроскопический															
Культуральный															
Биологический															
Серологический															
Аллергический															
Молекулярно-генетический															

Подпись преподавателя _____

Занятие № 22 (3)

Дата _____ г.

ТЕМА: Лабораторная диагностика раневых инфекций и гнойно-воспалительных процессов, вызванных бактероидами, клостридиями столбняка, газовой гангрены

<p>Перечень изучаемых вопросов: Анаэробы, классификация, общая характеристика. Неспорообразующие анаэробы возбудители гнойно-воспалительных процессов. Клостридии газовой гангрены, столбняка, общая характеристика. Факторы патогенности, экзотоксины. Патогенез заболеваний. Принципы микробиологической диагностики, терапии и профилактики.</p>	<p>Источники: 1. Материал лекции. 2. [3] – (учебники), 3. [1], [4] – (практикумы), 4. [6], [10] – (доп. литература).</p>
--	---

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты					
<p>Зарисовать демонстрационные препараты: 1. Клостридии, окраска по Граму. 2. Бактероиды, окраска по Граму. Демонстрация: 1. Рост анаэробов на питательных средах. 5. Анаэроостат. Решение ситуационных задач.</p>	<table border="1" style="width: 100%; text-align: center;"> <tr> <td style="width: 50%;"> Препарат _____ _____ _____ Окраска _____ _____ </td> <td style="width: 10%;"></td> <td style="width: 5%;"></td> <td style="width: 10%;"></td> <td style="width: 15%;"></td> </tr> </table> <p style="text-align: right;">Подпись преподавателя _____</p>	Препарат _____ _____ _____ Окраска _____ _____				
Препарат _____ _____ _____ Окраска _____ _____						

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 22

Экологическая группа облигатно-анаэробных бактерий

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

Характеристика некоторых анаэробных бактерий

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

Факторы патогенности *Clostridium perfringens*

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

Факторы патогенности бактероидов

Факторы патогенности	Биологический эффект	
Токсины	эндотоксин	общетоксическое действие
	лейкоцидин	повреждает лейкоциты
Ферменты	коллагеназа	разрушает коллагеновые волокна соединительной ткани - распространение гнойного процесса
	ДНК-аза, гепариназа	вызывают внутрисосудистые изменения из-за повышенной свертываемости крови
	фибринолизин	растворяет тромбы
	бета - лактамаза	разрушает бета-лактамы антибиотики
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	

Лабораторная диагностика и специфическая профилактика анаэробных инфекций

Метод	Газовая гангрена	Столбняк
Микроскопический		
Культуральный		
Серологический		
Биологический		
Молекулярно-генетический		
Аллергический		
Специфическая профилактика		
Специфическая терапия		

Занятие № 23 (4)

Дата _____ г.

ТЕМА: Лабораторная диагностика бактериальных респираторных и воздушно-капельных инфекций, вызванных менингококками, бордетеллами, коринебактериями

Перечень изучаемых вопросов: Менингококк. Факторы патогенности. Патогенез, иммунитет. Методы микробиологической диагностики, материал для исследования. Схема бактериологического исследования. Принципы терапии и профилактики. Коринебактерии дифтерии, общая характеристика. Факторы патогенности, механизмы действия дифтерийного токсина. Типы коринебактерий дифтерии. Патогенез, иммунитет и микробиологическая диагностика дифтерии. Принципы терапии и профилактики дифтерии. Возбудители коклюша и паракоклюша, общая характеристика, факторы патогенности. Патогенез коклюша. Методы диагностики, принципы терапии и профилактики коклюша.

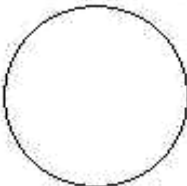
Источники:
 1. Материал лекции.
 2. [3] – (учебники),
 3. [1], [4] – (практикумы),
 4. [6], [10] – (доп. литература).

Лабораторная работа

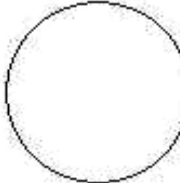
Задание	Методы, результаты														
<p>1. Бактериологическая диагностика дифтерии, 2-й этап:</p> <p>а) изучение роста колоний коринебактерий на теллуритовой среде, б) отсев колоний на пёстрый ряд (глюкоза, сахароза, крахмал).</p>	<table border="1" data-bbox="712 683 1209 965"> <thead> <tr> <th>Признак</th> <th>Колонии на сыв. 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> <tr> <td>Консистенция</td> <td></td> </tr> </tbody> </table> <div data-bbox="1243 598 2049 869"> </div>	Признак	Колонии на сыв. агаре с теллуридом калия	Форма		Размер		Поверхность		Край		Цвет		Консистенция	
Признак	Колонии на сыв. агаре с теллуридом калия														
Форма															
Размер															
Поверхность															
Край															
Цвет															
Консистенция															
<p>Зарисовать демонстрационные препараты:</p> <p>1. Коринебактерии дифтерии: а) окраска по Нейссеру; б) окраска по Леффлеру. 2. Бордетеллы коклюша, окраска по Граму. 3. Препарат из ликвора больного менингитом, окраска метиленовым синим.</p>	<div data-bbox="721 1013 1227 1216"> <p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p> </div> <div data-bbox="1326 1013 1832 1216"> <p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p> </div>														

Демонстрация.

- Проба на токсигенность коринебактерий дифтерии.
 - Препараты для специфической профилактики и лечения дифтерии и коклюша.
 - Рост бордетелл коклюша и паракоклюша на КУА, МПА с тирозином, проба на уреазу.
 - Колонии бордетелл коклюша на чашках с КУА в стереоскопическом микроскопе.
- РПГА для оценки напряжённости противодифтерийного иммунитета.

Препарат _____	

Окраска _____	

Препарат _____	

Окраска _____	

Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 23

Характеристика коринебактерий и бордетелл

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

Факторы патогенности *C. diphtheriae*

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

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

Метод	Виды материала и использование методов (+/-)	
	Дифтерия	Коклюш
Микроскопический		
Культуральный		

Факторы патогенности *B. pertussis*

Фактор патогенности	Биологический эффект
Филаментозный геммагглютинин	Связывается с гликолипидами мембран клеток мерцательного эпителия дыхательных путей, связывается с R3 - гликопротеиновым рецептором поверхности ПМЯЛ и инициирует фагоцитоз
Коклюшный токсин (токсин пертуссин)	S1 - субъединица пертуссина рибозилирует мембранный белок Gi; токсин подавляет активность фагоцитов и миграцию моноцитов. S2 - субъединица связывается с гликолипидом поверхности клеток респираторного тракта; S3 - субъединица связывается с ганглиозидами поверхности фагоцитов
Пили	Адгезия к мерцательному эпителию дыхательных путей
Пертактин	Адгезия к мерцательному эпителию дыхательных путей
Аденилатциклаза	Подавляет киллинг-активность фагоцитов и миграцию моноцитов
Дерматонекротоксин	Повреждает кожу и является летальным фактором для лабораторных животных

Серологический		
Аллергический		
Биологический		
Молекулярно-генетический		
Специфическая профилактика		
Специфическая терапия		
Определение напряженности поствакцинального иммунитета		

Трахеальный токсин	Пептидогликановый фрагмент, разрушающий реснитчатые клетки дыхательных путей; стимулирует реализацию интерлейкина-1 (лихорадка)
Эндотоксин (ЛПС)	Активирует комплемент и стимулирует выработку цитокинов

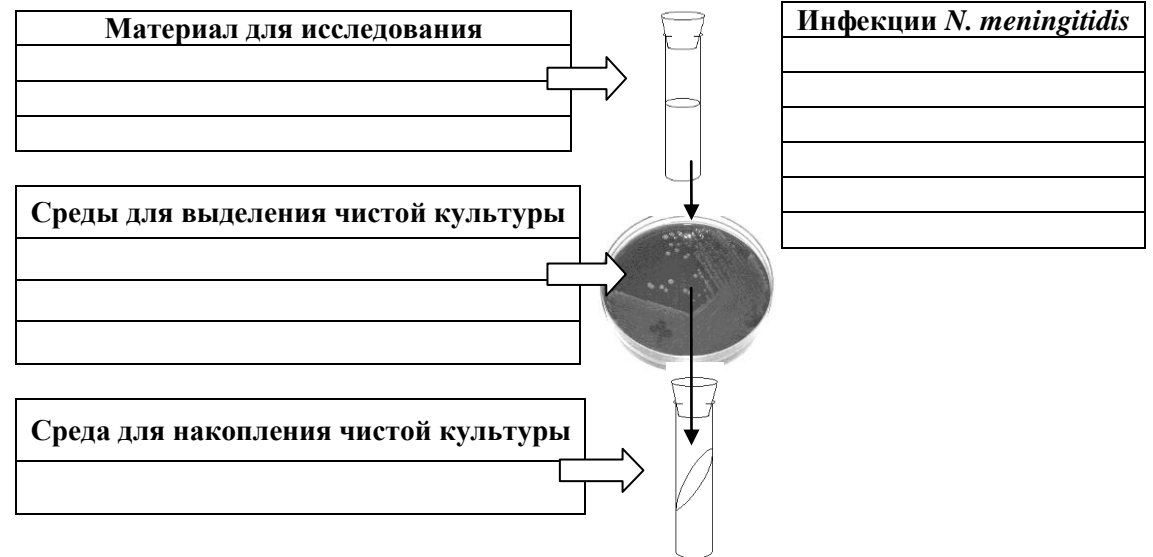
Дифференциация бордетелл

Признак	<i>B. pertussis</i>	<i>B. parapertussis</i>
Рост на МПА		
Рост на МПА с тирозином		
Рост на КУА		
Мочевина		
Антиген		

Методы диагностики инфекций, вызванных нейссериями

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

Культуральный метод диагностики менингококковых инфекций



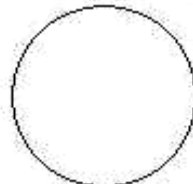
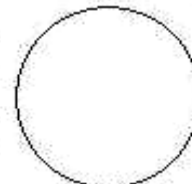
Занятие № 24 (5)

Дата _____ г.

ТЕМА: Лабораторная диагностика бактериальных респираторных и воздушно-капельных инфекций, вызванных патогенными микобактериями

<p>Перечень изучаемых вопросов: Микобактерии, классификация. Возбудители туберкулеза, общая характеристика, факторы патогенности. Патогенез, иммунитет, методы микробиологической диагностики, принципы терапии и профилактики туберкулёза.</p>	<p>Источники: 1. Материал лекции. 2. [3] – (учебники), 3. [6], [10] – (практикумы)</p>
---	--

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты																																
<p>1. Учет биохимической активности коринебактерий, пробы на токсигенность; идентификация (см. занятие 20).</p>	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;">  <table border="1" data-bbox="1232 534 2085 837"> <caption>Биохимические свойства некоторых коринебактерий</caption> <thead> <tr> <th rowspan="3">Вид коринебактерий</th> <th colspan="5">Расщепление</th> </tr> <tr> <th colspan="3">с образованием кислоты</th> <th rowspan="2">цистеина с образованием H₂S</th> <th rowspan="2">мочевины</th> </tr> <tr> <th>глюкозы</th> <th>сахарозы</th> <th>крахмала</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td><i>C. diphtheriae</i> <i>gravis</i> <i>mitis</i></td> <td>+</td> <td>-</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td><i>C. pseudodiphtheriae</i> (<i>hofmani</i>) <i>C. xerosis</i> <i>C. ulcerans</i></td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>-</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td>X-бактерия</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table> </div> <p>Токсигенность _____ Волютин _____ (микроскопия) Заключение: на основании морфологических, культуральных и биохимических свойств идентифицирован _____</p>	Вид коринебактерий	Расщепление					с образованием кислоты			цистеина с образованием H ₂ S	мочевины	глюкозы	сахарозы	крахмала	<i>C. diphtheriae</i> <i>gravis</i> <i>mitis</i>	+	-	+	+	-	<i>C. pseudodiphtheriae</i> (<i>hofmani</i>) <i>C. xerosis</i> <i>C. ulcerans</i>	-	-	-	-	+	X-бактерия					
Вид коринебактерий	Расщепление																																
	с образованием кислоты			цистеина с образованием H ₂ S	мочевины																												
	глюкозы	сахарозы	крахмала																														
<i>C. diphtheriae</i> <i>gravis</i> <i>mitis</i>	+	-	+	+	-																												
<i>C. pseudodiphtheriae</i> (<i>hofmani</i>) <i>C. xerosis</i> <i>C. ulcerans</i>	-	-	-	-	+																												
X-бактерия																																	
<p>Зарисовать демонстрационные препараты: 1. Корд-фактор микобактерий туберкулёза, окраска по Цилю-Нильсену. 2. Микобактерии туберкулёза в мокроте больного, окраска по Цилю-Нильсену.</p> <p>Демонстрация. Метод флотации. Определение лекарственной устойчивости микобактерий туберкулёза. Препараты для специфической профилактики туберкулеза.</p> <p>Решение ситуационных задач.</p>	<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div data-bbox="683 973 1187 1173"> <p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p>  </div> <div data-bbox="1232 973 1736 1173"> <p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p>  </div> </div>																																

Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 24

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

Назначение

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

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

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

Способ применения и дозировка.

Проба проводится по назначению врача детям, подросткам и взрослым специально обученной медицинской сестрой, имеющей допуск к проведению внутрикожных тестов. Препарат вводят строго внутрикожно. При постановке пробы, как правило, в коже образуется папула в виде «лимонной корочки» размером 7–10 мм в диаметре беловатого цвета.

Учет результатов.

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

Ответная реакция на пробу считается:

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

Положительные реакции на ДИАСКИНТЕСТ® условно различаются по степени выраженности:

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

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

Занятие № 25 (6)

Дата _____ г.

ТЕМА: Лабораторная диагностика бактериальных кишечных инфекций, вызванных эшерихиями, шигеллами, сальмонеллами, иерсиниями

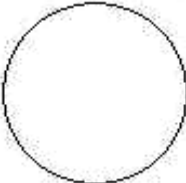
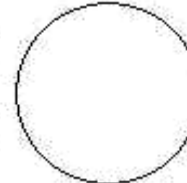
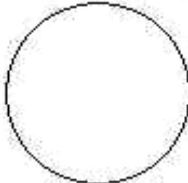
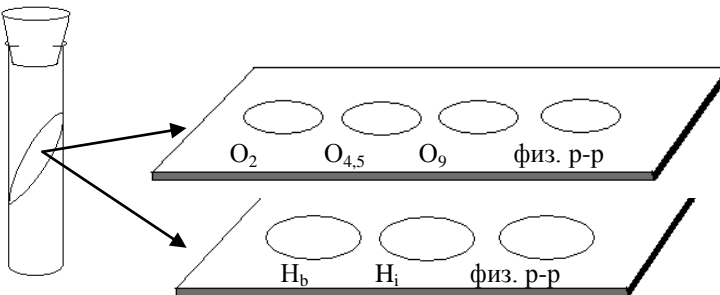
Перечень изучаемых вопросов:

Общая характеристика представителей семейства энтеробактерий.
 Эшерихии, общая характеристика, роль в норме и патологии.
 Сальмонеллы, классификация и общая характеристика. Роль в патологии, патогенез заболеваний.
 Шигеллы, классификация и общая характеристика, роль в патологии.
 Иерсинии – возбудители псевдотуберкулеза и энтероколита. Морфологические и физиологические особенности. Патогенность для человека и грызунов. Лабораторная диагностика, профилактика, лечение иерсиниозов.

Источники:

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

Лабораторная работа

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

Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 25

Роды семейства *Enterobacteriaceae*, имеющие медицинское значение

Общая характеристика *Enterobacteriaceae*

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

Характеристика *Escherichia coli*

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

Методы диагностики эшерихиозов и сальмонеллезов

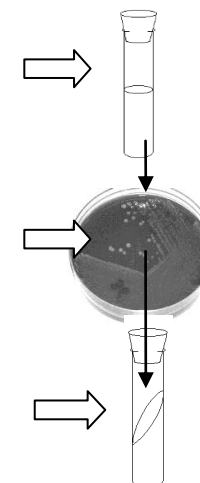
Название метода	Использование метода (+/-)	
	<i>Эшерихиозы</i>	<i>Брюшной тиф и паратифы</i>
Микроскопический		
Культуральный		
Биологический		
Серологический		
Аллергический		
Молекулярно-генетический		

Культуральный метод диагностики эшерихиозов

Материал для исследования

Среды для выделения чистой культуры

Среда для накопления чистой культуры



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

Положительные	Отрицательные

Характеристика основных видов родов *Escherichia* и *Salmonella*

Вид	Ферментация					Образование индола	Образование сероводорода	Наличие каталазы	Антигенная формула (О-, Н-, К-антигены)	
	глюкозы	лактозы	маннита	мальтозы	сахарозы					
<i>E. coli</i>										
<i>S. typhi</i>										
<i>S. paratyphi A</i>										
<i>S. schottmuelleri</i>										
<i>S. typhimurium</i>										

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

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

Классификация шигелл

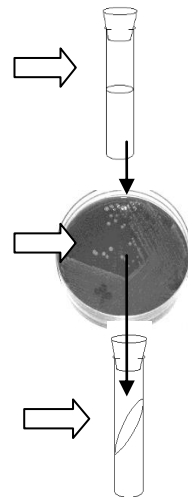
Виды шигелл	Число серовариантов

Культуральный метод диагностики шигеллезов

Материал для исследования

Среды выделения чистой культуры

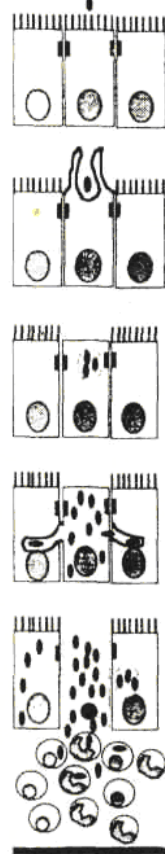
Среда накопления чистой культуры



Дифференциация шигелл

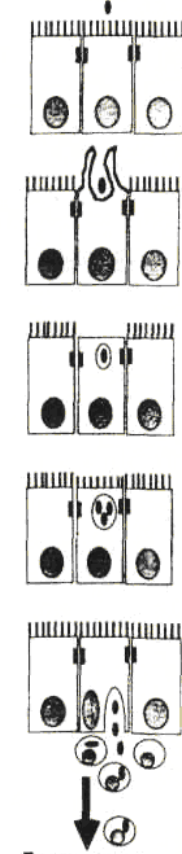
Признак	<i>S. dysenteriae</i>	<i>S. flexneri</i>	<i>S. boydii</i>	<i>S. sonnei</i>
Глюкоза с газом				
Лактоза				
Маннит				
Серогруппа				
Подвижность				
Молекулярно-генетический м-д				

ШИГЕЛЛЫ



АБСЦЕССЫ СЛИЗИСТОЙ КИШЕЧНИКА

САЛЬМОНЕЛЛЫ



Брыжеечные лимфатические узлы
КРОВОТОК

Рис. 14. Патогенез шигеллезов и сальмонеллезов.

Основные возбудители сальмонеллезов

Культуральный метод диагностики сальмонеллезов

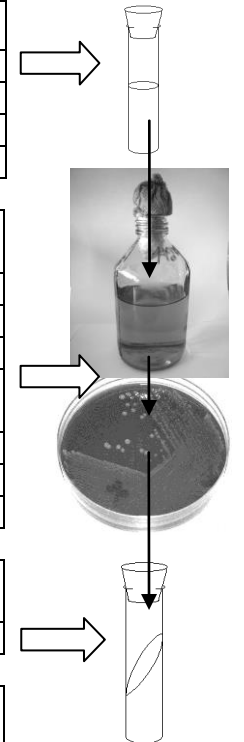
Материал для исследования

Среды для обогащения материала

Среды для выделения чистой культуры

Среды для накопления чистой культуры

Методы идентификации сальмонелл



Занятие № 26 (7)

Дата _____ г.

ТЕМА: Лабораторная диагностика бактериальных кишечных инфекций, вызванных холерными вибрионами, клостридиями ботулизма, кампилобактериями, хеликобактериями

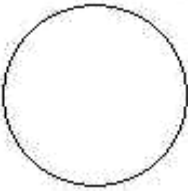
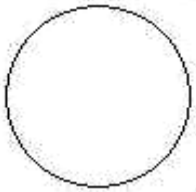
Перечень изучаемых вопросов:

Кампилобактерии, общая характеристика, роль в патологии человека. Механизмы патогенеза. Диагностика кампилобактериоза. Хеликобактер.
Холерный вибрион. Патогенез, принципы терапии и профилактики холеры. Диагностика холеры. Клостридии ботулизма, общая характеристика. Факторы патогенности, экзотоксины. Патогенез ботулизма. Принципы микробиологической диагностики, терапии и профилактики.

Источники:

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

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты	
<p>Зарисовать демонстрационные препараты:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Вибрион холеры, чистая культура, окраска по Граму. • Клостридии, окраска по Граму. <p>Демонстрация. Рост холероподобного вибриона на щелочном агаре, TCBS, пептонной воде, двухсахарном сахарозно-лактозном агаре.</p>	<p>Препарат _____</p>  <p>Окраска _____</p>	<p>Препарат _____</p>  <p>Окраска _____</p>

Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 26

Характеристика возбудителя холеры		Факторы патогенности <i>Vibrio cholerae</i>	
Признаки	<i>V. cholerae</i>	Факторы патогенности	Биологический эффект
Морфология		Экзотоксин (холероген)	нарушение водно-солевого обмена, цитотоксическое действие, вызывающее гибель эпителия тонкой кишки
Образование споры		Эндотоксин	угнетение фагоцитоза, понижение кровяного давления; инфекционно-токсические явления
Наличие капсулы		Пили	адгезия к клеткам слизистой
Наличие жгутиков		Фибринолизин, гиалуронидаза	ферменты инвазии (агрессии)
Окрашивание по Граму			
Антигены			
Культуральные свойства			
Источник инфекции			
Пути передачи			

Занятие № 27 (8)

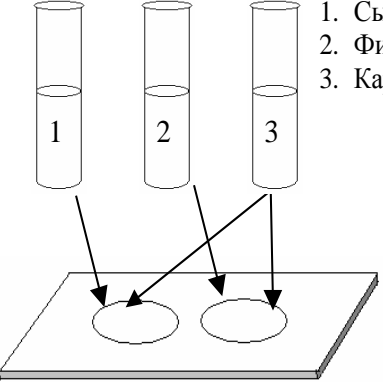
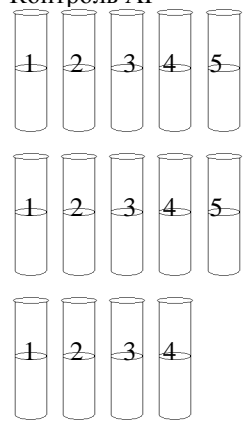
Дата _____ г.

ТЕМА: Лабораторная диагностика заболеваний, передаваемых половым путем

Перечень изучаемых вопросов: Трепонема. Систематика. Возбудитель сифилиса, общая характеристика, факторы патогенности. Патогенез сифилиса. Методы микробиологической диагностики сифилиса. Принципы терапии и профилактики сифилиса.
 Гонококк. Факторы патогенности. Патогенез, иммунитет. Методы микробиологической диагностики, материал для исследования. Схема бактериологического исследования. Принципы терапии и профилактики.
 Хламидии, систематическое положение, общая характеристика, роль в патологии человека.
 Микоплазмы, систематическое положение, общая характеристика, роль в патологии человека.

Источники:
 1. Материал лекции.
 2. [3] – (учебники),
 3. [1], [4] – (практикумы),
 4. [6], [10] – (доп. литература).

Лабораторная работа

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

Зарисовать демонстрационные препараты:

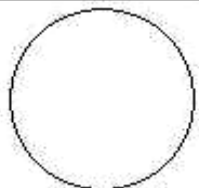
Гонококк в гное больного гонореей, окраска по Граму.

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

Хламидии, окраска по Романовскому-Гимзе..

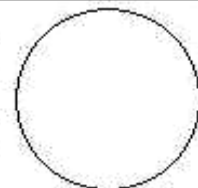
Препарат _____

Окраска _____



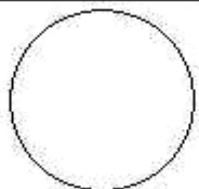
Препарат _____

Окраска _____



Препарат _____

Окраска _____



Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 27

Характеристика *N. gonorrhoeae*

Признаки	<i>N. gonorrhoeae</i>
Морфология (размеры, форма, взаиморасположение клеток)	
Образование споры	
Наличие капсулы	
Наличие жгутиков	
Окрашивание по Граму	
Оксидаза	
Факторы патогенности	

Методы диагностики инфекций, вызванных гонококком

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

Культуральный метод диагностики гонококковых инфекций

Инфекции *N. gonorrhoeae*

Материал для исследования

Среды для выделения чистой культуры

Среда для накопления чистой культуры

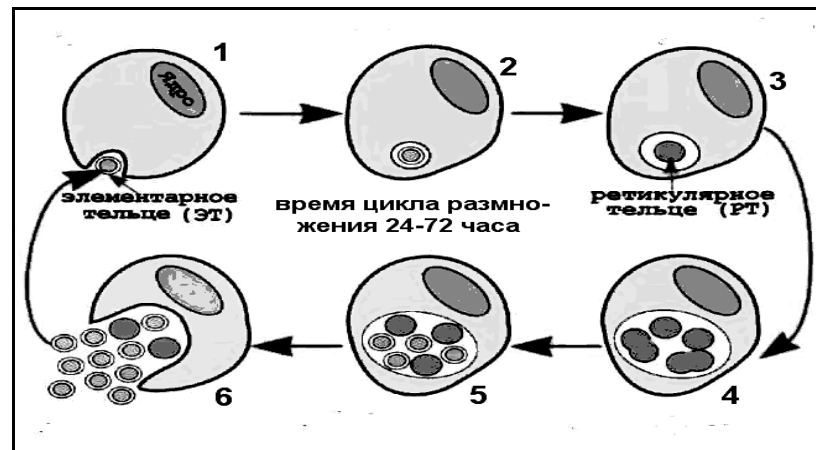
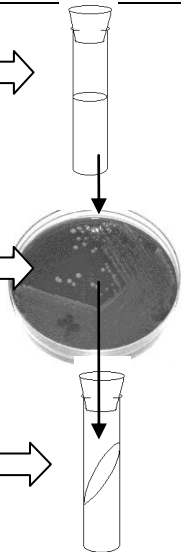


Рис. 15. Схема внутриклеточного цикла размножения хламидий

Вставьте соответствующие номера стадий цикла развития хламидий:

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

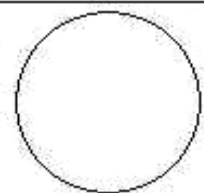
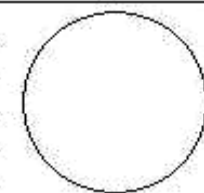
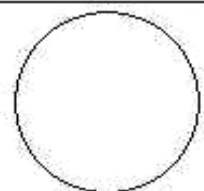
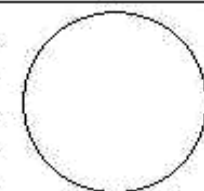
Занятие № 28 (9)

Дата _____ г.

ТЕМА: Лабораторная диагностика бактериальных зоонозных инфекций, вызванных возбудителями туляремии, бруцеллами, иерсиниями чумы, бациллами сибирской язвы, лептоспирами

<p>Перечень изучаемых вопросов: Возбудители чумы, бруцеллеза, туляремии, сибирской язвы. Патогенез, принципы терапии и профилактики заболеваний. Принципы диагностики ООИ. Лептоспиры. Роль в патологии человека. Диагностика лептоспироза.</p>	<p>Источники:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Материал лекции. 2. [3] – (учебники), 3. [1], [4] – (практикумы), 4. [6], [10] – (доп. литература).
--	--

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты	
<p>Зарисовать демонстрационные препараты:</p> <p>Палочка чумы в органах, окраска по Леффлеру.</p> <p>Возбудитель туляремии (чистая культура), окраска по Граму.</p> <p>Возбудитель бруцеллеза, окраска по Граму.</p> <p>Бациллы сибирской язвы в культуре, окраска по Граму.</p>	<p>Препарат _____</p>  <p>Окраска _____</p>	<p>Препарат _____</p>  <p>Окраска _____</p>
	<p>Препарат _____</p>  <p>Окраска _____</p>	<p>Препарат _____</p>  <p>Окраска _____</p>

Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 28

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

Факторы патогенности <i>Y. pestis</i>		Факторы патогенности бруцелл			
Факторы патогенности	Биологический эффект	Факторы патогенности	Биологический эффект		
Поверхностный гликопротеин (капсульный АГ, F1-АГ, фракция 1)	защита от поглощения фагоцитами, не токсичен, иммуноген	Эндотоксин	Системный токсический эффект		
Активатор плазминогена - протеаза	активирует лизис фибриновых сгустков, инактивирует С3в и С5а	Гиалуронидаза	Разрушает гиалуроновую кислоту		
V/W(Vi)-АГ	состоит из белка (V-фракция) и ЛП (W-фракция), проявляет антифагоцитарные свойства, способствует внутриклеточному размножению бактерий	Белки наружной мембраны	Адгезия		
Мышиный токсин	антагонист адренергических рецепторов, белковоподобное вещество, локализован внутриклеточно	Внутриклеточный паразитизм			
Бактериоцины (пестицины)	иммуногенные свойства	Факторы патогенности <i>F. tularensis</i>			
Факторы патогенности <i>Bacillus anthracis</i>		Факторы патогенности	Биологический эффект		
Факторы патогенности	Биологический эффект	Внутриклеточный паразитизм	Ингибирование лизосомальной функции фагоцитов, благодаря чему бактерии могут длительно находиться в макрофагах ретикулоэндотелиальной системы		
Белковый экзотоксин (синтез контролируется плазмидой)	Экзотоксин содержит 3 фактора: летальный фактор – цитотоксический эффект, отек легких, протективный АГ – взаимодействует с мембранами клеток, опосредует активность др. компонентов, отечный фактор – повышение концентрации цАМФ, развитие отеков.	Капсула	Защита от фагоцитоза		
Капсула	Антифагоцитарная активность	Эндотоксин	Системный токсический эффект. Менее активен, чем эндотоксин других грамотрицательных палочек (например, <i>E. coli</i>)		
Лабораторная диагностика, спец. профилактика и терапия бактериальных зоонозных инфекций					
Метод	Виды материала и использование методов (+/-)				
	Чума	Бруцеллез	Туляремия	Сибирская язва	Лептоспироз
Микроскопический					
Культуральный					
Серологический					
Аллергический					
Биологический					
Молекулярно-генетический					
Специфическая профилактика					
Специфическая терапия					


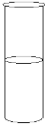





Занятие № 29 (10)

Дата _____ г.

ТЕМА: Лабораторная диагностика трансмиссивных инфекций, вызванных боррелиями, риккетсиями

<p>Перечень изучаемых вопросов: Боррелии. Роль в патологии человека. Возбудитель боррелиоза Лайма. Риккетсии, систематическое положение, общая характеристика, роль в патологии человека. Риккетсии сыпного тифа, патогенез, иммунитет и методы диагностики сыпного тифа. Возбудители других риккетсиозов.</p>	<p>Источники: 1. Материал лекции. 2. [3] – (учебники), 3. [1], [4] – (практикумы), 4. [6], [10] – (доп. литература).</p>
---	---

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты								
3. Учет РСК с целью диагностики сыпного тифа.	Реагенты	1	2	3	4	5	КС	КА	Гем. система: 4 мл 3% взвеси эритроцитов + 4 мл гем. сыворотки
	Физ. р-р	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	0,5	0,5	
	Сыворотка обследуемого 1:20	-	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	
	Комплемент	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	
	Инкубация 45 минут при 37° С								
	Гем. система	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	
	Инкубация 30 минут при 37° С								
	Учет								
	Заключение:								

<p>Демонстрация. РПГА для дифференциальной диагностики эпидемиологического и рецидивного сыпного тифа.</p> <p>Зарисовать демонстрационные препараты: 1. Боррелии в крови больного, окраска по Романовскому-Гимзе; 2. Риккетсии Провачека в чистой культуре.</p>	<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="text-align: center;">1/10</td> <td style="text-align: center;">1/20</td> <td style="text-align: center;">1/40</td> <td style="text-align: center;">1/80</td> <td style="text-align: center;">1/160</td> <td style="text-align: center;">1/320</td> <td style="text-align: center;">1/640</td> <td style="text-align: center;">КС</td> <td style="text-align: center;">КА</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;"><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> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <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> <td style="text-align: center;"><input type="checkbox"/></td> </tr> </table> <p>Заключение: _____</p> <table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 50%; border: 1px solid black; padding: 5px;"> <p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p> </td> <td style="width: 50%; border: 1px solid black; text-align: center; vertical-align: middle;"> </td> </tr> <tr> <td style="width: 50%; border: 1px solid black; padding: 5px;"> <p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p> </td> <td style="width: 50%; border: 1px solid black; text-align: center; vertical-align: middle;"> </td> </tr> </table>	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	КС	КА	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p>		<p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p>	
1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	КС	КА																								
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																								
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																								
<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 № 29

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.

Современная классификация риккетсий:

Классификация риккетсий претерпевает постоянные изменения в результате совершенствования методов идентификации и подходов к критерию вида. По результатам молекулярно-филогенетического анализа 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*.

порядок *Rickettsiales*

семейство *Rickettsiaceae*

род *Rickettsia*

26 видов (на 2015 г.)
R. prowazekii
R. typhi
R. rickettsii
R. conorii
R. sibirica
R. akarii
R. japonica
R. australis
R. honei

род *Orientia*

Вид
O. tsutsugamushi

семейство *Anaplasmataceae*

род *Ehrlichia*

Виды
E. chaffeensis
E. canis
E. ewingii

род *Anaplasma*

Вид
A. phagocytophilum

род *Neorickettsia*

Вид
N. sennetsu

род *Wolbachia*

ТЕМА: Итоговое занятие по разделу «Частная медицинская микробиология»

<ol style="list-style-type: none"> 1. Стафилококки, классификация, общая характеристика. Стафилококковые инфекции, патогенез, иммунитет. Методы диагностики стафилококковых инфекций. Принципы терапии и профилактики. 2. Стрептококки, классификация, общая характеристика, антигенная структура. Острые и хронические стрептококковые инфекции. Методы диагностики стрептококковых инфекций. Принципы терапии и профилактики. 3. Менингококки, общая характеристика. Менингококковые инфекции, патогенез, иммунитет, методы диагностики, принципы терапии и профилактики. 4. Гонококки, общая характеристика. Патогенез, иммунитет, диагностика острой и хронической гонореи, принципы терапии и профилактики. 5. Общая характеристика семейства энтеробактерий. 6. Кишечная палочка, общая характеристика. Биологическая роль кишечной палочки. Заболевания, вызываемые эшерихиями. 7. Сальмонеллы. Общая характеристика. Представители рода. Заболевания, вызываемые сальмонеллами. 8. Возбудители брюшного тифа, паратифов А и В, общая характеристика. Патогенез, иммунитет заболеваний, принципы терапии и профилактики. 9. Возбудители дизентерии, общая характеристика. Патогенез дизентерии, иммунитет. 10. Клебсиеллы, общая характеристика. Роль в патологии человека. Методы диагностики клебсиеллёзов. 11. Синегнойная палочка, общая характеристика. Роль в патологии человека. 12. Возбудитель дифтерии, общая характеристика. Патогенез дифтерии. Иммунитет при дифтерии. Диагностика дифтерии, принципы терапии и профилактики. 13. Возбудитель коклюша, общая характеристика. Дифференциация с возбудителем паракоклюша. Патогенез, иммунитет, диагностика, принципы терапии и профилактики коклюша. 14. Классификация микобактерий. Общая характеристика возбудителей туберкулёза. Патогенез, иммунитет, методы диагностики, принципы терапии и профилактики туберкулёза. 15. Возбудители холеры, общая характеристика. Патогенез, иммунитет, специфическая профилактика холеры. 	<ol style="list-style-type: none"> 16. Классификация анаэробов, общая характеристика. Клостридии. Неспорообразующие анаэробы. 17. Возбудитель столбняка, общая характеристика. Патогенез и иммунитет, принципы терапии и профилактики столбняка. 18. Возбудители газовой гангрены, общая характеристика. Патогенез, принципы терапии и профилактики газовой гангрены. 19. Возбудитель ботулизма, общая характеристика. Патогенез, принципы терапии и профилактики ботулизма. 20. Принципы диагностики анаэробных инфекций. 21. Возбудители боррелиозов и лептоспирозов. 22. Характеристика возбудителя сифилиса. Патогенез, иммунитет, принципы терапии и профилактики сифилиса. Методы диагностики сифилиса 23. Риккетсии, хламидии, микоплазмы. Общая характеристика. Роль в патологии человека. 24. Патогенные грибы. Классификация. Возбудители дерматомикозов, кандидозов, кандидозов. Условия, способствующие возникновению микозов. 25. Кандиды, общая характеристика. Роль в патологии человека. Патогенез, принципы диагностики кандидоза. <p>Практические навыки:</p> <ol style="list-style-type: none"> 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 бактероидов, чистая культура, окраска по Граму. 9. Определить морфологию кандид, чистая культура, окраска по Граму. 10. Определить морфологию коринебактерий, чистая культура, окраска по Леффлеру и Нейссеру. 11. Определить морфологию клебсиелл, чистая культура, окраска по Гинсу-Бурри. 12. Определить морфологию микобактерий туберкулёза в мокроте, окраска по Цилю-Нильсену.
---	---

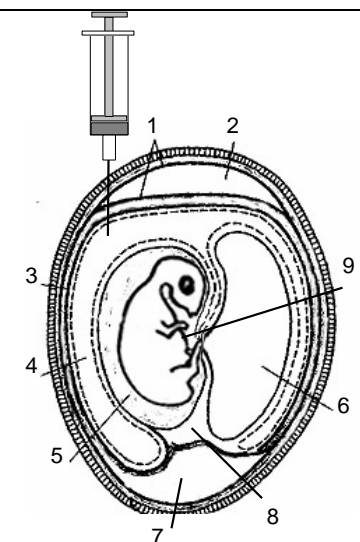

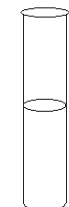

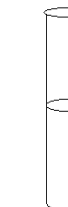


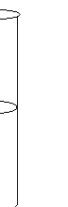


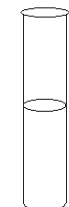

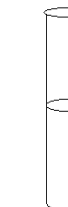


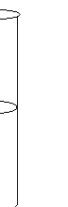

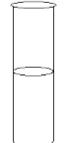
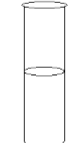

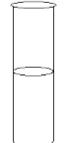
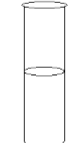


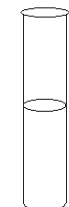

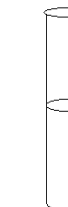


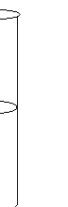

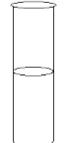
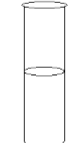

Занятие № 31 (12)

ТЕМА: Общая вирусология

Дата _____ **г.** _____

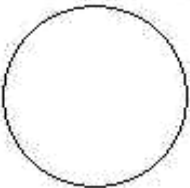
<p>Перечень изучаемых вопросов: Вирусы. Систематика и морфология вирусов. Взаимодействие вирусов с чувствительными клетками. Особенности инфекционного процесса. Строгий паразитизм и цитотропизм вирусов. Механизмы противовирусного иммунитета. Принципы профилактики вирусных инфекций. Общие принципы диагностики вирусных инфекций. Методы культивирования вирусов (см.методичку). Вирусы бактерий (бактериофаги). Свойства, практическое применение.</p>	<p>Источники:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Материал лекции. 2. [2], [3] – (учебники), 3. [1], [4] – (практикумы), 4. [6], [7] – (доп. литература).
---	--

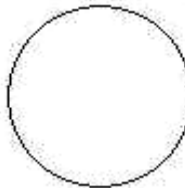
Лабораторная работа

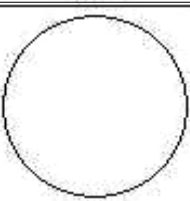
Задание	Методы, результаты																							
<p>1. Провести заражение куриного эмбриона вирусом гриппа в аллантоисную полость.</p>	<p>1. Изучить схему строения куриного эмбриона (8-11 дней)</p> <p>2. Изучить куриный эмбрион в овоскопе и установить его жизнеспособность:</p> <ol style="list-style-type: none"> а) по размеру тени эмбриона б) наличие развитого сосудистого рисунка в) активной подвижности эмбриона г) очертить границу воздушного мешка <p>3. Установить эмбрион на подставку и провести обработку скорлупы по схеме:</p> <ol style="list-style-type: none"> а) 70% спирт б) 5% спиртовой раствор йода в) 70% спирт <p>4. Произвести заражение эмбриона в следующей последовательности:</p> <ol style="list-style-type: none"> а) фламбировать бранши ножниц б) осторожно пробить скорлупу на 3-5 мм выше границы воздушного мешка в) набрать в одноразовый «инсулиновый шприц» 0,2 мл материала (живая вакцина против гриппа) г) ввести иглу шприца по канюлю (25 мм) в прокол перпендикулярно плоскости стола и выпустить материал. <p>5. Провести повторную обработку скорлупы в зоне прокола согласно пункту 3.</p> <p>6. Герметизировать эмбрион лейкопластырем, маркировать эмбрион (номер группы, инициалы исследователя).</p>	 <ol style="list-style-type: none"> 1. Подскорлупная оболочка 2. Воздушный мешок 3. Хорион-аллантоисная оболочка 4. Аллантоисная полость 5. Полость амниона 6. Желточный мешок 7. Белок 8. Экстраэмбриональная полость 9. Эмбрион 																						
<p>2. Титрование вируса по цветной пробе.</p> <p>Ингредиенты:</p> <ul style="list-style-type: none"> - культура клеток, - разведения вируса 	<table style="width: 100%; text-align: center;"> <tr> <td>10^{-1}</td> <td>10^{-2}</td> <td>10^{-3}</td> <td>10^{-4}</td> <td>10^{-5}</td> <td>10^{-6}</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>Закключение:</p>	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	КК	КВ									<p style="text-align: center;">Цветная проба</p> <table style="width: 100%;"> <tr> <td style="text-align: center;"></td> <td style="text-align: center;"></td> <td style="text-align: center;"></td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">Исходный цвет среды</td> <td style="text-align: center;">Изменение цвета в результате метаболизма клеток</td> <td style="text-align: center;">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																						

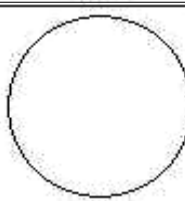
2. Зарисовать демонстрационные препараты:

1. Фибробласты кур, эозин;
2. Культура Нер2;
3. ЦПД аденовирусов
4. Реакция гемадсорбции.

Препарат _____	
Окраска _____	

Препарат _____	
Окраска _____	

Препарат _____	
Окраска _____	

Препарат _____	
Окраска _____	

Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 31

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 рН питательной среды. Это легко обнаруживают благодаря включенному в состав среды индикаторному красителю (например, феноловому красному), цвет которого меняется в зависимости от рН среды. Красный цвет при рН 7,4.-7,8 становится оранжевым при рН 7,2, а при снижении рН 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 рН среды до того же уровня, что и в незараженной контрольной культуре. Обычно цветную пробу используют при работе с энтеро- и аденовирусами.

Принципы лабораторной диагностики вирусных инфекций.

В основе лабораторной диагностики вирусных инфекций лежат 4 группы методов:

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

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

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

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

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

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

3 группа — серологическая диагностика вирусных инфекций.

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

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

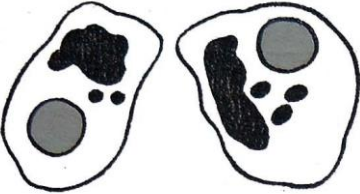
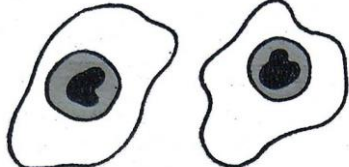
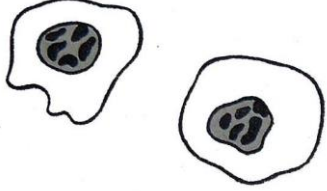
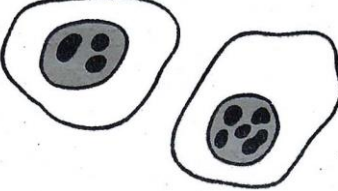
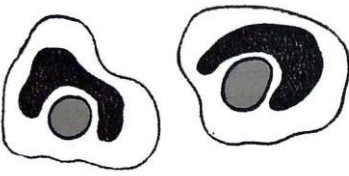
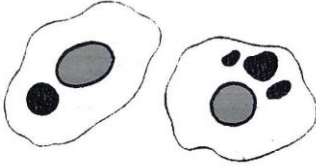
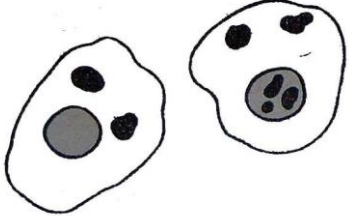
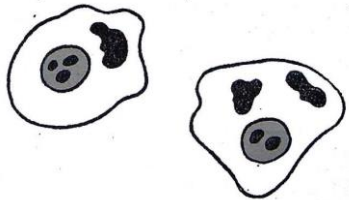
<p align="center">Метод титрования бактериофагов по Грациа.</p> <p>А. Готовят стерильные чашки с МПА для подложки (агар должен быть хорошо подсушен). Б. Готовят серийные разведения фильтрата, содержащего искомый фаг 1:10, 1:100, 1:1000 и т.д. В. 1мл каждого разведения смешивают с 0,1 мл фагочувствительной 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.</p>		<p align="center">Вирусные включения.</p> <p>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 Иванковского – скопления вируса табачной мозаики). В. Обнаруживаются в ядре и/или цитоплазме. Г. По характеру окрашивания бывают базофильными и эозинофильными. 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.</p>	
 <p align="center">Клетки, зараженные вирусом оспы (тельца Гварниери)</p>	 <p align="center">Клетки, зараженные вирусом герпеса (тельца Каудри)</p>	 <p align="center">Клетки, зараженные аденовирусом</p>	 <p align="center">Клетки, зараженные паповавирусом SV-40</p>
 <p align="center">Клетки, зараженные реовирусом</p>	 <p align="center">Клетки, зараженные вирусом бешенства (тельца Бабеша-Негри)</p>	 <p align="center">Клетки, зараженные вирусом гриппа</p>	 <p align="center">Клетки, зараженные вирусом кори</p>

Рис. 16. Внутриклеточные включения при вирусных инфекциях

Занятие №32 (13)

Дата _____ г.

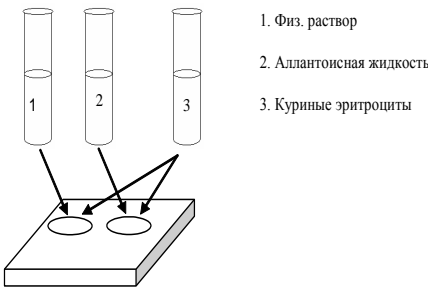
ТЕМА: Лабораторная диагностика вирусных респираторных инфекций, вызванных ортомиксовирусами, парамиксовирусами, коронавирусами

Перечень изучаемых вопросов: Ортомиксовирусы. Общая характеристика группы. Вирусы гриппа, морфология, антигенная структура и виды антигенной изменчивости. Методы диагностики гриппа. Химиотерапия и химиопрофилактика гриппа. Парамиксовирусы, общая характеристика, дифференциация с вирусами гриппа. Вирусы парагриппа, кори, эпидемического паротита, пневмовирус. Патогенез, иммунитет, специфическая профилактика парамиксовирусных инфекций. Коронавирусы. Возбудитель тяжелого острого респираторного синдрома, строение вириона, свойства. Распространение заболевания, патогенез, иммунитет, вирусологическая диагностика, профилактика.

Источники:

1. Материал лекции.
2. [2], [3] – (учебники),
3. [1], [4] – (практикумы),
4. [1], [2] – (доп. литература).

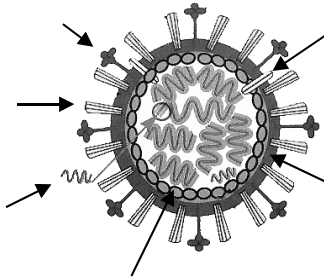
Лабораторная работа

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

<p>3. Учёт РТГА для определения типа вируса гриппа.</p> <p>Для определения типа нейраминидазы ставят реакцию торможения нейраминидазной активности.</p>	Сыв. против вируса								
		H1N1	H3N2	H5N1	КЭ	КВ	КС _{H1N1}	КС _{H3N2}	КС _{H5N1}
	Вирус, выделенный у больного Ф.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Вирус, выделенный у больного Н.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>		<input type="radio"/>				
Заключение: _____									
Подпись преподавателя _____									

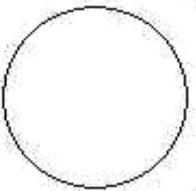
Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 32

Впишите название семейства, обозначьте цифрами соответствующие структурные элементы вирионов

<p>Структура _____ вирусов.</p>  <ol style="list-style-type: none"> 1. Гемагглютинин 2. Нейраминидаза 3. Суперкапсид 4. Матриксный белок М1 5. Белок М2 6. Рибонуклеопротеид 	<p>Структура _____ вирусов.</p>  <ol style="list-style-type: none"> 1. Гликопротеин F 2. Гликопротеин HN, H, G 3. Суперкапсид 4. Матриксный белок 5. Нуклеокапсид 6. РНК
<p>Диагностика гриппа с помощью выделения вируса на куриных эмбрионах*</p> <ol style="list-style-type: none"> 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 холоде и средний слой используют для исследования. Вирус можно концентрировать с помощью эритроцитов морской свинки. В любом случае перед заражением эмбрионов материал обрабатывают антибиотиками (по 500 ед пенициллина+стрептомицина/мл), выдерживают 1 час при комнатной температуре, проверяют на стерильность и используют для заражения. 2. Заражение эмбриона 3. Инкубация 3-4 дня при 35°C 4. Вскрытие (см. занятие №2) 5. Постановка реакции гемагглютинации для индикации вируса 6. Идентификация вируса в реакции РТГА с набором диагностических сывороток (к эталонным штаммам вирусов соответствующих серологических типов). 	<p>Серодиагностика гриппа</p> <p>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 свежевыделенных штаммов. Реакцию ставят в несколько этапов:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Подготовка сывороток (разведение и удаление ингибирующих примесей: пропусканием CO₂, обработкой каолином, нагревание и др.). 2. Подготовка вирусного препарата (определение агглютининового титра) 3. Постановка РТГА. 4. Учет

<p>Перечень изучаемых вопросов: Герпесвирусы. Общая характеристика Вирусы простого герпеса, вирус ветряной оспы, цитомегаловирус, вирус Эпштейн-Барр, герпесвирусы 6, 7 и 8 типов. Патогенетические особенности заболеваний. Лабораторная диагностика герпесвирусных инфекций. Аденовирусы. Структура вирионов. Культивирование. Лабораторная диагностика аденовирусных инфекций.</p>	<p>Источники: 1. Материал лекции. 2. [2], [3] – (учебники), 3. [1], [4] – (практикумы), 4. [6], [7] – (доп. литература).</p>
--	---

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты	
<p>Зарисовать демонстрационный препарат: ЦПД аденовирусов</p>	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; display: flex; align-items: center;"> <div style="flex: 1;"> <p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p> </div> <div style="flex: 1; text-align: center;">  </div> </div>	
<p style="text-align: center;">Вирусологическая диагностика герпетической инфекции</p> <p>А) Ранняя диагностика: морфологическое исследование материалов из очага поражения и выделение из него вируса. Материалом служат соскобы или мазки-отпечаток с элементов сыпи (герпетических везикул), в летальных случаях – кусочки пораженных органов.</p> <ul style="list-style-type: none"> • 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: <ul style="list-style-type: none"> – проводят на 12-дневных куриных эмбрионах, различных культурах клеток, мышатах-сосунках, кроликах. Кроликов заражают на скарифицированную роговицу (развивается специфический кератоконъюнктивит) или в мозг (летальный энцефалит), – идентификацию вируса, выделенного на эмбрионах, культурах клеток или животных, проводят в РИФ или РН. <p>Б) Методы ретроспективной диагностики – выявление антител классов IgM и IgG и их динамики в парных сыворотках больного. Для серологической диагностики применяют ИФА и РСК. При интерпретации следует иметь в виду возможность перекрестных реакций между различными вирусами группы герпеса.</p>	<p style="text-align: center;">Вирусологическая диагностика ветряной оспы</p> <p>А) Методы ранней диагностики: микроскопия материала из очагов поражений, обнаружение вирусного антигена либо выделение вируса в культуре клеток.</p> <ul style="list-style-type: none"> • 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 и скопления округлившись клеток. Часто обнаруживаются внутриядерные эозинофильные включения. Выделенный вирус идентифицируют в РН или РИФ. <p>Б) Методы ретроспективной диагностики: антитела обнаруживают в реакции ИФА, РН или РСК в парных сыворотках.</p>	

Подпись преподавателя _____

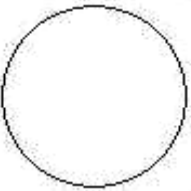
Занятие № 34 (15)

Дата _____ г.

ТЕМА: Лабораторная диагностика кишечных, трансмиссивных и контактных вирусных инфекций, вызванных пикорнавирусами, реовирусами, калицивирусами, флавивирусами, рабдовирусами

<p>Перечень изучаемых вопросов: Пикорнавирусы. Общая характеристика, роль в патологии человека. Энтеровирусы. Общая характеристика, роль в патологии. Вирусы полиомиелита, коксаки и ЭКХО. Патогенез, иммунитет и специфическая профилактика полиомиелита. Вирус гепатита А. Патогенез гепатита А. Специфическая профилактика. Лабораторная диагностика заболеваний, вызываемых пикорнавирусами. Реовирусы. Характеристика и классификация. Роль в патологии человека. Вирус гепатита Е. Характеристика. Пути передачи. Лабораторная диагностика, профилактика, лечение. Флавивирусы. Характеристика и классификация. Вирус клещевого энцефалита, желтой лихорадки, лихорадки Денге. Вирус гепатита С, свойства, пути передачи, методы диагностики. Вирус бешенства, общая характеристика. Патогенез, иммунитет, вирусологическая диагностика и специфическая профилактика бешенства.</p>	<p>Источники: 1. Материал лекции. 2. [2], [3] – (учебники), 3. [1], [4] – (практикумы), 4. [6], [7] – (доп. литература).</p>
---	---

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты																								
<p>Зарисовать демонстрационный препарат: Тельца Бабеша-Негри в гомогенате мозга мыши, окраска по Муромцеву</p>	<p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p> 																								
<p>Учет ИФА для диагностики вирусного гепатита С.</p> <table border="1" data-bbox="152 962 506 1238"> <thead> <tr> <th></th> <th></th> <th>1</th> <th>2</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>CORE</td> <td>A</td> <td rowspan="5">Отрицат. контроль</td> <td rowspan="5">Сыворотка №1</td> </tr> <tr> <td>NS₃</td> <td>B</td> </tr> <tr> <td>NS₄</td> <td>C</td> </tr> <tr> <td>NS₅</td> <td>D</td> </tr> <tr> <td>CORE</td> <td>E</td> </tr> <tr> <td>NS₃</td> <td>F</td> <td rowspan="3">Положит. контроль</td> <td rowspan="5">Сыворотка №2</td> </tr> <tr> <td>NS₄</td> <td>G</td> </tr> <tr> <td>NS₅</td> <td>H</td> </tr> </tbody> </table>			1	2	CORE	A	Отрицат. контроль	Сыворотка №1	NS ₃	B	NS ₄	C	NS ₅	D	CORE	E	NS ₃	F	Положит. контроль	Сыворотка №2	NS ₄	G	NS ₅	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 (анти-Ig+фермент) и последующей ферментативной реакции с образованием окрашенного продукта. Антигены ВГС сорбированы в лунках стрипов следующим образом: в рядах А, Е – core в рядах В, F – NS3 в рядах С, G - NS4 в рядах D, H - NS5</p>
		1	2																						
CORE	A	Отрицат. контроль	Сыворотка №1																						
NS ₃	B																								
NS ₄	C																								
NS ₅	D																								
CORE	E																								
NS ₃	F	Положит. контроль	Сыворотка №2																						
NS ₄	G																								
NS ₅	H																								

Протокол учета ИФА для диагностики вирусного гепатита С

Антигены	Ряд	ОП контролей	ОП образцов	КП	Результат
CORE	A				
NS3	B				
NS4	C				
NS5	D				
CORE	E				
NS3	F				
NS4	G				
NS5	H				

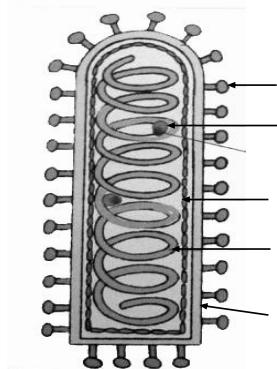
<p>1. Оценка верности постановки: Среднее значение ОП отрицательного контроля < 0,2 Среднее ОП К⁻ = Среднее значение ОП положительного контроля > 0,8 Среднее ОП К⁺ =</p> <p>2. Расчет ОП критической для каждого антигена: ОПкрит (core-Ag) = ОП К⁻ (core) + 0,2 = ОПкрит (NS₃-Ag) = ОП К⁻ (NS₃) + 0,2 = ОПкрит (NS₄-Ag) = ОП К⁻ (NS₄) + 0,2 = ОПкрит (NS₅-Ag) = ОП К⁻ (NS₅) + 0,2 =</p>	<p>3. Расчет коэффициента позитивности для каждого антигена: КП(core-Ag) = ОП иссл. сыв (core) / ОПкрит (core-Ag) = КП(NS₃-Ag) = ОП иссл. сыв (NS₃) / ОПкрит (NS₃-Ag) = КП(NS₄-Ag) = ОП иссл. сыв. (NS₄) / ОПкрит (NS₄-Ag) = КП(NS₅-Ag) = ОП иссл. сыв. (NS₅) / ОПкрит (NS₅-Ag) =</p> <p>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.</p>
---	---

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

	1/10 1/20 1/40 1/80 1/160 КС1 КВ КК
1 сыворотка (при поступлении)	
2 сыворотка (2 неделя болезни)	
Заключение: титр первой сыворотки равен _____ титр второй сыворотки равен _____	
Подпись преподавателя _____	

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 34

Структура _____ вирусов.



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

Диагностика бешенства

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

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

а) препараты мозга окрашиваются по Муромцеву (Селлеру, 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.

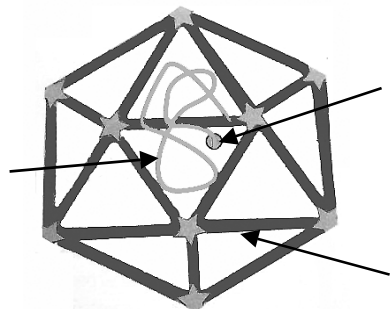
Выявление телец Бабеша-Негри (размеры и частота) зависит от продолжительности инфекционного процесса (инкубационного периода). При типичном течении бешенства (буйная форма) максимальное количество телец обнаруживается в клетках Аммонова рога. При паралитической форме – в продолговатом и спинном мозге. 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.

Впишите название вируса, обозначьте цифрами соответствующие структурные элементы вирионов

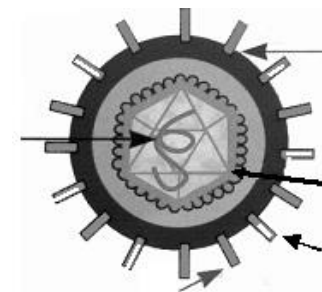
Структура вируса _____.



1. Капсид
2. РНК
3. Кэппирующий белок VPg

Структура вируса _____.

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



Клинико-эпидемиологическое значение маркеров вирусов гепатитов А и Е

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
Суммарные антитела к вирусу гепатита Е (abHEV)	Маркер инфицирования вирусом гепатита Е в настоящем или в прошлом. Маркер заболевания

Занятие № 35 (16)

Дата _____ г.

ТЕМА: Лабораторная диагностика вирусных инфекций, вызванных гепаднавирусами, тогавирусами

Перечень изучаемых вопросов: Вирусы гепатитов В, D, F, G, систематическое положение, общая характеристика. Пути заражения. Патогенез, иммунитет, методы диагностики гепатита В. Профилактика вирусных гепатитов. Тогавирусы. Характеристика и классификация. Род рубивирусов. Вирус краснухи. Характеристика. Последствия заболевания у беременных женщин. Лабораторная диагностика. Специфическая профилактика и лечение.

Источники:

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

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
Самостоятельное решение ситуационных задач.	<p>Ответы.</p> <p>Задача №1. _____</p> <p>Задача №2. _____</p> <p>Задача №3. _____</p> <p>Задача №4. _____</p> <p>Задача №5. _____</p> <p style="text-align: right;">Подпись преподавателя _____</p>

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 35

Впишите название вируса, обозначьте цифрами соответствующие структурные элементы вирионов

Структура вируса	Структура вируса
	
HBs-антиген Суперкапсид Капсид Полимераза ДНК	Суперкапсид HBs-антиген Дельта-антиген (бусинки на РНК) РНК

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)	$1,0 \times 10^9$	20
Иммунокомб (вариант ИФА)		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 В, С, D

Маркер, обозначение	Клинико-эпидемиологическое значение
Поверхностный антиген (s) вируса гепатита В (HbsAg)	Маркер вирусного гепатита В (острого или хронического), требует дополнительных исследований на abHBc-суммарные, abHBc-IgM). Один из критериев безопасности переливаемой крови или её препаратов. Контроль в группах риска. Выяснение распространенности вируса гепатита В при эпидемиологических исследованиях

Маркер, обозначение	Клинико-эпидемиологическое значение
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 (abHcс-IgM)	Маркер острого вирусного гепатита С, но может определяться и при реактивации хронического
РНК вируса гепатита С (RNA-HCV)	Маркер наличия вируса в крови после 10 дня заболевания
Антитела к вирусу гепатита D (суммарные) (abHD)	Маркер инфицирования вирусом гепатита D. Не позволяет судить о стадии болезни
Антитела к вирусу гепатита D класса М (abHD-IgM)	Маркер острого вирусного гепатита D
РНК вируса гепатита D (RNA-HDV)	Маркер наличия вируса в крови

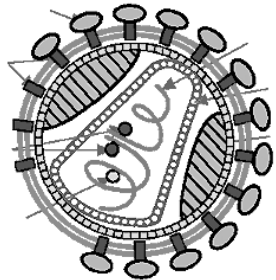
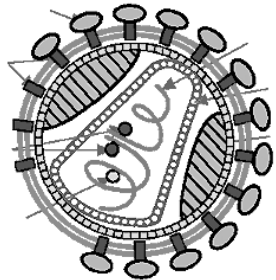
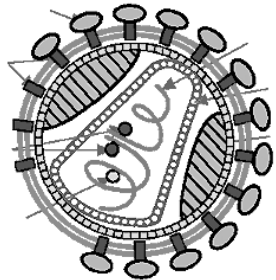
Занятие № 36 (17)

Дата _____ г.

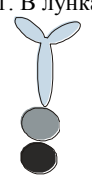
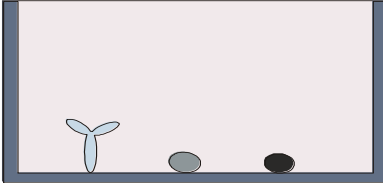

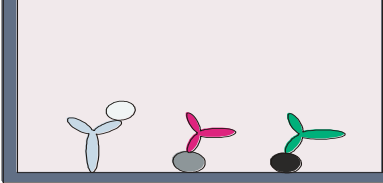
ТЕМА: Лабораторная диагностика вирусных инфекций, вызванных ретровирусами. Прионы и прионовые заболевания

<p>Перечень изучаемых вопросов: Ретровирусы. Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ), характеристика Патогенез, методы димагностики ВИЧ-инфекции. СПИД-ассоциированные заболевания. Профилактика инфицирования. Прионы. История открытия. Свойства, патогенез, клинические проявления и диагностика прионовых инфекций (болезнь Крейтцфельда-Якоба, синдром Герстманна-Штреусслера-Шейнкера, фатальная семейная инсомния, болезнь Куру, трансмиссивная спонгиозформная энцефалопатия коров).</p>	<p>Источники: 1. Материал лекции. 2. [2], [3] – (учебники), 3. [1], [4] – (практикумы), 4. [6], [7] – (доп. литература).</p>
---	---

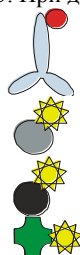
Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты		
<p>Решение ситуационных задач.</p>	<table border="1"> <tr> <td data-bbox="562 549 851 873"> <p>Структура</p>  </td> <td data-bbox="851 549 1422 873"> <p>вирусов.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Капсид (p24) 2. Нуклеокапсид (p6, 9) 3. Матриксный белок (p17) 4. Обратная транскриптаза (p55, 63) 5. Интеграза (p11) 6. gp120 7. gp41 </td> </tr> </table>	<p>Структура</p> 	<p>вирусов.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Капсид (p24) 2. Нуклеокапсид (p6, 9) 3. Матриксный белок (p17) 4. Обратная транскриптаза (p55, 63) 5. Интеграза (p11) 6. gp120 7. gp41
<p>Структура</p> 	<p>вирусов.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Капсид (p24) 2. Нуклеокапсид (p6, 9) 3. Матриксный белок (p17) 4. Обратная транскриптаза (p55, 63) 5. Интеграза (p11) 6. gp120 7. gp41 		

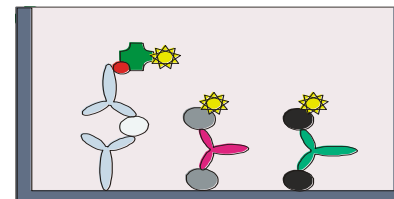
Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 36

<p>ИФА для скрининга ВИЧ-инфекции</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>Схема постановки ИФА для скрининга ВИЧ-инфекции</p> <p>1. В лунках 96-луночного планшета для серологических реакций сорбированы:</p>  <ul style="list-style-type: none"> моноклональные антитела к p24, рекомбинантные эпитопы gp41, рекомбинантные эпитопы gp120 	
<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.</p>	<p>2. При добавлении сыворотки пациента происходит связывание p24 и антител против гликопротеинов ВИЧ на сорбированных лигандах</p>  <ul style="list-style-type: none"> p24 антитела против гликопротеинов ВИЧ 	

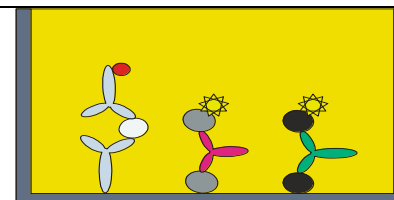
3. При добавлении конъюгатов:



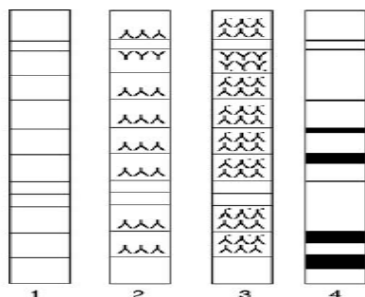
происходит фиксация их на иммунных комплексах, пропорциональная количеству выявляемых антител и антигена.



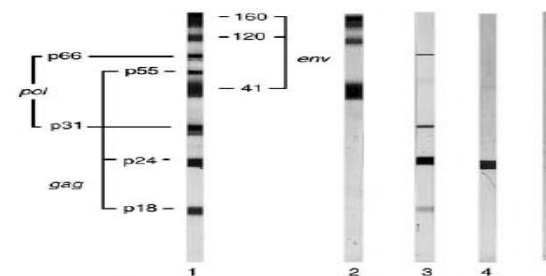
4. При добавлении субстрата происходит дозозависимая ферментация с образованием окрашенного продукта.



Диагностика ВИЧ-инфекции методом иммуноблоттинга



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.



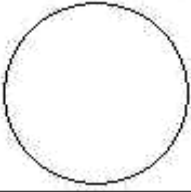
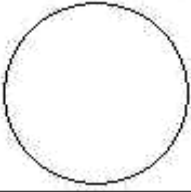
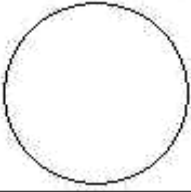
1. Положительный результат у инфицированного ВИЧ-1
2. Результат здорового, вакцинированного белками внешней оболочки ВИЧ-1
3. Сомнительный результат у инфицированного ВИЧ-2
4. Сомнительный результат при наличии в сыворотке антител, перекрестно реагирующих с p24 антигеном
5. Отрицательный результат

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

1. Вирусология, задачи, методы. Систематическое положение и классификация вирусов.
2. Формы существования вирусов. Морфология вирионов. Взаимодействие вирусов с восприимчивой клеткой.
3. Особенности инфекции и иммунитета при вирусных заболеваниях.
4. Методы культивирования вирусов (на культурах клеток, на куриных эмбрионах, на лабораторных животных).
5. Общие принципы диагностики вирусных инфекций.
6. Вирусы гриппа, характеристика. Патогенез, диагностика, принципы терапии и профилактики гриппа и его осложнений.
7. Парамиксовирусы, характеристика. Вирусы кори, эпидемического паротита, парагриппа, пневмовирус.
8. Коронавирусы. Возбудитель тяжелого острого респираторного синдрома, строение вириона, свойства. Распространение заболевания, патогенез, иммунитет, вирусологическая диагностика, профилактика.
9. Вирусы герпеса, характеристика, заболевания.
10. Аденовирусы, характеристика, патогенез, диагностика.
11. Энтеровирусы, характеристика, роль в патологии человека. Вирус полиомиелита, патогенез, специфическая профилактика.
12. Вирус гепатита А. Патогенез гепатита А. Специфическая профилактика. Лабораторная диагностика.
13. Реовирусы. Характеристика и классификация. Роль в патологии человека.
14. Вирус гепатита Е. Характеристика. Пути передачи. Лабораторная диагностика, профилактика, лечение.
15. Флавивирусы. Характеристика и классификация. Вирус клещевого энцефалита, желтой лихорадки, лихорадки Денге.
16. Вирус гепатита С, свойства, пути передачи, методы диагностики.
17. Вирус бешенства, общая характеристика. Патогенез, иммунитет, вирусологическая диагностика и специфическая профилактика бешенства.
18. Вирусы гепатитов В, D, F, G, систематическое положение, общая характеристика. Пути заражения. Патогенез, иммунитет, методы диагностики гепатита В. Профилактика вирусных гепатитов.
19. Тогавирусы. Характеристика и классификация. Вирус краснухи. Характеристика. Лабораторная диагностика. Специфическая профилактика.
20. Ретровирусы. Вирусы иммунодефицита человека (ВИЧ – 1, ВИЧ – 2), характеристика. СПИД – ассоциированные заболевания. Диагностика и профилактика инфицирования.
21. Прионы. Свойства, патогенез, клинические проявления и диагностика прионовых инфекций.
22. Бактериофаги, строение, характеристика. Практическое использование.

<p>Перечень изучаемых вопросов: Морфология и классификация грибов. Микозы, классификация. Кандиды, общая характеристика. Роль в патологии человека. Методы микробиологической диагностики.</p>	<p>Источники: 1. Материал лекции. 2. [3] – (учебники), 3. [1], [4] – (практикумы), 4. [6], [10] – (доп. литература).</p>
---	---

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты		
<p>1. Демонстрация: а) чистая культура кандид, окраска по Граму; б) рост кандид на среде Сабуро.</p>	<table border="1" style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 50%; padding: 5px;"> <p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p> </td> <td style="width: 50%; text-align: center; vertical-align: middle;">  </td> </tr> </table>	<p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p>	
<p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p>			

Подпись преподавателя _____

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 несколько 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.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. *Микробиология* : учеб. для студ. высш. проф. образования, обучающихся по специальности 060301.65 «Фармация» / под ред. В. В. Зверева, М. Н. Бойченко. Москва : ГОЭТАР-Медиа, 2012. 608 с.

Дополнительная

2. *Аллергия*. Медиаторный тип ГНТ. Методы диагностики : учеб.-метод. пособие / Д. А. Черношей [и др.]. Минск : БГМУ, 2009. 31 с.
3. *Атлас* по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии / А. А. Воробьев [и др.]; под ред. А. А. Воробьева, А. С. Быкова. Москва : МИА, 2003. 236 с.
4. *Борисов, Л. Б.* Руководство к лабораторным занятиям по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии / Л. Б. Борисов. Москва, 1993. 240 с.
5. *Букринская, А. Г.* Вирусология : учеб. пособие для мед. ин-тов / А. Г. Букринская. Москва : Медицина, 1986. 336 с.
6. *Основы* медицинской вирусологии : учеб.-метод. пособие / Н. Ф. Казак [и др.]. Минск : БГМУ, 2019. 164 с.
7. *Горбунов, В. А.* Микробиологические основы противомикробных мероприятий : учеб.-метод. пособие / В. А. Горбунов, Е. И. Гудкова. Минск : БГМУ, 2006. 40 с.
8. *Канашкова, Т. А.* Специфическая иммунопрофилактика и иммунотерапия инфекционных заболеваний : учеб.-метод. пособие / Т. А. Канашкова [и др.]. Минск : БГМУ. 2009. 84 с.
9. *Красильников, А. П.* Микробиологический словарь-справочник / А. П. Красильников, Т. Р. Романовская. 2 изд., доп. и перераб. Минск : Асар, 1999. 400 с.
10. *Методы* исследования в микробиологии : учеб.-метод. пособие / Ж. Г. Шабан [и др.]. Минск : БГМУ, 2010. 124 с.
11. *Новиков, Д. К.* Медицинская иммунология : учеб. пособие. Минск : Выш. шк., 2005. 301 с.
12. *Общая* медицинская микробиология : учеб.-метод. пособие / Ж. Г. Шабан [и др.]. Минск : БГМУ, 2011. 320 с.
13. *Основы* клинической микробиологии и иммунологии : учеб.-метод. пособие. В 2 ч. / под ред. А. П. Красильникова. Минск : МГМИ, 1989. Ч. I. 61 с.
14. *Павлович, С. А.* Медицинская микробиология : практикум / С. А. Павлович, К. Д. Пяткин. Минск : Выш. шк., 1993. 200 с.
15. *Ройт, А.* Иммунология / А. Ройт, Дж. Бростофф, Д. Мейл ; пер. с англ. Москва : Мир, 2000. 592 с.
16. *Слизень, В. В.* Молекулярная биология бактерий : учеб.-метод. пособие / В. В. Слизень, Л. П. Титов. Минск : БГМУ, 2007. 48 с.
17. *Титов, Л. П.* Иммунология : терминологический словарь / Л. П. Титов. 2-е изд. Минск : БГМУ, 2004. 213 с.
18. *Черношей, Д. А.* Методы иммуноанализа, основанные на применении меченых компонентов : учеб.-метод. пособие / Д. А. Черношей, Т. А. Канашкова. Минск : БГМУ, 2007. 28 с.

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

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

Приложение 2.

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

Семейство вирусов	Тип нуклеиновой кислоты	Наличие суперкапсида	Размер вириона, нм	Типовые представители
ДНК-ГЕНОМНЫЕ ВИРУСЫ				
<i>Adenoviridae</i>	линейная, двунигчатая	-	70-90	Аденовирусы млекопитающих и птиц
<i>Herpesviridae</i>	линейная, двунигчатая	+	220	Вирусы простого герпеса, цитомегалии, ветряной оспы, инфекционного мононуклеоза
<i>Hepadnaviridae</i>	двунигчатая, кольцевая с однонигчатым участком	+	45-50	Вирус гепатита В
<i>Papovaviridae</i>	двунигчатая, кольцевая	-	45-55	Вирусы папилломы, полиомы
<i>Poxviridae</i>	двунигчатая с замкнутыми концами	+	130-250	Вирус осповакцины, вирус натуральной оспы
<i>Parvoviridae</i>	линейная, однонигчатая	-	18-26	Аденоассоциированный вирус
РНК-ГЕНОМНЫЕ ВИРУСЫ				
<i>Arenaviridae</i>	фрагментированная, однонигчатая	+	50-300	Вирусы Ласса, Мачупо
<i>Bunyaviridae</i>	фрагментированная, однонигчатая, кольцевая	+	90-100	Вирусы геморрагических лихорадок и энцефалитов
<i>Caliciviridae</i>	однонигчатая	-	20-30	Вирус гепатита Е, калицивирусы человека
<i>Coronaviridae</i>	однонигчатая +РНК	+	80-130	Коронавирусы человека
<i>Orthomyxoviridae</i>	однонигчатая, фрагментированная -РНК	+	80-120	Вирусы гриппа
<i>Paramyxoviridae</i>	однонигчатая, линейная -РНК	+	150-300	Вирусы парагриппа, кори, эпидпаротита, РС-вирус
<i>Picornaviridae</i>	однонигчатая +РНК	-	20-30	Вирусы полиомиелита, Коксаки, ЭКХО, гепатита А, Риновирусы
<i>Reoviridae</i>	двунигчатая РНК	-	60-80	Реовирусы, ротавирусы
<i>Retroviridae</i>	однонигчатая РНК	+	80-100	Вирусы рака, лейкоза, саркомы, ВИЧ
<i>Togaviridae</i>	однонигчатая +РНК	+	30-90	Вирусы Синдбис, лошадиных энцефалитов, краснухи
<i>Flaviviridae</i>	однонигчатая +РНК	+	30-90	Вирусы клещевого энцефалита, жёлтой лихорадки, Денге, японского энцефалита, гепатита С, G
<i>Rhabdoviridae</i>	однонигчатая -РНК	+	30-90	Вирус бешенства, вирус везикулярного стоматита
<i>Filoviridae</i>	однонигчатая +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, однонигчатая -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>Uukuvirus</i>) (<i>Hantavirus</i>)	фрагментированная, однонигчатая, кольцевая, -РНК	+	сферическая, 90-100	227 124 34 21 6 6	Вирусы геморрагических лихорадок и энцефалитов (калифорнийский энцефалит, лихорадка Буньявера, Конго-крымская геморрагическая лихорадка, москитная лихорадка, лихорадка Укумбини, геморрагическая лихорадка с почечным синдромом)
<i>Togaviridae</i> (<i>Alfavirus</i>)	однонигчатая +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>)	однонигчатая +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>Vesiculivirus</i>)	однонигчатая -РНК, нефрагментированная	+	пулевидная, 130-380, 50-95	60 2 10	Вирус бешенства, вирус везикулярного стоматита (бешенство, везикулярный стоматит)
<i>Reoviridae</i> (<i>Orbivirus</i>)	двунигчатая +РНК, фрагментированная	-	сферическая, 60-80	60	Вирус колорадской клещевой лихорадки
<i>Filoviridae</i>	однонигчатая +РНК, нефрагментированная	+	плеоморфная, нитевидная, 200-4000	2	Вирусы лихорадки Эбола, Марбург

Приложение 3.

КЛАССИФИКАЦИЯ ГРИБОВ

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

Тип	Класс	Порядок	Основные роды	Болезни людей
Zygomycota	Zygomycetes	<i>Mucorales</i>	<i>Mucor, Rhizopus, Rhizomucor, Absidia, Cunninghamella, Saksenaea</i>	зигомикоз
		<i>Entomophthorales</i>	<i>Basidiobolus, Conidiobolus</i>	
Ascomycota	Ascomycetes	<i>Saccharomycetales</i>	Дрожжи: <i>Saccharomyces, Pichia</i> (телеоморфы <i>Candida spp.</i>)	многочисленные микозы
		<i>Onygenalis</i>	<i>Arthroderma</i> (телеоморфы <i>Trichophyton u Microsporum</i>)	дерматомикозы
		<i>Eurotiales</i>	Телеоморфы некоторых <i>Aspergillus u Penicillium spp.</i>	аспергиллез, пенициллез, гиалогифомикоз
		<i>Microascales</i>	<i>Pseudallescheria boydii</i> (телеморфа <i>Scedosporum apiospermum</i>)	мицетома, гиалогифомикоз
		<i>Pyrenomycetes</i>	<i>Nectria, Gibberelia</i> (телеморфы многих <i>Fusarium spp.</i>)	кератоз, гиалогифомикоз
	<i>Archiascomycetes</i>	<i>Pneumocystidales</i>	<i>Pneumocystis carinii</i>	пневмония
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>Dematiaceae</i>	<i>Philaphora, Fonsecaea, Exophiala, Wangiella, Cladophialophora, Bipolaris, Exserohilum, Alternaria</i>	хромобластмикоз, мицетома, феогифомикоз
		<i>Sphaeropsidales</i>	<i>Phoma</i>	феогифомикоз
<p>Не имеют медицинского значения:</p> <p>1) Хитридиомикеты (тип – <i>Chytridiomycota</i>) – водные сапрфитные грибы или грибы, поражающие водоросли.</p> <p>2) Оомицеты - организмы, родственные водорослям, паразиты высших растений (оомицеты отличаются от грибов по 6 биологическим признакам – теперь их относят к царству <i>Stramenopila</i>, типу <i>Oomycota</i>).</p>				

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)	Антропофильные дерматофиты:	
	<i>Epidermophyton floccosum</i>	Эпидермофития
	<i>Microsporum audouinii, M. ferrugineum</i>	Микроспория
	<i>Trichophyton tonsurans, T. violaceum</i>	Трихофития
	<i>Trichophyton interdigitale (T. mentagrophytes v. interdigitale)</i>	Эпидермофития стоп, ногтей
	<i>Trichophyton rubrum</i>	Руброфития
	<i>Trichophyton schoenleinii</i>	Фавус
	Зоофильные дерматофиты:	
	<i>Microsporum canis, M. gallinae</i>	Микроспория
	<i>Trichophyton verrucosum, T. equinum</i>	Трихофития
Геофильные дерматофиты:		
<i>Microsporum cookie, M. gypseum, M. nanum, M. fulvum</i>	Микроспория	
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>	Пенициллез
	<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 – *PROTOZOA*, подцарство 1. *Alveozoa* включают 7 типов, из которых 4 (представлены в таблице) имеют медицинское значение

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

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

Оглавление

Введение. Список сокращений	3
Занятие № 1. Основные методы исследования морфологии микроорганизмов. Простые методы окраски	4
Занятие № 2. Основные методы исследования морфологии микроорганизмов. Структура бактериальной клетки. Сложные методы окраски	7
Занятие № 3. Особенности строения актиномицетов, спирохет, риккетсий, хламидий, микоплазм	11
Занятие № 4. Основные принципы и методы культивирования микроорганизмов. Бактериологический метод исследования	13
Занятие № 5. Бактериологический метод исследования. Биохимическая идентификация микроорганизмов	17
Занятие № 6. Генетика микроорганизмов	20
Занятие № 7. Экология микробов. Инфекция. Биологический метод исследования	23
Занятие № 8. Микробиологические основы химиотерапии и антисептики бактериальных инфекций	25
Занятие № 9. Санитарно-бактериологические методы исследования	28
Занятие № 10. Микрофлора растительного сырья и готовых лекарственных форм	32
Занятие № 11. Итоговое занятие по разделу «Общая и санитарная микробиология»	33
Занятие № 12. Иммунитет. Виды, системы иммунитета. Иммунокомпетентные клетки и молекулы	34
Занятие № 13. Антигены. Антитела	36
Занятие № 14. Иммунодиагностика. Серологические и клеточные реакции	41
Занятие № 15. Иммунопрофилактика и иммунотерапия инфекционных болезней	44
Занятие № 16. Аллергия	46
Занятие № 17. Иммунопатология. Оценка иммунного статуса.	49
Занятие № 18. Итоговое занятие по разделу «Теоретическая и прикладная иммунология»	50
Занятие № 19. Зачет	51
Занятие №20. Лабораторная диагностика раневых инфекций и гнойно-воспалительных процессов, вызванных стафилококками, стрептококками	54
Занятие № 21. Лабораторная диагностика раневых инфекций и гнойно-воспалительных процессов, вызванных синегнойной палочкой, протейями	58
Занятие № 22. Лабораторная диагностика раневых инфекций и гнойно-воспалительных процессов, вызванных бактероидами, клостридиями столбняка, газовой гангрены	59
Занятие № 23. Лабораторная диагностика бактериальных респираторных и воздушно-капельных инфекций, вызванных менингококками, бордетеллами, коринебактериями	61
Занятие № 24. Лабораторная диагностика бактериальных респираторных и воздушно-капельных инфекций, вызванных патогенными микобактериями	64
Занятие № 25. Лабораторная диагностика бактериальных кишечных инфекций, вызванных эшерихиями, шигеллами, сальмонеллами, иерсиниями	66
Занятие № 26. Лабораторная диагностика бактериальных кишечных инфекций, вызванных холерными вибрионами, клостридиями ботулизма, кампилобактериями, хеликобактериями	70
Занятие № 27. Лабораторная диагностика заболеваний, передающихся половым путем	71
Занятие № 28. Лабораторная диагностика бактериальных зоонозных инфекций, вызванных возбудителями туляремии, бруцеллами, иерсиниями чумы, бациллами сибирской язвы, лептоспирами	74
Занятие № 29. Лабораторная диагностика трансмиссивных инфекций, вызванных боррелиями, риккетсиями	76

Занятие № 30. Итоговое занятие по разделу «Частная медицинская микробиология»	79
Занятие № 31. Общая вирусология	80
Занятие № 32. Лабораторная диагностика вирусных респираторных инфекций, вызванных ортомиксовирусами, парамиксовирусами, коронавирусами	83
Занятие № 33. Лабораторная диагностика вирусных респираторных инфекций, вызванных аденовирусами, герпесвирусами	85
Занятие № 34. Лабораторная диагностика кишечных, трансмиссивных и контактных вирусных инфекций, вызванных пикорнавирусами, реовирусами, калицивирусами, флавивирусами, рабдовирусами	86
Занятие № 35. Лабораторная диагностика вирусных инфекций, вызванных гепаднавирусами, тогавирусами	89
Занятие № 36. Лабораторная диагностика вирусных инфекций, вызванных ретровирусами. Прионы и прионовые заболевания	92
Занятие № 37. Итоговое занятие по разделу «Общая и частная медицинская вирусология»	94
Занятие № 38. Основы медицинской микологии и протозоологии	95
Список использованной литературы	96
Приложение 1. Классификация микробов (Прокариоты) по Берджи, 2001 (сокращенная) Домен (Domain) – BACTERIA	97
Приложение 2. Классификация и некоторые свойства вирусов человека и животных (ЦАРСТВО VIRI). Классификация и некоторые свойства арбовирусов и вирусов с природной очаговостью	99
Приложение 3. Классификация грибов. Клиническая классификация микозов	100
Приложение 4. Классификация простейших	102

УДК 579(076.5)(075.8)
ББК 52.64я73
М59

Рекомендовано Научно-методическим советом университета
в качестве практикума 17.11.2021 г., протокол № 9

А в т о р ы: канд. мед. наук, доц. Т. А. Канашкова; канд. мед. наук, доц. Т. Г. Адамович; канд. мед. наук, доц. Д. А. Черношей; канд. мед. наук, доц. Е. Ю. Кирильчик; канд. мед. наук, доц. Л. И. Каскевич; канд. мед. наук, доц. В. А. Горбунов

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

Микробиология с основами иммунологии : практикум для фармацев-
М59 тического факультета / Т. А. Канашкова [и др.]. – 6-е изд. – Минск :
БГМУ, 2022. – 106 с.

ISBN 978-985-21-0954-3.

Отражены вопросы общей и частной медицинской микробиологии, вирусологии, иммунологии. Даны алгоритмы, схемы, некоторые справочные сведения, методики выполнения лабораторных работ на кафедре микробиологии, вирусологии, иммунологии. Первое издание вышло в 2017 году.

Предназначен для студентов 2–3-го курсов фармацевтического факультета.

УДК 579(076.5)(075.8)
ББК 52.64я73

ISBN 978-985-21-0954-3

© УО «Белорусский государственный
медицинский университет», 2022

Учебное издание

Канашкова Татьяна Александровна
Адамович Татьяна Григорьевна
Черношей Дмитрий Александрович и др.

МИКРОБИОЛОГИЯ С ОСНОВАМИ ИММУНОЛОГИИ

Практикум для фармацевтического факультета

6-е издание

Ответственная за выпуск Т. А. Канашкова
Компьютерный набор Т. Г. Адамович
Компьютерная вёрстка Н. М. Федорцовой

Подписано в печать 17.11.21. Формат 60×84/8. Бумага «Discovery». Ризография. Гарнитура «Times».
Усл. печ. л. 12,55. Уч.-изд. л. 5,9. Тираж 89 экз. Заказ 10.

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

ISBN 978-985-21-0954-3



9 789852 109543