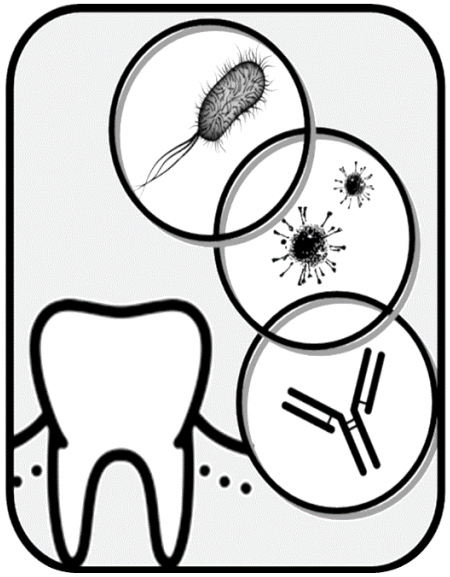
МИКРОБИОЛОГИЯ, ВИРУСОЛОГИЯ, ИММУНОЛОГИЯ

Практикум для стоматологического факультета



Студента 2-го курса _____

группы _____

Минск БГМУ 2024

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

МИКРОБИОЛОГИЯ, ВИРУСОЛОГИЯ, ИММУНОЛОГИЯ

Практикум для стоматологического факультета

3-е издание, исправленное

Минск БГМУ 2024

УДК [579+578+612.017](076.5)(075.8)
ББК 52.64я73
М59

Рекомендовано Научно-методическим советом университета
в качестве практикума 30.04.2024 г., протокол № 16

А в т о р ы: доц. Т. А. Канашкова (занятия 1–35); доц. И. А. Гаврилова (занятия 1–8, 10, 15–22, 27, 29–35); доц. Д. А. Черношей (занятия 9–14, 23–32); доц. Е. Ю. Кирильчик (занятия 9, 14); доц. В. В. Кочубинский (занятия 8, 9–13, 28)

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; каф. эпидемиологии и микробиологии Белорусской медицинской академии последипломного образования

Микробиология, вирусология, иммунология : практикум для стоматологического факультета / Т. А. Канашкова [и др.]. – 3-е изд., испр. – Минск : БГМУ, 2024. – 92 с.

М59

ISBN 978-985-21-1647-3.

Отражены вопросы общей и частной медицинской микробиологии, вирусологии, иммунологии, стоматологической микробиологии. Даны алгоритмы, схемы, некоторые справочные сведения, методики выполнения экспериментов и протоколы лабораторных работ на кафедре микробиологии, вирусологии, иммунологии. Первое издание вышло в 2022 году.

Предназначен для студентов стоматологического факультета.

УДК [579+578+612.017](076.5)(075.8)
ББК 52.64я73

Учебное издание

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

МИКРОБИОЛОГИЯ, ВИРУСОЛОГИЯ, ИММУНОЛОГИЯ

Практикум для стоматологического факультета

3-е издание, исправленное

Ответственная за выпуск Т. А. Канашкова
Компьютерный набор И. А. Гавриловой
Компьютерная вёрстка О. В. Лавникович

Подписано в печать 13.09.24. Формат 60×84/8. Бумага «Снегурочка».
Ризография. Гарнитура «Times».
Усл. печ. л. 10,69. Уч.-изд. л. 5,75. Тираж 290 экз. Заказ 479.

Издатель и полиграфическое исполнение: учреждение образования
«Белорусский государственный медицинский университет».
Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий № 1/187 от 24.11.2023.
Ул. Ленинградская, 6, 220006, Минск.

ISBN 978-985-21-1647-3

© УО «Белорусский государственный медицинский университет», 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

Семестр III

Введение		5
Список сокращений		5
Занятие 1.	Методы исследования в микробиологии. Бактериоскопический метод исследования. Характеристика основных форм бактерий. Простые методы окраски	6
Занятие 2.	Бактериоскопический метод исследования. Структура бактериальной клетки. Сложные методы окраски. Особенности морфологии и методы изучения спирохет, риккетсий, хламидий, микоплазм	9
Занятие 3.	Методы изучения генетики бактерий. Методы молекулярной диагностики	13
Занятие 4.	Культуральный (бактериологический) метод исследования. Методы выделения чистых культур бактерий	15
Занятие 5.	Культуральный (бактериологический) метод исследования. Методы идентификации чистых культур бактерий	17
Занятие 6.	Экология микроорганизмов. Противомикробные мероприятия: стерилизация, дезинфекция, антисептика. Асептика	19
Занятие 7.	Инфекция. Биологический метод исследования. Методы изучения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам	22
Занятие 8.	Итоговое занятие: «Морфология и физиология микроорганизмов. Инфекция»	25
Занятие 9.	Методы клинической и инфекционной иммунологии. Иммунная система. Методы изучения врожденного иммунитета	26
Занятие 10.	Методы клинической и инфекционной иммунологии. Гуморальный иммунный ответ организма. Антигены. Антитела	29
Занятие 11.	Методы клинической и инфекционной иммунологии. Клеточный иммунный ответ организма. Аллергия	30
Занятие 12.	Методы клинической и инфекционной иммунологии. Серологический метод исследования	32
Занятие 13.	Методы клинической и инфекционной иммунологии. Иммунопрофилактика и иммунотерапия. Иммунопатология и клиническая иммунология	35
Занятие 14.	Итоговое занятие: «Иммунология. Иммунитет. Аллергия»	37
Занятие 15.	Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых стафилококками, стрептококками, нейссериями	38
Занятие 16.	Методы микробиологической диагностики острых кишечных инфекций, вызываемых энтеробактериями. Принципы диагностики пищевых отравлений	42
Занятие 17.	Методы микробиологической диагностики клебсиеллезов. Диагностика заболеваний, вызываемых кампилобактериями и хеликобактериями. Микробиологическая диагностика синегнойной инфекции	45

Семестр IV

Занятие 1 (18).	Методы микробиологической диагностики дифтерии и коклюша	47
Занятие 2 (19).	Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых актиномицетами и микобактериями	49
Занятие 3 (20).	Методы микробиологической диагностики анаэробных инфекций	51
Занятие 4 (21).	Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых спирохетами, риккетсиями, хламидиями, микоплазмами	53
Материалы для управляемой самостоятельной работы студента «Особо опасные инфекции. Методы микробиологической диагностики холеры, чумы, туляремии, бруцеллеза, сибирской язвы»		57
Занятие 5 (22).	Итоговое занятие: «Частная микробиология»	60
Занятие 6 (23).	Методы вирусологических исследований. Бактериофаги	61
Занятие 7 (24).	Методы вирусологической диагностики заболеваний, вызываемых ортомиксовирусами, парамиксовирусами. Коронавирусы	63
Занятие 8 (25).	Методы вирусологической диагностики энтеровирусных заболеваний. Вирус краснухи	66
Занятие 9 (26).	Методы вирусологической диагностики вирусных гепатитов	67
Занятие 10 (27).	Методы вирусологической диагностики ВИЧ-инфекции. Вирус бешенства	69
Занятие 11 (28).	Методы вирусологической диагностики герпетических и аденовирусных заболеваний полости рта. Вирус папилломы человека	71
Занятие 12 (29).	Стоматологическая микробиология. Методы изучения нормальной микрофлоры. Микробиология кариеса	73
Занятие 13 (30).	Стоматологическая микробиология. Методы изучения факторов иммунитета полости рта	75
Занятие 14 (31).	Клиническая стоматологическая микробиология. Микробиология периодонтитов и периимплантитов	77
Занятие 15 (32).	Клиническая стоматологическая микробиология. Методы микробиологической диагностики стоматитов. Методы микробиологической диагностики микозов полости рта	79
Занятие 16 (33).	Итоговое занятие: «Стоматологическая микробиология и вирусология»	80
Занятие 17 (34).	Клиническая стоматологическая микробиология. Методы микробиологической диагностики одонтогенных гнойно-воспалительных заболеваний челюстно-лицевой области и стоматогенных инфекций	81
Занятие 18 (35).	Клиническая стоматологическая микробиология (продолжение). Методы микробиологической диагностики стоматогенных бронхолегочных инфекций. Инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи, в стоматологической практике	83
Литература и материалы для подготовки		85
Приложение 1. Домен (domain) BACTERIA		86
Приложение 2. Классификация и некоторые свойства вирусов человека и животных (царство *Vira*)		88
Приложение 3. Инфографика «Систематика вирусов»		90
Приложение 4. Классификация грибов		91
Приложение 5. Клиническая классификация микозов		92

ВВЕДЕНИЕ

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

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

Коллектив авторов

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АПК — антигенпрезентирующие клетки
АГ — антиген
АТ — антитела
АТФ — аденозинтрифосфорная кислота
ВБИ — внутрибольничная инфекция
ВИЧ — вирус иммунодефицита человека
ГКГС (MHC) — главный комплекс гистосовместимости (major histocompatibility complex)
ГСИ — гнойно-септическая инфекция
ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота
ЕК (NK) — естественные киллеры (natural killer cells)
ЖСА — желточно-солевой агар
ИЛ (IL) — интерлейкин (interleukin)
ИФА — иммуноферментный анализ
ИФН (IFN) — интерферон (interferon)
ИХА — иммунохроматографический анализ
КА — контроль антигена (в серологии)
КИО — клеточный иммунный ответ
КОЕ — колониеобразующая единица
КС — контроль сыворотки (в серологии)
ЛПС — липополисахарид
Лф — лимфоциты
МИК (МПК) — минимальная ингибирующая (подавляющая) концентрация
МПА — мясопептонный агар
МПБ — мясопептонный бульон
Мф — макрофаги
ПЦР — полимеразная цепная реакция
РГА — реакция гемагглютинации
РИА — радиоиммунный анализ
РИФ — реакция иммунофлюоресценции
РН — реакция нейтрализации
РНГА (РПГА) — реакция непрямой (пассивной) гемагглютинации
РНК — рибонуклеиновая кислота
РТГА — реакция торможения гемагглютинации
РТГАдс — реакция торможения гемадсорбции
ТКР (TCR) — Т-клеточный рецептор
Тх (Th) — Т-хелперы
УПМ — условно-патогенный микроорганизм
ФНО (TNF) — фактор некроза опухолей (tumor necrosis factor)
ЦПД — цитопатическое действие
ЦТЛ — цитотоксические Т-лимфоциты (Т-киллеры)

Занятие № 1 Дата_____

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

Перечень изучаемых вопросов:

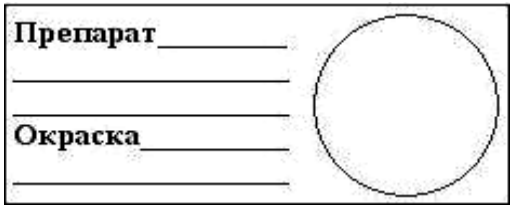
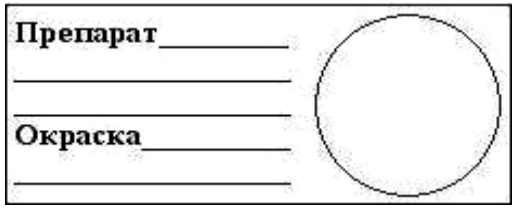
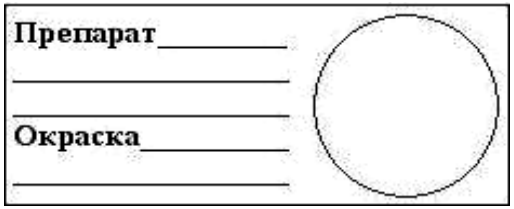
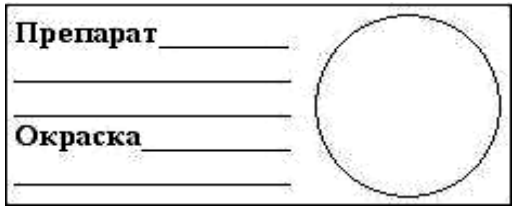
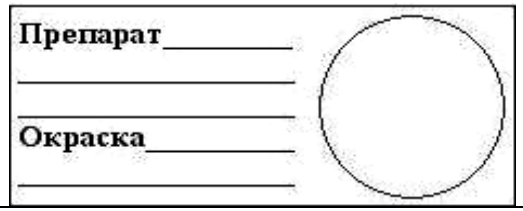
Микробиология как наука: основные этапы развития, разделы микробиологии. Предмет, задачи, методы исследования медицинской микробиологии. Роль стоматологической микробиологии в деятельности врача-стоматолога.

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

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

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

Лабораторная работа

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

Подпись преподавателя_____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 1

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

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

Бактериоскопический (микроскопический) метод исследования — совокупность способов обнаружения и изучения морфологических и тинкториальных[1] свойств бактерий (микроорганизмов) в исследуемом материале (лабораторная культура, патологический материал, пробы из внешней среды) с помощью микроскопии.

Цели метода:

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

Этапы метода:

1. Забор, транспортировка ихранение материала.

2. Приготовление микропрепарата.

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

3. Микроскопия.

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

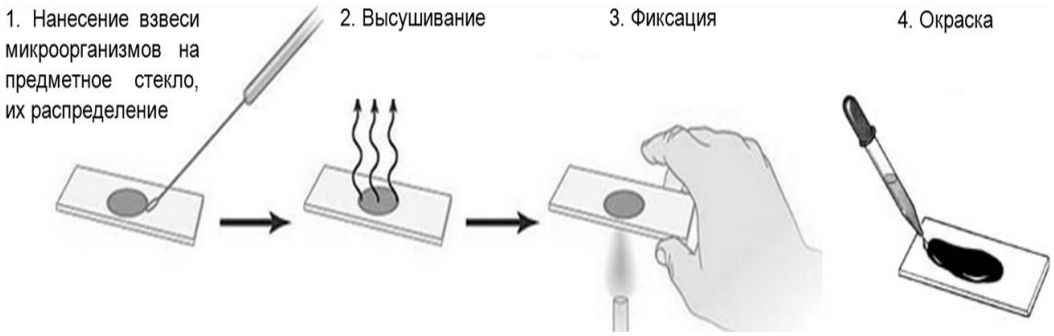
4. Заключение[1].

Оценка метода:

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

[1] При микроскопии мазка изучается морфология (форма, размеры и взаимное расположение микробных клеток) и тинкториальные свойства (способность окрашиваться определенным образом) микроорганизмов.

Этапы приготовления бактериологического (фиксированного) мазка

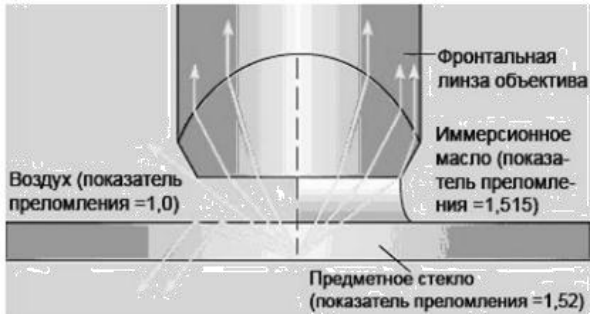


Устройство светового микроскопа

Самостоятельная работа: зарисовать основные морфологические формы бактерий.

микрококки (монококки)	диплококки		стрептококки	тетракокки
	нейссерии	пневмококки		
сарцины	стафилококки	коккобактерии	энтеробактерии	коринебактерии
клостридии	бациллы	вибрионы	спирохеты	актиномицеты

Схема хода лучей в сухой и иммерсионной системах



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 междупрепаратом и фронтальной линзой объектива;

α — половина апертурного угла;

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

для иммерсионной системы = 1,6.

Результат:

Разрешение иммерсионного микроскопа _____ мкм.

Разрешение суховоздушного микроскопа _____ мкм.

Занятие № 2 Дата_____

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

Перечень изучаемых вопросов:

Отличия прокариотов от эукариотов.

Структура и функции поверхностных образований бактериальной клетки (капсулы, клеточной стенки, жгутиков, фимбрий, цитоплазматической мембраны), методы выявления. Грамположительные и грамотрицательные бактерии. Техника и механизм окраски по Граму. Формы бактерий с дефектами клеточной стенки (протопласты, сферопласты, L-формы). Кислотоустойчивость бактерий. Техника и механизм окраски по Цилю-Нильсену.

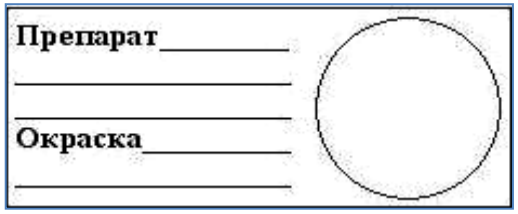
Строение и функции цитоплазматических органелл (нуклеоид, мезосомы, рибосомы, плазмиды, включения). Методы выявления нуклеоида, волютиновых зерен. Окраска по Нейссеру и Леффлеру.

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

Покоящиеся формы бактерий. Споры, методы их выявления.

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

Лабораторная работа

Задание	**Методы, результаты**
1. Приготовить препарат из смеси грамположительных (*Staphylococcus spp.*) и грамотрицательных (*Esherichia coli*) бактерий, окрасить по Граму, микроскопировать, зарисовать.  	**Техника окраски по Граму:** 1. На фиксированный препарат через фильтровальную бумагу наливают раствор генцианвиолета (основной краситель) на 1–2 мин, бумагу снимают, препарат промывают водой (тонкие мазки не промывают). 2. Наносят раствор Люголя на 1 мин. Раствор Люголя сливают, водой не промывают. 3. На препарат наносят 96 % этанол (30–60 с), промывают водой. 4. Наносят водный фуксин (дополнительный краситель) на 2–3 мин, промывают водой. 5. Высушивают фильтровальной бумагой, микроскопируют с иммерсионной системой. Грам+ бактерии прочно фиксируют комплекс генцианвиолета и йода, не обесцвечиваются этанолом, не воспринимают дополнительный краситель (фуксин). У Грам– бактерий этот комплекс легко вымывается этанолом — окрашиваются фуксином в розово-красный цвет. *Грам+ фиолетовые; Грам– розово-красного цвета*. В какие цвета окрашиваются бактерии по этапам проведения окрашивания по методу Грама? *Раскрасьте таблицу.*

Бактерии	Окраска генцианвиолетом	Обработка р-ром Люголя	Обработка 96° этанолом	Окраска фуксином
Грам +				
Грам –				

2. Зарисовать демонстрационные препараты.

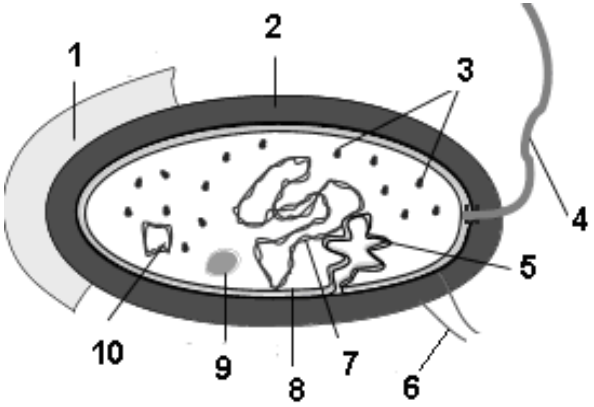
1) Капсула *Klebsiella spp.*, окраска по Бурри-Гинсу. 2) Зерна волютина *Corynebacterium diphtheriae*, окраска по Нейссеру. 3) Зерна волютина *Corynebacterium diphtheriae*, окраска по Леффлеру. 4) Споры *Bacillus anthracis*, окраска по Ожешко. 5) Смесь *Mycobacterium tuberculosis* и *Sarcina spp.*,окраска по Цилю-Нильсену.	6) *Treponema denticola* в зубном налете, окраска по Граму. 7) *Rickettsia prowazekii*, окраска по Граму. 8) Цитоплазматические включения *Chlamydia spp.*, окраска по Романовскому-Гимзе. 9) *Actinomyces spp.*, чистая культура, окраска по Граму.

Подпись преподавателя_____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 2

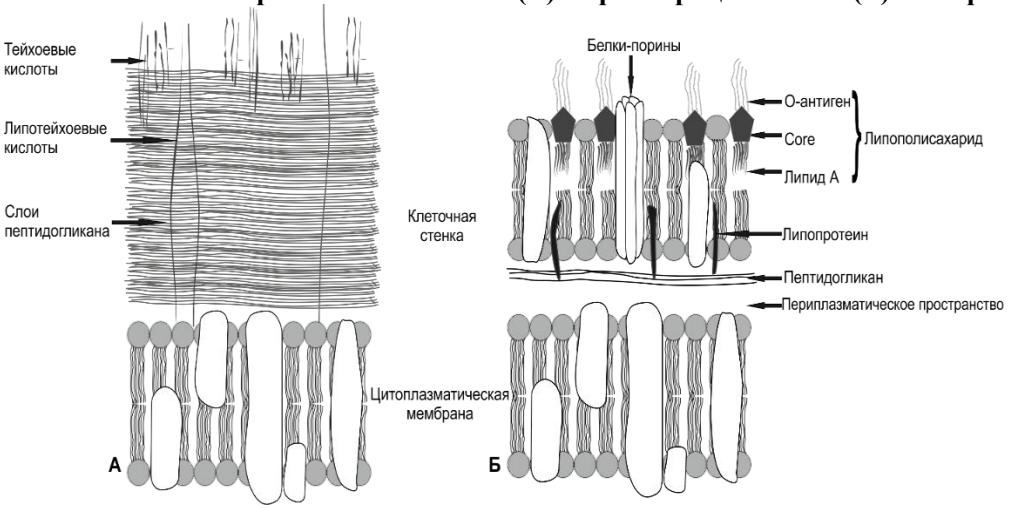
Укажите названия структур бактериальной клетки.

Схема строения бактериальной клетки



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

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



Нарисуйте варианты расположения жгутиков бактерий.

монотрих Бактерия	*лофотрих* Бактерия
амфитрих Бактерия	*перитрих* Бактерия

Заполните таблицу.

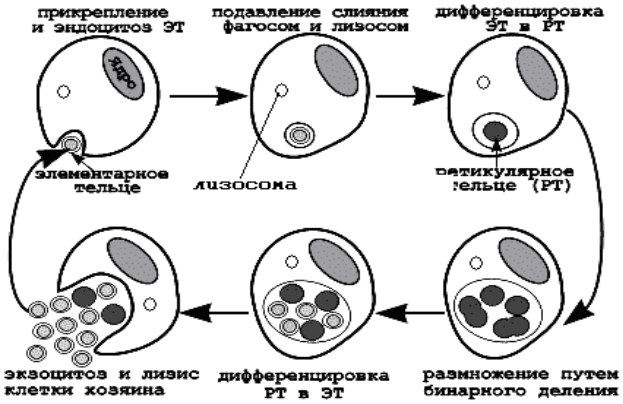
Дифференциально-диагностические методы окраски бактерий

Метод окраски	Цель	Вид микропрепарата
Окраска по Бурри-Гинсу		
Окраска по Леффлеру		
Окраска по Нейссеру		
Окраска по Цилю-Нильсену		
Окраска по Ожешко		
Окраска по Романовскому-Гимзе		

Характеристика риккетсий, хламидий, микоплазм

Признак	Риккетсии	Хламидии	Микоплазмы
Особенности морфологии			
Тип паразитизма			
Способ размножения			
Роль в патологии человека			
Методы изучения			

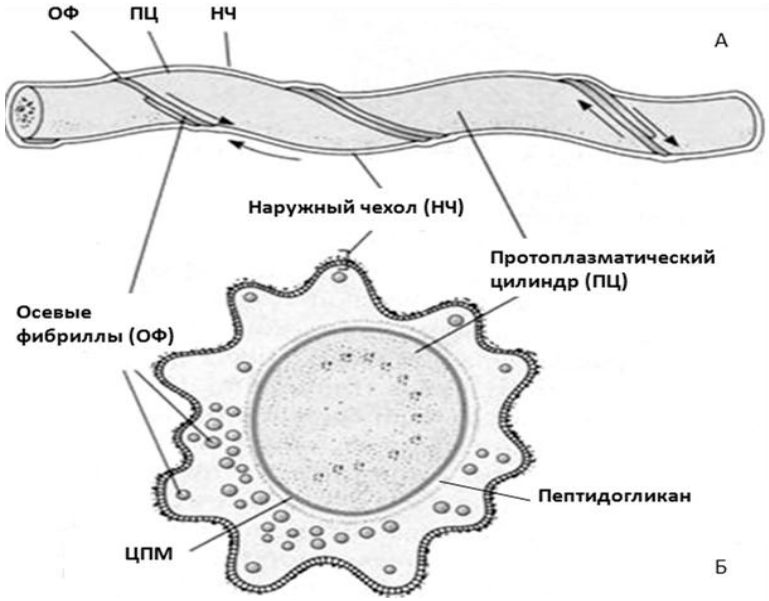
Репликативный цикл хламидий



Дифференциация патогенных спирохет

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

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



Занятие № 3 Дата_____

ТЕМА: Методы изучения генетики бактерий. Методы молекулярной диагностики

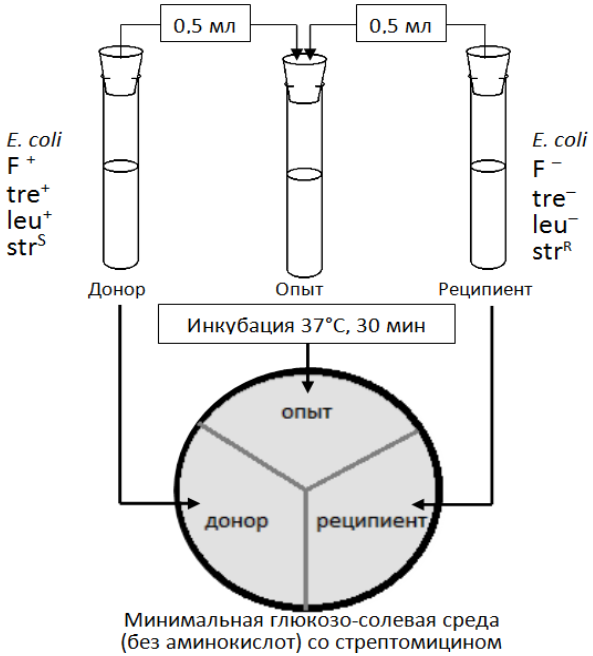
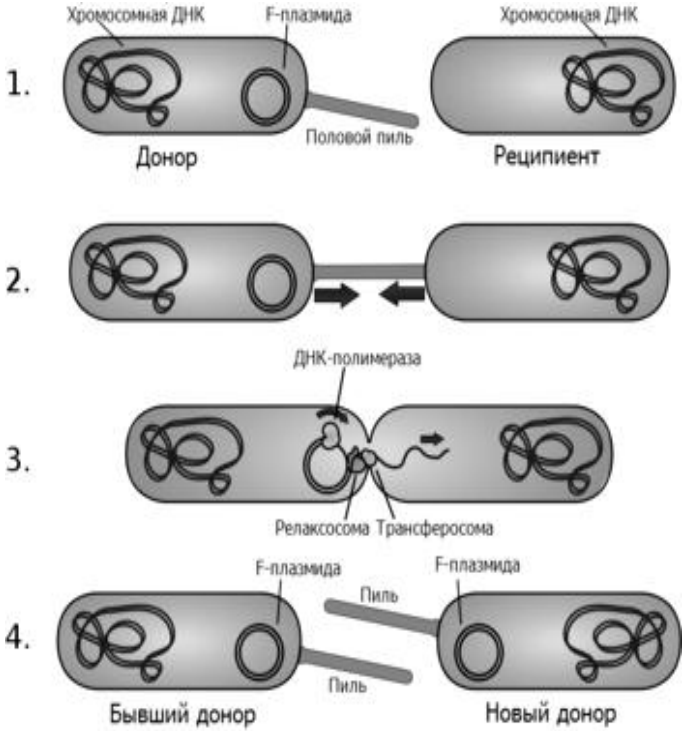
Перечень изучаемых вопросов:

Генетический аппарат бактерий (нуклеоид, плазмиды, транспозоны, IS-последовательности, генетические повторы): характеристика, значение.

Виды изменчивости микроорганизмов. Практическое значение изменчивости. Генотипическая изменчивость. Мутации. Генетические рекомбинации: трансформация, трансдукция, конъюгация. Принцип генетического анализа. Методы выделения мутантов. Плазмиды и их функции.

Молекулярно-генетические методы исследования (молекулярная гибридизация, полимеразная цепная реакция): определение, постановка, учет и интерпретация результатов, применение в стоматологии.

Лабораторная работа

Задание	**Методы, результаты**
1. Поставить опыт по конъюгации: 1) инкубировать смесь культур *E. coli* донора и реципиента, 2) сделать высев на минимальную среду. **Учет результатов** (*выполняется на занятии № 4)* после 24 ч инкубации при 37 °С	**Схема постановки опыта по конъюгации**  **Заключение:** _____ _____ _____
	Сущность конъюгации 

Подпись преподавателя_____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 3

Постановка ПЦР

Схема проведения ПЦР

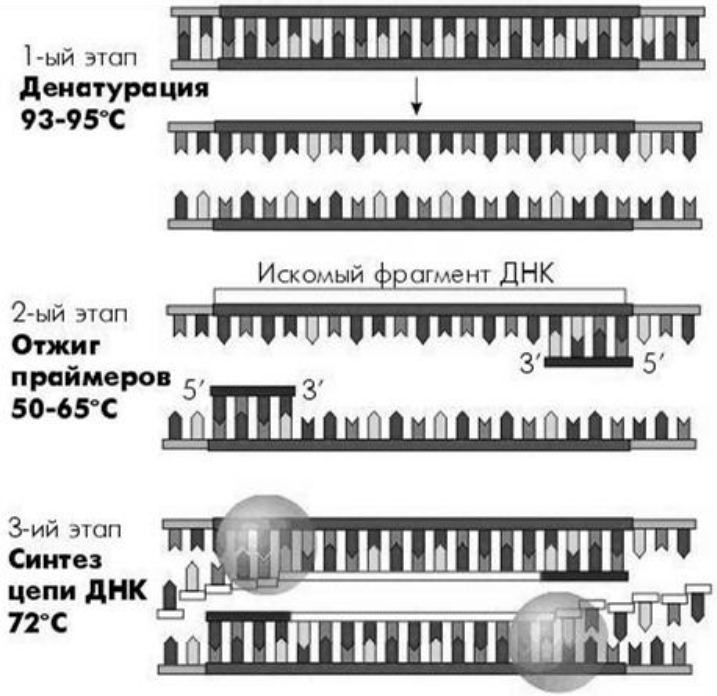
1. Экстракция (выделение) ДНК:
   - Маркировка эппендорфов (микропробирок) на 1,5 мл для выделения ДНК.
   - Внесение 100 мкл биологического материала и 100 мкл отрицательного контроля в пробирки для выделения ДНК.
   - Встряхивание и кипячение 10 мин (в лаборантской).
2. Постановка ПЦР:
   - Приготовление реакционной смеси (см. рисунок).
   - Маркировка пробирок для ПЦР (эппендорфы на 0,5 мл с парафином).
   - Внесение 10 мкл реакционной смеси и 10 мкл жидкости из пробирок для выделения в ПЦР-пробирки.
   - Амплификация (демонстраторий), 1 ч.
3. Детекция: электрофорез в геле (20 мин), просмотр на трансиллюминаторе.
4. Учет и оценка результата.

Состав реакционной смеси

Исходные компоненты ПЦР

* Реакция протекает в буферном растворе (Mg^{2+})

Характеристика этапов ПЦР (I цикл)

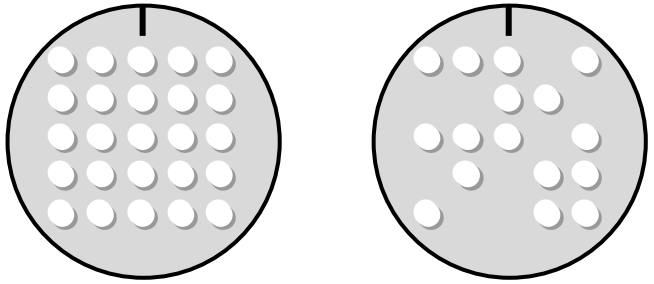


Демонстрация: Метод реплик.

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

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

Рост культур бактерий после посева штампом-репликатором



на полной питательной среде — на минимальной питательной среде

Занятие № 4 Дата_____

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

Перечень изучаемых вопросов:

Методы культивирования бактерий. Питательные среды, общая характеристика и классификация, принципы приготовления. Требования, предъявляемые к питательным средам. Условия выращивания микробов. Термостат. Методы и аппаратура для создания анаэробиоза.

Культуральный (бактериологический) метод исследования, задачи, этапы, оценка. Методы и схема выделения чистых культур аэробных и анаэробных бактерий. Характеристика колоний микроорганизмов.

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
1. 2-й этап бактериологического исследования (выделение чистой культуры аэробов): 1) охарактеризовать колонии, 2) приготовить мазки из различных типов колоний, определить морфологию микроорганизмов в мазках, 3) произвести посев грамотрицательных бактерий для накопления биомассы чистой культуры.	**I этап бактериологического исследования:** *материал* → Взятие материала, его доставка в лабораторию и подготовка, микроскопия, посев → Инкубация (24 ч–37°С) **II этап бактериологического исследования (выделение чистой культуры):** Признак / Колония №1 / Колония №2: Форма; Размер; Поверхность; Край; Цвет; Консистенция; Прозрачность Инкубация → **III этап** МПА *(среда накопления)* **Препарат**_____ **Окраска**_____ **Препарат**_____ **Окраска**_____

Подпись преподавателя_____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 4

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

Чистая культура — бактерии одного вида, выращенные в лабораторных условиях, свойства которых находятся в процессе изучения (чаще всего чистую культуру получают путем отбора и культивирования изолированной колонии).
Колония бактерий — изолированное скопление бактерий одного вида на питательной среде (потомство одной микробной клетки).

Цели метода:
1. Установление этиологии инфекционного заболевания.
2. Определение чувствительности микроорганизма к антибиотикам и бактериофагам.
3. Определение количества микроорганизмов в материале.
4. Типирование микроорганизмов (определение фаго- и сероваров) в эпидемиологических целях.

Этапы метода (принципиальная последовательность):
1. Забор материала (его транспортировка и хранение при необходимости).
2. *Выделение чистой культуры*

- Подготовка материала к исследованию
- Приготовление микропрепаратов из материала
- Обогащение материала (при необходимости)
- Посев на питательные среды для получения изолированных колоний

3. *Накопление чистой культуры*

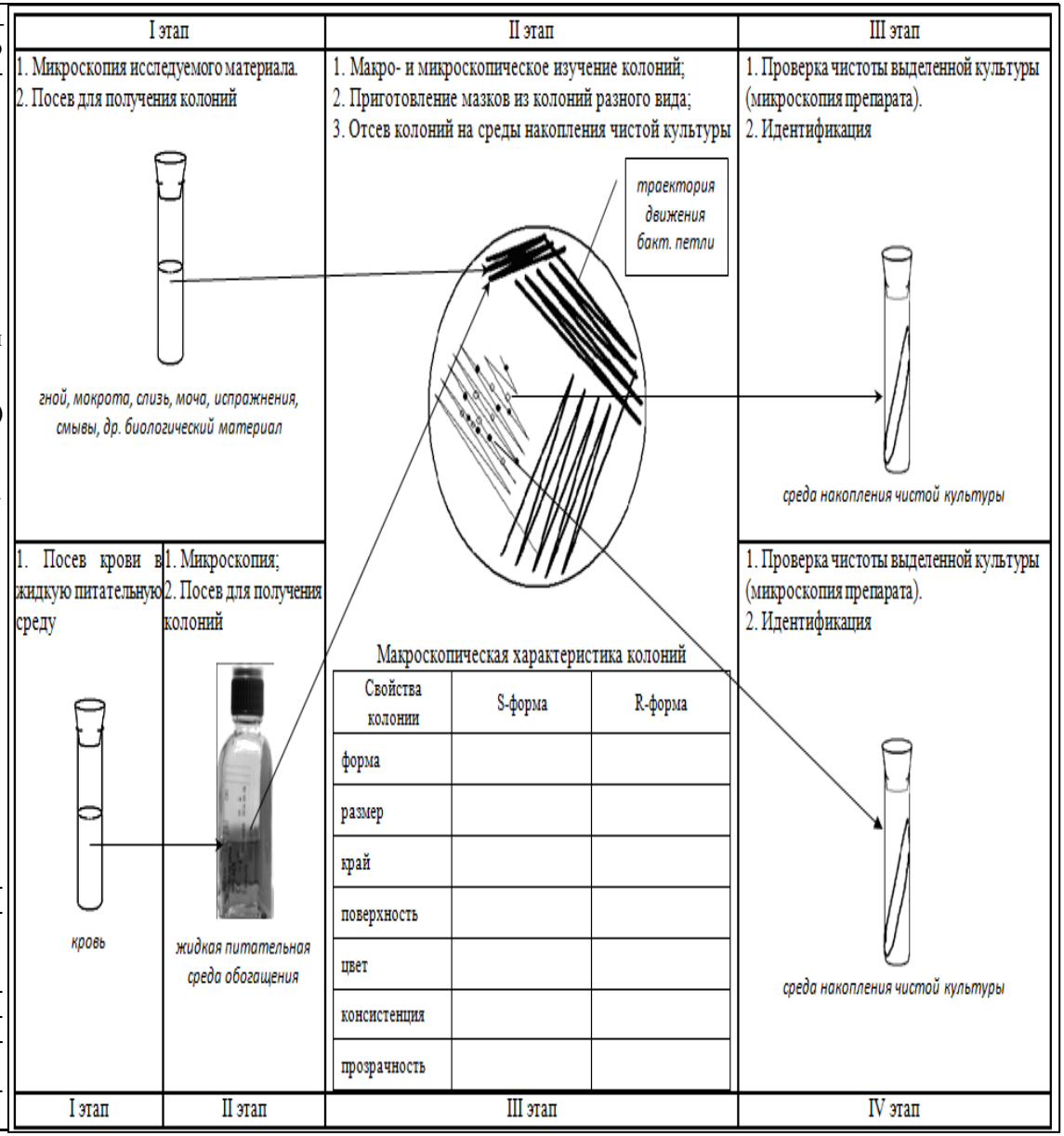
- Характеристика колоний (макро- и микроскопическая)
- Отсев колоний на среду накопления

4. *Идентификация чистой культуры*

- Оценка чистоты выделенной культуры (макро- и микроскопически)
- Изучение биохимических, серологических, биологических и др. свойств возбудителя для определения его систематического положения

5. Заключение: вид (подвид) микроорганизма, его количество в материале (для условно-патогенных), устойчивость к антибиотикам (при определении АБ-резистентности).

Оценка метода:
+ высокая чувствительность (около 10^2 микробов в мл) и специфичность; ранний метод диагностики; возможность определения количества микробов в материале; возможность оценки чувствительности возбудителя инфекции к антибиотикам.
– относительная длительность; трудоемкость; опасность инфицирования; метод дорогостоящий.



Занятие № 5 Дата_____

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

Перечень изучаемых вопросов: Идентификация микробов, ее принципы и методы. Вид бактерий, критерии вида.
Биохимические свойства микробов и методы их изучения. Ферменты микробов, их значение для идентификации: а) протеолитические (протеазы, пептидазы, дезаминазы, декарбоксилазы, цистиназа, триптофаназа, уреаза); б) сахаролитические (карбогидраза, амилаза); в) липолитические (липаза, лецитиназа); г) окислительно-восстановительные (дегидрогеназы, оксидазы, каталаза); д) гемолизины. Альфа-, бета-, гамма-гемолиз.
Автоматические микробиологические анализаторы, принципы работы, использование в культуральных исследованиях.

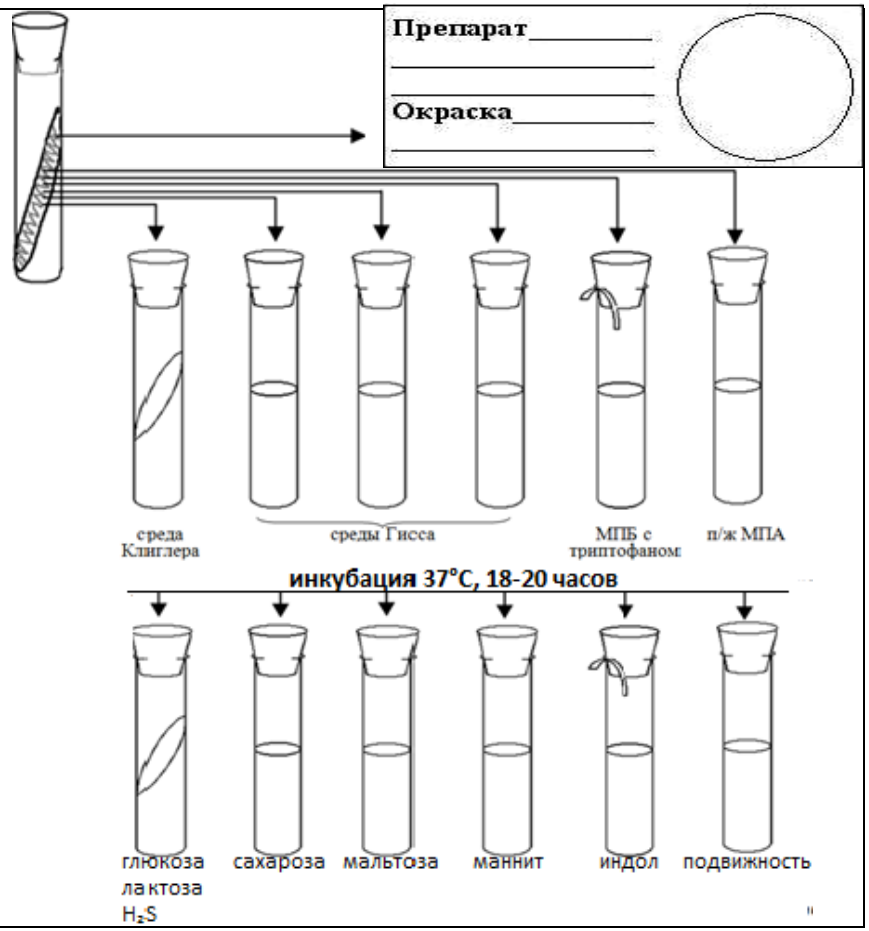
Лабораторная работа

1) Третий этап выделения чистых культур аэробов (идентификация культуры):
   - приготовить мазок для подтверждения чистоты выделенной культуры, окрасить по Граму, определить морфологию бактерий в мазке;
   - произвести посев на среду Клиглера, на среды с сахарозой, мальтозой, маннитом, поставить пробы на индол и на подвижность.

Учет *(проводится на занятии № 6)*:
1) провести учет результатов биохимических тестов и теста на подвижность;
2) осуществить интерпретацию результатов, сделать заключение (см. таблицу).

Вид	Морфология	Культуральные свойства	Биохимические и др. признаки							
			глюкоза	лактоза	мальтоза	маннит	сахароза	H_2S	индол	подвижность
E. coli	Грам– палочка	S-колонии средних размеров	КГ	КГ	КГ	КГ	–	–	+	+
S. Typhi	Грам– палочка	S-колонии средних размеров	К	–	К	К	–	+	–	+
S. Paratyphi A	Грам– палочка	S-колонии средних размеров	КГ	–	КГ	КГ	–	–	–	+
S. Schottmuelleri	Грам– палочка	S-колонии средних размеров	КГ	–	КГ	КГ	–	+	–	+
Х-микроб										

Заключение: по морфологическим, культуральным и биохимическим признакам идентифицирован _____



Подпись преподавателя_____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 5

КРИТЕРИИ ВИДА (ИДЕНТИФИКАЦИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ)	
морфологический	Форма, размер, взаимное расположение, подвижность, наличие капсулы, спорообразование, наличие включений, тинкториальные свойства, кислотоустойчивость
культуральный	Рост на специальных средах, условия роста и размножения, характер роста в жидкой среде (диффузное помутнение, пленка, придонный рост и др.), характер колоний: (форма, размер, цвет, поверхность, край, консистенция, прозрачность)
биохимический	Определение экзоферментов бактерий (используются дифференциально-диагностические питательные среды), определение профиля жирных кислот анаэробов (газовая хроматография-масс спектрометрия)
серологический	Определение антигенной структуры, определение видо- и типоспецифических антигенов (взаимодействие с видо-/типоспецифическими сыворотками — используются серологические реакции)
биологический	Вирулентность для животных, токсигенность, чувствительность к бактериофагам (определение фаговара), чувствительность к антибиотикам
генетический	Содержание Г+Ц (%) в ДНК, последовательность нуклеотидов в ДНК и РНК (применяют молекулярно-генетические методы (ПЦР, гибридизацию, секвенирование)
экологический	Естественное место обитания вида

Заполните таблицу.

Определение некоторых биохимических свойств микроорганизмов

Ферменты	**Среда для детекции / используемый тест**
САХАРОЛИТИЧЕСКИЕ ФЕРМЕНТЫ	
карбогидразы	
ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИЕ ФЕРМЕНТЫ	
триптофаназа	
цистеиназа	
ЛИПОЛИТИЧЕСКИЕ ФЕРМЕНТЫ	
лецитиназа	
ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫЕ ФЕРМЕНТЫ	
оксидаза	
каталаза	
ФЕМЕНТЫ-ТОКСИНЫ	
гемолизины	
плазмокоагулаза	

Занятие № 6 Дата_____

ТЕМА: Экология микроорганизмов. Противомикробные мероприятия: стерилизаця, дезинфекция, антисептика. Асептика

Перечень изучаемых вопросов:

Экология микроорганизмов. Формы экологических связей. Практическое использование микробного антагонизма. Понятие о бактериоциногении. Противомикробные мероприятия в стоматологической практике. Определение понятий асептики, стерилизации, дезинфекции, антисептики. Стерилизация: способы и режимы проведения. Контроль качества стерилизации. Отличия стерилизации от дезинфекции. Дезинфекция: типы, способы проведения. Группы дезинфицирующих средств, применяемых в стоматологии. Антисептика: определение понятия, типы, способы проведения. Антисептические средства: классификация, механизм действия, побочное действие. Принципы рациональной антисептики в стоматологической практике.

Лабораторная работа

<table>
<tr><th>Задание</th><th>Методы, результаты</th></tr>
<tr><td colspan="2">1. Произвести учет биохимических свойств бактерии с целью ее индентификации (см. занятие № 5)</td></tr>
<tr><td rowspan="2">2. Поставить опыт по антисептической обработке кожи рук.</td><td>Опыт по антисептике кожи рук:
1. Контроль (К) — отпечаток кожи рук без обработки.
2. Опыт 1 (O_1) — отпечаток кожи рук после гигиенического мытья рук с мылом.
3. Опыт 2 (O_2) — отпечаток кожи рук после обработки антисептиком:
• обработка дистальной фаланги пальца 1 % раствором йодопирона (антисептик) — 2 мин;
• обработка дистальной фаланги пальца 1 % раствором тиосульфата натрия (нейтрализатор) — 2 мин;
• отпечаток пальца.

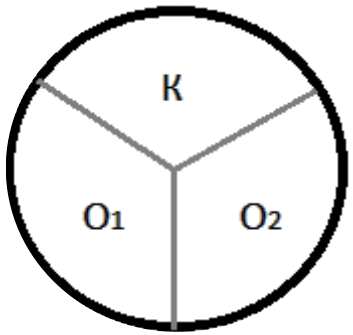
Среда с посевом помещается в термостат на 24–48 ч, 37 °С.
 

Схема постановки опыта</td></tr>
<tr><td>Учет опыта по антисептике кожи рук (выполняется на занятии № 7):
1. Количество колоний бактерий на контрольном отпечатке _____.
2. Количество колоний бактерий на отпечатке «опыт 1» _____.
3. Количество колоний бактерий на отпечатке «опыт 2» _____.

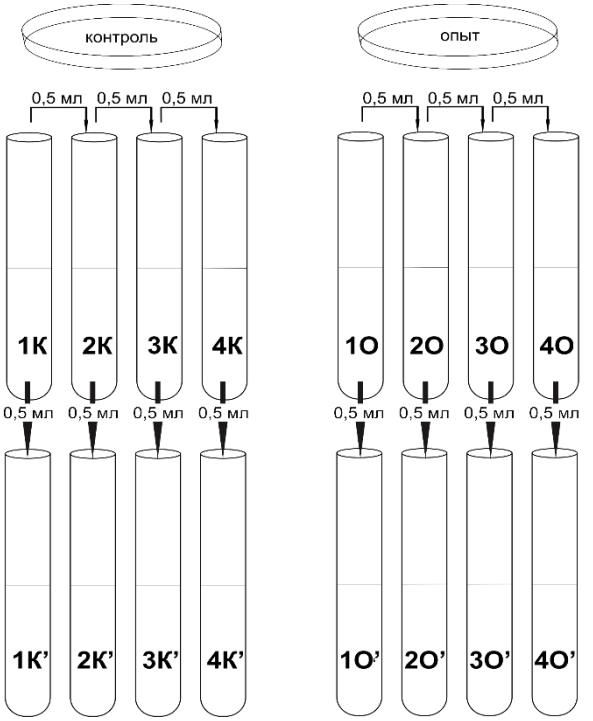
Заключение:_____
_____
_____</td></tr>
</table>

2. Поставить опыт по антисептической обработке полости рта:
1) Подписать чашки Петри («опыт» и «контроль»).
2) Прополоскать рот стерильным физраствором и сплюнуть в чашку «контроль».
3) Прополоскать рот 1 % раствором борной кислоты и сплюнуть в раковину.
4) Прополоскать рот стерильным физраствором и сплюнуть в чашку «опыт».
5) С помощью стерильных пипеток и груши приготовить разведения материалов:
5.1) Приготовление 10-кратных разведений смыва со слизистой оболочки полости рта без обработки:
- приготовить 4 пробирки с 4,5 мл стерильного физраствора, подписать 1К, 2К, 2К, 4К;
- набрать 0,5 мл материала из чашки «Контроль» и выпустить в пробирку 1К. Сбросить пипетку в фарфоровый стакан;
- другой пипеткой перемешать содержимое пробирки 1К, набрать 0,5 мл и выпустить в пробирку 2К. Сбросить пипетку в фарфоровый стакан;
- новой пипеткой перемешать содержимое пробирки 2К, набрать 0,5 мл и выпустить в пробирку 3К. Сбросить пипетку в фарфоровый стакан;
- новой пипеткой перемешать содержимое пробирки 3К, набрать 0,5 мл и выпустить в пробирку 4К. Сбросить пипетку в фарфоровый стакан;

5.2) Аналогично приготовить разведения материала «опыт».
6) С помощью стерильной пипетки и груши произвести посев разведений на сахарный бульон:
6.1) Посев «контроля»:
- приготовить 4 пробирки с сахарным бульоном, подписать 1К’, 2К’, 3К’, 4К’;
- стерильной пипеткой размешать содержимое пробирки 4К, набрать 0,5 мл разведенного материала и выпустить в пробирку 4К’ с бульоном;
- не меняя пипетку, перенести 0,5 разведенного материала из пробирки 3К в пробирку 3К’ с бульоном;
- не меняя пипетку, перенести 0,5 разведенного материала из пробирки 2К в пробирку 2К’с бульоном;
- не меняя пипетку, перенести 0,5 разведенного материала из пробирки 1К в пробирку 1К’ с бульоном;

6.2) Аналогично провести посев разведений материала «опыт» на сахарный бульон.
7) Засеянные бульоны связать лентой, подписать номер группы.

Схема опыта



Учет опыта по антисептической обработке полости рта *(выполняется на занятии № 7):*
1. Просмотреть пробирки с сахарным бульоном и определить максимальное разведение, посев из которого дает рост, для «контроля» и «опыта».
2. Сформулировать заключение об эффективности обработки полости рта 1 % раствором борной кислоты на основании различий в росте микробов из разных разведений.

Заключение:_____
_____
_____

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

Подпись преподавателя_____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 6

Дайте определения следующим понятиям.

Стерилизация —

Дезинфекция —

Антисептика —

Асептика —

Впишите в таблицу возможные способы стерилизации указанных объектов.

Стерилизуемые объекты	Способы стерилизации
Бактериологические петли	
Перевязочный материал (марля, вата, бинт)	
Изделия из резины, пластика	
Стеклянные изделия	
Медицинские инструменты из стали, других металлов	
Воздух (в операционных)	
Растворы, содержащие вещества, инактивирующиеся при температуре свыше 60 °С	

Аппаратура для проведения стерилизации

Стерилизаторы паровые (автоклавы)		Сухожаровые шкафы
вертикальный	горизонтальные	

Опишите методы контроля качества стерилизации.

Физический	
Химический	
Бактериологический	

Занятие № 7 Дата_____

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

Перечень изучаемых вопросов:

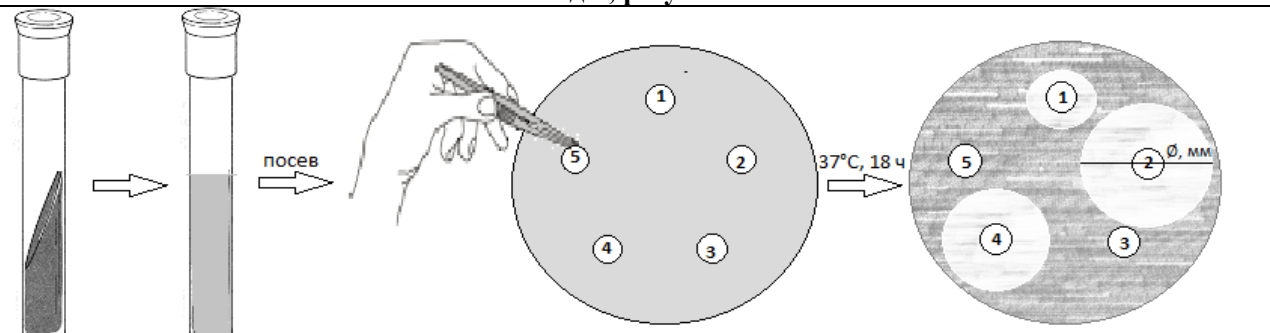
Инфекция: определение понятия, причины и условия возникновения. Отличия инфекционных и неинфекционных заболеваний. Классификация инфекционных процессов. Патогенность и вирулентность микробов. Факторы патогенности, единицы измерения вирулентности. Острова патогенности. Отличие эндотоксинов и экзотоксинов. Типы экзотоксинов и их биологические свойства. Методы определения факторов патогенности.

Химиотерапия и химиопрофилактика инфекционных заболеваний. Антибиотики: характеристика, классификация, механизмы и спектр действия, побочное действие антибиотиков. Принципы рациональной антибиотикотерапии в стоматологической практике.

Резистентность микроорганизмов к антибиотикам: генетические и биохимические механизмы формирования, методы определения.

Биологический (экспериментальный) метод исследования: определение, цели, этапы, оценка.

Лабораторная работа

Задание	**Методы, результаты**
1. Провести учет опытов по антисептической обработке кожи рук и полости рта *(см. занятие № 6).* 2. Поставить опыт по определению чувствительности бактерий к антибиотикам методом бумажных дисков. **Мюллер-Хинтон агар (состав среды):** *Мясной экстракт — 2,0* *Панкреатический гидролизат казеина — 17,5* *Крахмал кукурузный — 1,5* *Агар-агар — 17,0* *Вода дистиллированная — 1 л* *pH 7,4 ± 0,2*	 МПА **Тест-культура** _____ физ.раствор **Суспензия бактерий (1,5*10⁸ КОЕ/мл)** Засеянный агар Мюллер-Хинтона **Посев "газоном", помещение на агар дисков с антибиотиками** УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ: **Измерение диаметра зон задержки роста, сравнение со стандарнтными значениями**

Учет результатов опыта по определению чувствительности микробов к антибиотикам методом бумажных дисков *(выполняется на занятии № 8):*

Антибиотикограмма

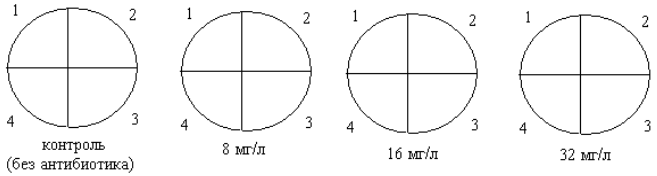
Антибиотик	**⌀ зоны, мм**	**Интерпретация результата**

Критерии интерпретации результатов определения чувствительности бактерий к антибиотикам

Антибиотик	устойчивый	умеренно-устойчивый	чувствительный
	Staphylococcus spp.		
Бензилпенициллин	≤28	–	≥29
Оксациллин	≤10	11–12	≥13
Канамицин	≤13	14–17	≥18
Гентамицин	≤12	13–14	≥15
Ципрофлоксацин	≤15	16–20	≥21
Тетрациклин	≤14	15–18	≥19
Эритромицин	≤13	14–22	≥23
Линкомицин	<17	17–20	≥21
Хлорамфеникол	≤12	13–17	≥18

Антибиотик	устойчивый	умеренно-устойчивый	чувствительный
	Enterobacteriaceae		
Ампициллин	≤13	14–16	≥17
Цефазолин	≤14	15–17	≥18
Цефотаксим	≤14	15–22	≥23
Канамицин	≤13	14–17	≥18
Гентамицин	≤12	13–14	≥15
Ципрофлоксацин	≤15	16–20	≥21
Тетрациклин	≤14	15–18	≥19
Доксициклин	≤12	13–15	≥16
Хлорамфеникол	≤12	13–17	≥18

3. Произвести учет опыта по определению чувствительности микробов к антибиотикам (ампициллину) методом количественных разведений в МПА.



Чашки с разведениями ампициллина в агаре

Критерии интерпретации результатов

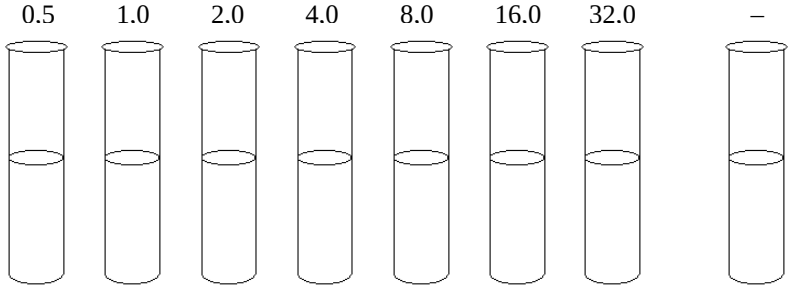
Антибиотик	МИК, мг/л		
	устойчивый	умеренно-устойчивый	чувствительный
Ампициллин	≥32	16	≤8

Заключение:

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

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

мкг антибиотика / 1 мл питательной среды

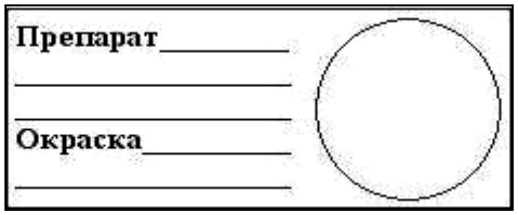


Контроль - среда без антибиотика

Заключение: минимальная ингибирующая концентрация антибиотика составляет_____ мкг/мл.

5. Зарисовать демонстрационный препарат:

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



Подпись преподавателя_____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 7

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

Цели метода:

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

Этапы метода:

1. Забор и обработка материала.

2. Выбор лабораторных животных, исходя из их чувствительности к предполагаемому возбудителю, их стандартизация и маркировка.

3. Заражение животных

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

4. Прижизненный забор материала от животного и проведение бактериологического и серологического исследования, постановка аллергической пробы.

5. Вскрытие, изучение патоморфологической картины, протокольный посев органов павших или умерщвленных животных (для выявления обсемененности и выделения чистой культуры). Приготовление мазков-отпечатков из внутренних органов.

6. Идентификация выделенной культуры.

7. Заключение по результатам исследования.

Оценка метода:

+ относительно высокая чувствительность, высокая специфичность, ранний метод диагностики;

– длительность, ограниченная доступность, опасность инфицирования.

Заполните таблицу.

Классификация антибиотиков

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

Приведите примеры химиопрепаратов, наиболее часто применяющиеся в стоматологии.

Химиотерапия в стоматологии

Препарат	Спектр действия	Примечание

Занятие № 8 Дата_____

ИТОГОВОЕ ЗАНЯТИЕ: «Морфология и физиология микроорганизмов. Инфекция»

Перечень вопросов к итоговому занятию

1. Медицинская микробиология: объекты, задачи, методы. Роль стоматологической микробиологии в деятельности врача-стоматолога.
2. Принципы систематики микробов. Систематическое положение микробов. Таксономические категории. Понятие и критерии вида.
3. Морфология бактерий. Отличия прокариотов от эукариотов. Основные формы бактерий.
4. Структура бактериальной клетки. Строение и функции поверхностных образований бактериальной клетки (капсулы, жгутиков, фимбрий), методы выявления.
5. Структура и функции клеточной стенки грамположительных и грамотрицательных бактерий. Окраска по Граму, механизм и техника окраски.
6. Формы бактерий с дефектами клеточной стенки, значение. Покоящиеся формы микробов. Спорообразование у бактерий, стадии, методы выявления спор.
7. Цитоплазматические структуры бактерий, функции, методы выявления. Кислотоустойчивые микробы. Метод окраски.
8. Характеристика бактериоскопического метода исследования.
9. Типы микроскопических препаратов. Этапы приготовления фиксированного мазка. Методы окраски микроорганизмов (простые и дифференциально-диагностические).
10. Световые микроскопы. Принципы устройства простого, фазово-контрастного, темнопольного, люминесцентного микроскопов. Техника иммерсионной микроскопии.
11. Систематическое положение, морфология, дифференциация и методы изучения спирохет.
12. Систематическое положение и морфология актиномицетов. Роль в патологии человека.
13. Хламидии: систематическое положение, особенности биологии, роль в патологии.
14. Систематическое положение, особенности биологии, морфология риккетсий.
15. Систематическое положение и морфология микоплазм. Методы изучения.
16. Питание микробов. Источники углерода, азота, ростовых факторов и зольных элементов. Способы питания и проникновения питательных веществ в клетку через мембрану.
17. Дыхательный аппарат бактерий. Пути биологического окисления. Классификация микробов по этому признаку.
18. Способы размножения микробов. Механизм и фазы клеточного деления.
19. Характеристика культурального (бактериологического) метода исследования.
20. Культивирование бактерий, питательные среды: требования, классификации.
21. Методы выделения чистых культур аэробов и факультативно-анаэробных бактерий.
22. Принципы культивирования и методы выделения чистых культур анаэробов.
23. Идентификация микроорганизмов: морфологическая, культуральная, серологическая, биологическая, генетическая. Идентификация микроорганизмов без выделения чистой культуры.
24. Биохимическая идентификация бактерий: определение протеолитических, сахаролитических, липолитических свойств, выявление гемолизинов и оксидоредуктаз. Использование автоматических микробиологических анализаторов.
25. Генетический аппарат бактерий (нуклеоид, плазмиды, мобильные генетические элементы). Биологическая роль плазмид. Характеристика мобильных генетических элементов.
26. Виды изменчивости бактерий. Фенотипическая и генотипическая изменчивость. Понятие о популяционной изменчивости.
27. Молекулярно-генетические методы исследования (молекулярная гибридизация, полимеразная цепная реакция): определение, принципы проведения, применение в стоматологии.
28. Учение об инфекции. Условия возникновения инфекционного процесса. Отличительные признаки инфекционных заболеваний. Типы инфекций.
29. Роль микроорганизма в инфекционном процессе. Патогенность и вирулентность, генетический контроль. Факторы патогенности.
30. Роль макроорганизма, природных и социальных факторов в инфекционном процессе.
31. Биологический (экспериментальный) метод исследования: задачи, оценка, этапы.
32. Химиотерапия и химиопрофилактикаГруппы противомикробных химиотерапевтических лекарственных средств. Особенности применения в стоматологической практике.
33. Антибиотики, определение, классификация. Требования к антибиотикам. Механизм действия антибиотиков.
34. Принципы рациональной антибиотикотерапии. Побочное действие антибиотиков.
35. Врожденная и приобретенная резистентность микроорганизмов к антибиотикам: генетические и биохимические механизмы.
36. Методы изучения чувствительности-устойчивости микробов к антибиотикам.
37. Экология микроорганизмов. Типы экологических связей. Биологическая роль нормальной микрофлоры.
38. Асептика, ее значение. Стерилизация: определение понятия, способы проведения, оценка качества проведения. Стерилизация инструментов и изделий медицинского назначения.
39. Дезинфекция, определение понятия, способы проведения. Группы дезинфектантов, применяемых в стоматологии.
40. Антисептика, определение понятия, способы проведения. Антисептические средства: классификация, механизм действия, побочное действие. Особенности применения антисептиков в стоматологии.

Перечень практических навыков

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

Лабораторная работа: учесть результаты опыта по определению чувствительности микробов к антибиотикам методом бумажных дисков *(см. занятие № 7)*.

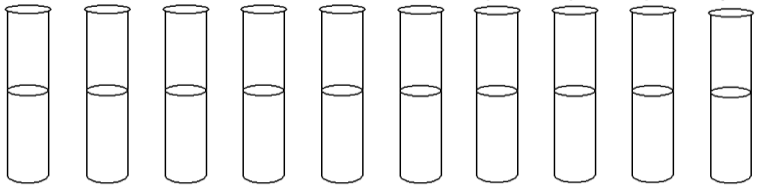
Занятие № 9 Дата_____

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

Перечень изучаемых вопросов:

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

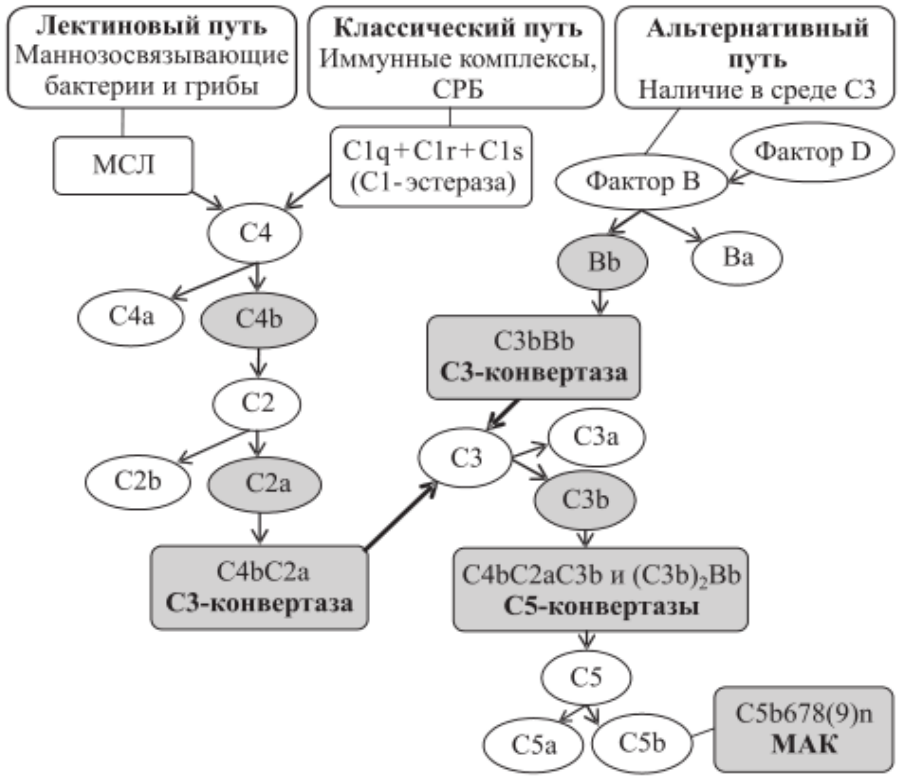
Лабораторная работа

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

Подпись преподавателя_____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 9

Пути активации комплемента



СРБ — С-реактивный белок.
МАК — мембраноатакующий комплекс.

Заполните таблицу.

Система комплемента

Путь активации	Классический	Лектиновый	Альтернативный
Вещества-активаторы			
С3-конвертаза			
С5-конвертаза			

Методы оценки функции фагоцитов

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

TOLL-подобные рецепторы

ТЛР	Лиганды
TLR-1	Триацил-липопептиды бактерий
TLR-2	Липотейхоевая кислота Пептидогликан Липоарабидоманнан Липопептиды микоплазм Клеточная стенка дрожжей (зимозан)
TLR-3	Двуцепочечная РНК
TLR-4	ЛПС Липотейхоевая кислота Белки теплового шока
TLR-5	Флагеллин
TLR-6	Полипептиды микоплазм, дрожжей (зимозан)
TLR-7	РНК вирусов
TLR-8	РНК вирусов
TLR-9	Бактериальные CpG олигонуклеотиды

Естественные киллеры

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

Основные маркеры клеток иммунной системы (номенклатура CD-АГ)

Антиген	Клетки, несущие антиген	Функции антигена
CD1	Кортикальные тимоциты, ДК	Связан с b2-микроглобулином, участвует в представлении антигена незрелым Т-Лф, презентация липидных АГ
CD1	Кортикальные тимоциты, ДК	Связан с b2-микроглобулином, участвует в представлении антигена незрелым Т-Лф, презентация липидных АГ
CD3	Зрелые Т-Лф	Связан с антигенраспознающим рецептором Т-Лф (TCR), участвует в их активации
CD4	Т-хелперы	Рецептор к MHC II, обеспечивает взаимодействие Т-Лф с макрофагами. Рецептор к ВИЧ
CD8	Т-киллеры	Рецептор к MHCI, обеспечивает взаимодействие цитотоксических лимфоцитов с клетками-мишенями
CD28	Часть Т-Лф и В-Лф	Активация Т-Лф, костимуляторный рецептор, молекула адгезии, связывается с CD80, CD86
CD19	В-Лф	Присутствует на пре-В-лимфоцитах и на всех зрелых В-лимфоцитах, участвует в активации В-лимфоцитов
CD20	Зрелые В-Лф	Присутствует на всех В-лимфоцитах. Кальциевый канал, регуляция активации В-Лф
CD21	В-Лф	Рецептор к комплементу и вирусу Эпштейна-Барр
CD40	В-Лф	Индуцирует пролиферацию В-лимфоцитов, активирует синтез цитокинов макрофагами, является молекулой адгезии (рецептор CD40L)
CD11	Лейкоциты (CD11a) и моноциты и гранулоциты (CD11b,c)	Участвуют в межклеточной адгезии
CD 16	NK, макрофаги (МФ), гранулоциты	Низкоаффинный рецептор IgG (компонент рецептора к Fc-фрамгменту IgG)
CD56	NK, часть Т-Лф	Участвует в межклеточных взаимодействиях
CD57	NK и Т-Лф	Присутствует на части лимфоцитов CD8, при некоторых вирусных инфекциях увеличивается число лимфоцитов, несущих одновременно CD8 и CD57

Биологические эффекты некоторых цитокинов

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

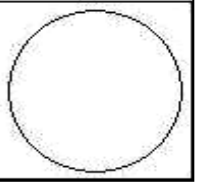
Занятие № 10 Дата_____

ТЕМА: Методы клинической и инфекционной иммунологии. Гуморальный иммунный ответ организма. Антигены. Антитела

Перечень изучаемых вопросов:

Иммунный ответ организма, определение, условия развития.
Антигены: строение, свойства, классификация.
В-система лимфоцитов. В-клеточный рецептор.
Гуморальный иммунный ответ. Антитела: структура молекулы, классы, функции. Моноклональные антитела, принципы получения, применение.
Методы оценки В-системы лимфоцитов: количественные и функциональные тесты.

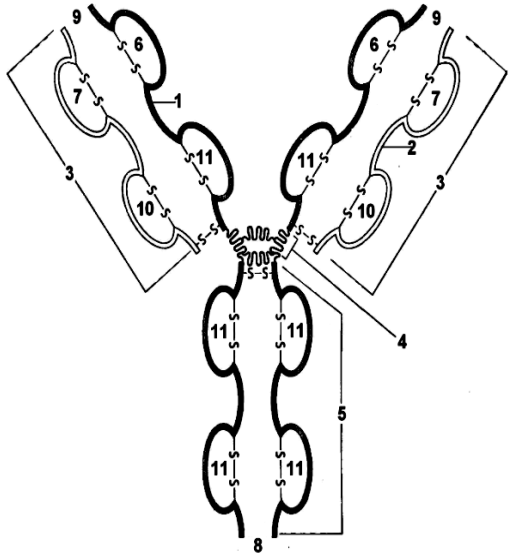
Лабораторная работа

1. Определить количественное содержание В-лимфоцитов методом иммунного розеткообразования в готовых препаратах.	**Препарат**_____ _____ _____ **Окраска**_____ _____ 	Метод выявляет маркер CD20 на поверхности В-лимфоцитов; N В-лимфоцитов – (CD20) = 8–20 % от общего числа лимфоцитов.

Подпись преподавателя_____

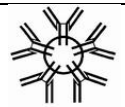
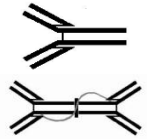
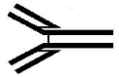
Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 10

Строение молекулы иммуноглобулина



Впишите цифры, обозначающие элементы молекулы Ig	
Легкая цепь (L)	
Вариабельный домен легкой цепи	
Константный домен легкой цепи	
Тяжелая цепь (H)	
Вариабельный домен тяжелой цепи	
Константные домены тяжелой цепи	
Шарнирный участок	
Fc-фрагмент	
Fab-фрагмент	
Активный центр (КДО)	
Клеточный рецептор	

Характеристика иммуноглобулинов

Структура	Характеристика	Класс Ig
	Четыре субкласса. Мономер. Проникает через плаценту. Высокоэффективны в противоинфекционной защите. Специфичность высокая	**Ig**___
	Пентамер. Образуются преимущественно при первичном иммунном ответе. Специфичность невысокая	**Ig**___
	Два субкласса. Моно-, ди-, тримерные. Сывороточный является мономером, а секреторный (экзокринный) — ди- или тримером. Секреторный выделяется на внешнюю сторону слизистой, обеспечивая местный иммунитет	**Ig**___
	Мономер. Высокая цитофильность. Участвуют в аллергических реакциях немедленного типа; в противопаразитарном иммунитетете	**Ig**___
	Мономер. Экспрессируются в основном на мембране В-лимфоцитов, участвуют в их дифференцировке, выполняют рецепторную функцию	**Ig**___

Занятие № 11 Дата_____

ТЕМА: Методы клинической и инфекционной иммунологии. Клеточный иммунный ответ организма. Аллергия

Перечень изучаемых вопросов:

Т-система лимфоцитов. Маркеры Т-клеток. Т-клеточный рецептор. Генетический контроль разнообразия ТКР. Характеристика субпопуляций Т-лимфоцитов: Т-хелперов, Т-киллеров, Т-эффекторов ГЗТ, Т-регуляторов. Т-хелперы 1-го и 2-го типов.
Клеточный тип иммунного ответа и его проявления.
Методы оценки Т-системы лимфоцитов: количественные и функциональные тесты.
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.

Лабораторная работа

1. Определить количественное содержание CD3+ Т-лимфоцитов методом иммунного розеткообразования в готовых препаратах.

Препарат_____
_____
_____
Окраска_____
_____

2. Реакция бласттрансформации лимфоцитов.

Препарат_____
_____
_____
Окраска_____
_____

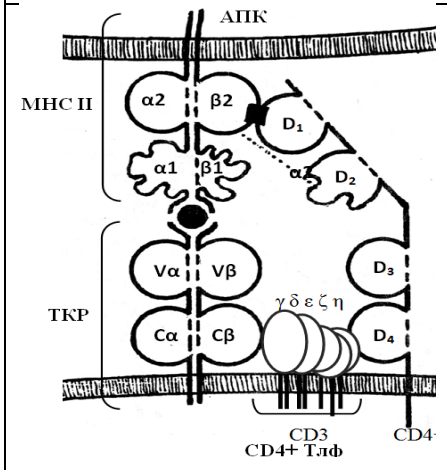
3. Реакция дегрануляции тучных клеток.

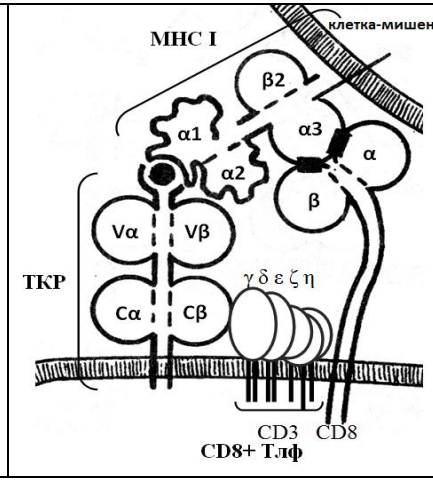
Препарат_____
_____
_____
Окраска_____
_____

Подпись преподавателя_____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 11

Т-клеточный рецептор и ко-рецепторы Т-Лф





Т-клеточный рецептор (ТКР) — гетеродимер, состоящий из двух различных цепей. Обе цепи являются трансмембранными белками суперсемейства иммуноглобулинов. Внеклеточная часть содержит один вариабельный и один константный домен. Эта часть молекулы вместе со второй цепью образует агретоп (антигенспецифический участок) и отвечает за распознавание и связывание антигена. Мембранная часть молекул стабилизирует структуру рецептора при отсутствии антигена. Клеточная часть участвует в проведении сигнала активации к ядру лимфоцита. **Ко-рецепторы.** ТКР ассоциирован с молекулами CD3 и CD4/CD8. CD3 — гетерополимер, состоящий как минимум из пяти полипептидных цепей, которые расположены на мембране как единый кластер, распознаются моноклональными антителами как CD3-специфичность и участвуют в передаче сигнала о распознавании и связывании АГ. Ко-рецепторы CD4 и CD8 тесно связаны с ТКР и распознают молекулы гистосовместимости соответственно II и I классов. Эти рецепторы экспрессируются в соответствии субпопуляционной принадлежностью Т-Лф и обеспечивают рестрикцию распознавания Т-Лф, поскольку АГ, ассоциированные с молекулами MHC II – это продукты переработки экзоантигенов, а ассоциированные с молекулами MHC I – продукты переработки эндоантигенов (АГ, синтезированных внутри клетки).

Заполните таблицу.

Типы иммунного ответа

		Клеточный иммунный ответ		Гуморальный иммунный ответ
		Клеточная цитотоксичность	**Воспалительный иммунный ответ (ГЗТ)**	
Антиген (локализация АГ)				
Презентация АГ	АПК			
	МНС			
	Процессинг			
Субпопуляция Т-Лф				
Медиаторы (цитокины)				
Клетки-эффекторы				
Эффекторный механизм				
Результат иммунного ответа				

Заполните таблицу.

Аллергические реакции

Тип реакции	Аллергены	Механизм развития	Примеры
I тип ГНТ _____			
II тип ГНТ _____			
III тип ГНТ _____			
IV тип (ГЗТ) _____			

Занятие № 12 Дата_____

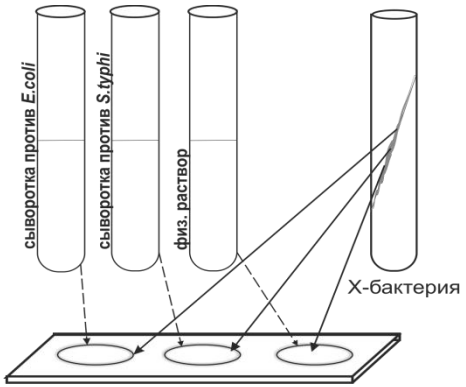
ТЕМА: Методы клинической и инфекционной иммунологии. Серологический метод исследования

Перечень изучаемых вопросов:

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

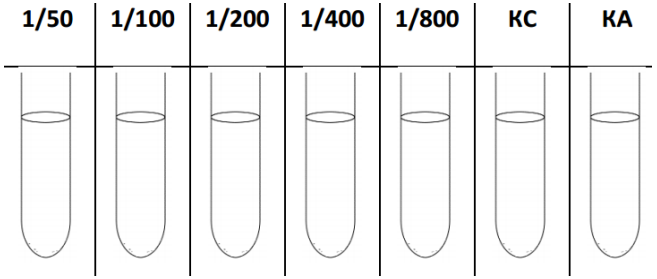
Лабораторная работа

1. Поставить реакцию агглютинации на стекле для идентификации бактерий.



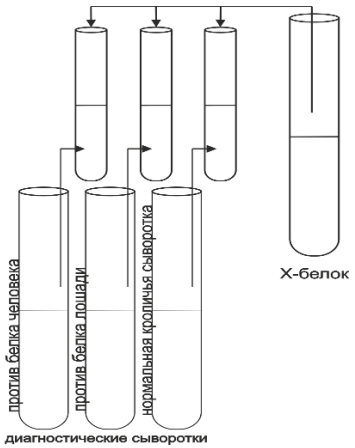
Заключение:
_____

2. Учесть реакцию агглютинации в пробирках.



Заключение: _____

3. Поставить реакцию кольцепреципитации для идентификации Х-антигена.



Заключение:
_____

4. Учесть реакцию пассивной гемагглютинации.

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

Заключение: _____

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

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

Карта постановки

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

(фрагмент иммунологического планшета)

Учет ИФА

Оценка достоверности теста:

а) средняя ОП отрицательных контролей ($ОПК^-$) должна быть < 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) средняя 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 (ОП критической)

Расчет уровня cut-off: ОП cut-off = средняя $ОПК^-$ + 0,04

Интерпретация результатов

Номер образца	ОП образца	Заключение
1		
2		
3		
4		

Подпись преподавателя_____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 12

Дайте определение следующим понятиям.

Диагностическая сыворотка _____

_____

Диагностикум _____

_____

Титр сыворотки _____

_____

Диагностический титр _____

_____

Защитный титр _____

_____

Парные сыворотки _____

_____

Схема иммуноферментного анализа (ИФА)	Схема реакции иммунофлюоресценции (РИФ)

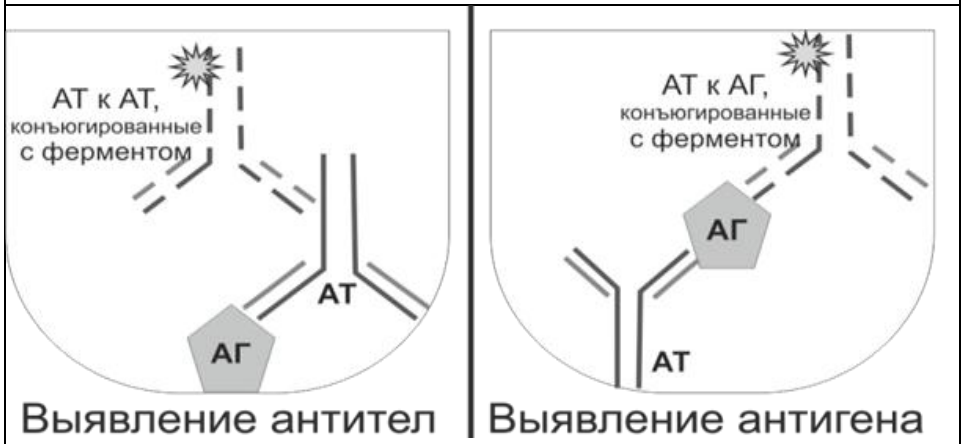
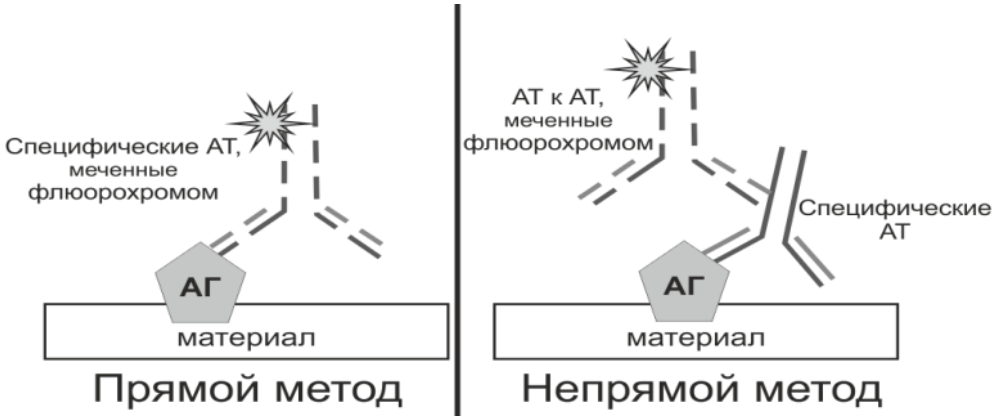
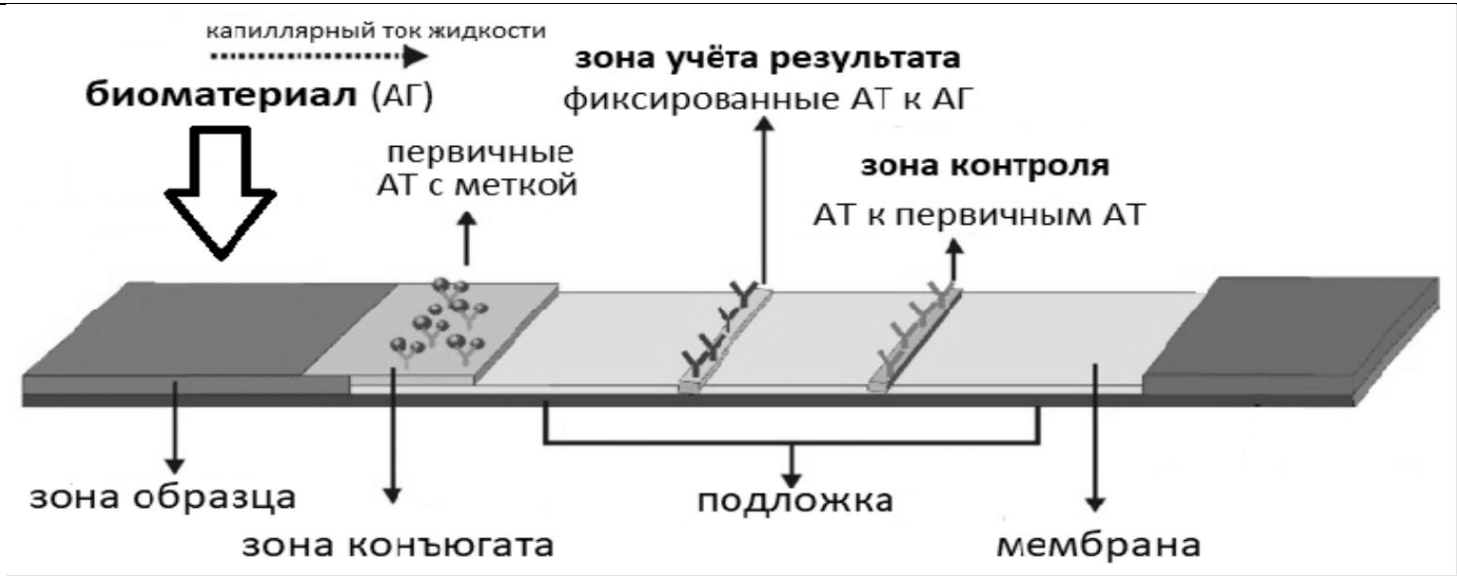

	

Схема иммунохроматографического анализа (выявление АГ)	
	

Занятие № 13 Дата_____

ТЕМА: Иммунопрофилактика и иммунотерапия. Иммунопатология и клиническая иммунология

Перечень изучаемых вопросов:

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

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

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

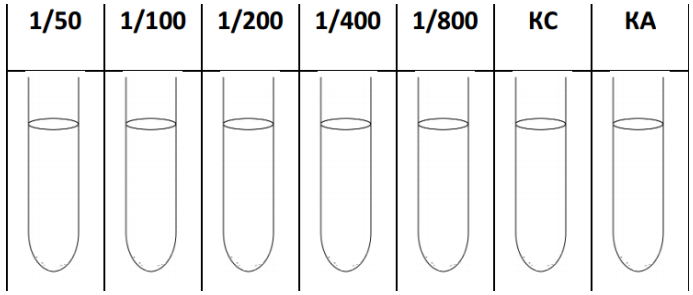
Аутоиммунные болезни, причины возникновения, проявления. Аутоантитела, диагностическое значение, методы определения.

Противоопухолевый иммунитет.

Лабораторная работа

1. Учет РА для определения напряженности иммунитета к коклюшу.

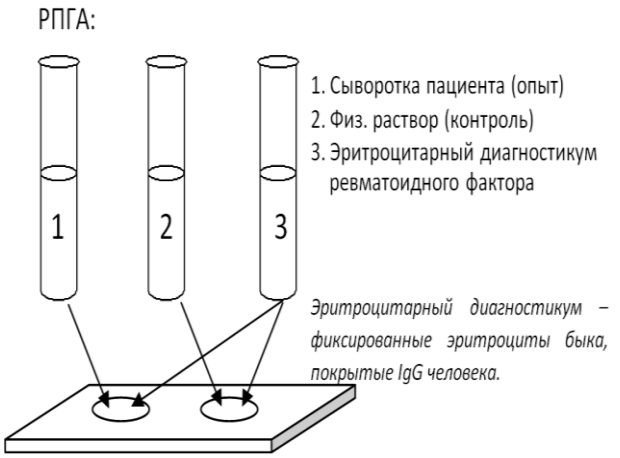
Защитный титр — 1/100



Заключение:_____

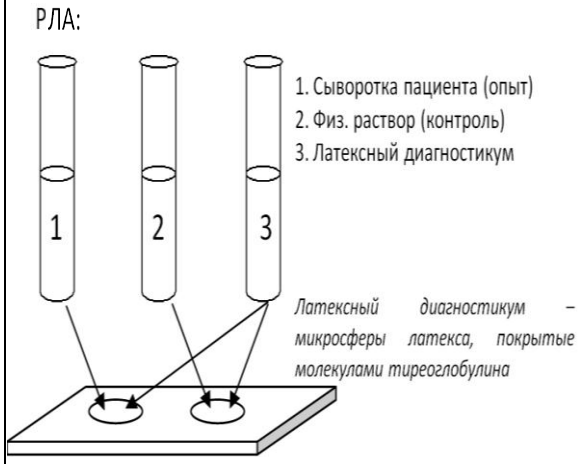
2. Постановка и учет РПГА для определения ревматоидного фактора.

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



Заключение:_____

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



Заключение:_____

Подпись преподавателя_____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 13

Заполните таблицу.

Типы вакцин

Тип вакцины	Описание	Преимущества	Недостатки	Примеры
Живые (аттенуированные)				
Инактивированные				
Анатоксины				
Субъединичные				
Конъюгированные				

Уровни оценки иммунного статуса

I уровень (ориентировочный): *иммунологический скрининг* • абсолютное и относительное количество лейкоцитов; • абсолютное и относительное количество Т-лимфоцитов (CD3+, проточная цитометрия); • абсолютное и относительное количество В-лимфоцитов (CD19+, проточная цитометрия); • концентрация IgG, IgM, IgA (радиальная иммунодиффузия); • фагоцитоз частиц латекса (фагоцитарный показатель, поглотительная активность); • микробицидная активность кислородозависимых систем нейтрофилов (НСТ-тест); • уровень циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК, преципитация с ПЭГ-6000); • общая активность комплемента (по 50% гемолизу сенсибилизированных эритроцитов барана).	**II уровень (аналитический):** *детальное исследование отдельных звеньев иммунитета по показаниям* • Т-лимфоциты (CD3+, проточная цитометрия); их субпопуляции (CD4+ и CD8+); • соотношение CD4+/CD8+ • В-лимфоциты (CD19+, CD22+-, CD72+, проточная цитометрия); • NK- лимфоциты (CD16+, CD56+, проточная цитометрия); • моноциты (CD14+, проточная цитометрия); • IgE, определение субклассов IgG, IgM, IgA (ИФА); • антитела к тиреоглобулину (ИФА); • ревматоидный фактор (ИФА); • пролиферативный ответ Т- и В- лимфоцитов на митогены; • компоненты комплемента (С1, С3 и др., ИФА); • цитокины (ИЛ2, ИЛ4, ИЛ6, γ-ИФН и др., ИФА).

Занятие № 14 Дата_____

ИТОГОВОЕ ЗАНЯТИЕ: «Иммунология. Иммунитет. Аллергия»

Перечень вопросов

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

Перечень практических навыков

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

Занятие № 15 Дата_____

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

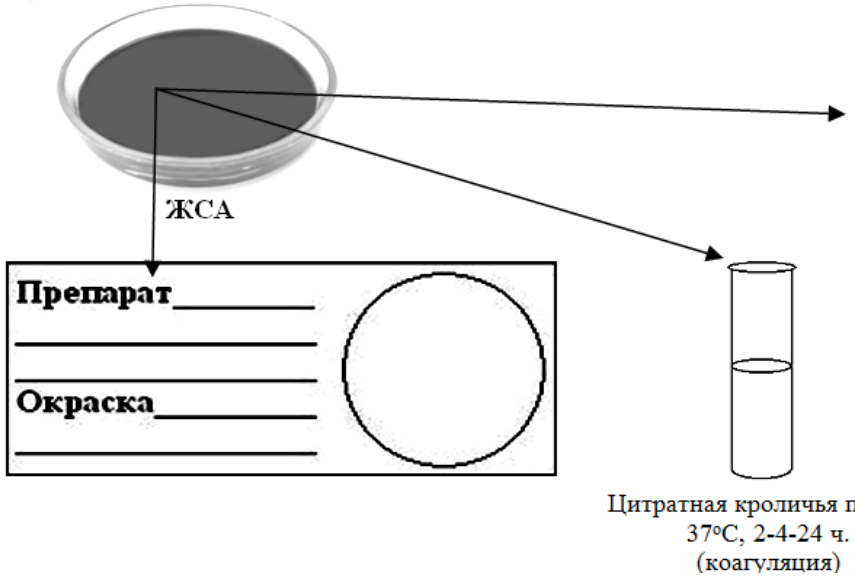
Перечень изучаемых вопросов:

Стафилококки, систематика, общая характеристика, факторы патогенности. Стафилококковые инфекции: патогенез, иммунитет, микробиологическая диагностика, принципы профилактики, этиотропной и иммунотерапии. Стафилококковое носительство: диагностика, значение. Больничные эковары стафилококков. Метициллин-резистентный *S. aureus* (MRSA), антибиотики выбора для терапии инфекций, вызываемых MRSA.

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

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

Лабораторная работа

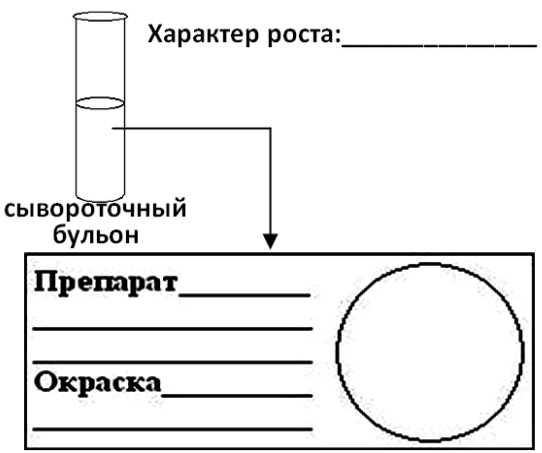
Задание	Методы, результаты
1. Микробиологическая диагностика стафилококковой инфекции (II этап): 1) макро- и микроскопическое изучение колоний на ЖСА; 2) постановка пробы на плазмокоагулазу.	

Признак	Колонии стафилококка
Форма	
Размер	
Поверхность	
Край	
Цвет	
Консистенция	
Прозрачность	
Лецитиназа	

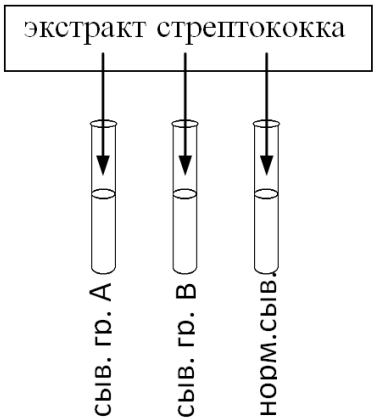
Заключение: по морфологическим, культуральным и биохимическим признакам идентифицирован _____

2. Микробиологическая диагностика стрептококковых инфекций (III этап):

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



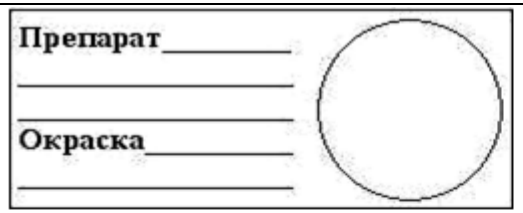
Реакция кольцепреципитации:

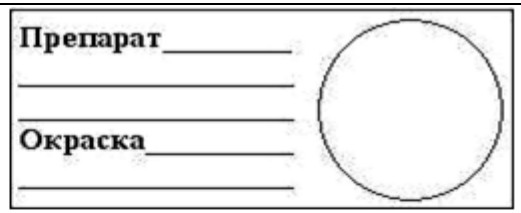


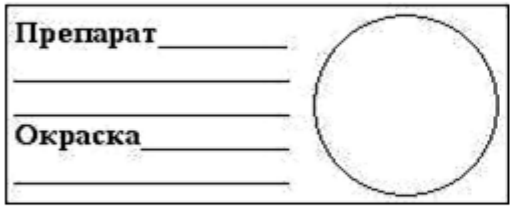
Заключение: по морфологическим, культуральным и антигенным свойствам идентифицирован _____

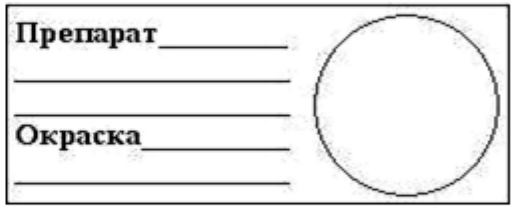
3. Зарисовать демонстрационные препараты *(название видов бактерий записываются на латинском языке)*:

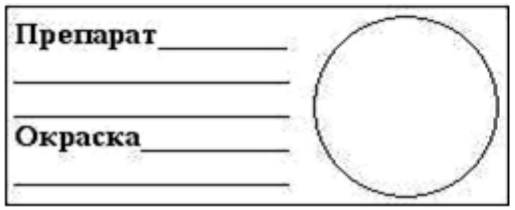
1) стафилококк в гное, окраска по Граму;
2) стрептококк в чистой культуре, окраска по Граму;
3) пневмококк в чистой культуре, окраска по Граму;
4) пневмококк в органах белой мыши, окраска по Граму;
5) гонококк в гное больного гонореей, окраска по Граму;
6) препарат из ликвора больного менингитом, окраска метиленовым синим.

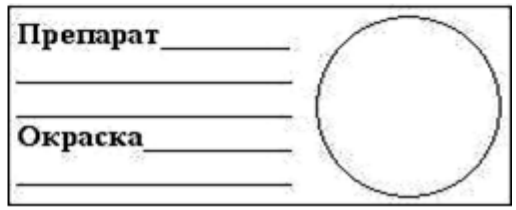












Демонстрация:

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

Подпись преподавателя_____

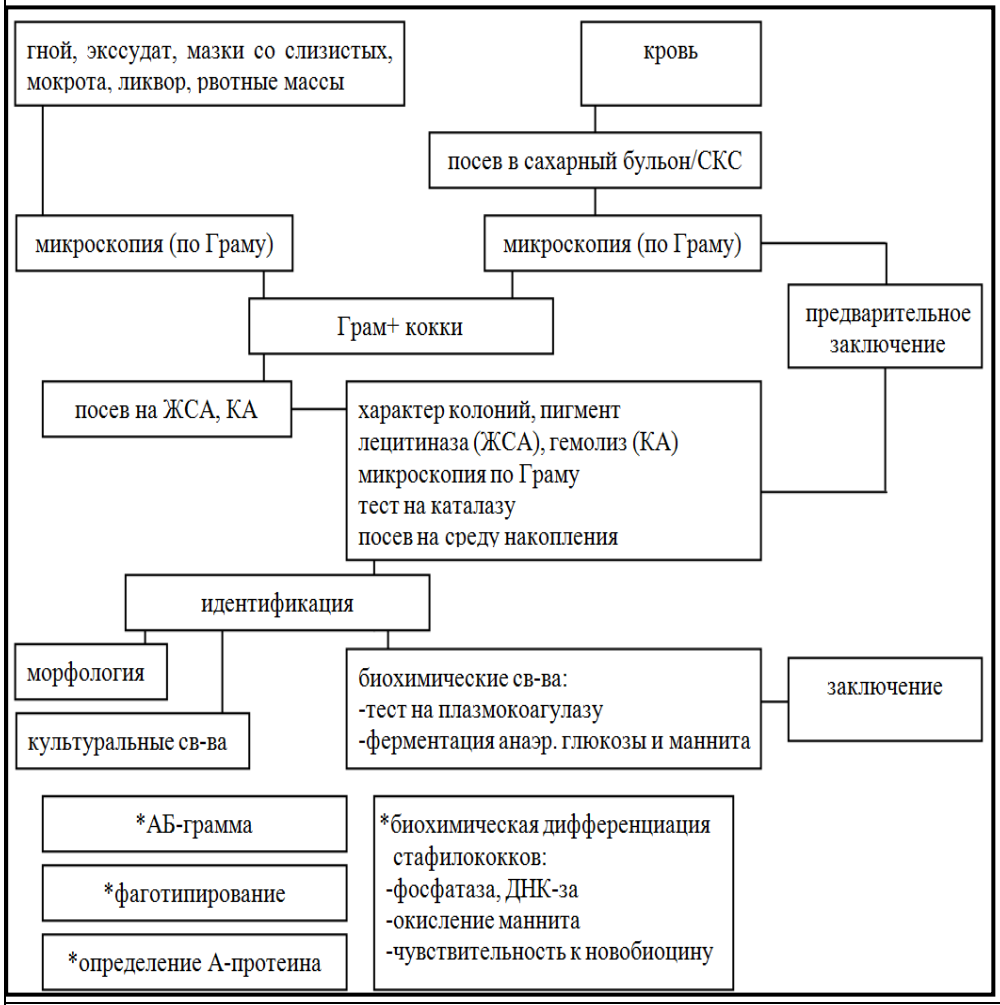
Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 15

Заполните таблицу.

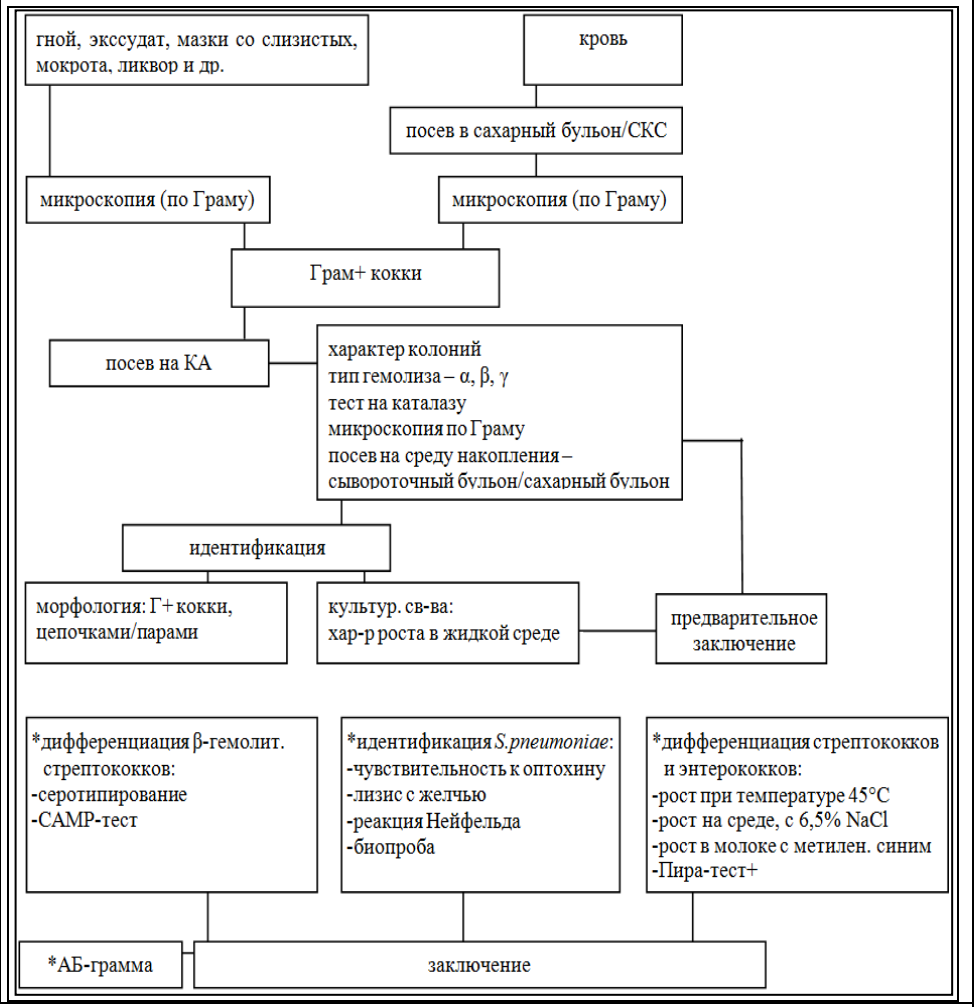
Характеристика кокков-возбудителей заболеваний человека

Микроорганизм	**Стафилококки**	**Стрептококки**		**Нейссерии**	
Виды	***S. aureus*** *S. epidermidis,* *S. saprophyticus*	***S. pyogenes*** *S. agalactiae,* *S. mutans, S. mitis*	***S. pneumoniae***	***N. meningitidis***	***N. gonorrhoeae***
Морфология: - форма и расположение - тинкториальные свойства - капсула (микро-/макро) - подвижность - споры					
Антигены					
Культуральные свойства: - пит. среды - условия роста - характер роста, колонии					
Биохимические свойства: -сахаролитические -протеолитические -липолитические -ОВ-ферменты					
Патогенность: -заболевания -факторы патогенности -патогенез инфекций					
Специфическая профилактика и терапия: -активная профилактика -пассивная профилактика -антибиотики					

Бактериологическая диагностика стафилококковых инфекций



Бактериологическая диагностика стрептококковых инфекций



Сокращения и обозначения:
Знаком «*» помечены дополнительные тесты и исследования.
СКС — среда для контроля стерильности, ЖСА — желточно-солевой агар, КА — кровяной агар.

Занятие № 16 Дата_____

ТЕМА: Методы микробиологической диагностики острых кишечных инфекций, вызываемых энтеробактериями. Принципы диагностики пищевых отравлений

Перечень изучаемых вопросов:

Общая характеристика представителей семейства энтеробактерий.

Эшерихии, общая характеристика, роль в норме и патологии.

Сальмонеллы, классификация и общая характеристика. Роль в патологии, патогенез заболеваний. Прояления брюшного тифа в полости рта.

Шигеллы, классификация, общая характеристика. Патогенез шигеллезов.

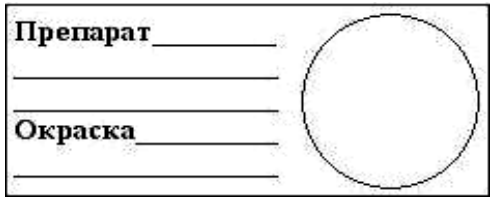
Общие принципы диагностики острых кишечных инфекций, вызываемых патогенными энтеробактериями. Дифференциально-диагностические среды для энтеробактерий.

Этиология пищевых отравлений микробной природы, принципы диагностики.

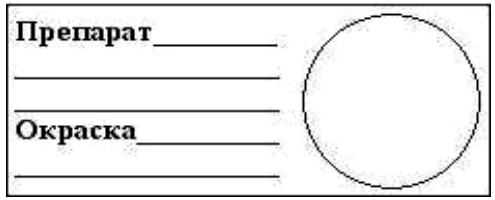
Лабораторная работа

1. Зарисовать демонстрационные препараты.

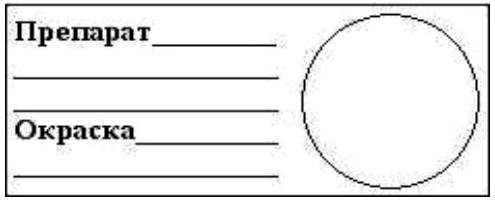
1) *Escherichia coli,* окраска по Граму.



2) *Salmonella spp.,* окраска по Граму.



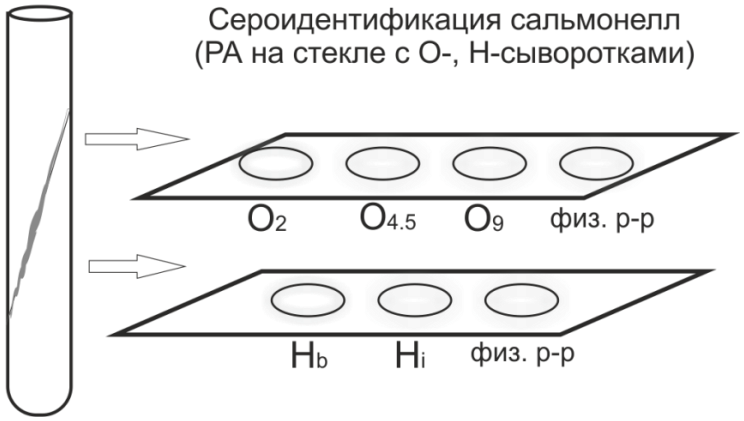
3) *Shigella spp.,* окраска по Граму.



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

Демонстрация:

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



Заключение: по антигенным свойствам идентифицирован _____

_____

Подпись преподавателя_____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 16

Характеристика сем. *Enterobacteriaceae* (заполняется к занятиям №№ 16–17)				
Роды	***Escherichia***	***Salmonella***	***Shigella***	***Klebsiella***
Виды	***E. coli***	***S. typhi, S. paratyphi A S. schottmuelleri S. enteritidis, S. typhimurium***	***S. dysenteriae, S. flexneri, S. boydii, S. sonnei***	***K. pneumoniae (подвиды: ozaenae, rhinoscleromae, pneumoniae), K. oxytoca***
Морфология: - форма и расположение - тинкториальные свойства - капсула(микро-/макро) - подвижность				
Антигены				
Культуральные свойства: - пит ательные среды - условия роста - характер роста, колонии				
Биохимические свойства: - сахаролитические - протеолитические				
Патогенность: - заболевания - факторы патогенности - патогенез инфекций				
Специфическая профилактика и терапия				
Методы диагностики				

Диагностика пищевых отравлений бактериальной природы

Пищевые отравления — острые системные заболевания, возникающие в результате приема в пищу продуктов, массивно обсемененных микроорганизмами или содержащих микробные экзотоксины. Пищевые отравления бактериальной природы подразделяются на пищевые токсикоинфекции и пищевые интоксикации (токсикозы), а также отравления смешанной этиологии.

Пищевые токсикоинфекции (ПТИ): ОКИ, возникающие в результате употребления в пищу массивно обсемененных некоторыми бактериями продуктов. Возбудители: условно-патогенные представители порядка *Enterobacteriales — E. coli, Proteus (P. vulgaris, P. mirabilis), Morganella morganii, Citrobacter, Enterobacter, Hafnia, Klebsiella pneumoniae*; сем. *Vibrionaceae — V. parahaemolyticus*; сем. *Bacillaceae — B. cereus;* сем. *Streptococcaceae — E. faecalis*; сем. *Pseudomonadaceae — P. aeruginosa* и др.	**Пищевые микробные токсикозы (интоксикации):** острые заболевания, возникающие при употреблении в пищу продуктов, в которых в результате массивного размножения микробов содержится большое количество экзотоксина. К ним относят ботулизм, токсикозы, вызванные стафилококковым энтеротоксином, токсинами *C. perfringens* серовара А, реже — E, F; и токсинами микроскопических грибов.
Патогенез. Возбудитель размножается в тонком кишечнике, проникает в лимфоидный аппарат, где происходит его массовая гибель с выделением эндотоксина, который вызывает поражение интрамурального нервного аппарата кишечника и клеток ЦНС, сосудов, а бактерии вызывают воспалительный процесс в стенке кишечника.	**Патогенез.** Действие микробного экзотоксина, который не разрушается при кипячении, пищеварительными ферментами, устойчив к кислому содержимому желудка.

Материалы для исследования: рвотные массы, промывные воды желудка, испражнения, моча, кровь, секционный материал (в случае летального исхода), остатки подозреваемой пищи (употребленной заболевшим), исходных продуктов и полуфабрикатов, которые использовались при ее приготовлении, суточные пробы пищи, смывы и соскобы с кухонного инвентаря.

Лабораторная диагностика: выделение облигатно-патогенных или условно-патогенных энтеробактерий и вибрионов, стафилококков и их токсинов, стрептококков, бацилл, а также (по показаниям) – возбудителей и токсинов ботулизма. Для оценки этиологической роли УПМ главным критерием является количественный. Этиологически значимое кол-во УПМ 10^5–10^6 и более КОЕ в 1 г. Диагноз более достоверный при одновременном обнаружении тех же микробов или токсинов в пищевых продуктах, явившихся причиной заболевания. Этиологическую роль микроба подтверждает его повторное выделение из материала больного, идентичность штаммов.

Типы взаимодействия энтеробактерий со слизистой оболочкой кишечника

Тип	Виды бактерий	Характеристика	Механизм взаимодействия
I	*E. coli* (ЭТКП)	Неинвазивные, нецитотоксичные, высоко энтеротоксигенные. Вызывают холероподобные колиэнтериты	Колонизируют слизистую тонкого кишечника, не вызывая его повреждения, без инвазии. Действие энтеротоксина ведет к нарушению водно-солевого баланса и обильной диарее «секреторного» типа
II	*E. coli* (ЭПКП)	Цитотоксичные, ограниченно инвазивные, иногда энтеротоксигенные. Вызывают энтерит (колиэнтерит)	Размножаются на поверхности эпителия тонкого и толстого кишечника с разрушением микроворсинок, повреждением апикальной поверхности эпителия, развитием умеренного воспаления и эрозий. При продукции энтеротоксина возможна диарея «секреторного» типа
III	*E. coli* (ЭИКП), *Shigella spp.*	Высоко инвазивные, цитотоксичные, проникают в эпителиоциты толстой кишки и размножаются в них. Вызывают дизентерию и дизентериеподобные заболевания	Размножение в эпителиоцитах сопровождается цитотоксическим действием. Разрушение эпителиоцитов сопровождается выраженным воспалением и изъязвлением слизистой. Возможна диарея «инвазивного» типа со слизью и кровью
IV	*Salmonella spp.*, энтеропатогенные *Yersinia spp.*	Инвазивные, цитотоксичные, проникают через эпителий (трансцитоз) тонкого и толстого кишечника в собственную пластинку и лимфоидные структуры, размножаются в макрофагах и вызывают генерализованную инфекцию	Размножение в макрофагах приводит к развитию выраженного воспаления с преимущественным поражением лимфоидной ткани и вторичными дефектами эпителия кишечника. При продукции энтеротоксинов развивается диарея

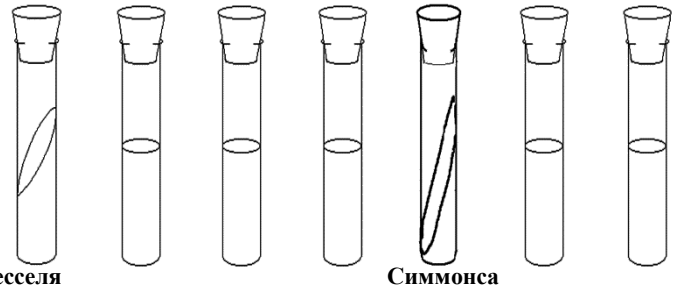
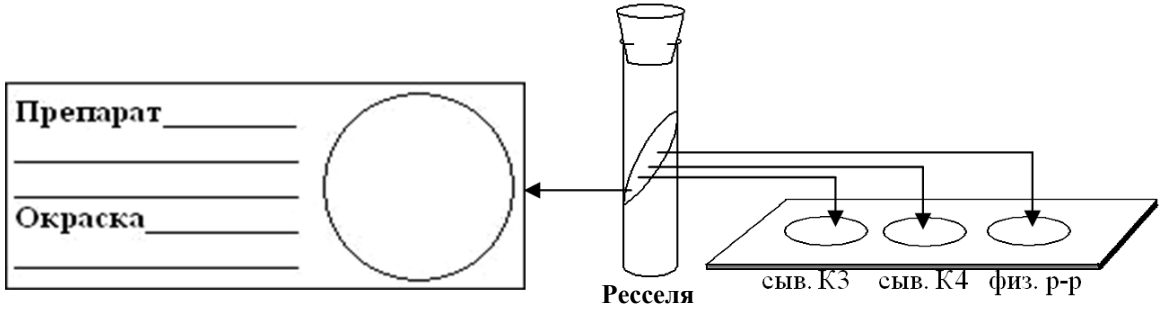
Занятие № 17 Дата_____

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

Перечень изучаемых вопросов:

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

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
1. Самостоятельная работа по теме «Микробиологическая диагностика клебсиеллезов»: 1) Изучить рост клебсиелл на модифицированной среде Рекселя. 2) Определить наличие капсулы. 3) Произвести учет биохимических свойств клебсиелл. 4) Поставить реакцию капсульной агглютинации на стекле для определения К-антигена и установления сероварианта.	**Учет биохимических свойств**  **Рекселя** *лактоза глюкоза* *лактоза* *глюкоза* *сахароза* **Симмонса** *цитрат* *малонат* *мочевина* **Реакция капсульной агглютинации**  Препарат_____ Окраска_____ **Рекселя** сыв. К3 сыв. К4 физ. р-р

Дифференциальные питательные среды

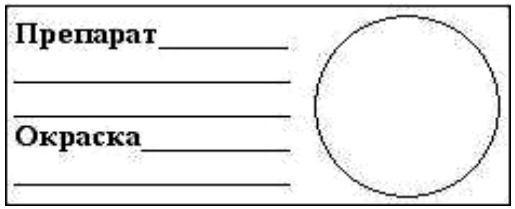
1. Модифицированная среда Рекселя содержит глюкозу, лактозу и бромтимоловый синий индикатор. Клебсиелла склеромы дает пожелтение только столбика, клебсиелла пневмонии — пожелтение и разрыв всей среды, клебсиелла озены — различные варианты.
2. Среды с лактозой, глюкозой, сахарозой (с индикатором бромтимоловым синим). Исходный цвет сред — зеленый (оливковый). При ферментации углевода — желтый цвет. При ферментации до кислоты и газа — желтый цвет среды и пузырек газа в поплавке.
3. Среда Симмонса для изучения утилизации цитрата натрия (индикатор бромтимоловый синий). В положительном случае появляется рост, и среда синеет, в отрицательном — роста нет, цвет не изменяется.
4. Среда с малонатом натрия (тот же принцип, что и среда Симмонса).
5. Среда с мочевиной. При гидролизе мочевины (фермент уреаза) происходит защелачивание среды (индикатор Андреде) — красное окрашивание. При отсутствии продукции уреазы — цвет не изменяется (желтый).

Биохимические свойства	*K. pneumoniae*			*K. oxytoca*
	s. rhinoscleromatis	*s. ozaenae*	*s. pneumoniae*	
Глюкоза с газом	-	+/-	+	+
Лактоза	-	+/-	+	+
Сахароза	- (4 сутки +)	+/-	+	+
Цитрат аммония	-	+/-	+	+
Мочевина	-	-/+	+	+
Малонат натрия	+	-	+	+
Индол	-	-	-	+
Рост при 10 °С	-	-	-	+
О и К антигены	О2а:К3	О2в:К4	О1,О3-5:К1-3	О1,О3-5: К7-82

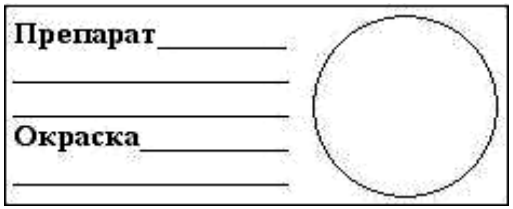
Заключение: по морфологическим, культуральным, биохимическим и антигенным свойствам идентифицирован _____

2. Зарисовать демонстрационные препараты *(название видов бактерий записываются на латинском языке).*

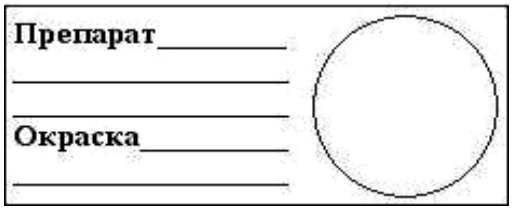
1) Капсула клебсиеллы склеромы, окраска по Бурри-Гинсу.



2) Синегнойная палочка, окраска по Граму.



3) Возбудитель кампилобактериоза, окраска по Граму.



Демонстрация:

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

Подпись преподавателя_____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 17

Характеристика кампило- и хеликобактерий, синегнойной палочки

Виды	***C. jejuni***	***H. pylori***	***P. aeruginosa***
Морфология			
Культуральные и биохимические свойства			
Патогенность			
Специфическая профилактика и терапия			

Занятие № 1 (18) Дата_____

ТЕМА: Методы микробиологической диагностики дифтерии и коклюша

Перечень изучаемых вопросов:

Коринебактерии дифтерии, общая характеристика. Типы коринебактерий дифтерии. Патогенез дифтерии, проявления дифтерии в полости рта. Микробиологическая диагностика дифтерии. Принципы терапии и профилактики дифтерии.

Возбудитель коклюша, свойства, факторы патогенности, дифференциация с возбудителем паракоклюша. Патогенез коклюша, иммунитет, диагностика. Принципы терапии и профилактики коклюша.

Лабораторная работа

Задание

1. Бактериологическая диагностика дифтерии:

1) изучение роста колоний коринебактерий на теллуритовой среде;

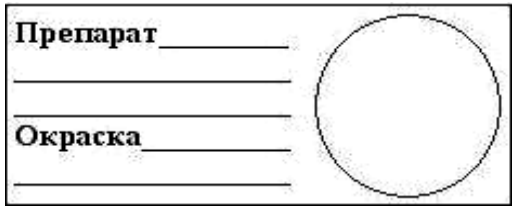
2) отсев колоний на «пестрый ряд» (глюкоза, сахароза, крахмал), тесты на уреазу, цистиназу.

Выполняется на занятии № 2:

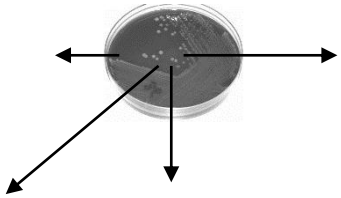
Учет биохимической активности коринебактерий, пробы на токсигенность; идентификация.

Методы, результаты

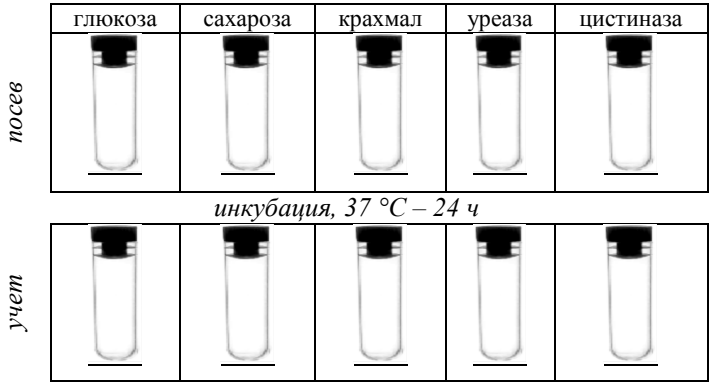
Морфология



Волютин _____



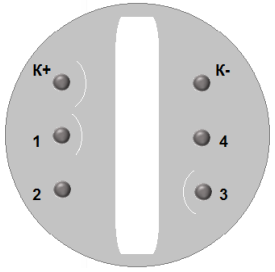
Биохимическая идентификация



Культуральные свойства

Характеристика колоний	
Признак	**Сывороточный агар с теллуритом калия**
Форма	
Размер	
Поверхность	
Край	
Цвет	
Консистенция	

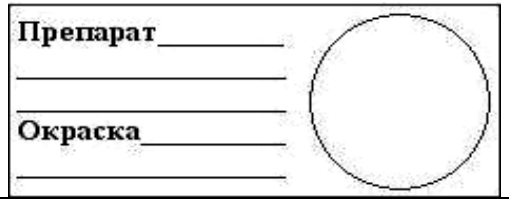
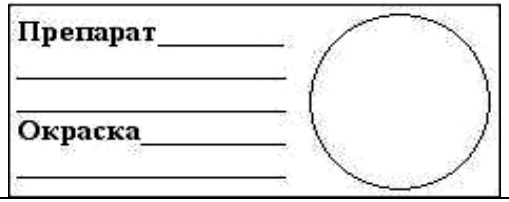
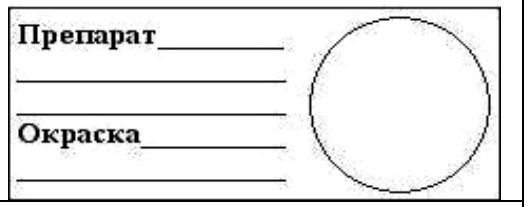
Тест на токсигенность



_____

Вид коринебактерий	Расщепление				
	с образованием кислоты			цистеина с образованием H_2S	мочевины
	глюкозы	сахарозы	крахмала		
C. diphtheriae gravis	+	–	+	+	–
mitis	+	–	–	+	–
C. pseudodiphtheriae (hofmani)	–	–	–	–	+
C. xerosis	+	+	–	–	+
C. ulcerans	+	–	+	+	+
Х-бактерия					

Заключение: на основании морфологических, культуральных и биохимических свойств идентифицирован _____

2. Зарисовать демонстрационные препараты.	1) Возбудитель дифтерии, окраска по Нейссеру.	2) Возбудитель дифтерии, окраска по Леффлеру.	3) Возбудитель коклюша, окраска по Граму.
			

Демонстрация:

1. Проба на токсигенность коринебактерий дифтерии.
2. РПГА для оценки напряженности противодифтерийного иммунитета.
3. Препараты для специфической профилактики и лечения дифтерии и коклюша.
4. Рост бордетелл коклюша и паракоклюша на казеиново-угольном агаре, МПА с тирозином, проба на уреазу.

Подпись преподавателя_____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 1 (18)

Характеристика коринебактерий и бордетелл

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

Занятие № 2 (19) Дата_____

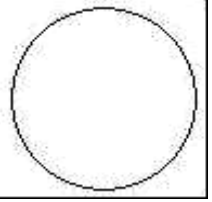
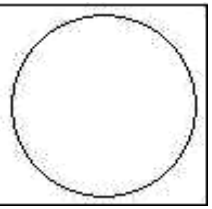
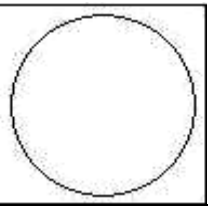
ТЕМА: Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых актиномицетами и микобактериями

Перечень изучаемых вопросов:

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

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

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
1. Учет сахаролитической активности коринебактерий, идентификация.	*См. занятие № 1 (18).*
2. Зарисовать демонстрационные препараты: 1) Микобактерии туберкулеза в мокроте больного, окраска по Цилю-Нильсену. 2) Корд-фактор микобактерий туберкулеза, окраска по Цилю-Нильсену. 3) Актиномицеты, чистая культура, окраска по Граму. **Демонстрация:** 1. Рост микобактерий на питательных средах. 2. Метод флотации. 3. Определение лекарственной устойчивости микобактерий туберкулеза.	**Препарат**_____ _____ _____ **Окраска**_____ _____  **Препарат**_____ _____ _____ **Окраска**_____ _____  **Препарат**_____ _____ _____ **Окраска**_____ _____ 

Подпись преподавателя_____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 2 (19)

Характеристика актиномицетов и микобактерий

Микроорганизм	Морфология	Культуральные свойства	Патогенность заболевания	
			Фактор патогенности	**Биологический эффект**
Mycobacterium spp: ***-M. tuberculosis,*** ***-M. bovis,*** ***-M. africanum***			1. Токсические липиды: - корд-фактор — гликолипид (трегалозы димиколат)	Разрушает митохондрии клеток, нарушает функцию дыхания. Участвует в адгезии, препятствует фагоцитозу
			- миколовая кислота	Обеспечивает кислотоустойчивость, антифагоцитарные свойства
			- фосфатиды (фтионовая кислота)	Образование гранулем
			- свободные жирные кислоты	Обеспечивают цитотоксическое поражение клеток гранулемы (творожистое перерождение)
			- сульфатиды (серосодержащие гликолипиды)	Усиливают действие корд-фактора, ингибируют слияние фагосомы с лизосомой
			2. Нуклеопротеиды	Вызывают сенсибилизацию организма (ГЗТ), в инфицированном организме дают положительную кожную пробу
Actinomyces spp.				

Методы микробиологической диагностики туберкулеза

ДИАСКИНТЕСТ — внутрикожный диагностический тест, который представляет собой рекомбинантный белок, содержащий два связанных между собой антигена — ESAT6 и CFP10, характерных для вирулентных штаммов микобактерий туберкулеза (*Mycobacterium tuberculosis* и *Mycobacterium bovis*). Данные антигены отсутствуют в вакцинном штамме *Mycobacterium bovis* BCG и у большинства нетуберкулезных микобактерий, поэтому диаксинтест вызывает иммунную реакцию только на микобактерии туберкулеза и не дает реакции, связанной с вакцинацией БЦЖ. Благодаря данным качествам, диаскинтест обладает практически 100 % чувствительностью и специфичностью, сводя к минимуму вероятность развития ложноположительных реакций, которые в 40–60 % случаев наблюдаются при использовании традиционного внутрикожного туберкулинового теста (проба Манту). Техника постановки и учета результатов идентичны пробе Манту с туберкулином.

Занятие № 3 (20) Дата_____

ТЕМА: Методы микробиологической диагностики анаэробных инфекций

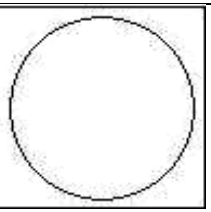
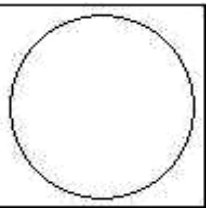
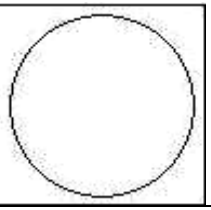
Перечень изучаемых вопросов:

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

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

Общие принципы и методы диагностики анаэробных инфекций.

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
1. Зарисовать демонстрационные препараты: 1) Клостридии, окраска по Граму. 2) Бактероиды, окраска по Граму. 3) Вейлонеллы, окраска по Граму. **Демонстрация:** 1. Рост анаэробов на питательных средах.	**Препарат**_____ _____ _____ **Окраска**_____ _____  **Препарат**_____ _____ _____ **Окраска**_____ _____  **Препарат**_____ _____ _____ **Окраска**_____ _____ 

Подпись преподавателя_____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 3 (20)

Заполните таблицу.

Экологическая группа облигатно-анаэробных бактерий

Группы анаэробных бактерий		Роль в патологии человека
Грамположительные спорообразующие палочки		
Клостридии	*Clostridium tetani*	
	Clostridium perfringens, C. novyi, C. ramosum, C. histolyticum, C. septicum	
	Clostridium botulinum	
	Clostridium difficile	
Грамотрицательные неспорообразующие палочки		
Бактероиды	*Bacteroides species*	
Фузобактерии	*Fusobacterium species*	
Лептотрихии	*Leptotrichia bucalis*	
Превотеллы	*Prevotella species*	
Порфиромонады	*Porphyromonas species*	
Билофилы	*Bilophila wadsworthia*	
Грамотрицательные кокки		
Вейлонеллы	*Veillonella*	
Грамположительные кокки		
Пептококки	*Peptococcus species*	
Пептострептококки	*Peptostreptococcus spp.*	

Клинические признаки анаэробной инфекции

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

Факторы патогенности *Clostridium perfringens*

Факторы патогенности		Биологический эффект
Токсины (главные)	Альфа-токсин (лецитиназа)	Расщепляет лецитин клеточных мембран; увеличивает сосудистую проницаемость, разрушает эритроциты; некротизирующая активность
	Бета-токсин	Некротизирующая активность; индукция гипертензии в результате образования катехоламинов
	Эпсилон-токсин	Усиливает сосудистую проницаемость ЖКТ
	Йота-токсин	Некротизирующая активность и усиление сосудистой проницаемости
	Энтеротоксин	Нарушает проницаемость слизистой тонкого кишечника
Токсины (минорные)	Дельта-токсин	Гемолиз
	Тета-токсин	Гемолиз, цитолиз
	Каппа-токсин	Коллагеназа, желатиназа, некротизирующая активность
	Лямбда-токсин	Протеаза
	Мю-токсин	Гиалуронидаза: увеличивает проницаемость тканей
	Ню-токсин	Дезоксирибонуклеаза; гемолитическая, некротизирующая активность
	Нейраминидаза	Повреждает ганглиозиды клеточных рецепторов, способствует тромбозу в капиллярах

Факторы патогенности бактероидов

Факторы патогенности		Биологический эффект
Токсины	Эндотоксин	Общетоксическое действие
	Лейкоцидин	Повреждает лейкоциты
Ферменты	Коллагеназа	Разрушает коллагеновые волокна соединительной ткани — распространение гнойного процесса
	ДНК-аза, Гепариназа	Вызывают внутрисосудистые изменения из-за повышенной свертываемости крови
	Фибринолизин	Растворяет тромбы
	Бета-лактамаза	Разрушает бета-лактамные антибиотики
Поверхностные структуры клетки	Пили	Адгезия к субстрату
	Капсула	Защищает бактерии от фагоцитоза
Метаболиты	Летучие Жирные кислоты	Угнетают хемотаксис и кислородозависимую цитотоксичность лейкоцитов

Занятие № 4 (21) Дата_____

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

Перечень изучаемых вопросов:

Спирохеты, классификация, общая характеристика.

Трепонемы, систематика. Возбудитель сифилиса, характеристика, факторы патогенности. Патогенез и проявления в полости рта сифилиса. Методы микробиологической диагностики сифилиса. Принципы терапии и профилактики сифилиса.

Трепонемы полости рта, общая характеристика, роль в патологии. Фузоспирохетозы: этиология, характеристика возбудителей, патогенез, клинические формы.

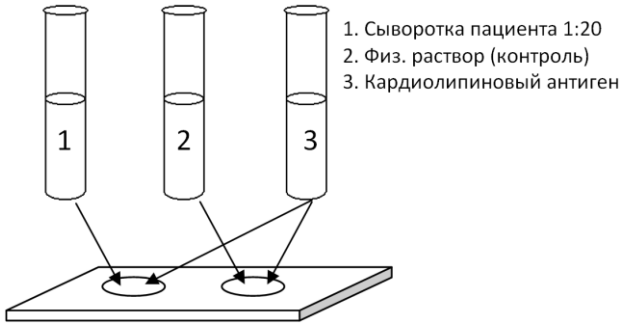
Лептоспиры, боррелии, Роль в патологии человека. Возбудители Лайм-боррелиоза.

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

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

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

Лабораторная работа

Задание	**Методы, результаты**
1. Постановка реакции микропреципитации на стекле (VDRL*) с целью серодиагностики сифилиса.  	2. Зарисовать демонстрационные препараты. 1) Трепонема в зубном налете, окраска по Граму. Препарат_____ Окраска_____ 2) Боррелии в крови больного, окраска по Романовскому-Гимзе. Препарат_____ Окраска_____ 3) Риккетсии Провачека в чистой культуре, окраска по Граму. Препарат_____ Окраска_____ 4) Хламидии, окраска по Романовскому-Гимзе. Препарат_____ Окраска_____
*VDRL (Veneral Disease Research Laboratory) — реакция микропреципитации для выявления антител к неспецифическому кардиолипиновому антигену трепонем (липопротеиду). Поскольку липопротеиды трепонем сходны с липопротеидами тканей животных и человека, результаты нетрепонемных реакций часто бывают ложноположительными. Ложноположительные результаты возможны во время беременности, при аутоиммунных, инфекционных заболеваниях и у наркоманов. Окончательно подтверждают диагноз сифилиса только положительные трепонемные реакции (со специфическим трепонемным антигеном).	

3. Учет РПГА для дифференциальной диагностики эпидемического и рецидивного сыпного тифа.	**1/10 1/20 1/40 1/80 1/160 1/320 1/640 КС КА** **I** _____ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ **II** _____ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ **Заключение:** _____

Подпись преподавателя_____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 4 (21)

Основные признаки патогенных для человека спирохет

Признак		Роды спирохет		
		Treponema	***Borrelia***	***Leptospira***
Размеры	Длина	5–20 мкм	3–20 мкм	7–14 мкм
	Толщина	0,09–0,5 мкм	0,2–0,5 мкм	0,1–0,15 мкм
Количество завитков		8–12	2–8	12–24
Форма завитков		Равномерные, правильные	Неравномерные, неправильные	Равномерные, правильные; вторичные завитки
Форма клетки (нарисуйте)				
Окрашивание по Романовскому-Гимзе		Розовый цвет	Сине-фиолетовый цвет	Розовый, красный цвет
Культуральные свойства				
Патогенность: заболевания, факторы патогенности				

Патогенез сифилиса

Стадии болезни	Патогенез	Проявления в челюстно-лицевой области и полости рта	Диагностика (метод, материал для исследования)
Ранний врожденный сифилис			
Поздний врожденный сифилис			
Приобретенный первичный сифилис			
Приобретенный вторичный сифилис			
Приобретенный третичный сифилис			

Характеристика некоторых риккетсиозов человека

Группа риккетсиозов	Заболевания	Возбудитель	Особенности паразитирования	Источник инфекции	Переносчик
1. Группа сыпного тифа	- эпидемический (вшивый) сыпной тиф	*Rickettsia prowazekii*	Размножается только в цитоплазме клеток эндотелия сосудов	Человек	Вошь
	- болезнь Брилля (спорадический сыпной тиф)			Человек (эндогенная инфекция)	–
	- эндемический (блошиный) сыпной тиф	*Rickettsia typhi*		Крысы, мыши	Крысиные блохи
2. Группа клещевой пятнистой лихорадки	- пятнистая лихорадка Скалистых гор	*Rickettsia rickettsii*	Размножается преимущественно в ядре, умеренно — в цитоплазме клеток эндотелия сосудов	Клещи, грызуны, возможно собаки, овцы	Лесной клещ, собачий клещ
	- марсельская лихорадка	*Rickettsia conorii*		Собаки, собачий клещ	Иксодовые клещи
	- североазиатский (сибирский) риккетсиоз	*Rickettsia sibirica*		Грызуны (полевые мыши, суслики)	Иксодовые клещи
	- осповидный риккетсиоз	*Rickettsia akarii*		Мыши, крысы, клещи	Гамазовые клещи
3. Группа цуцугамуши	- лихорадкацуцугамуши	*Orientia tsutsugamushi*	Размножается (умеренно) в цитоплазме клеток эндотелия сосудов	Различные грызуны, клещи-краснотелки	Личинки клещей-краснотелок

Диагностика и характеристика возбудителей риккетсиозов, хламидиозов и микоплазмозов

		Риккетсиозы	Хламидиозы	Микоплазмозы
Характеристика возбудителя	Виды микроорганизмов			
	Морфология и особенности физиологии			
	Культивирование			
	Заболевания, патогенез			
Диагностика	Материал для исследования			
	Микроскопический метод			
	Культуральный метод			
	Серологический метод			
	Аллергический метод			
	Молекулярно-генетический метод			

МАТЕРИАЛЫ ДЛЯ УПРАВЛЯЕМОЙ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ СТУДЕНТА

Особо опасные инфекции (ООИ). Методы микробиологической диагностики холеры, чумы, туляремии, бруцеллеза, сибирской язвы. Микроорганизмы 3–4 группы патогенности

Заполните таблицу.

Заболевание	Возбудитель	Морфология	Рисунок, окраска по Граму	Культуральные свойства
Чума				
Туляремия				
Сибирская язва				
Бруцеллез				
Холера				

Возбудитель	Патогенность возбудителя		Заболевание
	Фактор патогенности	**Биологический эффект**	**Источник инфекции, механизмы заражения, клинические проявления**
Vibrio cholerae	Экзотоксин (холероген)	Нарушение водно-солевого обмена, цитотоксическое действие, вызывающее гибель эпителия тонкой кишки	
	Эндотоксин	Угнетение фагоцитоза, понижение кровяного давления; инфекционно-токсические явления	
	Пили	Адгезия к клеткам слизистой	
	Фибринолизин, гиалуронидаза	Ферменты инвазии (агрессии)	
Yersinia pestis	Поверхностный гликопротеин (капсульный АГ, F1-АГ, фракция 1)	Защита от поглощения фагоцитами, не токсичен, иммуноген	
	Активатор плазминогена — протеаза	Активирует лизис фибриновых сгустков, инактивирует C3в и C5a	
	V/W(Vi)-АГ	Состоит из белка (V-фракция) и ЛП (W-фракция), проявляет антифагоцитарные свойства, способствует внутриклеточному размножению бактерий	
	Мышиный токсин	Антагонист адренергических рецепторов, белковоподобное вещество, локализован внутриклеточно	
	Бактериоцины (пестицины)	Иммуногенные свойства	
Francisella tularensis	Внутриклеточный паразитизм	Ингибирование лизосомальной функции фагоцитов, благодаря чему бактерии могут длительно находиться в макрофагах ретикулоэндотелиальной системы	
	Капсула	Защита от фагоцитоза	
	Эндотоксин	Системный токсический эффект. Менее активен, чем эндотоксин других грамотрицательных палочек (например, *E. coli)*	
Brucella spp. B. melitensis, B. abortus, B. suis	Эндотоксин	Системный токсический эффект	
	Гиалуронидаза	Разрушает гиалуроновую кислоту	
	Белки наружной мембраны	Адгезия	
	Секреция низкомолекулярных белков → переживание внутри фагоцитов	Подвление слияния фагосомы с лизосомой и окислительного взрыва в фагоцитах	
Bacillus anthracis	Белковый экзотоксин (синтез контролируется плазмидой)	Экзотоксин содержит 3 фактора (компонента): A1 (летальный фактор) — металлопротеаза, увеличивает продукцию активных форм кислорода в Нф и Мф → увеличение кол-ва перекисных соединений → гибель фагоцитов (цитотоксический эффект), A2 (отечный фактор) — аденилатциклаза, образуется в неактивной форме, активируется при контакте с белком эукариот кальмодулином, вызывает отеки, B (протективный АГ) — взаимодействует с мембранами клеток, обеспечивает проникновение субъединиц A1 и A2 в цитозоль клетки	
	Капсула	Антифагоцитарная активность	

Лабораторная диагностика, специфическая профилактика и терапия особо опасных инфекций

Метод	Холера	Чума	Бруцеллез	Туляремия	Сибирская язва
Материал для исследования					
Микроскопический					
Бактериологический					
Серологический					
Аллергический					
Биологический					
Молекулярно-генетический					
Специфическая профилактика					
Специфическая терапия					

Подпись преподавателя_____

Занятие № 5 (22) Дата_____

ИТОГОВОЕ ЗАНЯТИЕ: «Частная микробиология»

1. Стафилококки, классификация, общая характеристика, роль в патологии. Стафилококковые инфекции, патогенез, иммунитет. Методы диагностики стафилококковых инфекций. Больничные стафилококки. Принципы терапии и профилактики.
2. Стрептококки, классификация, общая характеристика, антигенная структура. Острые и хронические стрептококковые инфекции. Роль стрептококков в патологии полости рта. Методы диагностики стрептококковых инфекций. Принципы терапии и профилактики. Пневмококк: свойства, роль в патологии.
3. Менингококки, общая характеристика. Менингококковые инфекции, патогенез, иммунитет, методы диагностики, принципы терапии и профилактики.
4. Гонококки, общая характеристика. Патогенез, иммунитет, диагностика острой и хронической гонореи, принципы терапии и профилактики. Гонококковый стоматит.
5. Общая характеристика семейства энтеробактерий. Общие принципы микробиологической диагностики острых кишечных инфекций.
6. Кишечная палочка, общая характеристика. Патогенные и условно-патогенные эшерихии. Заболевания, вызываемые эшерихиями, патогенез, диагностика
7. Сальмонеллы. Общая характеристика и классификация. Заболевания, вызываемые сальмонеллами: патогенез, микробиологическая диагностика.
8. Шигеллы: классификация, характеристика. Бактериальная дизентерия: патогенез, микробиологическая диагностика.
9. Этиология пищевых интоксикаций и токсикоинфекций бактериальной природы. Материалы и методы диагностики.
10. Клебсиеллы, общая характеристика. Роль в патологии человека. Методы диагностики клебсиеллѐзов.
11. Кампилобактерии, хеликобактер: характеристика, роль в патологии.
12. Синегнойная палочка, общая характеристика. Роль в патологии человека. Микробиологическая диагностика синегнойной инфекции.
13. Возбудитель дифтерии, общая характеристика. Патогенез дифтерии. Проявления дифтерии в полости рта. Иммунитет при дифтерии. Диагностика дифтерии, принципы терапии и профилактики.
14. Возбудитель коклюша, общая характеристика. Дифференциация с возбудителем паракоклюша. Патогенез, иммунитет, диагностика, принципы терапии и профилактики коклюша.
15. Актиномицеты, общая характеристика. Роль в патологии полости рта. Актиномикоз, характеристика возбудителя, методы диагностики.
16. Классификация микобактерий. Общая характеристика возбудителей туберкулеза. Патогенез, иммунитет, методы диагностики, принципы терапии и профилактики туберкулеза. Проявления туберкулеза в полости рта.
17. Классификация анаэробов, общая характеристика. Неспорообразующие анаэробы. Роль в патологии полости рта.
18. Возбудитель столбняка, общая характеристика. Патогенез и иммунитет, принципы терапии и профилактики столбняка.
19. Возбудители газовой гангрены, общая характеристика. Патогенез, принципы терапии и профилактики газовой гангрены.
20. Неспорообразующие анаэробы: классификация, характеристика, роль в патологии полости рта.
21. Принципы микробиологической диагностики анаэробных инфекций.
22. Классификация и общая характеристика спирохет.
23. Возбудители боррелиозов и лептоспирозов. Лайм-боррелиоз: этиология, патогенез, иммунитет, микробиологическая диагностика, профилактика.
24. Классификация трепонем и трепонематозов. Характеристика возбудителя сифилиса. Патогенез, иммунитет, принципы терапии и профилактики сифилиса, проявления в полости рта. Методы диагностики сифилиса.
25. Спирохеты полости рта. Фузоспирохетозы.
26. Риккетсии: систематическое положение, общая характеристика и экология, роль в патологии человека.
27. Хламидии: классификация, особенности биологии, роль в патологии. Микробиологическая диагностика хламидиозов.
28. Микоплазмы: систематическое положение, общая характеристика, роль в патологии человека.
29. Возбудители холеры. Систематика. Общая характеристика. Дифференциация биоваров. Патогенез, иммунитет, принципы терапии и профилактики. Методы микробиологической диагностики.
30. Возбудитель чумы, общая характеристика. Патогенез чумы. Иммунитет, принципы терапии и профилактики чумы.
31. Возбудитель сибирской язвы, характеристика. Патогенез, иммунитет, принципы терапии и профилактики сибирской язвы.
32. Возбудитель туляремии, общая характеристика. Патогенез, иммунитет, принципы терапии и профилактики туляремии.
33. Возбудители бруцеллеза, общая характеристика. Дифференциация видов бруцелл. Патогенез, иммунитет, принципы терапии и профилактики бруцеллеза.

Практические навыки

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

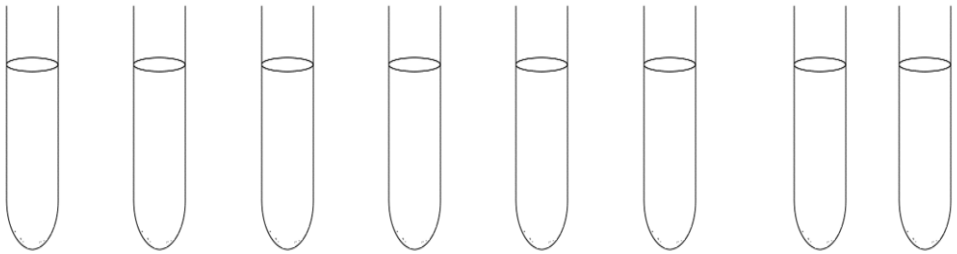
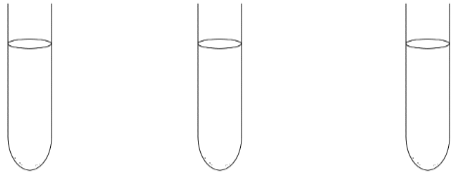
Занятие № 6 (23) Дата_____

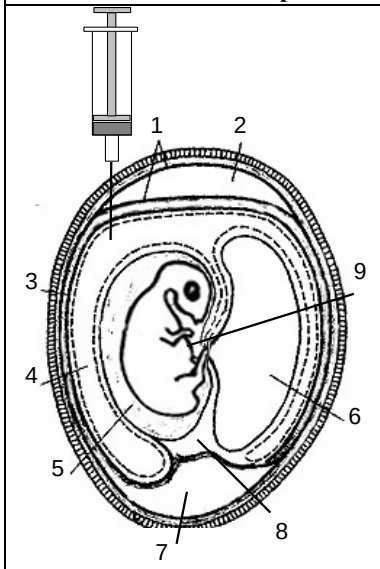
ТЕМА: Методы вирусологических исследований. Бактериофаги

Перечень изучаемых вопросов:

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

Лабораторная работа

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

3. Заражение куриных эмбрионов вирусом гриппа в аллантоисную полость.	1. Изучить схему строения куриного эмбриона (8–11 дней). 2. Изучить куриный эмбрион в овоскопе и установить его жизнеспособность: а) по размеру тени эмбриона; б) наличию развитого сосудистого рисунка; в) активной подвижности эмбриона; г) очертить границу воздушного мешка. 3. Установить эмбрион на подставку и провести обработку скорлупы по схеме: а) 70 % спирт; б) 5 % спиртовой раствор йода; в) 70 % спирт. 4. Произвести заражение эмбриона в следующей последовательности: 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. 5. Провести повторную обработку скорлупы в зоне прокола согласно пункту 3. 6. Герметизировать эмбрион лейкопластырем, маркировать эмбрион (номер группы, инициалы исследователя).	**Схема строения куриного эмбриона**  1. Подскорлуповая оболочка 2. Воздушный мешок. 3. Хорион-аллантоисная оболочка. 4. Хорион-аллантоисная полость. 5. Полость амниона. 6. Желточный мешок. 7. Белок. 8. Экстраэмбриональная полость. 9. Эмбрион.

Подпись преподавателя_______

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 6 (23)

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

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

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

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

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

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

Занятие № 7 (24) Дата_____

ТЕМА: Методы вирусологической диагностики заболеваний, вызываемых орто-, парамиксовирусами. Коронавирусы

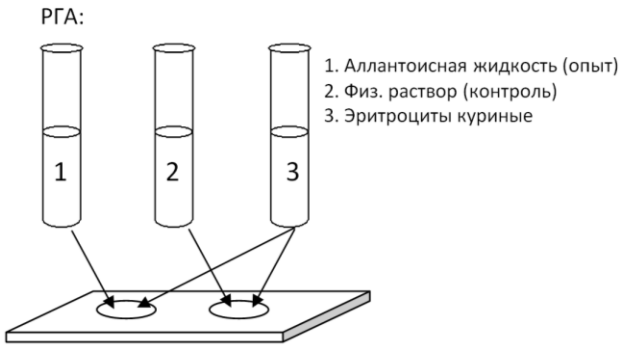
Перечень изучаемых вопросов:

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

Парамиксовирусы: классификация, характеристика, роль в патологии. Профилактика парамиксовирусных инфекций. Проявления кори и эпидемического паротита в челюстно-лицевой области.

Коронавирусы: классификация, характеристика. Коронавирус SARS-CoV-2: классификация, характеристика. Коронавирусная инфекция COVID-19: патогенез, иммунитет, этиологическая диагностика, профилактика, эпидемическая ситуация в мире. Возбудители тяжелого острого респираторного синдрома (SARS-CoV) и ближневосточного респираторного синдрома (MERS-CoV).

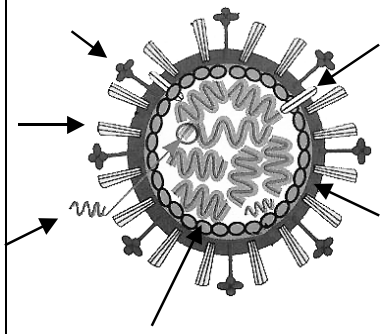
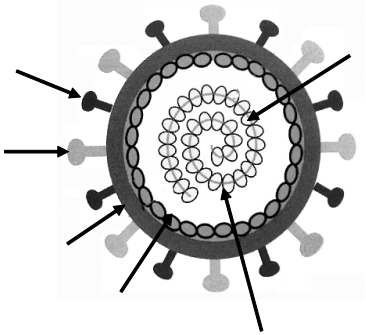
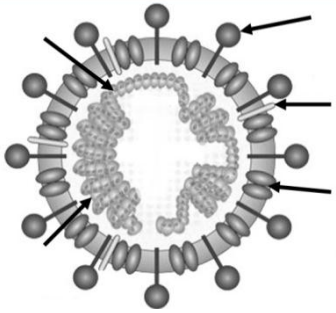
Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
1. Вскрытие куриных эмбрионов.	1. Куриные эмбрионы инкубируют 3–4 сут. 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. 2. Скорлупу в месте воздушной камеры обрабатывают 70%-ным спиртом, обжигают на пламени, снова обрабатывают спиртовой настойкой йода и опять обжигают. 3. Чтобы получить аллантоисную и амниотическую жидкости, скорлупу стерильными ножницами обрезают на 2–3 мм выше границы воздушной камеры. Яйцо слегка наклоняют, удаляют оставшуюся подскорлуповую оболочку и пастеровской пипеткой, избегая повреждения сосудов, отбирают 6–10 мл аллантоисной жидкости. 4. После этого забирают амниотическую жидкость (0,5–1,5 мл). 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. 6. Материал, взятый из куриных эмбрионов, обязательно проверяют на стерильность (присутствие бактерий). 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.
2. Постановка РГА для индикации вируса.	**Постановка реакции гемагглютинации** На поверхность предметного стекла наносят каплю исследуемой жидкости и каплю 5%-ной взвеси эритроцитов кур 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.  **Заключение:** _____

3. Учет РТГА для определения типа вируса гриппа (сероидентификация).	Диагностическая сыворотка против вируса гриппа **А(H1N1) А(H3N2) А(H5N1) КС-1 КС-2 КС-3 КЭ КВ1** **Вирус, выделенный у больного Ф. (КВ1)** ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ **КВ2** **Вирус, выделенный у больного Н. (КВ2)** ○ ○ ○ ○ **Заключение:**_____
4. Учет РТГА с парными сыворотками для серодиагностики гриппа.	Разведения сыворотки пациента **1/10 1/20 1/40 1/80 1/160 1/320 КС1 КЭ КВ** **С1 (1 неделя болезни)** ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ **КС2** **С2 (3 неделя болезни)** ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ **Заключение:**_____
Демонстрация: Препараты для специфической профилактики и терапии гриппа, кори.	

Подпись преподавателя_____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 7 (24)

Структура _____вирусов	**Структура _____вирусов**	**Структура _____вирусов**
 Размеры_____ Геном_____ 1. Гемагглютинин. 2. Нейраминидаза. 3. Суперкапсид. 4. Матриксный белок М1. 5. Белок М2. 6. Рибонуклеопротеид.	 Размеры_____ Геном_____ 1. Гликопротеин F. 2. Гликопротеин HN, H, G. 3. Суперкапсид. 4. Матриксный белок. 5. Нуклеокапсид. 6. РНК.	 Размеры_____ Геном_____ 1. Пепломер (гликопротеин S – «спайк»-белок). 2. Гликопротеин Е. 3. М-белок. 4. Нуклеопротеин. 5. РНК.

Возбудители острых респираторных вирусных инфекции (ОРВИ)

Клинические проявления (симптомы)	*Основные возбудители*	*Другие возбудители*
Бронхиолиты (длительный непродуктивный кашель, одышка, обструкция бронхов)	Респираторно-синцитиальный вирус (РС-вирус)	Вирусы гриппа Вирусы парагриппа Аденовирусы Риновирусы
Простуда (катаральные явления, субфебрильная лихорадка)	Риновирусы Коронавирусы	Вирусы гриппа Вирусы парагриппа Энтеровирусы (EV68-71) Вирусы Коксаки А Аденовирусы Метапневмовирус РС-вирус
Круп ложный (хриплый «лающий» кашель, затрудненное дыхание, обструкция дыхательных путей)	Вирусы парагриппа	Вирусы гриппа РС-вирус
Гриппоподобный симптомокомплекс (фебрильная или высокая лихорадка, озноб, недомогание, боли в мышцах (суставах), головная боль, сухой кашель)	Вирусы гриппа	Вирусы парагриппа Аденовирусы
Пневмония	Вирусы гриппа РС-вирус Аденовирусы	Вирусы парагриппа Вирусы Коксаки В Риновирусы Метапневмовирус Коронавирус

Рецепторы орто-, парамиксовирусов и пневмовирусов

	H	N	F	G
Вирусы гриппа	+	+	–	–
Вирусы парагриппа	+	+	+	–
Вирус эпидемического паротита	+	+	+	–
Вирус кори	+	–	+	–
Респираторно-синцитиальный вирус	–	–	+	+

H — гемагглютинин, N — нейраминидаза, F — белок слияния (образование симпластов, синцития), G — связь с рецепторами клетки.

Лабораторная диагностика гриппа

Вирусологический метод: 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 ч при комнатной температуре, проверяют на стерильность и используют для заражения.Заражают куриные эмбрионы, инкубируют их 3–4 дня при 35 ℃ и проводят вскрытие эмбриона. Постановка реакции гемагглютинации для индикации вируса. Идентификация вируса в реакции РТГА с набором диагностических сывороток (к эталонным штаммам вирусов соответствующих серологических типов).
Серологическая диагностика: обычно применяют РТГА. РТГА позволяет дифференцировать штаммы вирусов в пределах определенного серотипа. РТГА ставят с набором типовых штаммов (со стандартным диагностикумом). Тем не менее, иногда требуется применение набора свежевыделенных штаммов.

Лабораторная диагностика эпидемического паротита

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

Лабораторная диагностика кори

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

Занятие № 8 (25) Дата_____

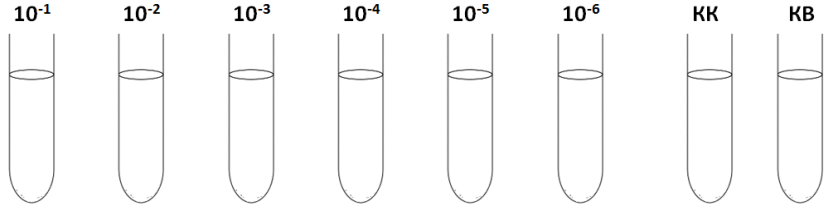
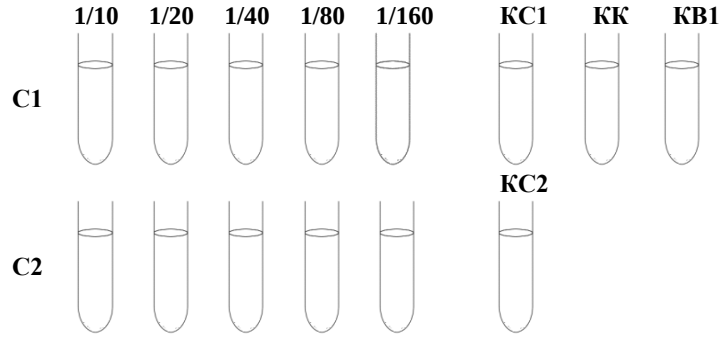
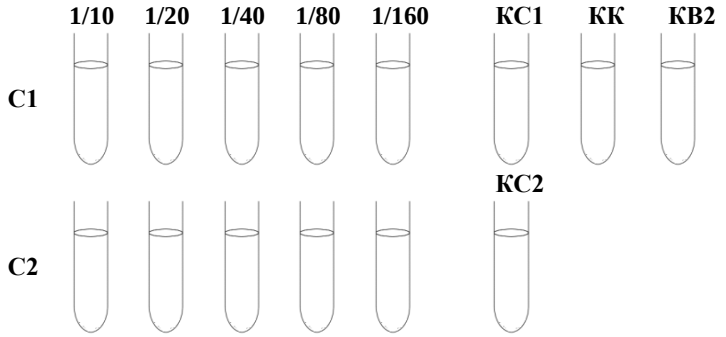
ТЕМА: Методы вирусологической диагностики энтеровирусных заболеваний. Вирус краснухи

Перечень изучаемых вопросов:

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

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

Лабораторная работа

Задание	**Методы, результаты**
Демонстрация: 1. Титрование вируса полиомиелита в культуре клеток по цветной пробе.	**Определение титра цитопатических доз вируса (ТЦД)**  **Заключение:** ТЦД = _____
2. Учет реакции нейтрализации в культуре клеток с парными сыворотками для серодиагностики полиомиелита. С1 — сыворотка, взятая при поступлении. С2 — сыворотка, взятая на 3-ей неделе болезни. КВ1 — *Human poliovirus 1*. КВ2 — *Human poliovirus 2*.	**Реакция нейтрализации (РН) в культуре клеток с парными сыворотками для серодиагностики полиомиелита** *Вариант РН №1*  Титр АТ первой сыворотки в РН равен_____ Титр АТ второй сыворотки в РН равен_____ *Вариант РН №2*  Титр АТ первой сыворотки в РН равен_____ Титр АТ второй сыворотки в РН равен_____ **Заключение:** _____

Подпись преподавателя_____

Занятие № 9 (26) Дата_____

ТЕМА: Методы вирусологической диагностики вирусных гепатитов

Перечень изучаемых вопросов:

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

Лабораторная работа

1. Постановка ИФА для диагностики вирусного гепатита С:

1) раскапать по 100 мкл контролей и образцов согласно карте постановки (см. схему);
2) заклеить стрип клейкой лентой и инкубировать в термостате 1 ч при 37 °С;
3) отмыть стрип 5 раз;
4) раскапать 100 мкл конъюгата (антитела против Ig человека, меченные ферментом) в каждую лунку;
5) инкубировать в термостате 30 мин при 37 °С;
6) промыть стрип 5 раз;
7) раскапать 100 мкл хромогена в каждую лунку;
8) инкубировать в термостате 30 мин при 37 °С;
9) раскапать по 50 мкл стоп-реагента в каждую лунку;
10) учесть результаты на спектрофотометре;
11) рассчитать показатели и заполнить протокол исследований.

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

Схема постановки

		1	2
CORE	A	Отрицат. контроль	Сыворотка №1
NS_3	B		
NS_4	C		
NS_5	D		
CORE	E	Положит. контроль	Сыворотка №2
NS_3	F		
NS_4	G		
NS_5	H		

Антигены ВГС сорбированы в лунках стрипов следующим образом:

- в рядах A, E – core
- в рядах B, F – NS_3
- в рядах C, G – NS_4
- в рядах D, H – NS_5

Результаты

Антигены	Ряд	ОП контролей	ОП образцов	КП	Результат
CORE	A				
NS_3	B				
NS_4	C				
NS_5	D				
CORE	E				
NS_3	F				
NS^4	G				
NS_5	H				

Учет ИФА

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

Подпись преподавателя_____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 9 (26)

Заполните таблицу.

Характеристика вирусных гепатитов

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

Диагностические маркеры вирусных гепатитов

	Маркер	Клиническое значение
HAV	IgM анти-HAV	Указывают на острый гепатит А
	IgG анти-HAV	Свидетельствуют о перенесенном гепатите А, сохраняются в крови пожизненно
HBV	HBsAg	Маркирует инфицированность HBV
	HBeAg	Указывает на репликацию HBV в гепатоцитах, высокую инфекционность крови и высокий риск перинатальной передачи вируса
	HBcAg	Маркирует репликацию HBV в гепатоцитах, обнаруживается только при морфологическом исследовании биоптатов печени и на аутопсии, В крови в свободном виде не выявляется
	анти-HBc (total)	Важный диагностический маркер, особенно при отрицательных результатах индикации HBsAg, используется для ретроспективной диагностики гепатита В и при неверифицированных гепатитах, определяют HBcAg без разделения на классы
	IgM анти-HBc	Один из наиболее ранних сывороточных маркеров гепатита В, наличие его в крови указывает на острую инфекцию (фазу болезни), при хроническом гепатите В маркирует репликацию HBV и активность процесса в печени
	анти-HBe	Может указывать на начало стадии реконвалесценции (исключение — мутантная форма HBV)
	анти-HBs	Указывают на перенесенную инфекцию или наличие поствакцинальных антител (их защитный титр от HBV-инфекции >10 МЕ/л); обнаружение же антител в первые недели гепатита В прогнозирует развитие гипериммунного варианта фульминантного гепатита В
	HBV-DNA	Маркер наличия и репликации HBV
HDV	IgM анти-HDV	Маркируют репликацию HDV в организме
	IgG анти-HDV	Свидетельствуют о возможной инфицированности HDV или перенесенной инфекции
	HDAg	Маркер наличия HDV в организме
	HDV-RNA	Маркер наличия и репликации HDV
HCV	анти-HCV IgG	Свидетельствуют о возможной инфицированности HCV или перенесенной инфекции (определяются в скрининговых исследованиях)
	анти-HCV core IgM	Указывают на текущую инфекцию (острая или хроническая в фазе реактивации)
	анти-HCV core IgG	Свидетельствуют об инфицированности HCV или перенесенной инфекции
	анти-HCV NS	Обычно обнаруживаются в хронической стадии гепатита С
	HCV-RNA	Маркер наличия и репликации HCV

Занятие № 10 (27) Дата_____

ТЕМА: Методы вирусологической диагностики ВИЧ-инфекции. Вирус бешенства

Перечень изучаемых вопросов:

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

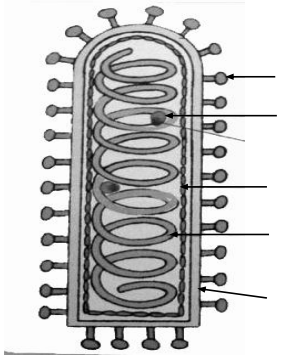
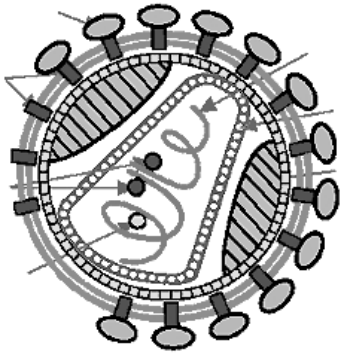
Вирус бешенства: таксономическое положение, характеристика. Бешенство: патогенез, диагностика, профилактика.

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты	
1. Зарисовать демонстрационные препараты: тельца Бабеша-Негри, окраска по Муромцеву.	**Препарат**_____ _____ _____ **Окраска**_____ _____	Диагностика бешенства основывается на обнаружении телец Бабеша-Негри в срезах, мазках-отпечатках или препаратах гомогената мозга. При окраске по Муромцеву фон препарата и цитоплазма нейронов голубая, тельца Бабеша-Негри четко очерчены, фиолетово-розовые, с внутренней структурой (зернистостью). Ядра нейронов фиолетово-синие. 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.

Подпись преподавателя_____

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

Структура _____вирусов	**Структура _____вирусов**
 Размеры_____ Геном_____ 1. Суперкапсид. 2. Нуклеокапсид. 3. Гликопротеины. 4. РНК-полимераза. 5. Матриксный белок.	 Размеры_____ Геном_____ 1. Капсид (p24). 2. Нуклеокапсид (p6, 9). 3. Матриксный белок (p17). 4. Обратная транскриптаза (p55, 63). 5. Интеграза (p11). 6. gp120. 7. gp41.

Семейство RETROVIRIDAE, около 150 видов

- Плюс-однонитевые диплоидные (две молекулы) РНК-вирусы, обратнотранскрибирующиеся (РНК-зависимая ДНК-полимераза), сложные, 80–130 нм.
- В патологии человека значение имеют 4 вида: ВИЧ-1, ВИЧ-2 и вирусы Т-клеточных лейкозов (HTLV-1 и HTLV-2).

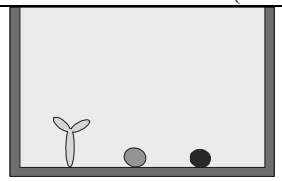
Геном ВИЧ – три структурных гена и семь регуляторных генов

Гены	Функция
gag (group specific antigen) структурный	Групповой антиген, кодирует матриксные, капсидные, нуклеокапсидные и белки протеазы
pol (polimerase) структурный	Кодирует обратную транскриптазу (РНК-зависимая ДНК-полимераза), протеазу, интегразу (p51/p66, p32-интегразу, p15-РНКазу)
env (envelope — оболочка) структурный (геном ВИЧ-2 отличается от генома ВИЧ-1 структурой гена *env*)	Кодирует образование гликопротеиновой оболочки (трансмембранный белок — gp41, поверхностный белок — gp120)
tat, rev, net, vif, vpr, vpu (имеется у ВИЧ-1), *vpx* (имеется у ВИЧ-2) — регуляторные и функциональные	Выполняют регуляторные функции (*tat, rev, nef*), обеспечивают процессы репродукции и участие вируса в инфекционном процессе (*vif, vpu, vpr, vpx*)

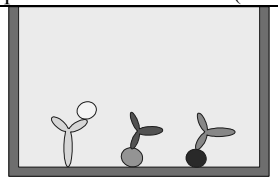
ВИЧ — сферическая форма, 100 нм, суперкапсид формируется при почковании через плазматическую мембрану. Сердцевина похожа на усеченный цилиндр.

Белок	Место локализации, химическая природа, функция
gp120, gp41 (продукты расщепления gp160)	Поверхностные (суперкапсидные) групповые гликопротеины, рецепторная функция; gp120 находится на поверхности вириона, gp41 пронизывает его липидную оболочку
p6, p17	Матриксные белки
p24, p25	Капсидные белки
p7, p9	Нуклеокапсидные белки
p10, p11	Белки протеазы
p32	Интеграза
p15	РНКаза
p51/p66	Обратная транскриптаза

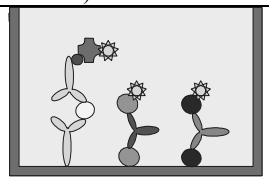
ИФА для скрининга ВИЧ-инфекции: в настоящее время применяются тест-системы для ИФА четвертого поколения (рекомбинантные антигены, моноклональные антитела, одновременное определение антигенов ВИЧ (обычно p24) и антител против антигенов ВИЧ (поверхностных гликопротеинов).



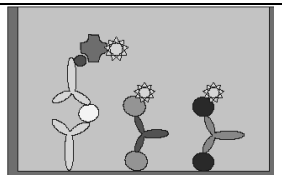
В лунках 96-луночного планшета для серологических реакций сорбированы:
- моноклональные антитела к p24;
- рекомбинантные эпитопы gp41;
- рекомбинантные эпитопы gp120.



При добавлении сыворотки пациента происходит связывание p24 и антител против гликопротеинов ВИЧ на сорбированных лигандах.



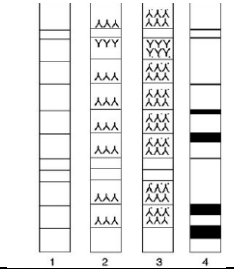
При добавлении конъюгатов:
- биотина* (антитела против гликопротеинов ВИЧ, анти-p24) и пероксидазы хрена (gp41, gp120) происходит фиксация их на иммунных комплексах, пропорциональная количеству выявляемых антител и антигена.



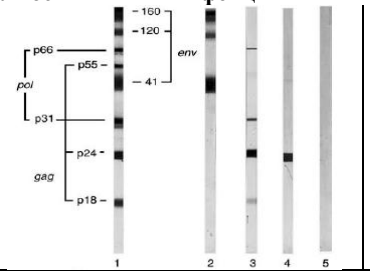
При добавлении субстрата происходит дозозависимая ферментация с образованием окрашенного продукта.

**Биотин и авидин (стрептавидин) представляют собой пару рецептор-лиганд, характеризующуюся высокими аффинностью и специфичностью. Характер и размеры молекул позволяют эффективно использовать их для мечения антител/антигенов. Молекула авидина способна связать четыре молекулы биотина (т.о. сигнал о связывании усиливается в четыре раза).*

Иммуноблоттинг для диагностики ВИЧ-инфекции



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



1 - положительный результат у инфицированного ВИЧ-1.
2 - результат здорового, вакцинированного белками внешней оболочки ВИЧ-1.
3 - сомнительный результат у инфицированного ВИЧ-2.
4 - сомнительный результат при наличии в сыворотке антител, перекрестно реагирующих с p24 антигеном.
5 - отрицательный результат.

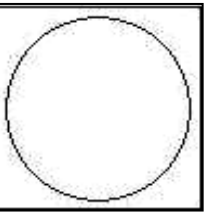
Занятие № 11 (28) Дата_____

ТЕМА: Методы вирусологической диагностики герпетических и аденовирусных заболеваний полости рта. Вирус папилломы человека

Перечень изучаемых вопросов:

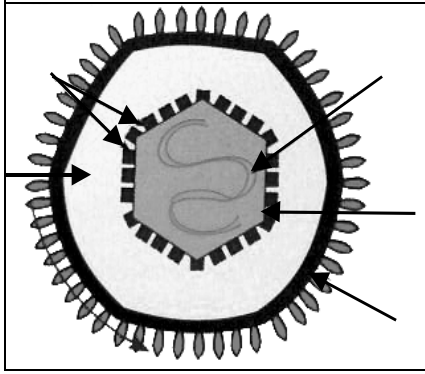
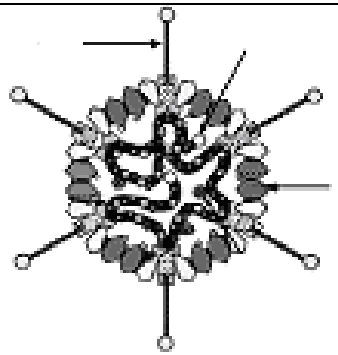
Герпесвирусы. Характеристика и состав семейства. Вирусы простого герпеса 1 и 2 типов, свойства, роль в патологии человека, патогенез инфекций. Герпетический стоматит, кератоконъюнктивит, поражения кожи лица и красной каймы губ. Вирус ветряной оспы и опоясывающего герпеса. Цитомегаловирус, свойства, формы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

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
1. Зарисовать демонстрационные препараты: 1) ЦПД аденовирусов.	**Препарат**_____ _____ _____ **Окраска**_____ _____ 

Подпись преподавателя_____

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

Структура _____вирусов	**Структура _____вирусов**
	
Размеры_____ Геном_____ 1. Суперкапсид. 2. Гликопротеины. 3. Икосаэдрический капсид. 4. Капсомеры. 5. Тегумент. 6. ДНК вируса.	Размеры_____ Геном_____ 1. Фибриллярная нить. 2. ДНК. 3. Капсид.

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 11 (28)

Герпесвирусы человека

	Общепринятое название	ГВЧ	Инфекция клетки, репродуктивный цикл	Персистенция (латентная инфекция)	Заболевания	Диагностика
Alphaherpesvirinae	Вирус простого герпеса (ВПГ)-1 Herpes simplex virus (HSV)-1	ГВЧ-1	Короткий цикл репродукции, цитолитическая инфекция	Ганглии сенсорных нервов (тройничный нерв)	Лабиальный герпес, герпетический гингивостоматит, офтальмогерпес, герпетический энцефалит	а) Клинически: высыпания б) Мазок-отпечаток: 1.→по Романовскому-Гимзе: многоядерные гигантские клетки с внутриядерными включениями (тельца Каудри) или 2.→РИФ (позволяет дифференцировать ГВЧ-1/ГВЧ-2) в) Культивирование на КК, КЭ, лаб.животных →индикация по ЦПД→идентификация РИФ/РН г) ↑АТ в парных сыворотках (ИФА) –ретроспективно или эпидемиологические исследования Герпетический энцефалит: ликвор →ПЦР
	Вирус простого герпеса (ВПГ)-2 Herpes simplex virus (HSV)-2	ГВЧ-2		Ганглии сенсорных нервов (крестцовые ганглии)	Генитальный герпес, герпетический менингоэнцефалит	
	Вирус ветряной оспы и опоясывающего герпеса (варицелла-зостер вирус, VZV)	ГВЧ-3		Ганглии сенсорных нервов	Ветряная оспа, опоясывающий герпес (лишай), синдром врожденной ветряной оспы	Клинически. Лабораторно: кожные высыпания, респираторные секреты, биоптаты органов а) РИФ – детекция АГ; б) выделение вируса на КК (фибробластов, Vero, HeLa) → ЦПД как у ВПГ, но менее выражено и появляется в более поздние сроки; в) серодиагностика (ретроспективно) г) гистологически: внутриядерные включения; д) ! ПЦР
Betaherpesvirinae	Цитомегаловирус (CMV)	ГВЧ-5	Медленная репродукция. Формирование гигантских клеток с включениями «совиный глаз»	Слюнные железы, почки, другие органы, лимфоциты	Мононуклеозоподобный синдром ОРВИ, бронхиты, пневмонии, генерализованная форма: поражение ЦНС (врожденная ЦМВ-инфекция), печени, почек, надпочечников, поджелудочной железы, слюнных желез, селезенки, мочеполовой системы, ретиниты (приобретенная ЦМВ- инфекция)	Слюна, моча, смывы из горла, кровь, спинномозговая жидкость, цервикальный секрет и бронхоальвеолярный лаваж, биоптаты тканей а) культивирование – редко (трудно и долго, 4–6 недель) б) Быстрый культуральный метод: внесение материала в культуру клеток, инкубация 2 дня, удаление культуральной жидкости, детекция ранних вирусных антигенов в клетках культуры с помощью РИФ. Не достаточная чувствительность в) ! прямая детекция вируса в образцах – АГ (РИФ) или ПЦР (геном) г) обнаружение IgM – первичное инфицирование или реактивация д) в биоптатах или моче: мазки → гигантские клетки с включениями «совиный глаз»
	Roseolovirus	ГВЧ-6	Медленная репродукция, лимфопролиферативная инфекция	Лимфоидная ткань, лимфоциты, мононуклеары	Младенческая розеола, лимфаденопатия, мононуклеозоподобн ый синдром (?), розовый лишай (?), синдром хронической усталости (?) фебрильные судороги у детей	Клинически. ПЦР
		ГВЧ-7				
Gammaherpesvirinae	Вирус Эпштейна-Барр (EBV)	ГВЧ-4	Вариабельная по времени репродукция, лимфопролиферативный эффект	В-лимфоциты	Инфекционный мононуклеоз, синдром хронической усталости (?), лимфома Беркитта, назофарингеальная карцинома, В-клеточная лимфома	а) ЧАЩЕ: 3 критерия для диагностики инф.мононуклеоза: 1. Лимфоцитоз, 2. атипичные лимфоциты (мононуклеары с асимметричным ядром) — не менее 10 % в мазке крови, 3. гетерофильные антитела (IgM к эритроцитам барана/быка) и антитела к антигенам вируса б) биоптаты, слюна – РИФ/ПЦР в) культивирование затруднено
	Саркома Капоши - ассоциированный вирус / Rhadinovirus	ГВЧ-8		В-лимфоциты, железистые эпителиальные клетки	Саркома Капоши, болезнь Кастлемана	Клиника, серология, ПЦР

Занятие № 12 (29) Дата_____

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

Перечень изучаемых вопросов:

Стоматологическая микробиология, цели и задачи.

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

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

Лабораторная работа

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

Препарат_____

_____

_____

Окраска_____

_____

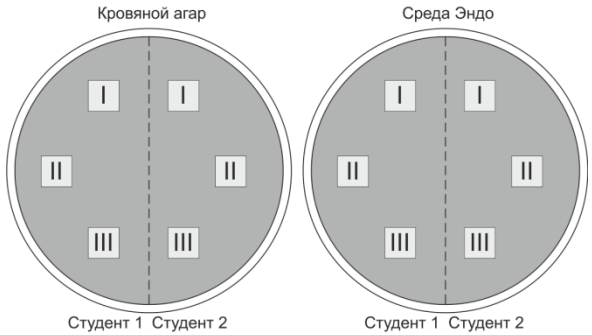
2. Изучение состава микрофлоры кожи лица, слизистой полости рта, языка:

1) Стерильные кусочки фильтровальной бумаги 1×1 см в чашке Петри увлажнить стерильным физ. раствором.

2) Стерильным пинцетом поместить кусочек бумаги на поверхность кожи и слизистых оболочек в три исследуемых биотопа (I, II, III) — 0,5 мин (в каждый биотоп помещается по 2 квадрата бумаги).

3) Поместить бумагу на поверхность плотной питательной среды (отпечаток) — 1 мин.

4) Бумагу удалить. Чашки с отпечатками инкубировать при 37 °С, 24–48 ч.



Учет посевов нормальной микрофлоры полости рта и посевов для выявления дисбактериоза *(выполняется на занятии № 13).*

Изучение состава микрофлоры кожи лица, слизистой полости рта, языка: определяется массивность роста бактерий (+ единичные колонии, ++ обильный рост, но колонии не сливаются, +++ сливной рост колоний). Из колоний, различающихся по форме, цвету, поверхности, гемолитической активности, делаются мазки с окраской по Граму и зарисовываются в альбом.

Диагностика состояния дисбактериоза: изучается рост на среде Эндо с посевами отпечатков с кожи внутренней стороны предплечья и слюны. В случае обнаружения роста малиново-красных с металлическим блеском колоний, в которых при окраске по Граму видны грамотрицательные палочки, подтверждается наличие состояния дисбактериоза.

Препарат_____

_____

_____

Окраска_____

_____

Препарат_____

_____

_____

Окраска_____

_____

Подпись преподавателя_____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 12 (29)

Микробиоценоз различных биотопов полости рта

Биотоп	Доминирующие микроорганизмы
Слизистая оболочка	
Ротовая жидкость	
Десневой желобок	
Зубная бляшка	

Критерии кариесогенности микроорганизмов

Группа *mutans Streptococci*	
Actinomyces spp.	
Lactobacillus spp.	

Колонизация полости рта оральными стрептококками

Биотоп	Вид стрептококков
Зубная бляшка	*S. mutans, S. sobrinus, S sanguinis, S. intermedius, S. mitis, S. gordonii*
Преддверие полости рта	*S. vestibularis*
Слюна	*S. salivarius, S. mitis, S. oralis*
Язык	*S. salivarius, S. mitis*
Слизистая щек	*S. mitis*
Миндалины	*S. sanguinis, S. gordonii, S. mitis, S. mutans*

Методы исследования микрофлоры полости рта

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

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

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

Принципы бактериологического исследования нормальной микрофлоры

а) использование качественной (видовой состав) и количественной (количественное соотношение разных видов) оценки микрофлоры; б) первичный посев материала без предварительного обогащения, так как обогащение нарушает количественные соотношения видов; в) использование большого набора различных питательных сред, подбор условий культивирования (аэробные, анаэробные, атмосфера CO2 и т.д.).

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

Факторы патогенности *Streptococcus mutans*

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

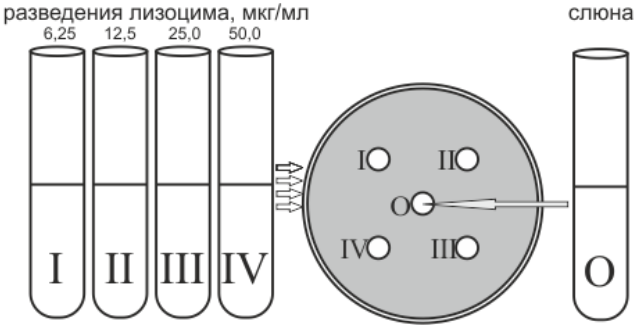
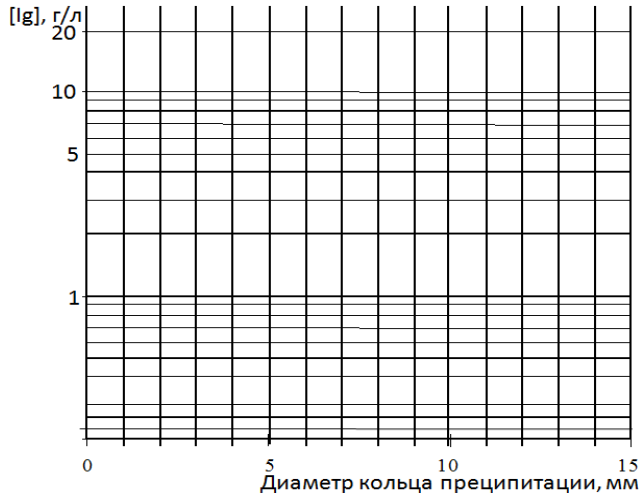
Занятие № 13 (30) Дата_____

ТЕМА: Стоматологическая микробиология. Методы изучения факторов иммунитета полости рта

Перечень изучаемых вопросов:

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

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
1. Провести учет посевов нормальной микрофлоры полости рта и посевов для выявления дисбактериоза *(см. занятие № 12).*	
2. Определить содержание лизоцима в слюне: 1) Отобрать 1–1,5 мл слюны в пробирку. 2) Промаркировать готовую чашку Петри с лунками, засеянную *Micrococcus lysodeikticus*, согласно схеме. 3) Внести в лунки по 1 капле соответствующих разведений лизоцима (от меньшей концентрации к большей). 4) В центральную лунку внести 1 каплю исследуемой слюны.	
3. Определить содержание секреторных иммуноглобулинов А в слюне методом простой радиальной иммунодиффузии (РИД) в геле по Манчини (учет результатов). РИД применяется для определения IgG, IgA, IgM. При постановке реакции иммунную сыворотку (антиIg) вносят в расплавленный агарозный гель, который тонким слоем выливают на стеклянную пластинку (или в чашку Петри). После застывания в геле делают лунки. В лунки помещают раствор исследуемой сыворотки (опыт) и контрольные разведения с известной концентрацией Ig (стандарт), которые, диффундируя в гель, образуют зоны преципитации в виде кольца вокруг лунок. Диаметр кольца преципитации пропорционален количеству Ig.	

Построение калибровочного графика по стандарту сыворотки

Стандарт sIgA = 20 г/л

	Разведение	Концентрация, г/л	Диаметр, мм
1 точка			
2 точка			
3 точка			
4 точка			
5 точка			
Опыт			

Заключение: _____

_____

Подпись преподавателя_____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 13 (30)

Заполните таблицу.

Противомикробные факторы слюны

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

Занятие № 14 (31) Дата_____

ТЕМА: Стоматологическая микробиология. Микробиология периодонтитов и периимплантитов

Перечень изучаемых вопросов:

Зубной налет (зубная бляшка): стадии формирования, микроорганизмы-колонизаторы. Зубной налет как биопленка.

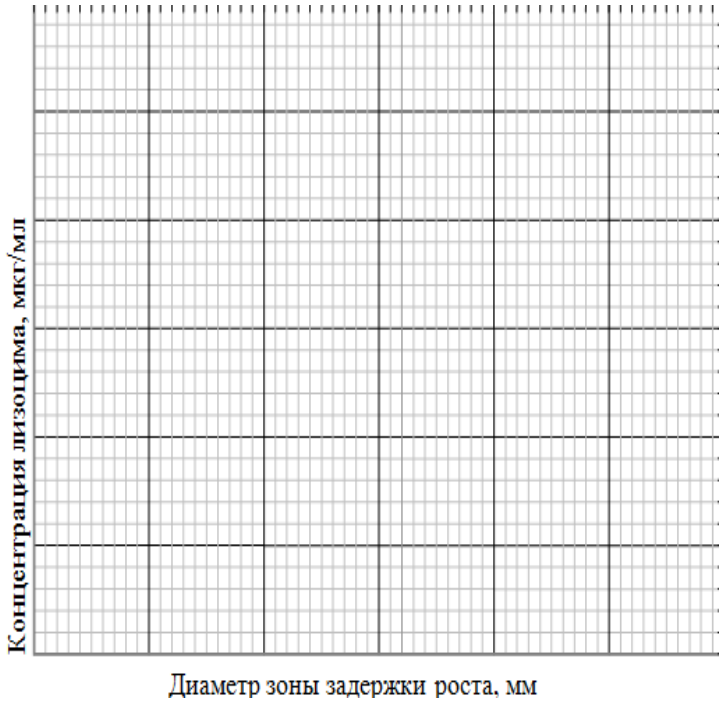
Заболевания периодонта: классификация, этиология, факторы риска. Теории патогенеза периодонтитов. Свойства периодонтопатогенных микроорганизмов, механизмы инвазии и персистенции. Микробные комплексы (Socransky, 1998). Иммунные механизмы при заболеваниях тканей периодонта. Принципы профилактики и лечения периодонтитов.

Динамика микрофлоры при успешной и осложненной дентальной имплантации.

Лабораторная работа

1. Учесть опыт определения содержания лизоцима в слюне *(см. занятие № 13).*

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



Заключение: содержание лизоцима в слюне пациента составляет _____

Подпись преподавателя_____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 14 (31)

Заполните таблицу.

Микробные комплексы

«Красный комплекс»		«Зеленый комплекс»		«Оранжевый комплекс»	
Микроорганизмы	Характеристика комплекса	Микроорганизмы	Характеристика комплекса	Микроорганизмы	Характеристика комплекса
Porphyromonas gingivalis		*Agregatibacter actinomycetemcomitans*		*Prevotella intermedia*	
Tannerella forsythia				*Fusobacterium nucleatum*	
Treponemadenticola					

Факторы патогенности *P. gingivalis*

Факторы патогенности	Биологический эффект
Фимбрии	
Гемагглютинин	
Белки наружной мембраны	
Капсула у капсульных штаммов	
ЛПС	
Гингипаины (Arg-, Lys-протеиназы)	
Коллагеназа	
Сериновая фосфатаза (SerB)	
Ig-протеаза	
Комплемент-протеаза	
Пептидил-аргинин-деиминаза	
Фибринолитические, кератинолитические ферменты	
Метаболиты, короткоцепочечные жирные кислоты	

Роль цитокинов при заболеваниях периодонта

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

Занятие № 15 (32) Дата_____

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

Перечень изучаемых вопросов:

Воспалительные заболевания слизистой оболочки полости рта. Бактериальные стоматиты: специфические (гонококковый, брюшнотифозный, сибиреязвенный стоматит, проявления в полости рта сифилиса, туберкулеза, актиномикоза, скарлатины) и неспецифические. Вирусные стоматиты.

Морфология и классификация грибов. Микозы, классификация. Методы микробиологической диагностики микозов.

Кандиды, общая характеристика, роль в патологии человека. Кандидозные стоматиты.

Проявления аллергических и иммунодефицитных состояний в полости рта. Рецидивирующий афтозный стоматит.

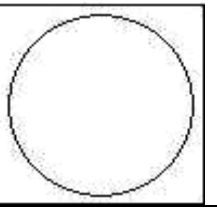
Лабораторная работа

1. Зарисовать демонстрационные препараты.

1) Чистая культура кандид, окраска по Граму.

Препарат_____

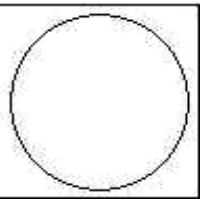
Окраска_____



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

Препарат_____

Окраска_____



Подпись преподавателя_____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 15 (32)

Диагностика микозов

Микроскопический метод, который следует рассматривать как основной. Причины — существенные морфологические особенности разных видов грибов, простота и быстрота исполнения исследования. Результат может быть получен через 1–2 ч. 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, 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 интервале20–45 °С) и не требовательны к питательнымсредам, pH сред от 4,0 до 6,5. Время выращивания — в зависимости от вида гриба: от несколько суток до 2–3 недель. Наиболее часто используется среда 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.

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

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

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

Занятие № 16 (33) Дата_____

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

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

Занятие № 17 (34) Дата_____

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

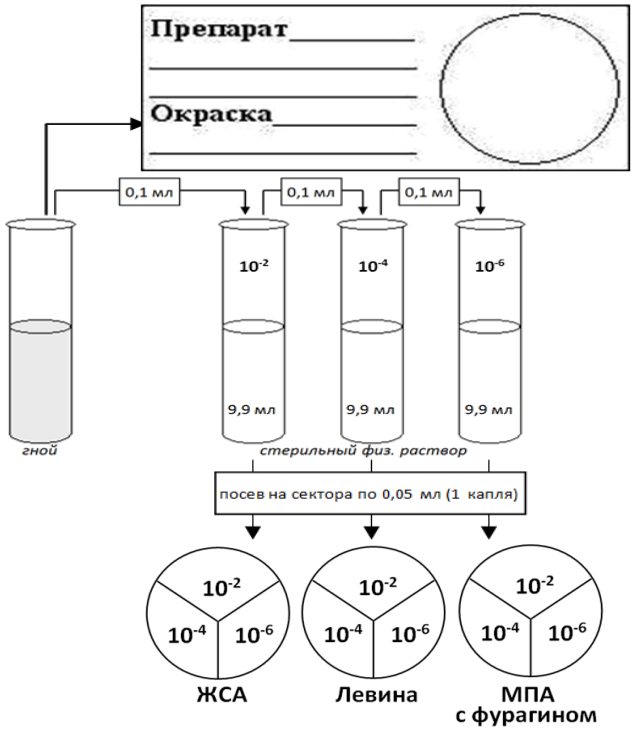
Перечень изучаемых вопросов:

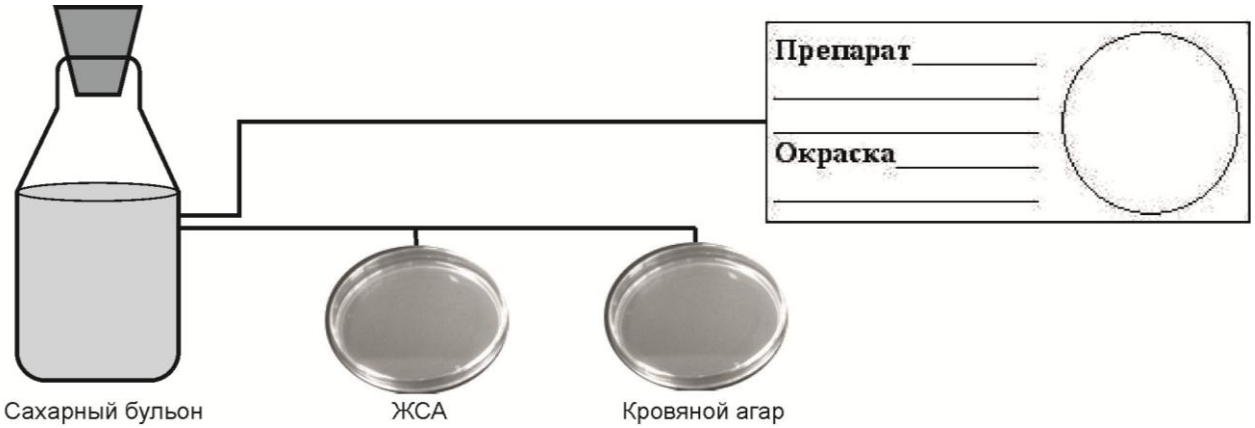
Одонтогенное воспаление. Микрофлора, патогенез, микробиологическая диагностика пульпита, периодонтита, периостита, остеомиелита, одонтогенных абсцессов и флегмон.

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

Стоматогенный сепсис. Возбудители, методы микробиологической диагностики.

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
1. Исследование гноя пациента с абсцессом подкожной клетчатки челюстно-лицевой области (I этап): 1) приготовление микропрепарата из материала, окраска по Граму, микроскопия; 2) количественный посев материала на питательные среды: - приготовление разведений материала (10^{-2}–10^{-6}); - количественный посев на сектора.	

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

Подпись преподавателя_____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 17 (34)

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

Общие принципы забора, хранения и транспортировки материала.

Виды материала при воспалительных заболеваниях челюстно-лицевой области:

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

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

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

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

Критерии оценки:

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

Занятие № 18 (35) Дата_____

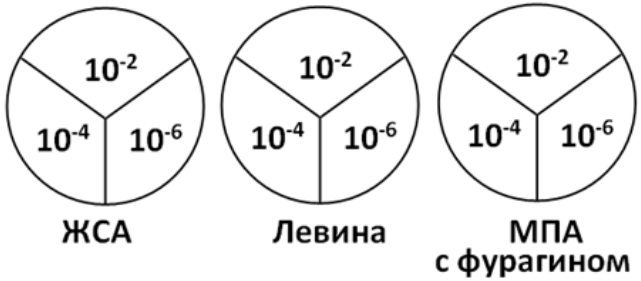
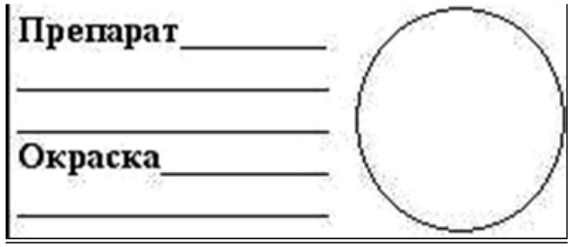
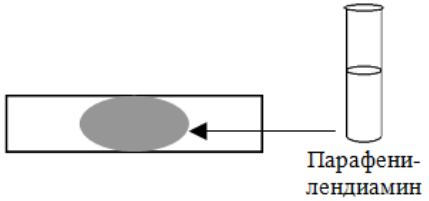
ТЕМА: Клиническая стоматологическая микробиология (продолжение). Методы микробиологической диагностики стоматогенных бронхолегочных инфекций. Внутрибольничные инфекции в стоматологической практике

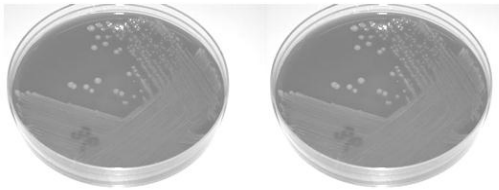
Перечень изучаемых вопросов:

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

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

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
1. Исследование гноя пациента с абсцессом подкожной клетчатки челюстно-лицевой области (II этап): 1) оценка наличия роста на питательных средах; 2) характеристика колоний; 3) приготовление микропрепаратов из колоний, окраска по Граму, микроскопия; 4) подсчет количества микроорганизмов в материале (КОЕ/мл); 5) постановка теста на оксидазу; 6) заключение.	**1. Исследование гноя (II этап)**   Характеристика колоний: _____ _____ _____ Расчет количества бактерий в 1 мл материала: N (КОЕ/мл) = n × 20 × 10^x, где: n – кол-во колоний на секторе, 20 – коэф. перерасчета на 1 мл, 10^x – степень разведения материала. Тест на оксидазу  **Заключение:**_____

2. Окончание исследования крови пациента со стоматогенным сепсисом: 1) оценка наличия роста на питательных средах; 2) характеристика колоний; 3) приготовление микропрепаратов из колоний, окраска по Граму, микроскопия; 4) постановка теста на коагулазу; 5) заключение.	 Кровяной агар ЖСА Препарат_____ Окраска_____ Тест на плазмокоагулазу Цитратная кроличья плазма: 37°С – 2, 4, 24 часа (коагуляция) Характеристика колоний: _____ _____ **Заключение:**_____

Подпись преподавателя_____

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

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

Критерии постановки диагноза ИСМП

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

Принципы диагностики ИСМП, вызванных УПМ

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

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

ЛИТЕРАТУРА И МАТЕРИАЛЫ ДЛЯ ПОДГОТОВКИ

Основная

1. *Зверев, В. В.* Медицинская микробиология, вирусология и иммунология : учеб. : в 2 т. / под ред. В. В. Зверева, М. Н. Бойченко. Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2020. Т. 1 : 448 с.
2. *Зверев, В. В.* Медицинская микробиология, вирусология и иммунология : учеб. : в 2 т. / под ред. В. В. Зверева, М. Н. Бойченко. Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2021. Т. 2 : 472 с.

Дополнительная

3. *Микробиология*, вирусология, иммунология полости рта : учеб. / под ред. В. Н. Царева. 2-е изд., перераб. и доп. Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2021. 720 с.
4. *Медицинская* микробиология, вирусология, иммунология. Общая микробиология : курс лекций для студ. мед. ун-тов / И. И. Генералов [и др.] ; под ред. И. И. Генералова ; М-во здравоохранения Республики Беларусь ; Витебский гос. мед. ун-т ; каф. клин. микробиологии. Витебск : [ВГМУ], 2022. 211 с.
5. *Генералов, И. И.* Основы иммунологии : учеб. пособие для иностр. студ. учреждений высш. образования по специальностям «Лечебное дело», «Стоматология», «Фармация» / И. И. Генералов, Д. К. Новиков, Н. В. Железняк ; М-во здравоохранения Республики Беларусь ; Витебский гос. ордена Дружбы народов мед. ун-т. Витебск : ВГМУ, 2020. 218 с.
6. *Основы* медицинской вирусологии : учеб.-метод. пособие / Н. Ф. Казак [и др.]. Минск : БГМУ, 2019. 164 с.

Электронные материалы для подготовки

7. *ЭУМК* кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии. Режим доступа : студенческий интранет-сайт (http://student.bsmu.by/) → Система электронного обучения БГМУ (https://etest.bsmu.by/) → подраздел «Курсы» → Студентам и курсантам → Стоматология → Курс «Микробиология, вирусология, иммунология».

Приложение 1

ДОМЕН (DOMAIN) BACTERIA

ТИП (PHYLUM)	КЛАСС (CLASS)	ПОРЯДОК (ORDER)	СЕМЕЙСТВО (FAMILY)	РОД (GENUS)	ВИД (SPECIES)
Proteobacteria	*Alphaproteobacteria*	*Rickettsiales*	*Rickettsiaceae*	*Rickettsia (28)*	*R.prowazekii, R.typhi, R.felis,R.rickettsii, R.conorii, R.australis,R.akari, R.sibirica, R.japonica, R.honei*
				Orientia (1)	*O.tsutsugamushi*
			Ehrlichiaceae	*Ehrlichia (8)*	*E.chaffeensis, E.sennetsu, E.equilike (E.phagocytophila)*
		Hyphomicrobiales	*Bartonellaceae*	*Bartonella (37)*	*B.quintana, B.henselae, B.bacilliformis, B.chlaridgeae, B.elizabethae, B.rochalimae*
			Brucellaceae	*Brucella (25)*	*B.melitensis et al*
	Betaproteobacteria	*Burkholderiales*	*Burkholderiaceae*	*Burkholderia (34)*	*B.mallei, B.pseudomallei, B.cepacia et al*
			Alcaligenaceae	*Alcaligenes (4)*	*A.faecales et al*
				Bordetella (15)	*B.pertussis, B.parapertussis, B.bronchiseptica et al*
		Neisseriales	*Neisseriaceae*	*Neisseria (29)*	*N.gonorrhoeae, N.meningitidis, N.sicca, N.subflava et al*
				Eikenella (4)	*E.corrodens*
				Kingella (5)	*K.kingae et al*
				Simonsiella (1)	*Simonsiella muelleri*
		Nitrozomonadales	*Spirillaceae*	*Spirillum (2)*	*S.winogradskyi et al*
	Gammaproteobacteria	*Thiotrichales*	*Francisellaceae*	*Francisella (9)*	*F.tularensis*
		Legionellales	*Legionellaceae*	*Legionella (62)*	*L.pneumophila et al*
			Coxiellaceae	*Coxiella (1)*	*C.burnetii*
		Pseudomonadales	*Pseudomonadaceae*	*Pseudomonas (254)*	*P.aeruginosa et al*
			Moraxellaceae	*Moraxella (19)*	*M.lacunata, M.catarralis*
				Acinetobacter (65)	*A.calcoaceticus, A.baumannii et al*
		Vibrionales	*Vibrionaceae*	*Vibrio (131)*	*V.cholerae (cholerae, eltor), V.parahaemolyticus et al*
		Aeromonadales	*Aeromonadaceae*	*Aeromonas (31)*	*A.hydrophilia*
		Enterobacteriales		*Plesiomonas (1)*	*P.shigelloides*
			Erwiniaceae	*Erwinia (20)*	*E.amylovora et al*
			Hafniaceae	*Hafnia (3)*	*H.alvei*
				Edwardsiella (5)	*E.tarda et al*
			Morganellaceae	*Morganella (2)*	*M.morganii*
				Proteus (9)	*P.vulgaris, P.mirabilis, et al*
				Providencia (10)	*P.alcallifaciens et al*
			Yersiniaceae	*Yersinia (27)*	*Y.pestis, Y.enterocolitica, Y.pseudotuberculosis et al*
				Serratia (22)	*S.marcescens et al*
			Enterobacteriaceae	*Enterobacter (20)*	*E.cloacae*
				Citrobacter (15)	*C.freundii, C.amalonaticus, C.koseri et al*
				Escherichia (6)	*E.coli, E.fergusonii, E.germannii, E.albertii*
				Klebsiella (13)	*K.pneumoniae (subsp: ozaenae, rhinoscleromae, pneumoniae), K.oxytoca, K.planticola, K.terrigena, K.granulomatis*
				Salmonella (3)	*S.enterica, S.bongori. Species S.enterica consict from 6 subsp.: arizonae, diarizonae, enterica, houtenae, indica, salamae). Serotypes: S.Typhi, S.Paratyphi A, S.Schottmuelleri, S.Enteritidis, S.Typhimurium, S.Choleraesuis et al*
				Shigella (4)	*S.dysenteriae, S.flexneri, S.boydii, S.sonnei*
		Pasteurellales	*Pasteurellaceae*	*Haemophilus (15)*	*H.influenzae, H.ducreyi et al*
				Pasteurella (13)	*P. stomatis*
	Epsilon-proteobacteria	*Campylobacteriales*	*Campylobacteriaceae*	*Campylobacter (34)*	*C.jejuni, C.fetus, C.coli et al C.sputorum*
			Helicobacteriaceae	*Helicobacter (47)*	*H.pylori, H.heilmanii et al*
				Wolinella (1)	*W.succinogenes*
Firmicutes	*Negativicutes*	*Selenomonadales*	*Selenomonadaceae*	*Selenomonas*	*S.sputigena*
				Centipeda (1)	*C.periodontii*
				Mitsuokella (2)	*M.multacida*
		Veillonellales	*Veillonellaceae*	*Veillonella (15)*	*V.parvula et al*

ТИП (PHYLUM)	КЛАСС (CLASS)	ПОРЯДОК (ORDER)	СЕМЕЙСТВО (FAMILY)	РОД (GENUS)	ВИД (SPECIES)
	Clostridia	*Eubacteriales*	*Clostridiaceae*	*Clostridium (151)*	*C.botulinum, C.perfringens, C.novyi, C.histolyticum, C.septicum, C.tetani, et al*
				Hathewaya (3)	*H.histolytica*
				Sarcina (2)	*S.ventriculi*
			Peptostreptococcaceae	*Peptostreptococcus (4)*	*P.anaerobius et al*
				Clostridioides (2)	*C.difficile*
			Peptococcaceae	*Peptococcus (2)*	*P.niger, P.simiae*
			Mogibacteriaceae	*Mogibacterium (5)*	*Mogibacterium timidum*
			Lachnospiraceae	*Lachnoanaerobaculum (5)*	*Lachnoanaerobaculum saburreum*
	Bacilli	*Caryophanales*	*Bacillaceae*	*Bacillus (94)*	*B.subtilis, B.anthracis, B.cereus et al*
			Listeriaceae	*Listeria (21)*	*L.monocytogenes et al*
			Staphylococcaceae	*Staphylococcus (57)*	*S.aureus, S.epidermidis, S.saprophyticus et al*
		Lactobacillales	*Lactobacillaceae*	*Lactobacillus (52)*	*L.fermentum, et al*
				Lacticaseibacillus (19)	*L.caseii*
			Enterococcaceae	*Enterococcus (60)*	*E.faecalis, E.faecium et al*
			Leuconostoccaceae	*Leuconostoc (16)*	*L.mesenteroides*
			Streptococcaceae	*Streptococcus (107)*	*S.pyogenes, S.pneumoniae, S.agalactiae, S.anginosus, S.bovis, S.mutans, S.mitis, S.salivarius, S.sanguis, S.milleri et al*
				Lactococcus (22)	*L.lactis et al*
Actinobacteria	*Actinobacteria*	*Actinomycetales*	*Actinomycetaceae*	*Actinomyces (29)*	*A.israelii, A.naeslundii, A.viscosus, A.odontolyticus, A.pyogenes,*
				Mobiluncus (3)	*M.curtisii*
		Bifidobacteriales	*Bifidobacteriaceae*	*Bifidobacterium (87)*	*B.bifidum et al*
				Gardnerella (4)	*G.vaginalis*
		Micrococcales	*Micrococcaceae*	*Micrococcus (9)*	*M.lysodeicticum, M.luteus et al*
				Rothia (11)	*Rothia dentocariosa*
		Mycobacteriales	*Mycobacteriaceae*	*Mycobacterium (193)*	*M.tuberculosis, M.bovis, M.africanum, M.leprae, M.kasasii, M.avium, M.ulcerans, M.fortuitum, M.smegmatis et al*
			Corynebacteriaceae	*Corynebacterium (125)*	*C.diphtheriae, C.ulcerans, C.urealyticum, C.xerosis et al*
			Nocardiaceae	*Nocardia (117)*	*N.asteroides, N.farcinica et al*
			Nocardiaceae	*Rhodococcus (51)*	*R.rhodochrous*
		Propionibacteriales	*Propionibacteriaceae*	*Propionibacterium (5)*	*P.acnes, P.propionicus et al*
		Streptomycetales	*Streptomycetaceae*	*Streptomyces (680)*	*Streptomyces albus*
Bacteroidetes	*Bacteroidia*	*Bacteroidales*	*Bacteroidaceae*	*Bacteroides (39)*	*B.fragilis, B.gingivalis et al*
			Porphyromonadaceae	*Porphyromonas (18)*	*P.gingivalis, P.endodontales et al*
			Prevotellaceae	*Prevotella (55)*	*P.melaninogenica, P.dentalis al*
	Flavobacteriia	*Flavobacteriales*	*Flavobacteriaceae*	*Flavobacterium (244)*	*F.brevivitae et al*
				Capnocytophaga (10)	*Capnocytophaga gingivalis*
		Flavobacteriales	*Weeksellaceae*	*Elizabethkingia (7)*	*Elizabethkingia meningoseptica*
Fusobacteria	*Fusobacteria*	*Fusobacteriales*	*Fusobacteriaceae*	*Fusobacterium (15)*	*F.nucleatum, F.necroforum, F. ulcerans*
			Leptotrichiaceae	*Leptotrichia (6)*	*L.buccalis et al*
			Leptotrichiaceae	*Streptobacillus (5)*	*S.moniliformis*
Chlamydiae	*Chlamydiae*	*Chlamydiales*	*Chlamydiaceae*	*Chlamydia (10)*	*C.trachomatis C.psittaci, C.pneumoniae*
Spirochaetes	*Spirochaetes*	*Spirochaetales*	*Treponemataceae*	*Treponema (29)*	*T.pallidum, T. pertenue, T. denticola, T.minutum, T.refringens,T.medium*
			Borreliaceae	*Borrelia (42)*	*B.recurrentis, B.burqdorferi, B.duttoni, B.persica et al*
		Leptospirales	*Leptospiraceae*	*Leptospira (65)*	*L.interrogans, L.biflexa*
Tenericutes	*Mollicutes*	*Mycoplasmatales*	*Mycoplasmataceae*	*Mycoplasma (45)*	*M.mycoides*
				Ureaplasma (9)	*U.urealiticum et al*
		Mycoplasmoidales	*Metamycoplasmataceae*	*Metamycoplasma (18)*	*M.hominis, M.orale, M.salivarum, M.artritidis*
				Mycoplasmopsis (44)	*M.fermentans*
		Mycoplasmoidales	*Mycoplasmoidaceae*	*Mycoplasmoides (6)*	*M.pneumoniae*
		Acholeplasmatales	*Acholeplasmataceae*	*Acholeplasma (16)*	*A.laidlawii*

Приложение 2

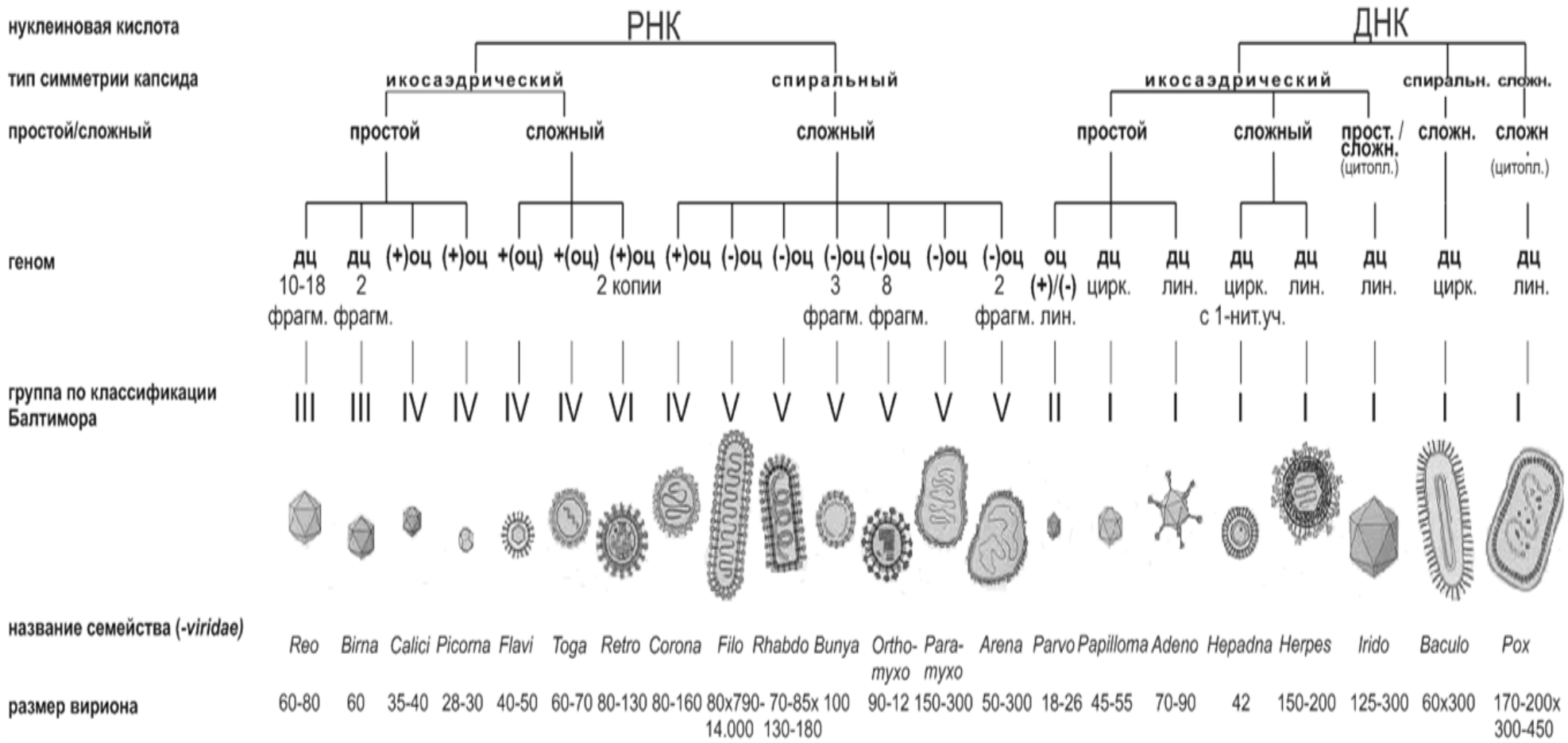
Таксономическое положение вирусов-возбудителей заболеваний человека

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

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

Приложение 3

Инфографика «Систематика вирусов»



Приложение 4

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*	*Mucorales*	*Mucor, Rhizopus, Rhizomucor, Absidia, Cunninghamella, Saksenaea*	Зигомикоз
		Entomophthorales	*Basidiobolus, Conidiobolus*	
Ascomycota	*Ascomycetes*	*Saccharomycetales*	Дрожжи: *Saccharomyces*, *Pichia* (телеоморфы *Candida spp.)*	Многочисленные микозы
		Onygenalis	*Arthroderma (телеоморфы Trichophyton иMicrosporum)*	Дерматомикозы
		Eurotiales	Телеоморфы некоторых *Aspergillus и Penicillium spp.*	Аспергиллез, пенициллиоз, гиалогифомикоз
		Microascalis	*Pseudallescheria boydii* (телеморфа *Scedosporum apiospermum)*	Мицетома, гиалогифомикоз
		Pyrenomycetes	*Nectria, Gibberelia* (телеморфы многих *Fusarium spp.)*	Кератоз, гиалогифомикоз
	Archiascomycetes	*Pneumocystidales*	*Pneumocystis carinii*	Пневмония
Basidiomycota	*Basidiomycetes*	*Agaricales*	*Amanita, Agaricus*	Отравление ядом грибов
		Tremellales	Дрожжи: *Filobasidiella* (телеоморфы *Cryptococcus neoformans)*	Криптококкоз
Deuteromycota или *митоспоровые* грибы		*Cryptococcales*	Несовершенные грибы: *Candida*, *Cryptococcus, Trichosporon, Malassezia*	Многочисленные микозы
		Moniales, семейство *Monialiaceae*	*Epidermophyton, Coccidioides, Paracoccidioides, Sporothrix, Aspergillus*	Многочисленные микозы
		Moniales, семейство *Dematiaceae*	*Philaphora, Fonsecaea, Exophiala, Wangiella, Cladophialophora, Bipolaris, Exserohilum, Alternaria*	Хромобластмикоз, мицетома, феогифомикоз
		Sphaeropsidales	*Phoma*	Феогифомикоз

Не имеют медицинского значения:

1. Хитридиомицеты (тип — *Chytridiomycota*) — водные сапрфитные грибы или грибы, порожающие водоросли.

2. Оомицеты — организмы, родственные водорослям, паразиты высших растений (оомицеты отличаются от грибов по 6 биологическим признакам — теперь их относят к царству *Stramenopila*, типу *Oomycota*).

Приложение 5

Клиническая классификация микозов

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

ISBN 978-985-21-1647-3