

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

# МЕДИЦИНСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ, ВИРУСОЛОГИЯ, ИММУНОЛОГИЯ

Практикум

*3-е издание, исправленное*



Минск БГМУ 2009

УДК 576.8+612.017+578 (076.5)  
ББК 52.64 я 73  
М 42

Рекомендовано Научно-методическим советом университета в качестве практикума 18.11.2009 г., протокол № 3

**А в т о р ы:** канд. мед. наук, доц. Т. А. Канашкова (занятия 1–36); канд. мед. наук, доц. В. А. Горбунов (занятия 1–8, 17–26, 34–36); канд. мед. наук, доц. Д. А. Черношей (занятия 10–15, 28–32); канд. мед. наук, доц. Л. И. Каскевич (занятия 1–4, 11, 17–19, 25, 26, 36)

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

**Медицинская** микробиология, вирусология, иммунология : практикум / Т. А. Канашкова [и др.]. 3-е изд., испр. – Минск : БГМУ, М 42 2009. – 127 с.

ISBN 978–985–528–073–7.

Отражены вопросы общей и частной медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии. Даны алгоритмы, схемы, некоторые справочные сведения, методики выполнения лабораторных работ на кафедре микробиологии, вирусологии, иммунологии. Первое издание вышло в 2007 году.

Предназначено для студентов лечебного, педиатрического, военно-медицинского факультетов и медицинского факультета иностранных учащихся.

УДК 576.8+612.017+578 (076.5)  
ББК 52.64 я 73

ISBN 978–985–528–073–7

© Оформление. Белорусский государственный  
медицинский университет, 2009

## Введение

Уважаемые студенты!

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

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

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

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

*Коллектив авторов*

### Список сокращений:

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

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

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Микробиология, основные этапы развития. История кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии БГМУ, основные направления работы.</p> <p>Устройство микробиологической лаборатории, режим работы в ней. Правила работы с заразным материалом и культурами микроорганизмов. Правила работы со спиртовками, электрическими и газовыми приборами.</p> <p>Мик микробов. Принципы систематики микроорганизмов, классификация, номенклатура, таксономические группы. Эволюция микроорганизмов.</p> <p>Основные формы бактерий (шаровидные, палочковидные, извитые), характеристика.</p> <p>Микроскопический (бактериоскопический) метод исследования, задачи, этапы, оценка. Техника приготовления фиксированных препаратов из культур бактерий и окраска их простыми методами. Техника световой иммерсионной микроскопии.</p>	<p><b>Источники:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Материал лекции.</li> <li>2. [1] С. 26-32; [4] – (учебники),</li> <li>3. [2], [5] – (практикумы),</li> <li>4. [6], [9] – (доп. литература).</li> </ol>
--	---

**Лабораторная работа**

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

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

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

### И Н С Т Р У К Ц И Я

#### по технике безопасности для студентов, работающих на кафедре микробиологии, вирусологии, иммунологии

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

### Микроскопический (бактериоскопический) метод исследования

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

#### Этапы метода:

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

#### Приготовление фиксированного мазка:

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

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

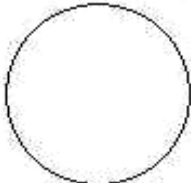
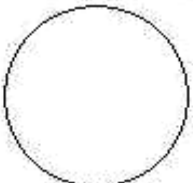
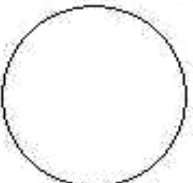
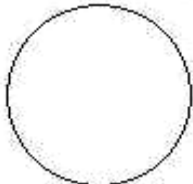
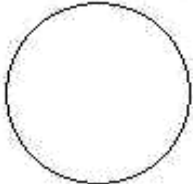
**Оценка метода:** метод прост, широко доступен, быстр, экономичен, но мало чувствителен (определяется около  $10^5$  и более бактерий в мл) и неспецифичен (из-за схожести морфологии микроорганизмов разных видов), небезопасен (работа с живыми микроорганизмами).



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

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Отличия прокариотов от эукариотов. Структура бактериальной клетки. Поверхностные образования. Клеточная стенка бактерий: структура, функции, методы выявления. Грамположительные и грамотрицательные бактерии. Техника и механизм окраски по Граму. Формы бактерий с дефектами клеточной стенки (протопласты, сферопласты, L-формы, причины образования, значение. Структура и функции капсулы, жгутиков, фимбрий, методы выявления. Выявление капсулы методом Бурри-Гинса.</p> <p>Цитоплазматическая мембрана, строение, функции. Структура цитоплазматических образований бактериальных клеток (нуклеоид, мезосома, рибосома, плазмиды, включения). Методы выявления нуклеоида, волютиновых зерен. Окраска по Нейссеру и Леффлеру. Кислотоустойчивость бактерий. Техника и механизм окраски по Цилю-Нильсену. Покоящиеся формы микроорганизмов. Споры бактерий, значение, стадии спорообразования. Методы выявления спор, окрашивание по методу Ожешко.</p>	<p><b>Источники:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Материал лекции.</li> <li>2. [1] С. 32-41; [4] – (учебники),</li> <li>3. [4] – (учебники),</li> <li>4. [2], [5] – (практикумы),</li> <li>5. [6], [9] – (доп. литература).</li> </ol>
--	---

**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты		
<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Приготовить препарат из смеси грамположительных и грамотрицательных бактерий, окрасить по Граму, микроскопировать, зарисовать.</li> <li>2. Приготовить препарат из капсульной культуры, окрасить по Бури-Гинсу, микроскопировать, зарисовать.</li> <li>3. Приготовить препарат из смеси кислотоустойчивых и не-кислотоустойчивых бактерий, окрасить по Цилю-Нильсену, микроскопировать, зарисовать.</li> </ol>	<p>Препарат _____</p>  <p>Окраска _____</p>	<p>Препарат _____</p>  <p>Окраска _____</p>	<p>Препарат _____</p>  <p>Окраска _____</p>
<p><b>Зарисовать демонстрационные препараты:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Сферопласты клебсиелл (<i>Klebsiella spp.</i>)</li> <li>2. Клеточная стенка бактерий</li> <li>3. Зерна волютина <i>Corynebacterium diphtheriae</i>.</li> </ol> <p>Окраска по Нейссеру, Леффлеру.</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>4. Споры <i>Bacillus anthracis</i>. Окраска по Ожешко.</li> </ol>	<p>Препарат _____</p>  <p>Окраска _____</p>	<p>Препарат _____</p>  <p>Окраска _____</p>	

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

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

Бактерии	После окрашивания генцианвиолетом	После обработки р-ром Люголя	После обработки 96 <sup>0</sup> этанолом	После окрашивания фуксином
Грамположительные				
Грамотрицательные				

Нарисуйте варианты расположения жгутиков бактерий:

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

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

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

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

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

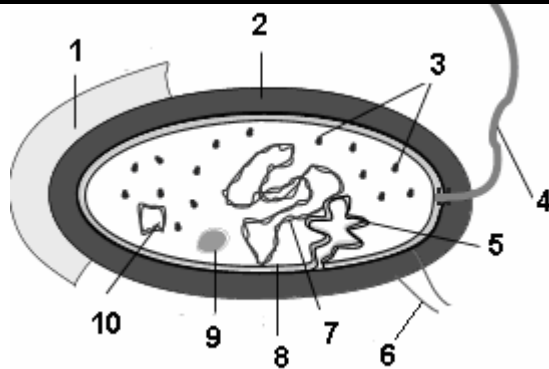


Рис. 2. Принципиальная схема строения гетеротрофной прокариотической клетки.

Укажите названия структур и их функции

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



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

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

Грам+ бактерии прочно фиксируют комплекс генцианвиолета и йода, не подвергаются обесцвечиванию этанолом – не воспринимают дополнительный краситель (фуксин). У Грам- бактерий этот комплекс легко вымывается этанолом – окрашиваются дополнительным красителем.

Некоторые виды бактерий окрашиваются грамвариабельно.

**Окраска по Бурри-Гинсу.** Для выявления капсул.

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

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

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

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

Механизм окраски. Зерна волютина по химической природе - это полифосфаты, они являются запасом питательных и энергетических веществ. Характерная особенность волютина - способность к метахромазии, то есть к окраске в иной цвет, чем краситель.

Протоплазма окрашивается в голубой, зерна волютина – в фиолетово-красный цвет.

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

1. На фиксированный мазок наносят ацетат синьки Нейссера - 2 мин., промывают водой;
2. Наносят раствор Люголя – 30 секунд, промывают водой;
3. Везувин (или хризоидин) – 0,5-1 мин, промывают водой, высушивают фильтровальной бумагой, наносят иммерсионное масло, микроскопируют.

Механизм окраски. Зерна волютина, имеющие щелочную рН, воспринимают ацетат синьки, окрашиваясь в темно-синий цвет. Цитоплазма обладает кислой рН, воспринимает щелочной краситель везувин – окрашивается в желтый цвет.

**Окраска по Цилю-Нильсену.**

1. На фиксированный препарат накладывают полоску фильтровальной бумаги, на нее наливают карболовый фуксин Циля и над пламенем спиртовки подогревают препарат 2-3 раза до появления паров (2-3 минуты).
  2. После остывания мазка бумагу снимают, препарат обесцвечивают 5% р-ром серной кислоты 30 сек., погружая в стаканчик с кислотой 2-3 раза.
  3. Препарат промывают водой и докрашивают метиленовым синим 3-5 мин.
  4. Промывают водой, высушивают фильтровальной бумагой, наносят иммерсионное масло, микроскопируют.
- Кислотоустойчивые бактерии окрашиваются в рубиново-красный цвет, а кислото-податливые – в синий.

Механизм окраски. При обработке препарата фуксином Циля все бактерии окрашиваются в красный цвет. При последующем обесцвечивании серной кислотой кислотоустойчивые бактерии, из-за особенностей своего химического состава, удерживают краситель. Кислотоподатливые обесцвечиваются, поэтому при дальнейшем окрашивании метиленовым синим воспринимают краситель и приобретают голубой (синий) цвет.

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

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

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

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

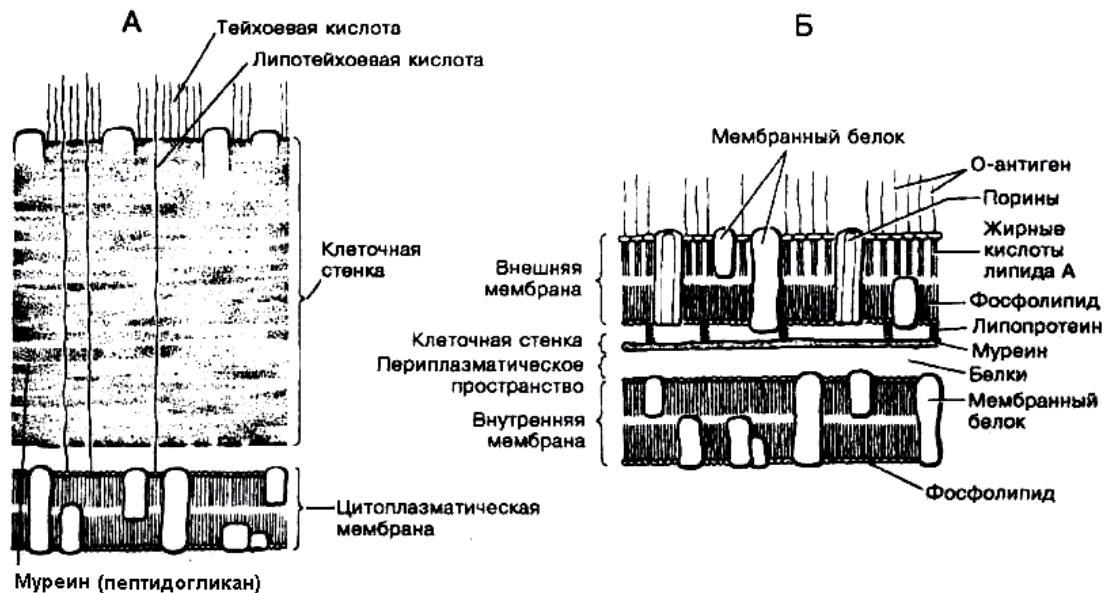


Рис. 3. Клеточная стенка грамположительных (А) и грамотрицательных (Б) бактерий.

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

### Особенности строения клеточной стенки грамположительных и грамотрицательных бактерий

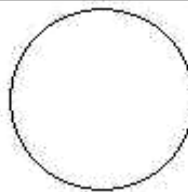
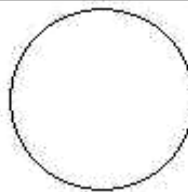
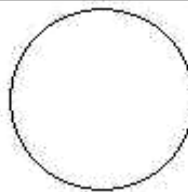
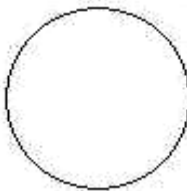
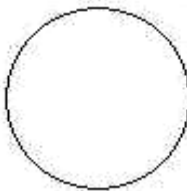
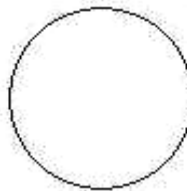
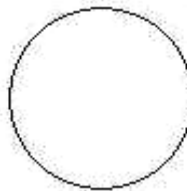
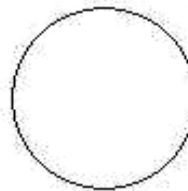
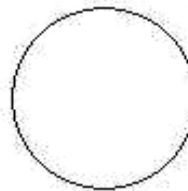
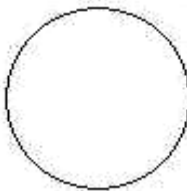
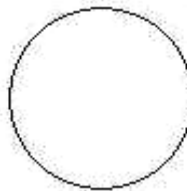
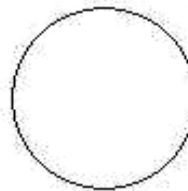
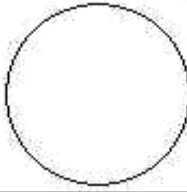
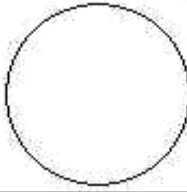
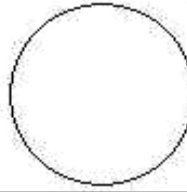
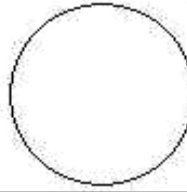
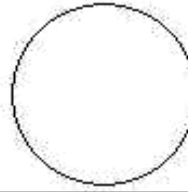
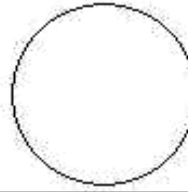
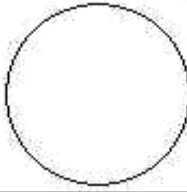
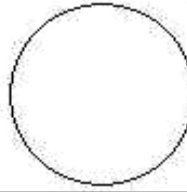
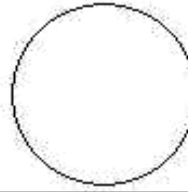
Компоненты клеточной стенки	Грамположительные бактерии	Грамотрицательные бактерии
Пептидогликан		
Тейховые к-ты		
Липополисахариды		
Полисахариды		
Белки		
Липиды		

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

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

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Систематическое положение и морфология спирохет, методы изучения. Окраска по Романовскому-Гимзе. Систематическое положение и морфология актиномицетов. Систематическое положение и морфология риккетсий, методы изучения. Систематическое положение и морфология хламидий, формы существования, методы изучения. Систематическое положение и морфология микоплазм, методы изучения.</p> <p>Методы исследования активной подвижности микробов. Приготовление препаратов «раздавленная» и «висячая капля». Темнопольная микроскопия. Устройство и ход лучей в темнопольном микроскопе. Фазово-контрастная микроскопия. Люминесцентная микроскопия.</p>	<p><b>Источники:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Материал лекции.</li> <li>2. [1] С. 41-45; [4] – (учебники),</li> <li>3. [2], [5] – (практикумы),</li> <li>4. [6], [9] – (доп. литература).</li> </ol>
---	---

**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты											
<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Приготовить препарат из взвеси <i>Rickettsia spp.</i> окрасить водным р-ром фуксина, микроскопировать, зарисовать.</li> <li>2. Приготовить препарат «раздавленная капля» из взвеси подвижных бактерий, микроскопировать в нативном состоянии.</li> </ol>	<table border="1" style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 30%;"> <b>Препарат</b> _____                      _____                      _____  <b>Окраска</b> _____                      _____                      _____                 </td> <td style="width: 30%; text-align: center;">  </td> <td style="width: 40%;"></td> </tr> </table>			<b>Препарат</b> _____ _____ _____ <b>Окраска</b> _____ _____ _____								
<b>Препарат</b> _____ _____ _____ <b>Окраска</b> _____ _____ _____												
<p><b>Зарисовать демонстрационные препараты:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Treponema denticola</i> в зубном налёте, окраска по Граму.</li> <li>• <i>Leptospira spp.</i> в темном поле.</li> <li>• <i>Borrelia recurrentis</i> в крови больного возвратным тифом, окраска по Романовскому-Гимзе.</li> <li>• Цитоплазматические включения <i>Chlamydia spp.</i>, окраска по Романовскому-Гимзе.</li> <li>• <i>Actinomyces spp.</i>, чистая культура, окраска по Граму.</li> <li>• <i>Escherichia coli</i> в люминесцентном микроскопе, окраска акридиновым оранжевым.</li> </ul> <p>4. Техника приготовления препарата «висячая капля».</p>	<table border="1" style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 30%;"> <b>Препарат</b> _____                      _____                      _____  <b>Окраска</b> _____                      _____                      _____                 </td> <td style="width: 30%; text-align: center;">  </td> <td style="width: 40%;"></td> </tr> </table>	<b>Препарат</b> _____ _____ _____ <b>Окраска</b> _____ _____ _____			<table border="1" style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 30%;"> <b>Препарат</b> _____                      _____                      _____  <b>Окраска</b> _____                      _____                      _____                 </td> <td style="width: 30%; text-align: center;">  </td> <td style="width: 40%;"></td> </tr> </table>	<b>Препарат</b> _____ _____ _____ <b>Окраска</b> _____ _____ _____			<table border="1" style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 30%;"> <b>Препарат</b> _____                      _____                      _____  <b>Окраска</b> _____                      _____                      _____                 </td> <td style="width: 30%; text-align: center;">  </td> <td style="width: 40%;"></td> </tr> </table>	<b>Препарат</b> _____ _____ _____ <b>Окраска</b> _____ _____ _____		
<b>Препарат</b> _____ _____ _____ <b>Окраска</b> _____ _____ _____												
<b>Препарат</b> _____ _____ _____ <b>Окраска</b> _____ _____ _____												
<b>Препарат</b> _____ _____ _____ <b>Окраска</b> _____ _____ _____												
	<table border="1" style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 30%;"> <b>Препарат</b> _____                      _____                      _____  <b>Окраска</b> _____                      _____                      _____                 </td> <td style="width: 30%; text-align: center;">  </td> <td style="width: 40%;"></td> </tr> </table>	<b>Препарат</b> _____ _____ _____ <b>Окраска</b> _____ _____ _____			<table border="1" style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 30%;"> <b>Препарат</b> _____                      _____                      _____  <b>Окраска</b> _____                      _____                      _____                 </td> <td style="width: 30%; text-align: center;">  </td> <td style="width: 40%;"></td> </tr> </table>	<b>Препарат</b> _____ _____ _____ <b>Окраска</b> _____ _____ _____			<table border="1" style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 30%;"> <b>Препарат</b> _____                      _____                      _____  <b>Окраска</b> _____                      _____                      _____                 </td> <td style="width: 30%; text-align: center;">  </td> <td style="width: 40%;"></td> </tr> </table>	<b>Препарат</b> _____ _____ _____ <b>Окраска</b> _____ _____ _____		
<b>Препарат</b> _____ _____ _____ <b>Окраска</b> _____ _____ _____												
<b>Препарат</b> _____ _____ _____ <b>Окраска</b> _____ _____ _____												
<b>Препарат</b> _____ _____ _____ <b>Окраска</b> _____ _____ _____												

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

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

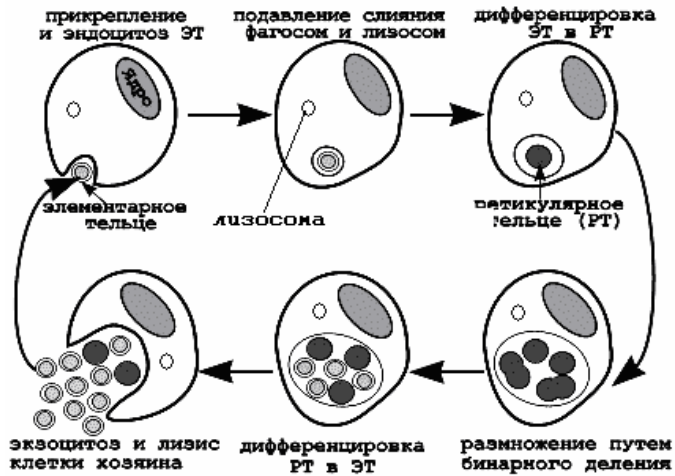
Репозиторий БГМУ

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

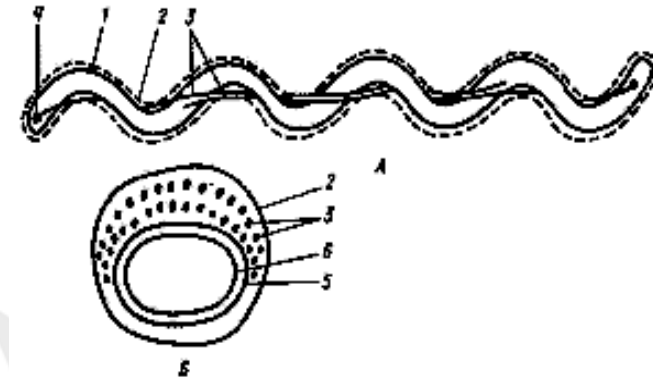
**Механизм окраски.** Краситель состоит из эозина, метиленового синего и азура, растворённых в метаноле или в смеси метанола с глицерином. Окрашивает ацидофильные образования в различные оттенки красного цвета, базофильные — в цвета от пурпурного до синего.

**Дифференциация спирохет (заполните таблицу)**

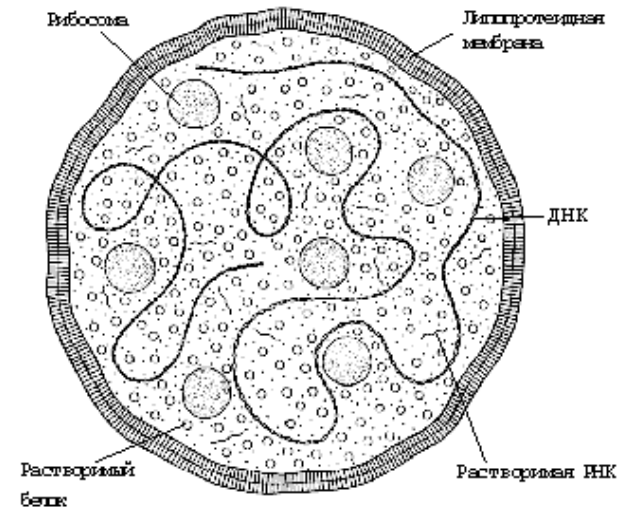
Признак	<i>Treponema spp.</i>	<i>Borrelia spp.</i>	<i>Leptospira spp.</i>
Число завитков			
Характер завитков			
Основные типы движений			
Схематический рисунок			
Окрашивание по Романовскому-Гимзе			
Окрашивание по Граму			



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



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

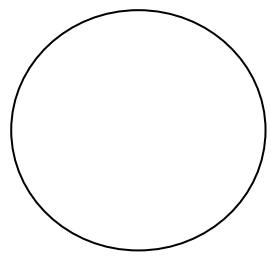


**Рис. 6. Структура клетки микоплазмы.**

**Тема: Противомикробные мероприятия. Методы стерилизации и дезинфекции. Асептика, антисептика. Культуральный (бактериологический) метод исследования. Методы выделения чистых культур бактерий.**

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Определение понятий асептики, стерилизации, дезинфекции, антисептики. Термические, механические, химические и др. методы стерилизации. Отличия стерилизации от дезинфекции. Виды дезинфектантов. Механизмы действия на микробы. Антисептические средства, происхождение, свойства, группы, механизмы действия на микробы. Типы антисептики. Методы контроля эффективности стерилизации, дезинфекции, антисептики. Понятие о противомикробном режиме в лечебно-профилактических учреждениях. Методы культивирования бактерий. Питательные среды, общая характеристика и классификация., принципы приготовления. Требования, предъявляемые к питательным средам. Условия выращивания микробов. Термостат. Культуральный (бактериологический) метод исследования, задачи, этапы, оценка. Методы и схема выделения чистых культур аэробных и анаэробных бактерий. Характеристика колоний микроорганизмов. Методы и аппаратура для создания анаэробноза.</p>	<p>Источники:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Материал лекции.</li> <li>2. [1] С. 153-159; [4] – (учебники),</li> <li>3. [2], [5] – (практикумы),</li> <li>4. [6], [8], [9] – (доп. литература).</li> </ol>
--	---

**Лабораторная работа**

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

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

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



Материал

**I этап бактериологического исследования:**

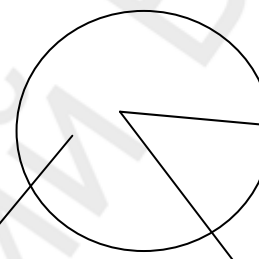
Взятие материала, доставка в лабораторию, микроскопия, посев



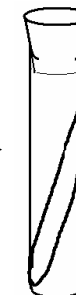
Инкубация, 24 ч., 37°C

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

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



МПА



МПА

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

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

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

**Демонстрация.**

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

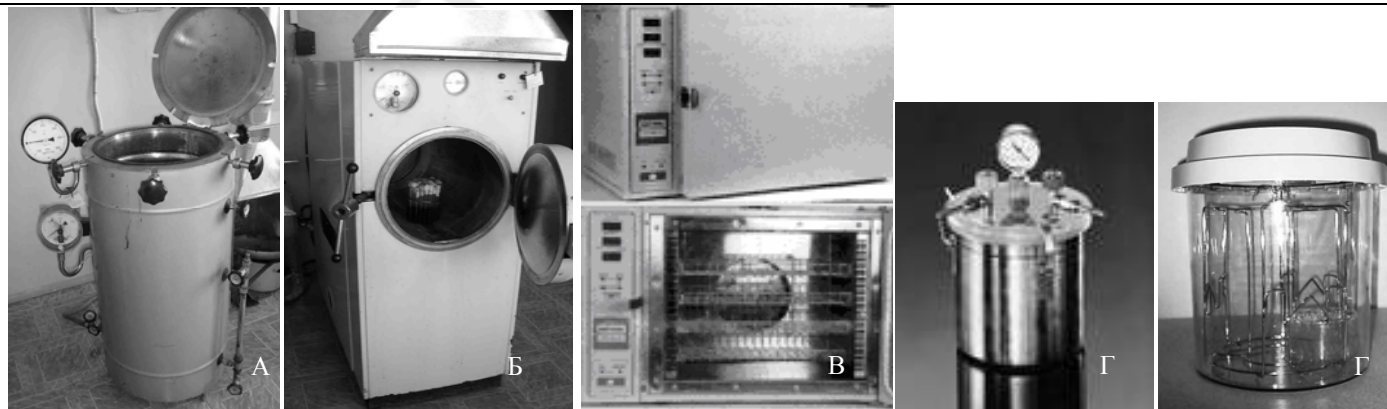


Рис. 7. Стерилизаторы: паровые (автоклавы) ВК-75 (А) и ГК-100 3М (Б), суховоздушный – вид снаружи и изнутри (В), анаэроустаты (Г).

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

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

### Классификация питательных сред

#### **А) По происхождению:**

- 1) естественные – натуральные продукты питания (мясо, молоко, картофель);
- 2) искусственные – приготовленные специально для выращивания микроорганизмов:
  - а) среды из естественных продуктов (мясная вода, мясопептонный бульон (МПБ), мясопептонный агар (МПА), не имеют постоянного состава;
  - б) синтетические питательные среды – растворы строго определенных количеств солей, аминокислот, азотистых оснований, витаминов в дистиллированной воде – имеют постоянный состав, используются для выращивания микроорганизмов и культур клеток при получении вакцин, иммунных сывороток и антибиотиков;

#### **Б) По назначению:**

- 1) общего назначения (МПБ, МПА) – на них растет большинство микробов;
- 2) селективные – избирательно способствуют росту одного вида микробов из смеси (например, солевой агар для стафилококков);
- 3) дифференциально-диагностические – предназначены для индикации и дифференциации отдельных типов, видов и групп бактерий:
  - Содержащие белки, дающие характерные изменения под действием ферментов бактерий (напр., кровяной агар, молоко и др.);
  - Содержащие индикаторы, углеводы или многоатомные спирты; ферментативное расщепление приводит к сдвигу pH и изменению окраски среды (напр., среды Гисса, среды Эндо, Левина и др.);
  - Среды для определения редуцирующей способности (напр., среды с красителями, обесцвечивающимися при восстановлении и др.);
  - Среды, включающие вещества, ассимилируемые только определенной группой бактерий (напр., цитратный агар Симмонса и др.).

#### **В) По консистенции:**

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

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

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

### Культуральный метод исследования

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

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

#### **Этапы метода:**

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

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

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

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

#### **Оценка метода:**

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



## Методы выделения чистых культур микроорганизмов

### 1. Методы механического разобщения микроорганизмов:

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

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

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

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

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

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

**Дезинфекция** – совокупность способов полного, частичного или селективного уничтожения опасных для здоровья человека микроорганизмов на объектах внешней среды с целью предупреждения передачи возбудителей болезней от больных и микробоносителей здоровым людям.

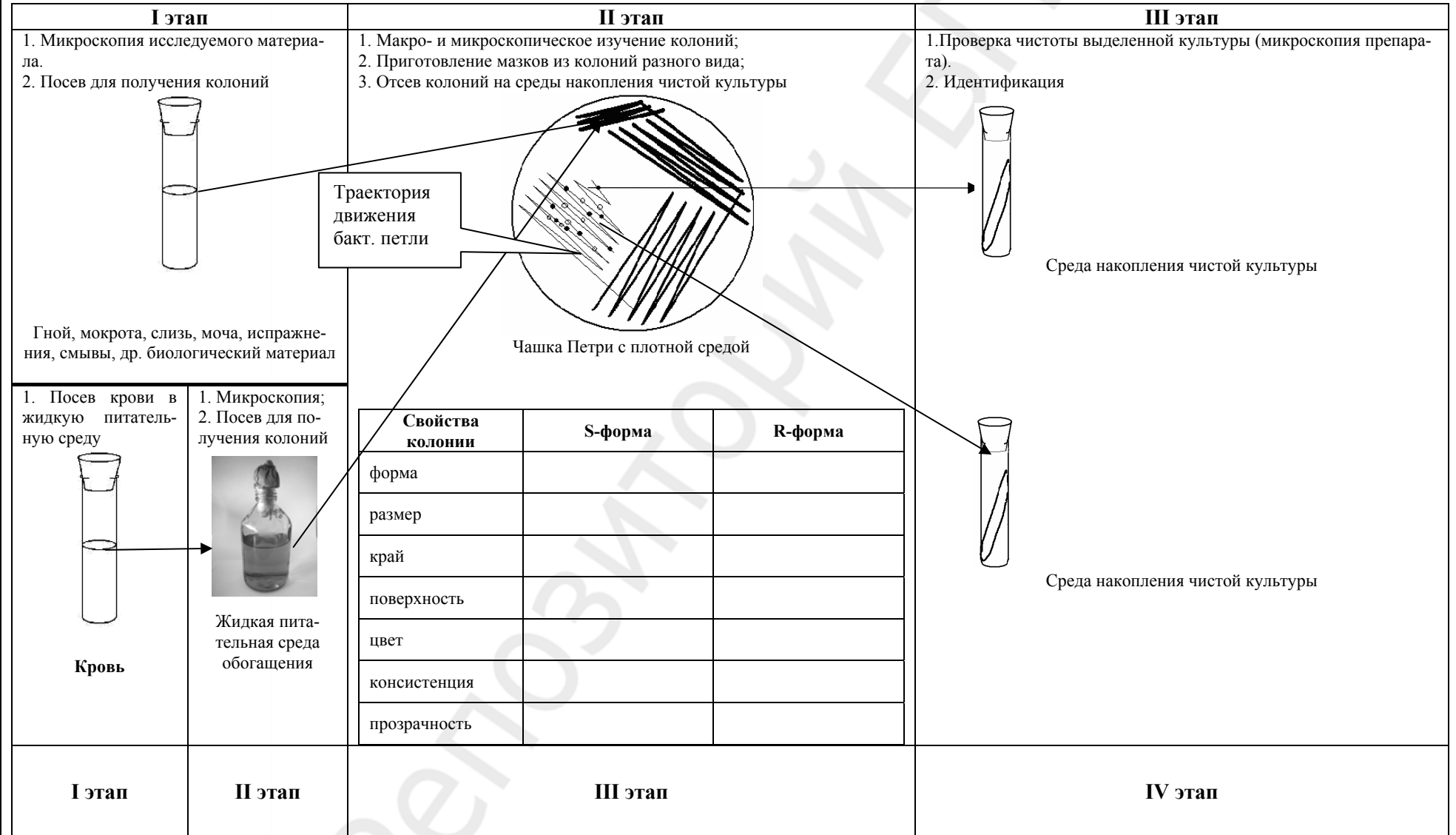
**Антисептика** – совокупность способов уничтожения или подавления жизнедеятельности потенциально опасных для здоровья человека организмов на интактных или поврежденных коже, слизистых оболочках и в полостях с целью профилактики (профилактическая антисептика) и лечения (терапевтическая антисептика) инфекционных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

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

*Впишите в таблицу возможные способы стерилизации указанных объектов*

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

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



### Методы создания анаэробных условий (для выделения чистых культур анаэробов)

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

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

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

Выращивание в анаэростатах (метод Цейслера). Анаэростат – вакуумная металлическая или пластиковая камера. Из анаэростата откачивают воздух, заполняют его газовой смесью: N<sub>2</sub> (90—80%) и CO<sub>2</sub> (10—20%). Избыточное давление (500 мм рт. ст.) исключает диффузию кислорода воздуха. Для создания анаэриоза в анаэростате также используются газогенерирующие системы типа «GasPak», образующие газы (H<sub>2</sub> и CO<sub>2</sub>) и поглощающие кислород. В качестве поглотителя кислорода используют щелочной раствор пиригаллола, дитионита натрия, металлическое железо и другие реактивы. Полноту поглощения кислорода контролируют индикатором.

Анаэробные боксы. Для культивирования строгих анаэробов применяются специальные камеры, заполненные газовыми смесями (чаще всего 90% N<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub> и 5% H<sub>2</sub>), которые содержат внутри все необходимое для выполнения микробиологических работ, включая термостат. Это оборудование сложно и дорого, но оно имеет преимущество — контакт клеток с кислородом остается минимальным почти на всех этапах работы.

Питательные среды для создания анаэробных условий:



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

Ответ: \_\_\_\_\_

### Схема выделения чистой культуры клостридиальных анаэробов

#### I Этап:

1. Взятие материала,
2. Микроскопия,
3. Посев в среду Китта-Тароцци, после посева среду прогревают для уничтожения неспорных форм (80°C – 20 мин).

#### II Этап – может использоваться один из методов:

**A. Метод Цейслера.** Высев разведений (для получения изолированных колоний) на чашки Петри с кровавым агаром или специальной средой, инкубирование в анаэростате.

**Б. Метод Вейнберга.** Разведение в пробирках с прогретой средой Вильсон-Блера для получения изолированных колоний в толще среды.

**В. Метод Вийона.** Посев разведений в среду в стеклянных трубочках с последующим запаиванием их концов (герметизация) – устаревший метод.

**Г. Метод Фортнера.** Посев на половину площади среды в чашке Петри. Вторая половина среды засеивается культурой бактерий, активно поглощающей кислород, напр. *Serratia marcescens*. Чашка герметизируется.

#### III Этап:

1. Микроскопия изолированных колоний,
  2. Биохимическая идентификация (при необходимости),
- Изучение других биологических свойств выделенной чистой культуры (в зависимости от целей исследования).

### Схема выделения чистой культуры неклостридиальных анаэробов

#### I Этап:

1. Взятие материала,
2. Микроскопия,
3. Посев на специальные среды в чашках Петри (инкубирование в анаэростате 48 часов). *Растут облигатные и факультативные анаэробы.*

#### II Этап – может использоваться один из методов:

Микроскопия и отсев выросших колоний на специальные среды (2 чашки) методом штрихового посева (механическое разобщение). Одна чашка инкубируется в аэробных условиях, вторая - в анаэростате. *Имеется возможность дифференциации облигатных и факультативных анаэробов.*

#### III Этап:

1. Микроскопия изолированных колоний, растущих только в анаэробных условиях,
2. Биохимическая идентификация (при необходимости),
3. Изучение других биологических свойств выделенной чистой культуры (в зависимости от целей исследования).

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

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Идентификация микробов, её принципы и методы. Вид у микробов, критерии вида. Биохимические свойства микробов и методы их изучения. Ферменты микробов, их значение для идентификации:</p> <p>а) протеолитические (протеазы, пептидазы, дезаминазы, декарбоксилазы, цистиназа, триптофаназа, уреазы);          б) сахаролитические (карбогидраза, амилаза);          в) липолитические (липаза, лецитиназа)          г) окислительно-восстановительные (дегидрогеназы, оксидазы, каталаза);          д) гемолизины. Альфа-, бета-, гамма-гемолиз.</p> <p>Автоматические микробиологические анализаторы, принципы работы.</p>	<p><b>Источники:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Материал лекции.</li> <li>2. [1] С. 63-64; [4] – (учебники),</li> <li>3. [2], [5] – (практикумы),</li> <li>4. [6], [9] – (доп. литература).</li> </ol>
---	---

**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты
<p>1. Учет опыта по антисептике (см. занятие № 4).</p> <p>2. Третий этап выделения чистых культур аэробов (идентификация культуры):</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• определить морфологию и провести контроль чистоты культуры бактерий на МПА,</li> <li>• произвести посев на среду Клиглера, на среды с сахарозой, мальтозой, маннитом, поставить пробы на индол и на подвижность.</li> </ul> <p><b>Демонстрация.</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Среды Гисса с различными индикаторами, жидкие и полужидкие.</li> <li>2. Гемолиз, лецитиназная и оксидазная активность.</li> <li>3. Тест-системы для идентификации микроорганизмов.</li> </ol>	<p>МПА</p> <p>Лактоза Глюкоза H<sub>2</sub>S</p> <p>среда Клиглера</p> <p>МПА с триптофаном (индол)</p> <p>МПА п/ж (подвижность)</p> <p>среда с сахарозой и ВР</p> <p>среда с мальтозой и ВР</p> <p>среда с маннитом и ВР</p> <p>Препарат _____</p> <p>Окраска _____</p>

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

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

### Определение биохимических свойств микробов.

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

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

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

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

**Липазы** – ферменты разложения липидов и липоидов.

#### **Ферменты-токсины:**

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

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

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

#### **Оксидоредуктазы:**

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

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

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

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

Цвета некоторых индикаторов pH

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

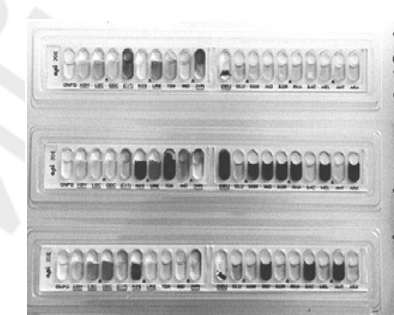


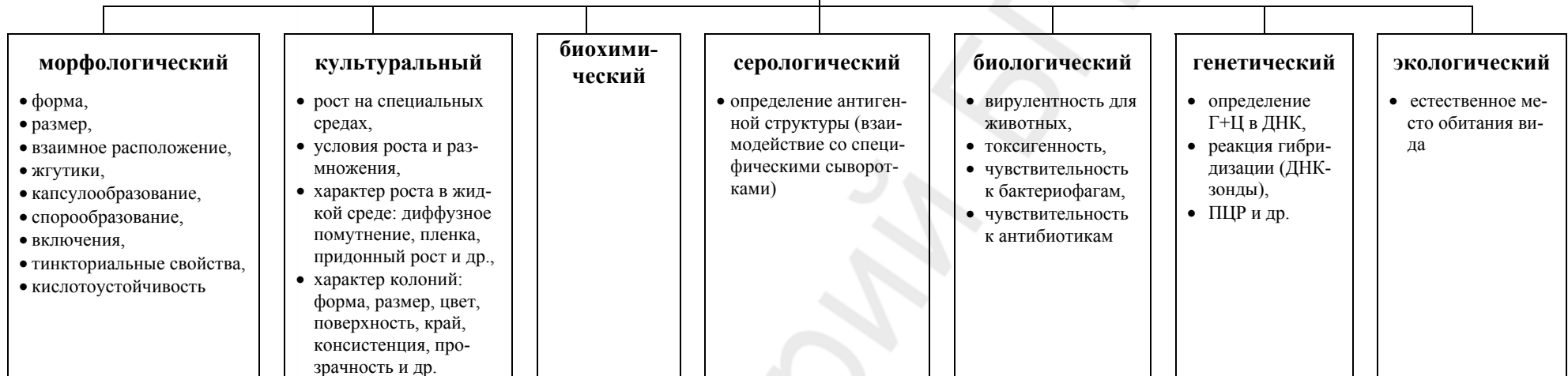
Рис. 8. Тест-система для биохимической идентификации бактерий (API-20E).

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



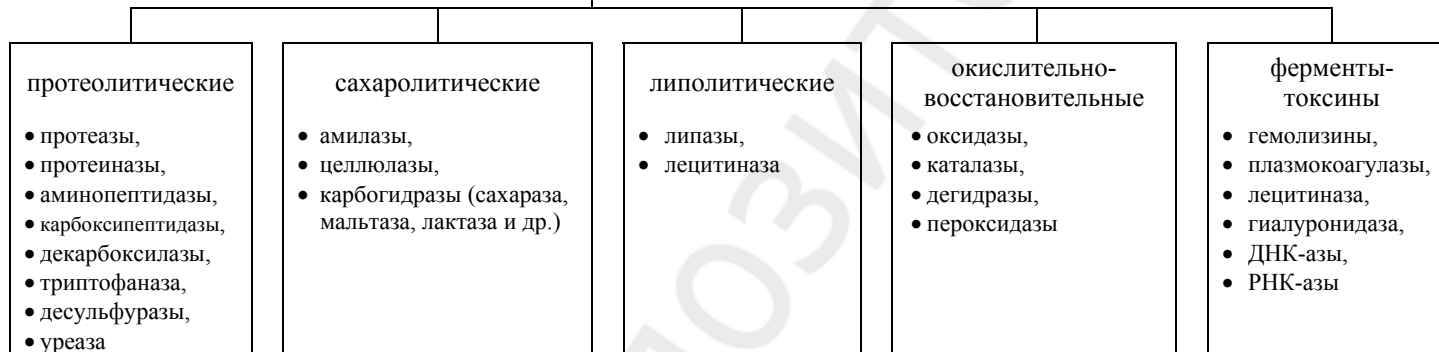
Рис. 9. Автоматические микробиологические анализаторы (внешний вид).

## Критерии вида



### ферменты

### профиль жирных кислот (для анаэробов)



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

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Устройство генетического аппарата бактерий. Виды изменчивости микроорганизмов. Практическое значение изменчивости. Генотипическая изменчивость. Мутации. Генетические рекомбинации: трансформация, трансдукция, конъюгация. Принцип генетического анализа.</p> <p>Методы выделения мутантов. Плазмиды и их функции.</p> <p>Методы молекулярной диагностики (молекулярная гибридизация, полимеразная цепная реакция). Определение. Задачи. Преимущества (см. методическое пособие).</p> <p>Молекулярная гибридизация: материал для исследования, зонды, постановка реакции, учёт и интерпретация результатов. Области применения.</p> <p>Полимеразная цепная реакция (ПЦР): материал для исследования, реагенты, аппаратура, постановка ПЦР, учёт и интерпретация результатов. Области применения.</p>	<p><b>Источники:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Материал лекции.</li> <li>2. [1] С. 64-66, 93-119; [4] – (учебники),</li> <li>3. [2], [5] – (практикумы),</li> <li>4. [6], [9], [12] – (доп. литература).</li> </ol>
--	---

**Лабораторная работа**

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

**Заключение:** на основании результатов исследования идентифицирован \_\_\_\_\_

<p>2. Поставить опыт по конъюгации:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• инкубировать смесь культур <i>E. coli</i> донора и реципиента,</li> <li>• сделать высев на минимальную среду.</li> </ul>	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;"> <p><i>E. coli</i> D (донор) F<sup>+</sup> tre<sup>+</sup> leu<sup>+</sup> str<sup>s</sup></p> </div> <div style="text-align: center;"> <p>0,5 мл</p> </div> <div style="text-align: center;"> <p>0,5 мл</p> </div> <div style="text-align: center;"> <p><i>E. coli</i> R (реципиент) F<sup>-</sup> tre<sup>-</sup> leu<sup>-</sup> str<sup>R</sup></p> </div> </div> <p style="text-align: center;">Минимальная среда без треонина и лейцина, стрептомицин 100 мкг/мл.</p> <div style="text-align: center;"> <p>Рекомбинант tre leu str</p> </div> <p>Учет результатов (после 24 ч. инкубации при 37 °С).</p> <p><b>Заключение:</b></p>	
<p>3. Поставить ПЦР для обнаружения ДНК <i>M.tuberculosis</i> в бронхоальвеолярном лаваже больного туберкулезом.</p> <p>Определение <i>M.tuberculosis</i> в промывных водах бронхов основано на обнаружении и амплификации последовательности гена MPV64 (общей для <i>M. tuberculosis</i> и <i>M. bovis</i>). В результате реакции происходит накопление продукта (ампиконов) длиной 357 п.н.</p>	<p><i>Схема проведения ПЦР</i></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Выделение ДНК: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Маркировка пробирок для выделения ДНК (эппендорфы на 1,5 мл с замочком). Внесение 100 мкл лаважной жидкости и 100 мкл отрицательного контроля в пробирки для выделения ДНК</li> <li>• Встряхивание и кипячение 10 мин (в лаборантской).</li> </ul> </li> <li>2. Постановка ПЦР: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Приготовление реакционной смеси:</li> <li>• Маркировка пробирок для ПЦР (маленькие эппендорфы на 0,5 мл с парафином).</li> <li>• Внесение 10 мкл реакционной смеси и 10 мкл жидкости из пробирок для выделения в ПЦР-пробирки.</li> <li>• Амплификация (демонстраторий), 1 час.</li> </ul> </li> <li>3. Детекция: электрофорез в геле (20 мин), просмотр на трансиллюминаторе.</li> <li>4. Учет и оценка результата.</li> </ol>	
<p><b>Демонстрация.</b></p> <p>1. Метод реплик.</p>	<p><b>Метод реплик</b> позволяет осуществить одномоментный посев нескольких исследуемых культур бактерий с помощью специальных штампов-репликаторов. Штамп состоит из основания с 25 или 50 лунками для заливки культур и верхней части (крышки), имеющей соответственно 25 или 50 штифтов, которые при накладывании крышки на основание входят в лунки.</p> <p>Суспензии испытуемых культур последовательно вносят в лунки штампа. Затем накладывают крышку на основание штампа так, чтобы штифты вошли в лунки и смочились культурой. Посев производят путем прикосновения (отпечатывания) нижних концов штифтов к поверхности плотной среды в чашке Петри.</p>	<div style="text-align: center;"> <p>Отсутствие роста культур</p> </div> <p style="text-align: center;">Рост культур бактерий на плотной среде в чашке Петри, после посева с помощью штампа-репликатора</p>

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_



**Занятие № 7.**

Дата \_\_\_\_\_ г.

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

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Экология микроорганизмов. Формы экологических связей. Практическое использование микробного антагонизма. Понятие о бактериоциногении.</p> <p>Распространение микробов в природе. Микрофлора почвы, воздуха и воды. Нормальная микрофлора человека и её биологическая роль. Методы изучения нормальной микрофлоры. Гнотобиология. Дисбактериоз, причины развития, принципы коррекции.</p> <p>Инфекция, определение, условия возникновения, роль микро- и макроорганизма. Отличительные признаки инфекционных заболеваний. Типы инфекций.</p> <p>Патогенность и вирулентность микробов, генетический контроль. Факторы патогенности, единицы измерения вирулентности. Методы определения адгезинов, токсигенности, ферментов-токсинов, капсульного вещества.</p>	<p><b>Источники:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Материал лекции.</li> <li>2. [1] С.121-130, 183-201; [4] – (учебники),</li> <li>3. [2], [5] – (практикумы),</li> <li>4. [9] – (доп. литература).</li> </ol>
---	--

**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты															
<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Посев для изучения нормальной микрофлоры и выявления дисбактериоза.</li> <li>2. Приготовление и окраска по Граму препарата зубного налета, микроскопия.</li> <li>3. Учет опыта конъюгации (см. занятие № 6).</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Стерильные кусочки фильтровальной бумаги 1×1 см в чашке Петри увлажнить стерильным физ. р-ром.;</li> <li>2. Стерильным пинцетом поместить кусочек бумаги на исследуемую поверхность кожи рук, лица и др., слизистой оболочки языка, щеки и др. – 0,5 мин;</li> <li>3. Поместить бумагу на поверхность плотной питательной среды (отпечаток) – 1 мин;</li> <li>4. Бумагу удалить.</li> <li>5. Чашки с отпечатками инкубировать при 37°C, 24-48 час.</li> </ol>	 <p>Кровяной агар                      Среда Эндо</p>														
<p><b>Демонстрация.</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Препарат зубного налёта, окраска по Граму.</li> <li>2. Методы определения факторов патогенности (капсулы, плазмокоагулазы, гемолизин, лецитиназы).</li> </ol>	<p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p> 	<p>Подпись преподавателя _____</p>														
<p><i>Выполняется на занятии № 8</i></p> <p>Провести учет посева микрофлоры, приготовить препараты из разных типов колоний, окрасить, микроскопировать.</p>	<p style="text-align: center;">Учет посева микрофлоры:</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 25%;">Биотоп</th> <th style="width: 25%;"></th> <th style="width: 25%;"></th> <th style="width: 25%;"></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td rowspan="2">Количество и характер колоний на средах</td> <td>Кровяной агар</td> <td>Среда Эндо</td> <td>Кровяной агар</td> </tr> <tr> <td>Среда Эндо</td> <td>Кровяной агар</td> <td>Среда Эндо</td> </tr> </tbody> </table> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 33%;"> <p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p>  </td> <td style="width: 33%;"> <p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p>  </td> <td style="width: 33%;"> <p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p>  </td> </tr> </table>		Биотоп				Количество и характер колоний на средах	Кровяной агар	Среда Эндо	Кровяной агар	Среда Эндо	Кровяной агар	Среда Эндо	<p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p> 	<p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p> 	<p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p> 
Биотоп																
Количество и характер колоний на средах	Кровяной агар	Среда Эндо	Кровяной агар													
	Среда Эндо	Кровяной агар	Среда Эндо													
<p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p> 	<p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p> 	<p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p> 														

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

<p><b>Методы изучения нормальной микрофлоры</b></p> <p>Для изучения нормальной микрофлоры применяют два метода: бактериоскопический и бактериологический (культуральный).</p> <p><b>Бактериоскопический метод.</b> Имеет большое самостоятельное значение для тех биотопов организма человека, в которых обитает большое количество различных видов микроорганизмов (полость рта, кишечник, вагина). Он позволяет получить общее представление о составе микрофлоры (преобладание грам+ или грам- бактерий той или иной формы – кокки, диплококки, стрептококки, палочки, бациллы, стрептобациллы, фузиформные бактерии, наличие грибов и т.д.), а также выявить те микроорганизмы, которые не удается культивировать на питательных средах.</p> <p><b>Бактериологический метод.</b> Применяют для биотопов с широким спектром микроорганизмов (полость рта, кишечник, вагина), выполняют с учетом данных бактериоскопии.</p> <p><b>Основные принципы бактериологического исследования:</b></p> <p>а) использование качественной (видовой состав) и количественной (количественное соотношение разных видов) оценки микрофлоры; б) первичный посев материала без предварительного обогащения, так как обогащение нарушает количественные соотношения видов; в) использование большого набора различных питательных сред, подбор условий культивирования (аэробные, анаэробные, атмосфера CO<sub>2</sub> и т.д.).</p> <p><b>Методы взятия материала для исследования:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Получение естественных экскретов (слюна, моча и т.д.).</li> <li>2. Метод реплик; а) отпечатки на поверхности агаровой среды, б) отпечатки марлево-агаровыми пластинами.</li> <li>3. Метод смывов увлажненным тампоном.</li> <li>4. Аспирационный метод (из межзубных пространств, гингивальных карманов, из верхних и средних отделов дыхательных путей, аспирация на фильтры).</li> <li>5. Введение зондов в кишечник.</li> <li>6. Метод аппликаций – снятие микроорганизмов с помощью бумажных или тканевых пластинок определенной площади.</li> </ol>	<p><b>КЛАССИФИКАЦИЯ ИНФЕКЦИЙ (ИНВАЗИЙ)</b></p>	
	<p><b>В зависимости от возбудителя:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. бактериозы;</li> <li>2. вирусозы;</li> <li>3. микозы;</li> <li>4. паразитозы;</li> <li>5. гельминтозы.</li> </ol>	<p><b>По механизмам передачи – инфекции с:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. аэрозольным механизмом передачи;</li> <li>2. фекально-оральным механизмом передачи;</li> <li>3. трансмиссивным механизмом передачи;</li> <li>4. контактным механизмом передачи;</li> <li>5. трансплацентарным (вертикальным)..</li> </ol>
	<p><b>По источникам инфекции:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. антропонозы (источник – человек);</li> <li>2. зоонозы (источник – животные);</li> <li>3. сапронозы (источник – внешняя среда).</li> </ol>	<p><b>В зависимости от поражаемых систем органов:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. инфекции дыхательных путей;</li> <li>2. инфекции ЖКТ;</li> <li>3. инфекции крови;</li> <li>4. инфекции кожи и др.</li> </ol>
	<p><b>По кратности инфицирования:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. вторичная;</li> <li>2. реинфекция;</li> <li>3. суперинфекция;</li> <li>4. рецидив.</li> </ol>	<p><b>По распространенности:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. очаговая;</li> <li>2. системная;</li> <li>3. генерализованная: бактериемия; токсинемия; сепсис: септицемия, септикопиемия</li> </ol>
	<p><b>По длительности:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. острые;</li> <li>2. хронические: <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ первично-хроническая;</li> <li>▪ вторично-хроническая;</li> </ul> </li> <li>3. медленные.</li> </ol>	<p><b>По числу возбудителей:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. моноинфекция;</li> <li>2. смешанная инфекция.</li> </ol>
	<p><b>По месту заражения:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. внутрибольничные;</li> <li>2. внебольничные.</li> </ol>	<p><b>По путям инфицирования:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. эндогенные;</li> <li>2. экзогенные.</li> </ol>
	<p><b>По выраженности:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. микробоносительство (нет симптомов болезни, нет нарастания титра АТ);</li> <li>2. бессимптомная (нет симптомов болезни, есть нарастание титра АТ);</li> <li>3. стертая (неспецифичные симптомы);</li> <li>4. манифестная (инфекционное заболевание): легкая, средней тяжести, тяжелая.</li> </ol> <p><b>Стадии инфекционного заболевания:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• инкубационный период;</li> <li>• продромальный период (неспецифичные симптомы: температура, головная боль, миалгии и др.);</li> <li>• разгар заболевания (специфические диагностические симптомы);</li> <li>• исходы заболевания: (выздоровление, микробоносительство, хронизация, летальный).</li> </ul>	

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

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Антибиотики, характеристика, классификация. Механизмы противомикробного действия. Лекарственная устойчивость микробов, механизмы, методы ее определения. Биологический метод исследования, оценка, этапы. Применение в микробиологии. Методы заражения животных. Вскрытие.</p>	<p><b>Источники:</b>                  1. Материал лекции.                  2. [1] С. 160-180; [4] – (учебники),                  3. [2], [5] – (практикумы),                  4. [6], [9] – (доп. литература).</p>
---	--

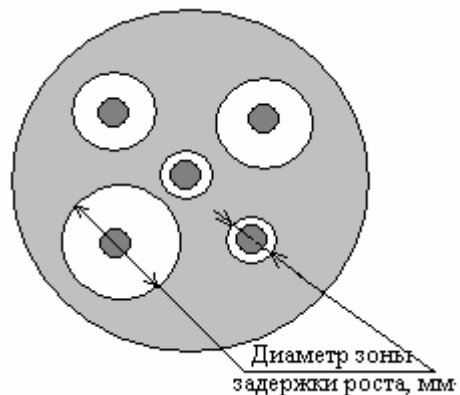
**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты																										
<p>1. Провести учет посева микрофлоры, приготовить препараты из разных типов колоний, окрасить, микроскопировать.</p>	<p>См. занятие № 7.</p>																										
<p>1. Поставить опыт по определению чувствительности бактерий к антибиотикам методом бумажных дисков.</p> <p><b>Мюллер-Хинтон агар (состав среды):</b>                  Мясной экстракт – 2,0                  Панкреатический гидролизат казеина – 17,5                  Крахмал кукурузный – 1,5                  Агар-агар – 17,0                  Вода дистиллированная – 1 л                  рН 7,4±0,2</p>	 <p>Суспензия бактерий в физ. р-ре</p> <p>Мюллер-Хинтон агар</p> <p>Нанесение дисков с антибиотиками на засеянную газонем сред</p> <p>Инкубация 35°C-24 ч.</p> <p>Учет результатов</p>																										
<p>3. Произвести учёт опыта по определению чувствительности микробов к антибиотикам методом количественных разведений в МПА.</p>	 <p>Чашки с разведениями ампициллина</p> <p><b>Критерии интерпретации результатов:</b></p> <table border="1" data-bbox="1366 1101 2083 1220"> <thead> <tr> <th rowspan="2">Антибиотик</th> <th colspan="3">МИК, мг/л</th> </tr> <tr> <th>устойчивый</th> <th>умеренно-устойчивый</th> <th>чувствительный</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Ампициллин</td> <td>≥32</td> <td>16</td> <td>≤8</td> </tr> </tbody> </table> <p><b>Заключение:</b></p> <table border="1" data-bbox="660 1268 2083 1428"> <thead> <tr> <th>Наименование культуры</th> <th>Величина МИК, мг/л</th> <th>Интерпретация результата</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>культура №1</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>культура №2</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>культура №3</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>культура №4</td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	Антибиотик	МИК, мг/л			устойчивый	умеренно-устойчивый	чувствительный	Ампициллин	≥32	16	≤8	Наименование культуры	Величина МИК, мг/л	Интерпретация результата	культура №1			культура №2			культура №3			культура №4		
Антибиотик	МИК, мг/л																										
	устойчивый	умеренно-устойчивый	чувствительный																								
Ампициллин	≥32	16	≤8																								
Наименование культуры	Величина МИК, мг/л	Интерпретация результата																									
культура №1																											
культура №2																											
культура №3																											
культура №4																											

**Выполняется на занятии № 9**  
Учесть результаты опыта по определению чувствительности микробов к антибиотикам методом бумажных дисков.

**Антибиотикограмма:**

Антибиотик	Диаметр зоны, мм	Интерпретация результата



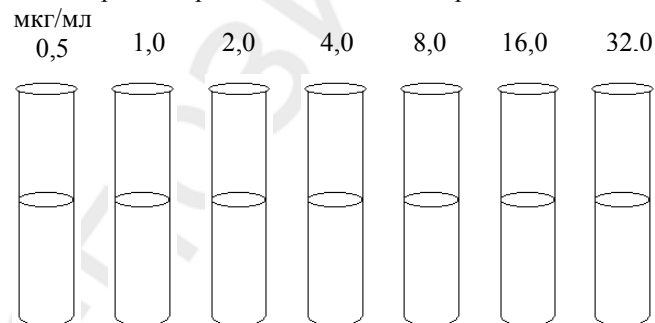
Критерии интерпретации результатов определения чувствительности бактерий, пограничные значения диаметров зон ингибиции роста (мм)

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

**Демонстрация:**

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

Метод серийных разведений в жидкой среде:



Препарат \_\_\_\_\_

Окраска \_\_\_\_\_

Контроль - среда без антибиотика

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

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

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

**Биологический (экспериментальный) метод исследования** – совокупность способов искусственного воспроизведения клинической картины инфекционных болезней или их синдромов на лабораторных животных. Этот метод преследует также ряд других целей:

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

### Этапы метода:

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

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

### Метод Е-тестов.

Е-тест представляет собой пластиковую полоску размером 5x50 мм с нанесенным градиентом концентрации антибиотика (0,002-32, 0,016-256 или 0,063-1024 мг/л в зависимости от препарата). Метод основан на диффузии антибиотиков в агар и позволяет определять значение МИК. Зона задержки роста имеет форму эллипса, размеры которого увеличиваются от меньшей концентрации антибиотика на полоске к большей.

Величина МИК определяется значением концентрации, на уровне которой эллипс пересекается со шкалой полоски.

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

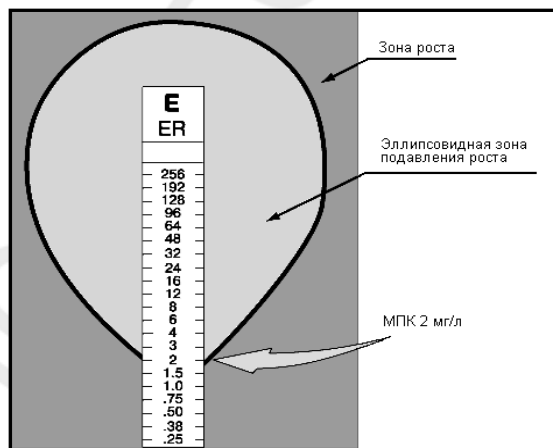
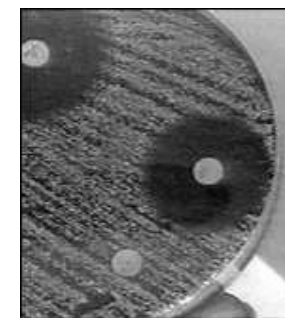


Рис. 10. Е-тест

### Метод диффузии в агар,

при котором используются диски, импрегнированные специально подобранными концентрациями антимикробных агентов. Диаметр зоны задержки роста соответствует активности препарата и чувствительности бактерий. **Недостатки метода:** полуколичественная оценка чувствительности, неприемлем для тестирования медленно растущих микроорганизмов (*M. tuberculosis*) и медленно диффундирующих антибиотиков (полипептиды).



**Метод разведений** – определение минимальной ингибирующей концентрации

• **Метод серийных разведений антибиотика в бульоне**

• **Метод серийных разведений антибиотика в плотной среде**

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

**Недостатки метода:** более материалоемкий и трудоемкий по сравнению с методом бумажных дисков.

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

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

**Недостатки метода:**

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

**Итоговое занятие по теме: «Морфология и физиология микроорганизмов. Инфекция».****Перечень вопросов к итоговому занятию:**

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

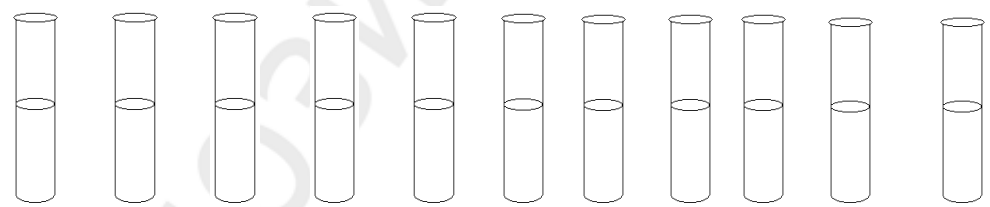
**Перечень практических навыков.**

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

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

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Иммунная система организма человека: органы, клетки, молекулы (CD-антигены, рецепторы, молекулы I, II, III классов ГКГС, цитокины, адгезины и др.).                  Иммунитет, виды иммунитета. Естественный иммунитет, факторы иммунной и неиммунной природы. Система комплемента: состав, пути активации, функции. Лизоцим, бета-лизины.                  Система полиморфноядерных и мононуклеарных фагоцитов. Фагоцитарная реакция: фазы, механизмы внутриклеточной бактерицидности, исходы. Антигенпрезентирующие клетки (АПК).                  Естественные киллеры.                  Методы определения активности комплемента и показателей фагоцитоза.</p>	<p><b>Источники:</b>                  1. Материал лекции.                  2. [1] С. 209-261; [4] – (учебники),                  3. [2], [5] – (практикумы),                  4. [6], [9], [11], [13] – (доп. литература).</p>
--	--

**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты		
<p>1. Определить показатели фагоцитоза в готовых препаратах, окрашенных по Романовскому-Гимзе.                  Микробы смешивают с фагоцитами в пробирке или в организме лабораторных животных, через 15-120 мин из смеси готовят микропрепараты, окрашивают по Романовскому-Гимзе, подсчитывают число фагоцитирующих фагоцитов и число фагоцитированных микробов. Рассчитывают показатели.</p>	$\text{ФП} = \frac{\text{количество фагоцитирующих фагоцитов}}{\text{количество всех фагоцитов}} \times 100\% \quad N = 40 - 60\%$ $\text{ФЧ} = \frac{\text{количество фагоцитированных микробов}}{\text{количество фагоцитирующих фагоцитов}} \quad N = 4 - 7$		
<p>2. Учесть активность комплемента по 50% гемолизу.                  Сыворотку разводят физио р-ром и вносят в пробирки от 0,05 до 0,5 мл. Объем проб доводят до 1,5 мл физ. р-ром. Вносят 1,5 мл гем. системы, инкубируют 37°C - 45 мин, охлаждают при 4°C, центрифугируют 1500 об. - 5 мин. Определяют объем сыворотки, вызывающий лизис 50 % сенсibilизированных эритроцитов (условную гемолитическую единицу - CH<sub>50</sub>). Рассчитывают количество CH<sub>50</sub> в 1 мл цельной сыворотки.</p>	<p>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)</p>  <p>1 CH<sub>50</sub> – в _____ мл сыворотки                  X CH<sub>50</sub> – в 1 мл сыворотки</p> <p>N 40 – 60 CH<sub>50</sub></p>		
<p><b>Зарисовать демонстрационные препараты:</b>                  1. Незавершенный фагоцитоз <i>N. gonorrhoeae</i>                  2. Незавершенный фагоцитоз <i>K. rhinoscleromatis</i></p>	<table border="1"> <tr> <td data-bbox="604 1260 1108 1468">                 Препарат _____                  _____                  Окраска _____                  _____             </td> <td data-bbox="1108 1260 1624 1468">                 Препарат _____                  _____                  Окраска _____                  _____             </td> </tr> </table> <p>Подпись преподавателя _____</p>	Препарат _____ _____ Окраска _____ _____	Препарат _____ _____ Окраска _____ _____
Препарат _____ _____ Окраска _____ _____	Препарат _____ _____ Окраска _____ _____		

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

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

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

### Рецепторы фагоцитов

<b>Рецепторы, преимущественно вовлеченные в процессы фагоцитоза</b>	
Scavenger (CD163 a, b), MCP	Распознавание объектов фагоцитоза
Рецепторы СК 1, 2, 3	Опсонизация, усиление фагоцитоза, активация фагоцита
Рецепторы к Fc фрагментам Ig 1, 2, 3 (CD64, CD32, CD16)	Опсонизация, усиление фагоцитоза, активация фагоцита, АЗКЦ
<b>Рецепторы, вовлеченные в организацию ИО (распознавание сигналов опасности и повреждения)</b>	
CD14, TLRs, MCP	Распознавание типа патогена, активация клетки, секреция цитокинов определенного профиля
<b>Рецепторы, вовлеченные в хемотаксис и миграцию фагоцитов</b>	
Рецепторы к хемокинам	Хемотаксис
L-селектин (CD62)	Качение, остановка, трансмиграция клеток в очаг воспаления
LFA I, III (CD11a/CD18, CD58)	
ICAM I, II (CD54, CD102), CD31	
<b>Рецепторы, вовлеченные в антигенпрезентацию и костимуляцию</b>	
HLA I	Презентация антигенов по цитоплазматическому пути (внутренние антигены) CD8+ Т-лимфоцитам
HLA II	Презентация антигенов по эндосомному пути (внешние антигены) CD4+ Т-лимфоцитам
CD80/86, CD40	Костимуляция Т-клеток
<b>Рецепторы к цитокинам</b>	
ИФН-гамма	Сильная активация фагоцита, повышение цитолитического потенциала и бактерицидности
ИЛ10	Инактивация фагоцитов

### Естественные киллеры (ЕК)

#### Маркеры ЕК

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





А. Ферменты плазмы крови: расщепляют и инактивируют компоненты комплемента

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

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

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

В. Регуляторные белки клеточных мембран

- Фактор, ускоряющий разрушение (DAF) и мембранный кофакторный белок (MCP) выполняют те же функции, что фактор Н и C4bBP, но действуют на C3b и C4b на поверхности клетки.
  - DAF препятствует образованию C3 конвертаз путем ускорения диссоциации C4b с C2a и C3b с Bb
  - Клиническая значимость: дефицит DAF ассоциируется с пароксизмальной ночной гемоглобинурией – эритроциты таких людей характеризуются повышенной чувствительностью к комплемент-опосредованному лизису
  - MCP – интегральный мембранный белок, способствующий протеолитической инактивации C3b и C4b фактором I.
- Гомологичный ограничивающий фактор (HRF) или C8-связывающий белок; препятствует ассоциации C8 с комплексом C5b67.

**Белки острой фазы**

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

Белок острой фазы	Семейство, характеристика	Функция
С-РБ Амилоидный белок	Оба фактора относят к семейству пентраксинов (состоят из 5 субъединиц. Молекулярная масса ЦРБ = 23000х5=110000-115000. Концентрация в норме ~ 1 мг/л; при системном воспалении – до 2 г/л. По химическому строению и свойствам они относятся к лектинам С-типа, т.е. связываются с углеводными молекулами на поверхности клеток микробов (также реагируют с фосфорилхлином Грам+ бактерий, ДНК, белками внеклеточного матрикса и др.)	При связывании пентраксины изменяют конформацию центрального участка и активируют комплемент по классическому и альтернативному пути. Связанный ЦРБ является хемоаттрактантом для нейтрофилов и способен усиливать фагоцитоз, т.е. является опсоином. При деградации пентраксинов высвобождаются фрагменты, активирующие макрофаги и стимулирующие синтез провоспалительных цитокинов.
Маннозо-связывающий белок	Относится к семейству коллектинов (по структуре напоминает С1q). Нормальная концентрация в крови 0,1-1 мг/л; при системном воспалении повышается до 10 раз. Состоит из 18 полипептидных цепей 3-х типов (букет тюльпанов). Каждая цепь содержит коллагеноподобный участок и С-лектиновый участок, специфичный к терминальным сахарам микробов (маннозе, фукозе, глюкозамину).	При связывании соответствующих сахаров на фрагментах клеточной стенки микробов белок изменяет конформацию и превращается в сериновую протеазу. Этот фермент способен активировать протеазы, ассоциированные с маннозо-связывающим белком (запуск лектинового пути активации комплемента), а также расщеплять факторы C2 и C4 (запуск классического пути активации системы комплемента).

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

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Иммунный ответ организма, определение, условия развития.                  Антигены: строение, свойства, классификация.                  В-система лимфоцитов. В-клеточный рецептор. CD-антигены. Ростовые и дифференцировочные факторы В-лимфоцитов. Динамика развития гуморального иммунного ответа.                  Антитела: структура молекулы, классы, функции. Моноклональные антитела, принципы получения, применение.                  Методы оценки В-системы лимфоцитов: количественные и функциональные тесты.</p>	<p><b>Источники:</b>                  1. Материал лекции.                  2. [1] С. 262-290; [4] – (учебники),                  3. [2], [5] – (практикумы),                  4. [6], [9], [11], [13] – (доп. литература).</p>
---	--

**Лабораторная работа**

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

## Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 11.

### 1. Маркеры и рецепторы В-лимфоцитов

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

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

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

а) поверхностные иммуноглобулины (в отличие от секретируемых всегда являются мономерными и содержат дополнительную С-концевую последовательность в тяжелой цепи – для крепления молекулы в мембране. Синтез двух форм иммуноглобулина возможен благодаря альтернативной транскрипции гена тяжелой цепи).

б) CD79 альфа и бета (проводят основной сигнал о распознавании антигена - о его связывании с поверхностным иммуноглобулином).

в) CD21 – рецептор системы комплемента 2 типа (C3d).

г) CD19 – интегральный мембранный гликопротеид, образует комплекс с CD21 и ТАРА1 (CD81). Экспрессирован на всех В-клетках, начиная с про-В-лимфоцитов. Отсутствует на плазмацитах.

д) CD81 (ТАРА) – принадлежит к семейству ТМ4 (одноцепочечные белки с четырьмя трансмембранными доменами), является корецептором ВКР.

е) CD45 – мембран-ассоциированная фосфатаза. Она дефосфорилирует тирозиновые фосфатазы, связанные с ВКР и ассоциированными молекулами. Т.о. CD45 приводит сигнальную систему в состояние готовности и регулирует ее активность. Различные изоформы CD45 (в основном, CD45RA) присутствуют на всех В клетках.

ж) CD40 – гликозилированный фосфопротеин, член суперсемейства рецептора фактора некроза опухолей (РФНО). Необходим для активации В клеток, отмены активационного апоптоза и переключения изотипа антител.

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

а) CD40 – CD154 (CD40L) – наиболее мощный костимуляторный сигнал для В-клеток

б) CD80, CD86 – CD28, СТЛА – взаимная костимуляция Т и В клеток (важнейший костимулятор для Т-клеток)

в) CD72 – CD5 – адгезия Т и В клеток, стимуляция пролиферации В клеток

г) CD54 (ICAM1) – LFA1(CD11a/CD18) адгезия, костимуляция

д) CD58(LFA3) – CD2 адгезия, костимуляция

е) молекулы ГКГС II типа – CD4 - рестрикция иммунного ответа

#### **В. Молекулы для дистантного взаимодействия**

а) рецептор для ИЛ2 – CD25, CD122, CD132

б) рецептор для ИЛ4 – CD124, CD132

в) рецептор для ИЛ5 – CD125, CD131

г) рецептор для ИЛ6 – CD126, CD130

д) рецептор для ИФН-гамма – CD119

е) рецептор для ИЛ1 – CD121.

ж) рецептор для ФНО-альфа – CD120.

#### **Регуляция изотипа антител цитокинами Т-лимфоцитов**

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

#### **Г. Маркеры активации**

а) CD25, а также экспрессия других высокоаффинных рецепторов к цитокинам

б) CD69 – передача сигнала о пролиферации

в) CD71 – рецептор для трансферрина, важен для пролиферации

г) CD23 – низкоаффинный рецептор для Fc фрагмента IgE II типа, необходим для клеточного деления.

д) Гиперэкспрессия молекул ГКГС II типа

е) CD30 – передача сигнала о пролиферации/ апоптозе (лиганд – CD153)

#### **Д. Другие важные молекулы**

CD32 – рецептор к Fc фрагменту IgG II типа – при связывании передает отрицательный сигнал (угнетает активацию).

CD5 – молекула из семейства скавенжер-подобных рецепторов. Ассоциирована с ВКР, возможно, помогает распознавать/активирует В клетки I типа.

CD49 – опосредует взаимодействие с внеклеточным матриксом.

CD24 – участвует в костимуляции и активации В лимфоцитов.

CD35 – рецептор для комплемента I типа (C3в).

## 2. Субпопуляции В-лимфоцитов

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

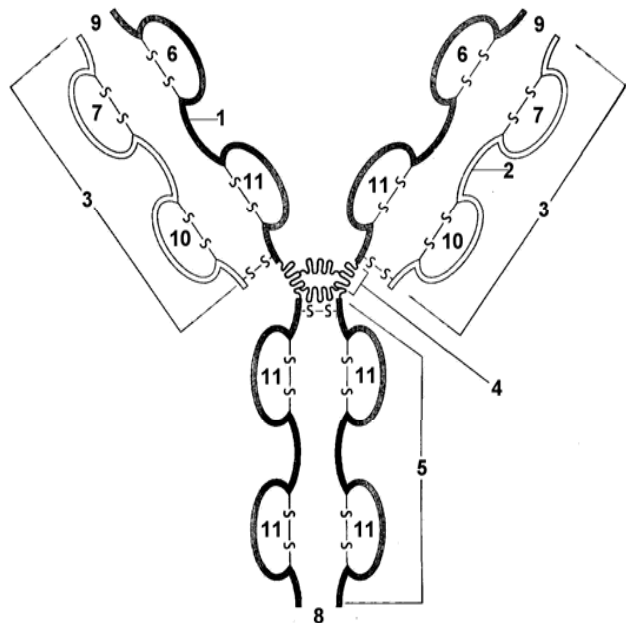


Рис. 11. Строение молекулы иммуноглобулина

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

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

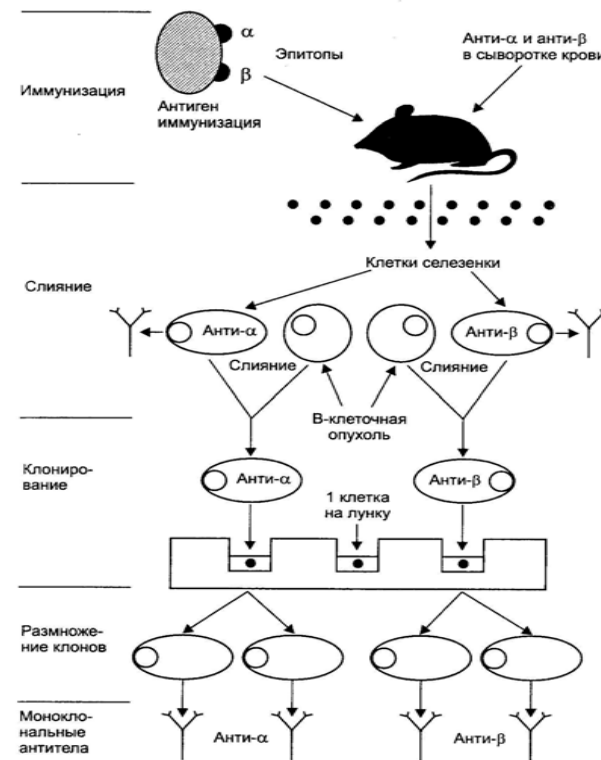

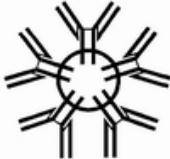
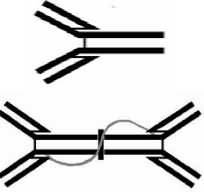
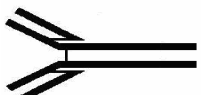



Рис. 12. Получение моноклональных АТ

Характеристика иммуноглобулинов

Структура	Характеристика	Класс Ig
-----------	----------------	----------

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

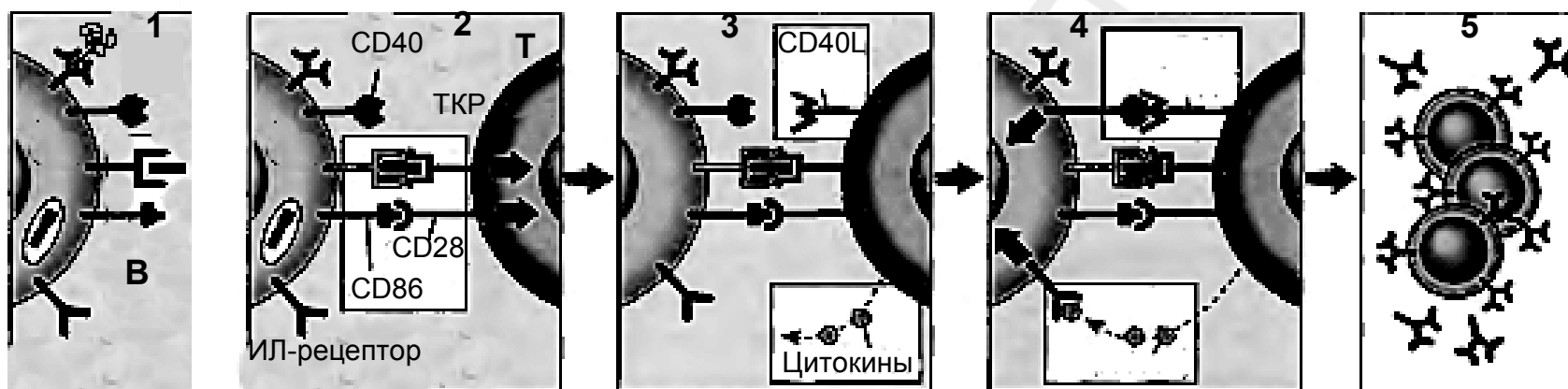
### Схема развития ГИО (первичный иммунный ответ)

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

### II. Индукция В-эффекторов (плазматиков)

Ткани	1. Антиген захватывается фолликулярными ДК и транспортируется во вторичные лимфоидные органы (лимфоузлы, пейеровы бляшки и др.). Антиген не процессируется, сохраняется на мембране (например, в составе иммунных комплексов) в течение дли-
-------	--

тельного времени (до года и более).



1. В-лимфоцит захватывает антиген и презентует его в контексте ГКГС II типа, на его поверхности возрастает плотность CD86.
2. Т-эффектор получает активирующие сигналы (распознает антиген и костимулируется через CD28).
3. Активированный Т-эффектор экспрессирует CD40L (лиганд) и секретирует цитокины (ИЛ4, 5, 6).
- 4-5. В-лимфоцит пролиферирует и дифференцируется в плазмоцит.

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

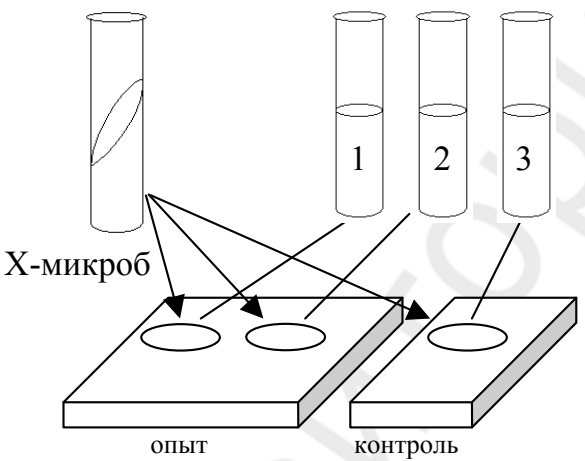





















2. В-лимфоцит захватывает антиген, процессирует и презентует его Т-эффектору. Специфический эффектор активируется и активирует В-лимфоцит с помощью контактных (молекулы адгезии) и дистантных (цитокины) взаимодействий.
3. В-лимфоцит пролиферирует, выходит в кровь и перемещается во вторичные лимфатические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

### III. Реализация функции антител

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

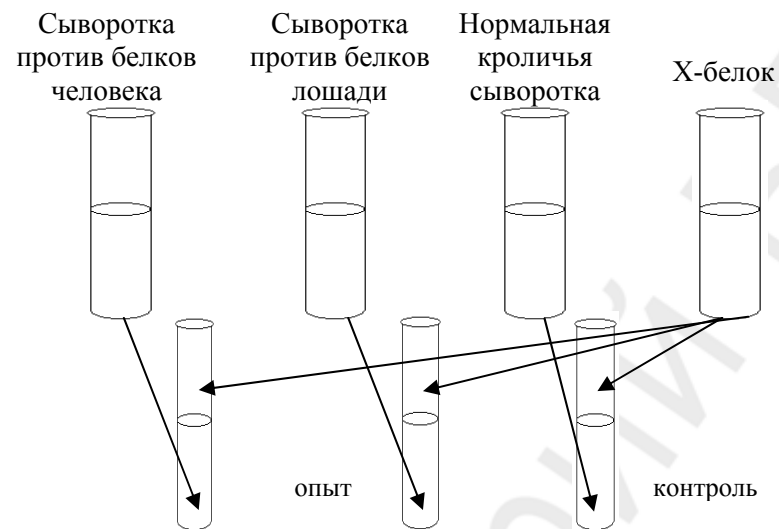
<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Серологический метод исследования, характеристика. Титр антител. Диагностический титр. Диагностикумы. Диагностические сыворотки.</p> <p>Реакция агглютинации (РА), пассивной гемагглютинации и обратной пассивной гемагглютинации (РПГА, РОПГА), латексагглютинации.</p> <p>Реакция преципитации. Варианты реакции преципитации: а) кольцепреципитации; б) двойной диффузии в агаре; в) простой радиальной иммунодиффузии в агаре по Манчини; г) иммуноэлектрофорез; д) встречный иммуноэлектрофорез.</p>	<p><b>Источники:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Материал лекции.</li> <li>2. [1] С. 328-333; [4] – (учебники),</li> <li>3. [2], [5] – (практикумы),</li> <li>4. [6], [9], [11], [13], [15] – (доп. литература).</li> </ol>
--	---

**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты														
<p>1. Поставить реакцию агглютинации на стекле для идентификации X-микроба.</p>	 <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Сыворотка против <i>S. typhi</i></li> <li>2. Сыворотка против <i>E. coli</i></li> <li>3. Физ. раствор</li> </ol> <p><b>Заключение:</b> X-микроб – _____</p>														
<p>2. Учесть реакцию пассивной гемагглютинации.</p>	<table border="0"> <tr> <td>1/10</td> <td>1/20</td> <td>1/40</td> <td>1/80</td> <td>1/160</td> <td>КС</td> <td>КА</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </table> <p><b>Заключение:</b> _____</p>	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	КС	КА							
1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	КС	КА									
															

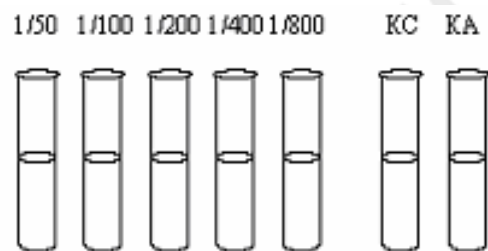


3. Поставить реакцию кольце-преципитации для идентификации X-антигена



Заключение: \_\_\_\_\_

4. Учить реакцию агглютинации в пробирках.



Заключение: \_\_\_\_\_

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

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

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

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

А. Произвести раскапывание реагентов согласно таблице:

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

#### Схема постановки реакции агглютинации

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

Б. Учет результатов реакции проводят по плюсовой системе:

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

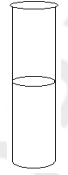
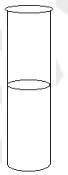
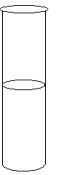


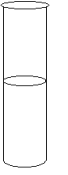
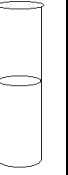

В. В зависимости от природы антигена различают:

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

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

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Реакции иммунного лизиса, применение. Реакция связывания компонента: характеристика ингредиентов, постановка, учёт, оценка.                  Реакция иммунофлюоресценции (РИФ). Прямой и непрямой варианты. Иммуноферментный анализ (ИФА). Радиоиммунный анализ (РИА).</p>	<p><b>Источники:</b>                  1. Материал лекции.                  2. [1] С. 333-339; [4] – (учебники),                  3. [2], [5] – (практикумы),                  4. [6], [9], [11], [13], [15] – (доп. литература).</p>
---	--

**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты									
1. Постановка и учёт результатов реакции связывания компонента (РСК)	Реагенты	1	2	3	4	5	КС	КА	Гем. система:  4 мл 3% взвеси эритроцитов + 4 мл гем. сыворотки	
		1:10	1:20	1:40	1:80	1:160				
	Физ. р-р	–	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5		
	Сыворотка обследуемого	0,5	0,5	–	–	–	0,5	–		
	Диагностикум	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	–	0,5		
	Комплемент	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5		
	Инкубация 45 минут при 37° С									
	Гем. система	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0		
	Инкубация 30 минут при 37° С									
	Учет									
Заключение: _____										

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

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

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

в) инкубировать 1 час при 37° С;

г) промыть стрип 5 раз;

д) раскапать хромоген по 100 мкл в каждую лунку;

е) инкубировать 30 минут при 37° С;

ж) раскапать стоп-реагент по 100 мкл в каждую лунку;

з) учесть ИФА на ридере, распечатать результаты;

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

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

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

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Отрицательный контроль											
B	Отрицательный контроль											
C	Слабоположительный контроль											
D	Положительный контроль											
E	Образец № 1											
F	Образец № 2											
G	Образец № 3											
H	Образец № 4											

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

6. Интерпретация результатов:

Номер образца	ОП образца	Заключение
1		
2		
3		
4		

Врач-лаборант

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

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

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

#### А. Приготовление растворов

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

#### Б. Проведение ИФА

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

#### В. Регистрация результатов

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

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

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

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

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

#### Е. Интерпретация данных анализа

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

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

\* приготовление растворов приводится из расчета на 1 стрип.

Титр – \_\_\_\_\_

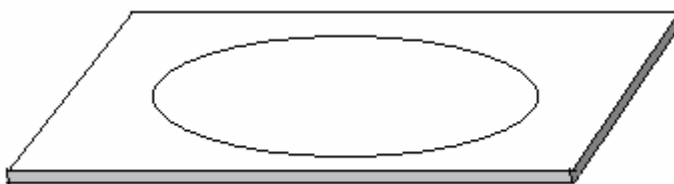
Диагностический титр – \_\_\_\_\_

Диагностикум – \_\_\_\_\_

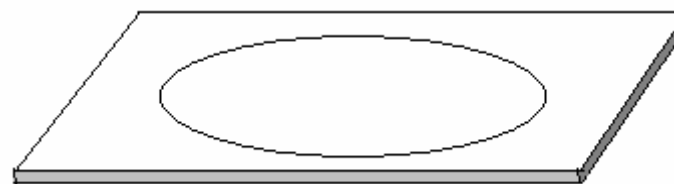
Диагностическая сыворотка – \_\_\_\_\_

#### Схема реакции иммунофлюоресценции (РИФ)

Прямой вариант



Непрямой вариант

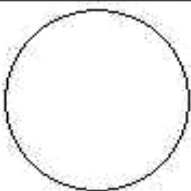
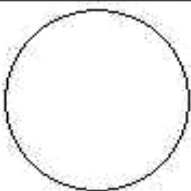
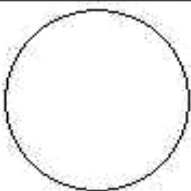
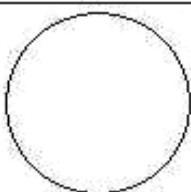
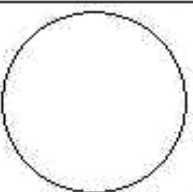
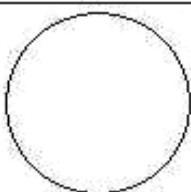
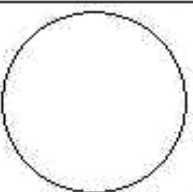
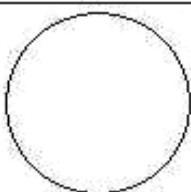
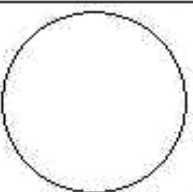


(нарисуйте)

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

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Клеточный тип иммунного ответа и его проявления. Т-система лимфоцитов. Маркёры Т-клеток. Т-клеточный рецептор (ТКР). Генетический контроль разнообразия ТКР. Характеристика субпопуляций Т-лимфоцитов: хелперов, киллеров, эффекторов ГЗТ, регуляторов. Т-хелперы 1-го и 2-го типов. 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. Методы диагностики аллергических состояний.</p>	<p><b>Источники:</b>                  1. Материал лекции.                  2. [1] С. 258-259, 314-320, 326-328; [4] – (учебники),                  3. [2], [5] – (практикумы),                  4. [6], [9], [11], [13], [16] – (доп. литература).</p>
---	--

**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты					
1. Определить количественное содержание CD3+ Т-лимфоцитов методом иммунных розеток в готовых препаратах.	<table border="1" style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 50%; padding: 5px;">                             Препарат _____                              _____                              Окраска _____                              _____                         </td> <td style="width: 50%; text-align: center; vertical-align: middle;">  </td> </tr> </table>		Препарат _____ _____ Окраска _____ _____			
Препарат _____ _____ Окраска _____ _____						
<b>Зарисовать демонстрационные препараты:</b> 1. Реакция иммунного розеткообразования для определения Т-лимфоцитов. 2. Реакция бласттрансформации лимфоцитов. 3. Реакция дегрануляции тучных клеток.	<table border="1" style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 50%; padding: 5px;">                             Препарат _____                              _____                              Окраска _____                              _____                         </td> <td style="width: 50%; text-align: center; vertical-align: middle;">  </td> </tr> <tr> <td style="width: 50%; padding: 5px;">                             Препарат _____                              _____                              Окраска _____                              _____                         </td> <td style="width: 50%; text-align: center; vertical-align: middle;">  </td> </tr> </table>		Препарат _____ _____ Окраска _____ _____		Препарат _____ _____ Окраска _____ _____	
Препарат _____ _____ Окраска _____ _____						
Препарат _____ _____ Окраска _____ _____						

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

**Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 14.**

**Классы иммуноглобулинов, синтезируемые на стадии сенсibilизации разных типов ГНТ**

Типы ГНТ	Классы иммуноглобулинов
I ТИП	
II ТИП	
III ТИП	

<b>1. Рецепторы и маркеры Т-клеток.</b>	<b>Костимуляторные молекулы.</b> Необходимы для развития как гуморального, так и клеточного ответа. Их роль заключается в усилении сигнала активации Т-лимфоцитов и отсроч-
---	---

### Основные маркеры Т-лимфоцитов:

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

CD3 – корецептор ТКР (см. ниже)

### Молекулы, вовлеченные в распознавание антигена:

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

В настоящее время обнаружены две разновидности ТКР:

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

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

### Ко-рецепторы:

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

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

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

ка/отмена срабатывания механизмов апоптоза. Основные пары рецептор-лиганд: CD2 – LFA3; LFA-1 – ICAM-1; CD40 – CD40; CD5 – CD72; CD24 – CD24; CD28 – B7.1 (CD80); CD28 – B7.2 (CD86); CTLA-4 – B7.1 (CD80); CTLA-4 – B7.2 (CD86). Дефект взаимодействия по костимуляторным молекулам приводит к анергии Т (В) лимфоцитов и их апоптозу.

Необходимо выделить пару рецепторов **CD28** и **CTLA-4**, регулирующих интенсивность иммунного ответа. CTLA-4 – высокоаффинный рецептор с негативной функцией. В условиях низкой активности иммунного взаимодействия (слабая активность АПК, непрофессиональные АПК) и слабой экспрессии молекулы B7 преимущественная активация CTLA-4 приводит к угнетению ответа. В случае значительной экспрессии B7 активируются низкоаффинные рецепторы CD28 с позитивной функцией, что обеспечивает развитие полноценного ответа. Активация Т-лимфоцитов приводит к повышению экспрессии молекул CTLA-4 на их поверхности, что ограничивает активацию и пролиферацию специфических лимфоцитов.

### Маркеры активации:

CD69 – гликопротеид ранней активации (функции не установлены)

CD25 – альфа цепь рецептора к ИЛ2

CD71 – рецептор к трансферрину

CD95 – рецептор активационно-индуцируемого апоптоза

HLA-II - антигены гистосовместимости второго типа

### Молекулы для дистантного взаимодействия

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

CD121 – рецептор к ИЛ1

CD117 – рецептор к фактору роста стволовых клеток

CD124/132 – рецептор к ИЛ4

CD127/132 – рецептор к ИЛ7

CD129/132 – рецептор к ИЛ9

Молекулы HLA

HLA I - конститутивные

HLA II – индуцибельные (после активации).

## 2. Т-лимфоциты с регуляторными функциями

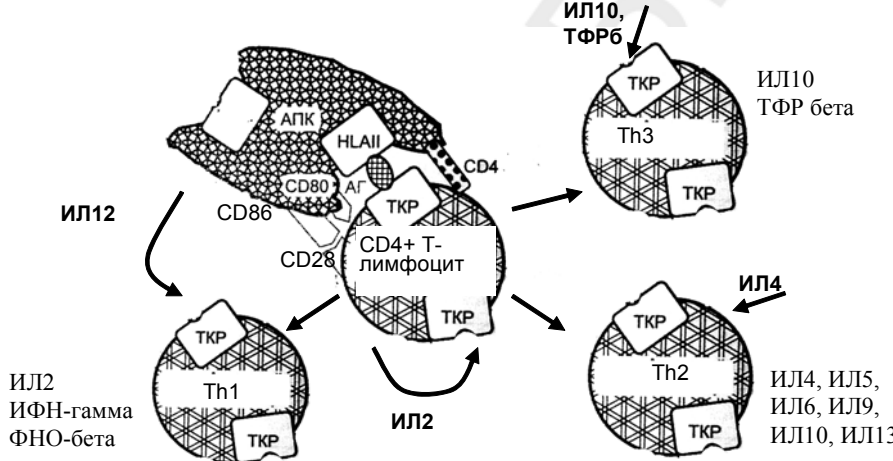
**Т-хелперы 3** – открыты в 1994 г, субпопуляция Th, обнаружены в мезентериальных л/у, продуцируют много трансформирующего фактора роста бета и переменные количества IL4 и IL10.

**Трегуляторы 1 и 2** открыты в 1997 г. Это субпопуляции CD4+ клеток, вырабатывающая много IL10, а также немного IL2 и IL4.

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

**Естественные киллеры с ТКР (ЕКТ)**-клетки описаны как активные регуляторы иммунных реакций в последние годы (с 1998). Характерной особенностью является экспрессия инвариантного ТКР и маркеров ЕК. Способны быстро синтезировать IL4 или IFN-g, и, таким образом, регулировать направление (и силу) иммунного ответа.

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

Локализация	Этапы
<b>I. Индукция CD4+ Т-эффекторов</b>	
<b>Ткани</b>	1. Антиген (белки, бактерии) захватывается АПК (клетки Лангерганса), процессируется и транспортируется в регионарные лимфоузлы. 2. АПК процессируют и презентуют антигены по эндосомному пути CD4+ наивным Т-лимфоцитам.
<b>Вторичные лимфоидные органы</b>	 <p>3. Т-лимфоциты активируются, пролиферируют и дифференцируются в CD4+ эффекторные клетки (Th1, Th2, Th3, Tr1, Tr2, CD4+CD25+ и др):  а) Т-лимфоцит и АПК сближаются (LFA1+ICAM1 и др.);  б) Происходит распознавание антигена (ТКР+ ГКГС II-Ag);  в) Происходит костимуляция (CD28 – CD80, 86);  г) на Т-клетках появляется альфа цепь ИЛ2-рецептора (формируется полный ИЛ2Р) и начинается синтез ИЛ2; после стимуляции ИЛ2 лимфоцит начинает пролиферировать;</p> <p>д) дифференцировка в Th1 происходит под влиянием ИЛ12, выделяемого АПК. Этому способствуют внешние цитокины - ИФН-гамма; дифференцировка в Th2 происходит по умолчанию. Этому способствует внешний ИЛ4; дифференцировка в Th3 в лабораторных условиях происходит под влиянием больших количеств ИЛ10 и/или ТФР-бета;  е) зрелые Т-эффекторы поступают в циркуляцию.</p>
<b>Кровь, ткани, вторичные лимфоидные органы</b>	<p>4. Т-эффекторы характеризуются:  а) способностью активироваться при взаимодействии с непрофессиональными АПК;  б) способностью синтезировать различные цитокины (различного профиля);  в) способностью к рециркуляции в определенных тканях в нормальных условиях (кожа, слизистые респираторного, желудочно-кишечного, моче-полового трактов, полостей и т.д.);</p> <p>г) способностью <b>выходить в любые ткани при воспалении</b>;  д) быстрой гибелью от апоптоза без активации;  е) отсроченным апоптозом при активации (в течение короткого времени);  ж) способностью переходить в состояние покоя (клетки памяти, незначительное количество).</p> <p>5. CD4+ Т-эффекторы отличаются, т.е. могут быть идентифицированы по:  а) набору адресных молекул для миграции в определенные ткани;  б) спектру синтезируемых цитокинов;</p> <p>в) набору рецепторов для хемокинов;  г) набору молекул контактного взаимодействия.</p> <p>6. CD4+ Т-эффекторы выполняют функции:  а) Т-хелперов:  помощь В-лимфоцитам в синтезе антител;  активация и пролиферация В-лимфоцитов (ИЛ6, 2);</p> <p>б) Т-эффекторов ГЗТ: выделение цитокинов (провоспалительные цитокины, хемокины, противовоспалительные цитокины, факторы роста сосудов, фибробластов)  в) Т-регуляторов: выделение супрессорных цитокинов ИЛ10, ТФР-бета, кон-</p>



<p>переключение изотипа иммуноглобулинов, дифференцировка в плазматциты)          помощь наивным CD8+ Т-лимфоцитам:          активация и пролиферация (ИЛ2)          дифференцировка</p>	<p>тактная супрессия;          г) Т-киллеров (незначительная часть): киллинг клеток мишеней путем апоптоза при герпетических инфекциях.</p>
--	---

**II. Индукция CD8+ Т-эффекторов**

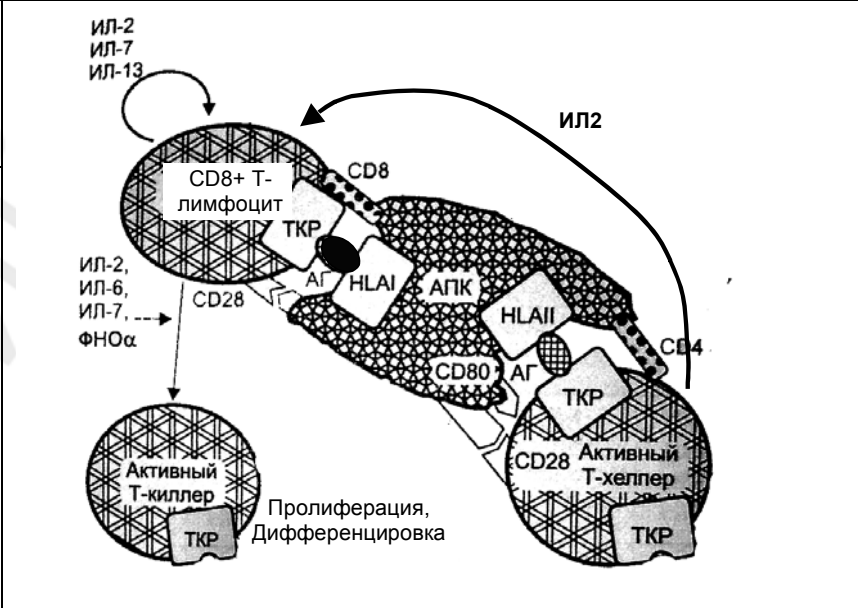
**1. Индукция CD4+ Т-эффекторов (см. выше).**

2. АПК захватывают антиген и транспортируют его во вторичные лимфоидные органы (лимфоузлы):  
 а) АПК инфицируются вирусами (маловероятно);  
 б) АПК захватывают клетки, погибшие от внутриклеточной инфекции, опухолевые клетки, клетки трансплантата и т.д. путем фагоцитоза, а также молекулы белков путем макропиноцитоза.

3. АПК презентуют антиген CD8+ наивным Т-лимфоцитам по цитоплазматическому пути:  
 а) АПК презентуют захваченные антигены по цитоплазматическому пути благодаря механизму перекрестной презентации (т.е. происходит передача антигенов из эндосомного пути в цитоплазматический);  
 б) считается, что наивный CD8+ Т-лимфоцит не обладает цитотоксичностью и не убивает АПК при первоначальной активации.

4. CD8+ лимфоциты пролиферируют, дифференцируются, выходят в кровь и рециркулируют по организму (см. выше п. 4):  
 а) CD8+ лимфоциты нуждаются в ИЛ2 от CD4+ Т-эффекторов;  
 б) необходимость одновременной активации CD4+ и CD8+ лимфоцитов свидетельствует в пользу трехкомпонентной модели (АПК+Т-хелпер+Т-киллер) и перекрестной презентации.

5. CD8+ Т-эффекторы выполняют следующие функции:  
 а) **киллинг**. Активированные Т-киллеры не нуждаются в дополнительных сигналах и при распознавания антигена на клетке-мишени немедленно ее лизируют. Активированный Т-киллер способен лизировать несколько клеток-мишеней. Спустя короткое время Т-киллер подвергается апоптозу. Отдельные Т-киллеры возвращаются в состояние покоя и превращаются в **клетки памяти**;  
 б) **секреция цитокинов** (уступают CD4+ Т-эффекторам). Выделяют CD8+ Т-эффекторы I и II типов;  
 в) **регулирование иммунного ответа** (уничтожение АПК, синтез про- и противовоспалительных цитокинов).



Ткани, вторичные органы лимфоидной системы, кровь, ткани

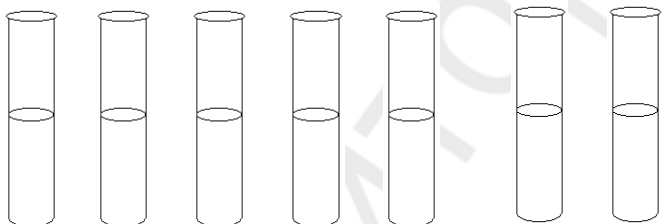
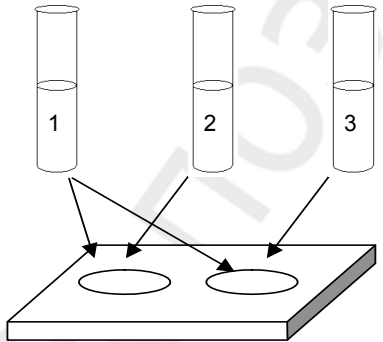
**4. Некоторые тесты для диагностики аллергии медиаторного типа (см. учебно-методическое пособие [16]):**

<p>Тесты in vivo:          1. Кожные пробы          2. Прик-тесты          3. Провокационные тесты</p>	<p>Тесты in vitro:          1. Определение общего IgE сыворотки крови          2. Определение специфического IgE сыворотки крови.          3. CAST.</p>
--	---

**Тема: Иммунопрофилактика и иммунотерапия. Методы оценки поствакцинального иммунитета. Клиническая иммунология.**

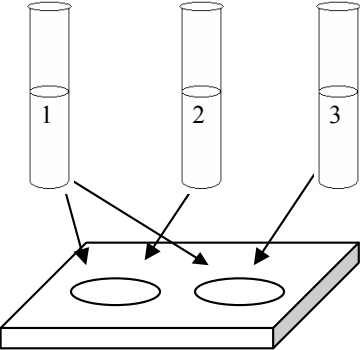
<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Иммунопрофилактика и иммунотерапия.                  Вакцины, виды, требования, предъявляемые к вакцинам. Поствакцинальный иммунитет, факторы, влияющие на его формирование. Первичный и вторичный иммунный ответ. Бустерная реакция. Методы оценки поствакцинального иммунитета. Пассивная иммунопрофилактика. Иммунные сыворотки и сывороточные препараты. Способы получения, применение.                  Клиническая иммунология: определение, задачи. Иммунный статус организма, принципы и методы оценки, показатели, интерпретация результатов. Иммунограмма.                  Первичные и вторичные иммунодефициты.                  Аутоиммунные болезни, причины возникновения, проявления. Аутоантитела, диагностическое значение, методы определения.                  Противоопухолевый иммунитет.                  Методы коррекции нарушений иммунного статуса. Иммуносупрессия. Иммуностимуляция. Иммуномодуляторы. Препараты тимуса, селезенки, костного мозга. Интерлейкины, интерфероны.</p>	<p><b>Источники:</b>                  1. Материал лекции.                  2. [1] С. 311-314, 320-325, 339-350; [4] – (учебники),                  3. [2], [5] – (практикумы),                  4. [6], [9], [11], [13], [14] – (доп. литература).</p>
--	--

**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты
<p>1. Учёт РА для определения напряжённости иммунитета к коклюшу</p>	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: flex-start;"> <div style="text-align: center;"> <p>1/50   1/100   1/200   1/400   1/800   КС   КА</p>  </div> <div style="margin-left: 20px;"> <p>Закключение: _____</p> </div> </div>
<p>2. Постановка и учет РПГА для определения ревматоидного фактора.                  Эритроцитарный диагностикум = фиксированные эритроциты быка, покрытые IgG человека.                  Ревматоидный фактор = аутоантитела IgM против IgG человека (обнаруживается при некоторых аутоиммунных заболеваниях (СКВ, РА) и применяется для диагностики).</p>	<div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="margin-right: 20px;">  </div> <div> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Эритроцитарный диагностикум ревматоидного фактора</li> <li>2. Сыворотка больного</li> <li>3. Физ. раствор</li> </ol> </div> </div> <p style="text-align: right;">Закключение: _____</p>

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

Латексный диагностикум = микросферы латекса, покрытые молекулами тиреоглобулина



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

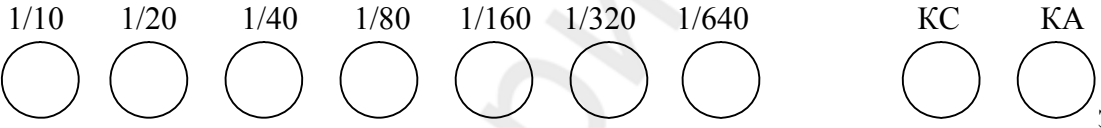
Заключение: \_\_\_\_\_

---

**Демонстрация:**

Учет РПГА для определения напряжённости противодифтерийного иммунитета.

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



Защитный титр 1:40.

Заключение: \_\_\_\_\_

*Защитный титр – суррогатный (условный) показатель иммунной защищенности организма человека от инфекционного заболевания.*

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

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

Постановка и учёт РПГА для оценки поствакцинального иммунитета к дифтерии

1. Постановка

- расставить и пронумеровать агглютинационные пробирки
- раскапать физраствор
- внести сыворотку больного в первую, вторую и восьмую пробирки. Далее перемешать содержимое второй пробирки и перенести 0,25 мл содержимого в следующую, каждый раз меняя пипетку (наконечник дозатора). Из седьмой пробирки после перемешивания удалить 0,25 мл жидкости;
- внести по 0,25 мл стандартного диагностикума в каждую пробирку;
- энергично встряхнуть и поместить в термостат при 37° С на 2 часа;
- произвести учет результатов.

2. Учет результатов реакции проводят по плюсовой системе:

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

Реагенты	Пробирки (№, разведение)							Контроли	
	1 (1/10)	2 (1/20)	3 (1/40)	4 (1/80)	5 (1/160)	6 (1/320)	7 (1/640)	КС	КА
Физ. раствор		0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25		0,25
Сыв. б-го	0,25	0,25	-	-	-	-	-	0,5	-
Диагностикум	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	-	0,25
Инкубация 2 часа при 37° С (до оседания эритроцитов)									
Учет									

**1. Новые виды вакцин:**

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

## 2. Серотерапия. Антисыворотки и иммуноглобулины

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

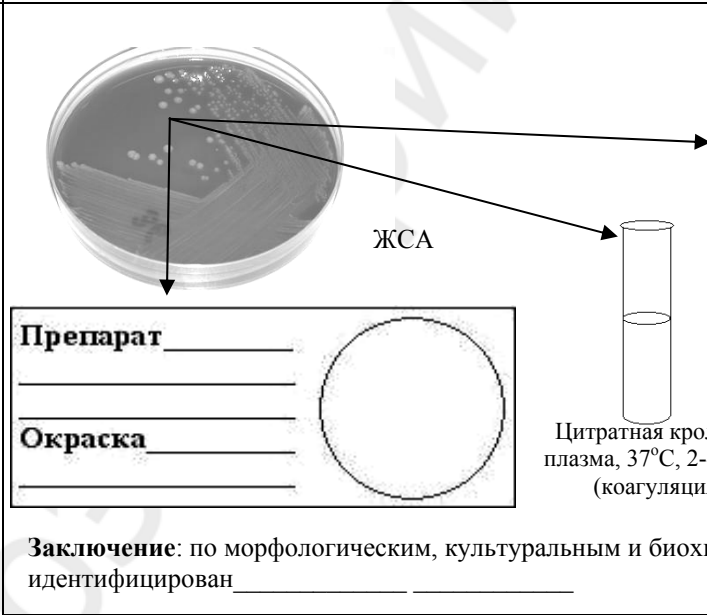
**Итоговое занятие по теме: «Иммунология. Иммуитет. Аллергия»****Перечень вопросов:**

1. Иммунология. Определение, задачи, методы. История развития иммунологии.
  2. Иммунная система организма, характеристика. Органы, иммунокомпетентные клетки.
  3. Молекулы иммунной системы – CD-антигены, рецепторы, молекулы I, II, III классов ГКГС, адгезины, суперсемейство иммуноглобулинов.
  4. Цитокины. Определение. Классификация. Клетки-продуценты. Биологическая роль. Клиническое использование. Хемокины.
  5. Иммуитет, виды иммуитета. Отличительные черты естественного (врожденного) и приобретенного иммуитета. Характеристика противоинокционного иммуитета.
  6. Естественный иммуитет. Определение. Факторы неиммунной и иммунной природы и их характеристика.
  7. Комплемент, пути активации, функции. Значение в противоинокционной защите. Методы определения активности и показатели.
  8. Фагоцитоз. Фагоциты. Стадии фагоцитоза. Механизмы внутриклеточной бактерицидности. Исходы (завершенный, незавершенный фагоцитоз). Хемотаксисы, опсонины, происхождение и роль в противоинокционном иммуитете.
  9. Методы определения показателей фагоцитоза.
  10. Иммуный ответ и факторы, определяющие его выраженность. Генетический контроль гуморального и клеточного иммуного ответа.
  11. ГИО ответ, этапы. Отличительные черты первичного и вторичного иммуного ответа.
  12. В-лимфоциты. Характеристика. Основные маркеры. В-клеточный-рецептор. Методы определения содержания и функциональной активности В-лимфоцитов.
  13. Антигены: структура, классификация, характеристика.
  14. Антигенная структура бактерий. Групповые, видовые, типовые антигены. Перекрестно реагирующие антигены. Антигенная формула.
  15. Антитела, структурно-функциональная организация молекулы, свойства. Моноклональные антитела, принцип получения, применение. Антиидиотипические антитела.
  16. Классы иммуноглобулинов, характеристика. Субклассы, аллотипы, изотипы, идиотипы иммуноглобулинов. Методы определения концентрации иммуноглобулинов.
  17. Механизмы взаимодействия антигенов и антител. Специфичность. Фазы. Проявления. Афинность. Авидность.
  18. Серологический метод исследования. Задачи, этапы, оценка. Титр сыворотки, диагностический титр. Диагностикумы, диагностические сыворотки, применение.
  19. Реакция агглютинации. Цели и методы постановки, учёт, оценка. Применение.
  20. РПГА, ингредиенты. Методика постановки, учёт, оценка. Применение. Реакция обратной пассивной гемагглютинации. Реакция латексагглютинации.
  21. Реакция преципитации. Цели и методы постановки, учёт, оценка. Применение.
  22. РИФ, прямой и непрямой методы. Применение.
  23. ИФА. Ингредиенты, постановка, учёт, оценка, области применения. РИА.
  24. Реакции иммуного лизиса, применение. РСК. Ингредиенты, постановка, учёт, оценка. Применение.
  25. Динамика формирования КИО, его проявления. Иммунологическая память.
  26. Характеристика регуляторных и эффекторных субпопуляций Т-лимфоцитов. Основные маркеры. Т-клеточный рецептор (ТКР). Генетический контроль разнообразия ТКР.
  27. Активация Т-лимфоцитов. Костимуляция. Модель двух сигналов. Анергия. Апоптоз.
  28. Методы определения количества и функциональной активности Т-лимфоцитов.
  29. Местный иммуитет, значение. Основные компоненты.
  30. Аллергия. Стадии аллергии. Типы аллергических реакций.
  31. Аллергены, определение, классификация, характеристика.
  32. Аллергические реакции ГНТ, виды, клинические проявления.
  33. Медиаторный (I) тип ГНТ, механизмы, клинические проявления. Способы предупреждения.
  34. Цитотоксический (II) и иммунокомплексный (III) типы ГНТ, механизмы развития, проявления.
  35. Гиперчувствительность замедленного (IV) типа (ГЗТ). Виды, клинические проявления.
  36. Методы диагностики ГНТ (in vivo и in vitro).
  37. Методы диагностики ГЗТ (in vivo и in vitro).
  38. Иммунологическая толерантность. Определение, механизмы, биологическое значение.
  39. Трансплантационный иммуитет. Антигены гистосовместимости I, II, III классов. роль в иммуном ответе. Типы трансплантационных реакций. Механизмы отторжения трансплантата. Предупреждение.
  40. Клиническая иммунология, определение, цели, задачи. Понятие об экологической иммунологии, основные иммуотропные экологические факторы.
  41. Иммунодефицитные состояния: врожденные и приобретенные. Структура первичных иммунодефицитов.
  42. Иммуный статус организма, принципы и методы оценки, показатели. Иммунограмма. Влияние условий и образа жизни на функции иммунной системы.
  43. Аутоиммунные болезни, классификация. Аутоантигены. Механизмы аутоиммуитета. Противоопухольевый иммуитет.
  44. Иммунопрофилактика и иммуитерапия инфекционных болезней. Достижения и проблемы.
  45. Вакцины, требования к вакцинам. Виды вакцин, характеристика, методы приготовления. Новые подходы к созданию вакцин.
  46. Поствакцинальный иммуитет. Факторы, влияющие на его развитие. Методы определения напряженности поствакцинального иммуитета. Значение коллективного иммуитета, методы его оценки.
  47. Пассивная иммуитопрофилактика. Показания к проведению. Лечебно-профилактические иммуные сыворотки и сывороточные препараты, способы получения, области применения.
  48. Иммунокоррекция. Показания к проведению. Методы подавления и стимуляции иммуного ответа, препараты для иммунокоррекции.
- Дополнительные вопросы для педиатрического факультета:**
49. Иммунологические взаимоотношения матери и плода.
  50. Критические периоды в формировании иммунной системы.
- Перечень практических навыков.**
1. Учесть результаты реакции агглютинации.
  2. Учесть результаты реакции иммунопреципитации в агаре.
  3. Учесть результаты реакции связывания комплемента.
  4. Учесть результаты РПГА.
  5. Проставить реакцию агглютинации на стекле.
  6. Определить концентрацию иммуноглобулинов.
  7. Определить количество Т-лимфоцитов в препаратах иммуных розеток.
  8. Рассчитать показатели фагоцитоза в готовых препаратах.

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

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Стафилококки, систематика, общая характеристика, факторы патогенности. Заболевания стафилококковой природы. Методы микробиологической диагностики стафилококковых инфекций. Материал для исследования в зависимости от формы инфекции. Правила забора материала. Схема выделения чистых культур (из гноя, слизи, крови и т.п.). Методы идентификации, фаготипирование стафилококков. Специфическая профилактика и лечение стафилококковых инфекций.</p>	<p><b>Источники:</b>                  1. Материал лекции.                  2. [1], [4], [5], [8] – (учебники),                  3. [2], [7] – (практикумы),                  4. [9], [15], [16], [17] – (доп. литература).</p>
--	--

**Лабораторная работа**

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



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

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

**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты
<p>1. 3-й этап микробиологической диагностики стрептококковых инфекций:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>а) описание характера роста в сывроточном бульоне;</li> <li>б) определение морфологии культуры в мазке, окраска по Граму;</li> <li>в) постановка реакции кольцепреципитации для определения серогруппы стрептококка.</li> </ol>	<div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="margin-right: 20px;"> <p>Характер роста _____</p> </div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-right: 20px;"> <p>Экстракт стрептококка</p> </div> <div style="margin-right: 20px;"> <p>Препарат _____</p> <p>Окраска _____</p> </div> <div style="text-align: center;"> <p>(Реакция кольцепреципитации)</p> </div> </div> <p><b>Заключение:</b> по морфологическим, культуральным и биохимическим признакам идентифицирован _____</p>



**Демонстрация.**

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

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

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

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

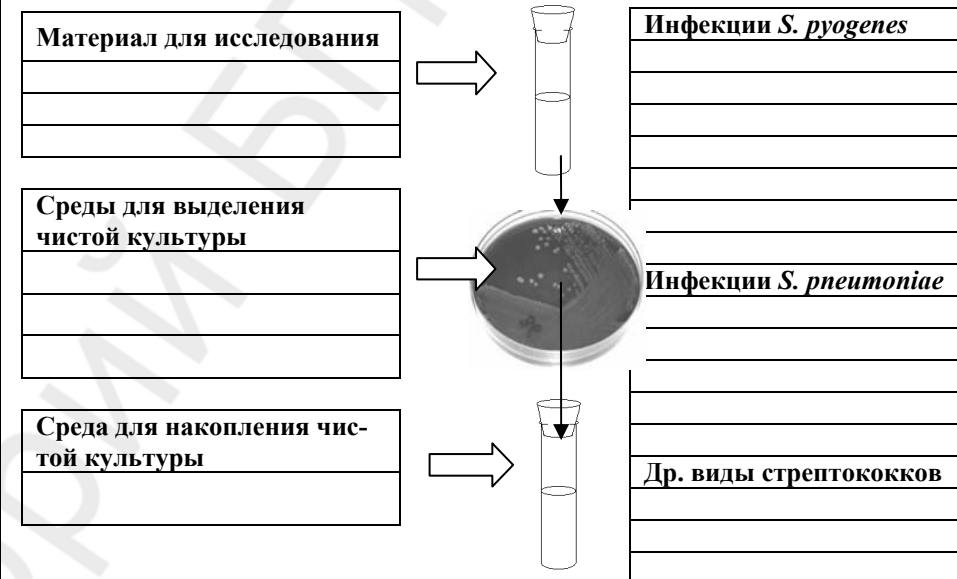
**Характеристика стрептококков и энтерококков**

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

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

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

**Бактериологический метод диагностики стрептококковых инфекций**



**Характеристика нейссерий**

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

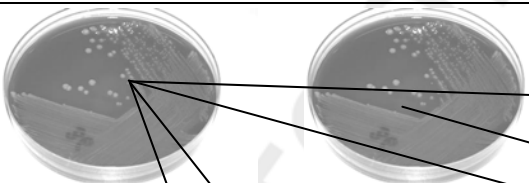
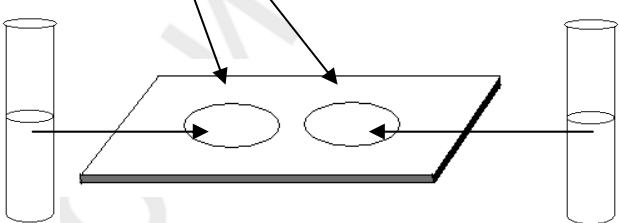
**Методы диагностики, специфической профилактики и терапии заболеваний, вызванных нейссериями**

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

**Тема: Методы микробиологической диагностики острых кишечных инфекций (ОКИ), вызываемых энтеробактериями.**

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Общая характеристика представителей семейства энтеробактерий. Различия между родами. Общие принципы диагностики острых кишечных инфекций, вызываемых патогенными энтеробактериями. Дифференциально-диагностические среды, принципы их работы.</p> <p>Эшерихии, систематическое положение, общая характеристика. Биологическая роль кишечной палочки. Молекулярные механизмы патогенеза эшерихиозов. Энтеропатогенные, энтеротоксигенные, энтероинвазивные и энтерогеморрагические кишечные палочки. Диагностика эшерихиозов. Антибиотикотерапия.</p> <p>Сальмонеллы, классификация и общая характеристика. Серологическая классификация сальмонелл. Идентификация сальмонелл. Молекулярно-биологическое типирование.</p> <p>Возбудители брюшного тифа и паратифов. Патогенез брюшного тифа. Микробиологические методы исследования при брюшном тифе в зависимости от этапа патогенеза.</p>	<p><b>Источники:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Материал лекции.</li> <li>2. [1] С. 376-385; 389-394; [4] – (учебники),</li> <li>3. [2], [5] – (практикумы),</li> <li>4. [6], [9] – (доп. литература).</li> </ol>
---	--

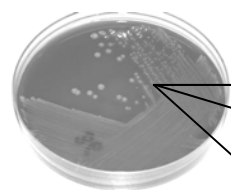
**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты																			
<p>1. 2-й этап бактериологической диагностики колиэнтеритов:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>а) исследование колоний кишечной палочки на средах Эндо и Левина;</li> <li>б) приготовление препаратов из колоний с окраской по Граму;</li> <li>в) постановка реакции агглютинации на стекле со смесью поливалентных ОК-сывороток.</li> </ol> <p>Состав и принцип работы сред Левина и Эндо см. приложение 6.</p>	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  <p>Эндо                      Левина</p> </div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> <p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>Физ. р-р                      Сыворотка <i>E. coli</i> O<sub>26</sub>:K<sub>60</sub>, O<sub>55</sub>:K<sub>59</sub>, O<sub>111</sub>:K<sub>58</sub></p> </div> </div> <table border="1" style="margin-top: 20px; width: 100%;"> <thead> <tr> <th>Признак</th> <th>Эндо</th> <th>Левина</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Форма</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Размер</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Поверхность</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Цвет</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Консистенция</td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table> <p style="margin-top: 20px;">Заключение: по морфологическим, культуральным и антигенным свойствам идентифицирован _____</p>		Признак	Эндо	Левина	Форма			Размер			Поверхность			Цвет			Консистенция		
Признак	Эндо	Левина																		
Форма																				
Размер																				
Поверхность																				
Цвет																				
Консистенция																				

2. 2-й этап выделения копрокультуры при диагностике брюшного тифа и паратифов:

- а) описание колоний на среде Левина;
- б) микроскопия препарата с окраской по Граму;
- в) отсев на среду Клиглера.

Состав и принцип работы среды Клиглера см. приложение 6.



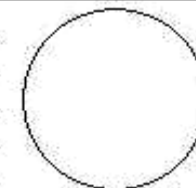
среда Левина



среда Клиглера

Препарат \_\_\_\_\_

Окраска \_\_\_\_\_



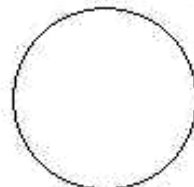
Признак	Левина
Форма	
Размер	
Поверхность	
Цвет	
Консистенция	

**Демонстрация.**

1. Чистые среды: Эндо, Левина, Плоскирева, висмут-сульфит агар, среда Рапопорт, магниевая, селенитовая среда, среда Клиглера.
2. Эти же среды с ростом эшерихий, сальмонелл, шигелл.
3. Биохимическая активность эшерихий и сальмонелл.
4. Дендрограммы молекулярного типирования сальмонелл.
5. Развернутая реакция агглютинации с живой и убитой культурами эшерихий.
6. Морфология эшерихий, сальмонелл, шигелл (окраска по Граму).

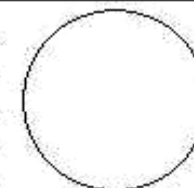
Препарат \_\_\_\_\_

Окраска \_\_\_\_\_



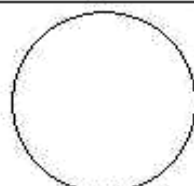
Препарат \_\_\_\_\_

Окраска \_\_\_\_\_



Препарат \_\_\_\_\_

Окраска \_\_\_\_\_



Подпись преподавателя

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

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


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

Положительные	Отрицательные


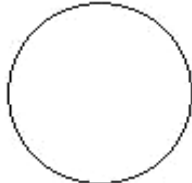
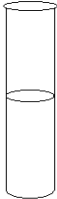

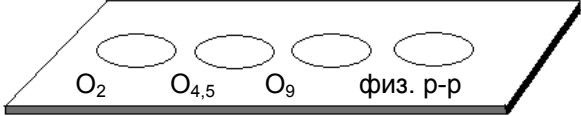
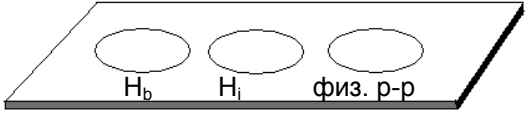


**Тема: Методы микробиологической диагностики ОКИ, вызываемых энтеробактериями (продолжение).**

**Перечень изучаемых вопросов:** Характеристика иммунитета при брюшном тифе, паратифах. Серологическая диагностика брюшного тифа и паратифов. Постановка и анализ реакции Видяля. Методы отличия диагностической реакции от анамнестической и прививочной. Диагностика бактерионосительства при брюшном тифе.  
 Сальмонеллы – возбудители острых гастроэнтеритов. Фаготипирование и фагоиндикация сальмонелл.  
 Шигеллы. Возбудители дизентерии, классификация, общая характеристика. Молекулярные механизмы патогенеза, иммунитет, методы лабораторной диагностики острой и хронической дизентерии. Подходы к профилактике дизентерии. Антибиотикотерапия.

**Источники:**  
 1. Материал лекции.  
 2. [1] С. 385-389; 394-396; [4] – (учебники),  
 3. [2], [5] – (практикумы),  
 4. [6], [9] – (доп. литература).

**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты
<p>1. 3-й этап бактериологической диагностики брюшного тифа и паратифов:                      а) исследование роста на среде Клиггера;                      б) определение чистоты культуры, окраска по Граму;                      в) учёт пробы на подвижность и индообразование;                      г) определение антигенной структуры выделенного микроба в РА на стекле с монорецепторными сыворотками.</p> <p>Состав и принцип работы сред Плоскирева и Раппопорт см. Приложение 6.</p>	<p>Учет биохимических свойств:                      Лактоза _____                      Глюкоза _____                      Сероводород _____</p>  <p>Клиггера</p> <div data-bbox="1440 643 1944 842" style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> <p>Препарат _____</p> <p>Окраска _____</p>  </div> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: flex-start;"> <div style="text-align: center;">  <p>МПА полужидкий (тест на подвижность) _____</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>МПБ с триптофаном (тест на индообразование) _____</p> </div> </div> <p><b>РА с адсорбированными О и Н сыворотками</b></p> <div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="text-align: center;">  <p>O<sub>2</sub> O<sub>4,5</sub> O<sub>9</sub> физ. р-р</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>H<sub>b</sub> H<sub>1</sub> физ. р-р</p> </div> </div> <p>Закключение: по морфологическим, культуральным, биохимическим и антигенным свойствам идентифицирован _____</p>

2. Учёт реакции Видалю	<b>Реакция Видалю (РА)</b> <i>разведения сыворотки</i>	<b>Динамика титров АТ при брюшном тифе</b>							
	Диагностикум    1:50    1:100    1:200    1:400    1:800    КА    КС	Инкубационный, продромальный периоды    1 неделя    2 неделя    3 неделя    4 неделя    5 неделя    6 неделя    7 неделя    8 неделя							
	<i>S. typhi</i> O 901  <i>S. typhi</i> H d  <i>S. paratyphi</i> A (OH)  <i>S. schottmuel-leri</i> B (OH)	<b>Фазы патогенеза</b> Лимфаденит    Бактериемия с интоксикацией    Паренхиматозная диффузия    Аллергически выделительная    Исход: Выздоровление; Летальный; Бактерионосительство							
	Заключение: _____ (Диагностический титр _____).								

- Демонстрация.**
1. Рост шигелл и сальмонелл на средах Левина и Плоскирева.
  2. Рост шигелл и сальмонелл на среде Клиглера.
  3. Биохимическая активность энтеробактерий.
  4. Фаготипирование сальмонелл.
  5. Проба на фаголизис сальмонелл.
  6. Vi-гемагглютинация.
  7. Препараты для специфической профилактики брюшного тифа и паратифов.

<b>РПГА (Vi – гемагглютинация)</b>									
1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	КС	КА	
○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
Заключение: _____									

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

**Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 20.**

<b>Методы диагностики брюшного тифа и паратифов в зависимости от периода болезни и стадии патогенеза</b>					
Период или стадия болезни	Бактериологический метод			Серологический метод	
	гемокультура	уринокультура	копрокультура	РА по Видалю	РПГА с Vi-антигеном
Инкубационный период					
Продромальный период					
Разгар болезни	Бактериемия и интоксикация				
	Паренхиматозная диффузия				
	Аллергически-выделительная				
Реконвалесценция					
Бактерионосительство					

### Классификация шигелл

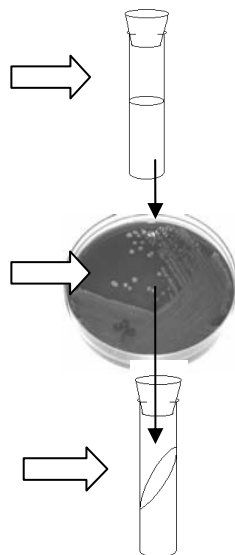
Виды шигелл	Число серовариантов

### Бактериологический метод диагностики шигеллезов

Материал для исследования

Среды выделения чистой культуры

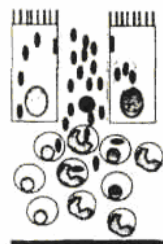
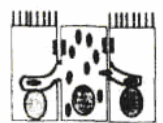
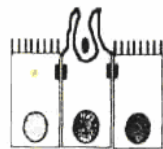
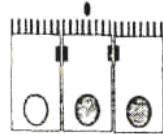
Среда накопления чистой культуры



### Дифференциация шигелл

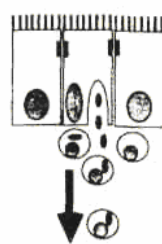
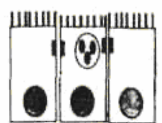
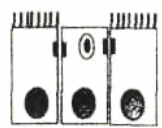
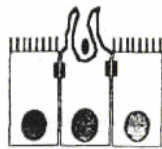
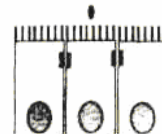
Признак	<i>S. dysenteriae</i>	<i>S. flexneri</i>	<i>S. boydii</i>	<i>S. sonnei</i>
Глюкоза с газом				
Лактоза				
Маннит				
Серогруппа				
Подвижность				

### ШИГЕЛЛЫ



АБСЦЕССЫ  
СЛИЗИСТОЙ  
КИШЕЧНИКА

### САЛЬМОНЕЛЛЫ



Брыжеечные  
лимфатические  
узлы  
КРОВОТОК

Рис. 11. Патогенез шигеллезов и сальмонеллезов.

### Основные возбудители сальмонеллезов

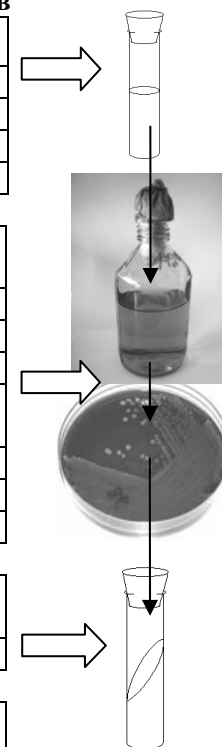

### Бактериологический метод диагностики сальмонеллезов

Материал для исследования

Среды для обогащения материала
Среды для выделения чистой культуры

Среды для накопления чистой культуры

Методы идентификации сальмонелл





**Тема: Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых клебсиеллами, иерсиниями, кампилобактериями, псевдомонадами. Методы диагностики пищевых отравлений.**



**Источники:**

1. Материал лекции.
2. [1] С. 396-398; 403-409; [4] – (учебники),
3. [2], [5] – (практикумы),
4. [6], [9] – (доп. литература).

**Перечень изучаемых вопросов:**

Клебсиеллы, классификация и общая характеристика, вызываемые заболевания. Патогенез, иммунитет, методы микробиологической диагностики острых и хронических клебсиеллёзов.

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

Кампилобактерии, общая характеристика, роль в патологии человека. Механизмы патогенеза. Диагностика кампилобактериоза. Хеликобактер.

Синегнойная палочка, общая характеристика, факторы патогенности, роль в патологии человека. Методы микробиологической диагностики синегнойной инфекции.

Классификация, этиология пищевых отравлений. Принципы микробиологической диагностики.

**Лабораторная работа**

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

**Учет биохимических свойств:**

Лактоза \_\_\_\_\_

Глюкоза \_\_\_\_\_

1. Самостоятельная работа по теме «Микробиологическая диагностика клебсиеллёзов»:

А. Изучить рост клебсиелл на модифицированной среде Ресселя.

Б. Определить наличие капсулы.

В. Произвести учет биохимических свойств клебсиелл.

Г. Поставить реакцию капсульной агглютинации на стекле для определения К-антигена и установления сероварианта.

Д. Произвести учет РСК для серологической диагностики склеромы.

Состав и принцип работы среды Ресселя см. приложение 6.

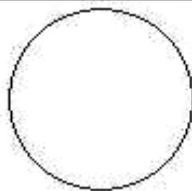


Ресселя

Лактоза Глюкоза Сахароза Цитрат Мочевина Малонат  
(среда Симмонса)

Препарат \_\_\_\_\_

Окраска \_\_\_\_\_



**Дифференциация клебсиелл**

Биохимические свойства	<i>K. pneumoniae</i> <i>s. rhinoscleromatis</i>	<i>K. pneumoniae</i> <i>s. ozaenae</i>	<i>K. pneumoniae</i> <i>s. pneumoniae</i>	<i>K. oxytoca</i>
Глюкоза с газом	-	+/-	+	+
Лактоза	-	+/-	+	+
Сахароза	- (4 сутки +)	+/-	+	+
Цитрат аммония	-	+/-	+	+
Мочевина	-	-/+	+	+
Малонат натрия	+	-	+	+
Индол	-	-	-	+
Рост при 10°C	-	-	-	+
О и К антигены	<b>O2a:K3</b>	<b>O2b:K4</b>	<b>O1,O3-5:K1-3</b>	<b>O1,O3-5:K7-82</b>

**Реакция капсульной агглютинации**

Заключение: \_\_\_\_\_

**Дифференциальные питательные среды:**

1. Модифицированная среда Ресселя содержит глюкозу, лактозу и бромтимоловый синий индикатор. Клебсиелла склеромы дает пожелтение только столбика, клебсиелла пневмонии – пожелтение и разрыв всей среды, клебсиелла озены – различные варианты.
2. Среда 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 уреазы) происходит защелачивание среды (индикатор Андрее) – красное окрашивание. При отсутствии продукции уреазы – цвет не изменяется (желтый).

**Учет РСК по схеме:**

Вариант	Разведения сыворотки	КС	КА	Оценка
---------	----------------------	----	----	--------

1	++++	++++	++++	-	-	Резко положительная
2	++++	++++	-	-	-	Положительная
3	+++	-	-	-	-	Слабо положительная
4	-	-	-	-	-	Отрицательная
Учет результата:						

Заключение: \_\_\_\_\_ -

**Демонстрация.**

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

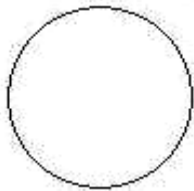
Препарат \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Окраска \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_



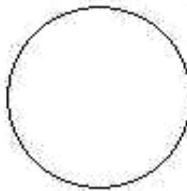
Препарат \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Окраска \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_



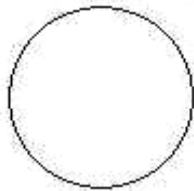
Препарат \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Окраска \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_



Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 21.

Возбудители	Вызываемые заболевания	Материалы для культуральной диагностики
<i>K. pneumoniae sp. rhinoscleromatis</i>		
<i>K. pneumoniae sp. ozaenae</i>		
<i>K. pneumoniae sp. pneumoniae</i>		
<i>Y. enterocolitica</i>		
<i>C. jejuni</i>		
<i>H. pylori</i>		
<i>P. aeruginosa</i>		

#### Методы лабораторной диагностики и специфическая профилактика

Метод	Использование метода (+/-)			
	Клебсиеллезы	Кампилобактериоз	Иерсиниоз	Синегнойная инфекция
Микроскопический				
Бактериологический				
Биологический				
Серологический				
Аллергический				
Молекулярно-генетический				
Специфическая профилактика				

#### 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.

<p><b>Пищевые токсикоинфекции (ПТИ):</b> ОКИ, возникающие в результате употребления в пищу массивно обсемененных некоторыми бактериями продуктов. Возбудители: условно-патогенные представители семейства <i>Enterobacteriaceae</i> – <i>E. coli</i>, <i>Proteus</i> (<i>P. vulgaris</i>, <i>P. mirabilis</i>), <i>Morganella morganii</i>, <i>Citrobacter</i>, <i>Enterobacter</i>, <i>Hafnia</i>, <i>Klebsiella pneumoniae</i>; сем. <i>Vibrionaceae</i> – <i>V. parahaemolyticus</i>; сем. <i>Bacillaceae</i> – <i>B. cereus</i>; сем. <i>Streptococcaceae</i> – <i>E. faecalis</i>; сем. <i>Pseudomonadaceae</i> – <i>P. aeruginosa</i> и др.</p>	<p><b>Пищевые микробные токсикозы (интоксикации):</b> острые заболевания, возникающие при употреблении в пищу продуктов, в которых в результате массивного размножения микробов содержится большое количество экзотоксина. К ним относят ботулизм, токсикозы, вызванные стафилококковым энтеротоксином, токсинами <i>S. perfringens</i> серовара А, реже – Е, F; и токсинами микроскопических грибов.</p>
---	---

**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 кишечной стенке.

**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 её 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 возбудителя (по фаго- и сероварам) у большого числа больных при групповом пищевом отравлении, а также нарастание титра антител в динамике болезни.

**Тема: Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых коринебактериями, бордетеллами, гемофилами, легионеллами, листериями.**

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Коринебактерии дифтерии. Систематика, общая характеристика возбудителя. Типы коринебактерий дифтерии, их отличительные признаки. Дифтерийный токсин и антитоксическая сыворотка. Патогенез дифтерии. Методы микробиологической и молекулярно-биологической диагностики дифтерии. Принципы терапии и профилактики дифтерии. Определение эффективности поствакцинального иммунитета (РПГА).</p> <p>Бордетелла коклюша. Характеристика возбудителя, факторы патогенности. Дифференциация с возбудителем паракоклюша. Патогенез коклюша, иммунитет, диагностика. Принципы терапии и профилактики коклюша.</p> <p>Гемоглинофильные бактерии, общая характеристика, роль в патологии человека.</p> <p>Легионеллы, общая характеристика, роль в патологии человека. Коксиеллы. Ку-лихорадка.</p> <p>Листерии, общая характеристика, роль в патологии человека.</p>	<p><b>Источники:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Материал лекции.</li> <li>2. [1] С. 414-416; 421-423; 428-436; [4] – (учебники),</li> <li>3. [2], [5] – (практикумы),</li> <li>4. [6], [9] – (доп. литература).</li> </ol>
--	---

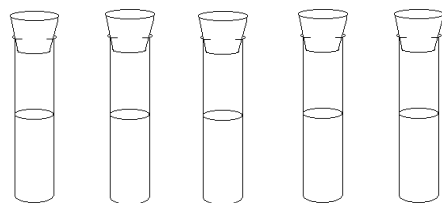
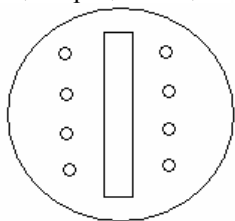
**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты															
<p>1. Бактериологическая диагностика дифтерии, 2-й этап:</p> <p>а) изучение роста колоний коринебактерий на теллуритовой среде,</p> <p>б) отсев колоний на пёстрый ряд (глюкоза, сахараза, крахмал), тесты на уреазу, цистиназу.</p>	<p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p> 	 <p>Глюкоза Сахароза Крахмал Тесты на: уреазу цистиназу</p>														
<p><b>Демонстрация.</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Коринебактерии дифтерии: а) по Нейссеру; б) по Леффлеру.</li> <li>2. Проба на токсигенность коринебактерий дифтерии.</li> <li>3. Препараты для специфической профилактики и лечения дифтерии и коклюша.</li> <li>4. Рост бордетелл коклюша и паракоклюша на КУА, МПА с тирозином, проба на уреазу.</li> <li>5. Мазок по Граму из бордетелл коклюша.</li> <li>6. Колонии бордетелл коклюша на чашках с КУА в стереоскопическом микроскопе.</li> <li>7. РПГА для оценки напряжённости противодифтерийного иммунитета.</li> </ol>	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Признак</th> <th>Колонии на сыв. агаре с теллуридом калия</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Форма</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Размер</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Поверхность</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Край</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Цвет</td> <td></td> </tr> <tr> <td>Консистенция</td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	Признак	Колонии на сыв. агаре с теллуридом калия	Форма		Размер		Поверхность		Край		Цвет		Консистенция		<p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p>  <p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p> 
Признак	Колонии на сыв. агаре с теллуридом калия															
Форма																
Размер																
Поверхность																
Край																
Цвет																
Консистенция																

**Выполняется на занятии № 29.**

Учет биохимической активности коринебактерий, пробы на токсигенность; идентификация.

Тест на токсигенность  
(реакция преципитации в геле)



Глюкоза Сахароза Крахмал Тесты на:  
уреазу цистеиназу

Токсигенность \_\_\_\_\_

Волутин \_\_\_\_\_ (микроскопия)

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

**Биохимические свойства некоторых коринебактерий**

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

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

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

**Характеристика коринебактерий, бордетелл, гемофтмов, легионелл, листерий, коксиелл**

Признаки	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	<i>Bordetella pertussis</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Coxiella burnetii</i>
Морфология						
Образование споры						
Наличие капсулы						
Наличие жгутиков						
Окрашивание по Граму						

**Клинически значимые коринебактерии**

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

**Виды рода *Haemophilus* и вызываемые ими заболевания**

Виды	Заболевания
<i>H. influenzae</i>	
<i>H. ducreyi</i>	
<i>H. aphrophilus</i> , <i>H. parainfluenzae</i> и др.	

**Дифференциация бордетелл**

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

**Факторы патогенности *C. diphtheriae***

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

### Факторы патогенности *H. influenzae*

Факторы патогенности	Биологический эффект
Полисахаридная (полирибозофосфат) капсула	Угнетение фагоцитоза
Пили и другие адгезины	Прикрепление к эпителиальным клеткам
Липополисахарид и гликопептид	Повреждение ресничек и поверхности эпителия
Протеаза Ig A	Подавление местного иммунитета

### Факторы патогенности *Legionella pneumophila*

Факторы патогенности	Биологический эффект
1. Факультативный внутриклеточный паразитизм:	
Токсин (пептид)	ингибирование «окислительного взрыва» при фагоцитозе
Каталаза	инактивация токсических метаболитов при активации макрофагов
Факторы неизвестной природы	ингибируют слияние фагосомы и лизосомы, транспорт электронов
2. Продукция токсинов, ферментов:	
Термолабильный экзотоксин (цитотоксин и гемолизин)	нарушение функций или лизис клеток
Эндотоксин	нарушение функций или лизис клеток
Протеолитические ферменты: фосфатаза, липаза, нуклеаза	разрушение клеток хозяина
3. Пили, микрокапсула	адгезия

### Факторы патогенности *B. pertussis*

Фактор патогенности	Биологический эффект
Филаментозный гемагглютинин	Связывается с гликолипидами мембран клеток мерцательного эпителия дыхательных путей, связывается с R3 - гликопротеиновым рецептором поверхности ПМЯЛ и инициирует фагоцитоз
Коклюшный токсин (токсин пертуссин)	S1 - субъединица пертуссина рибозилирует мембранный белок Gi; токсин подавляет активность фагоцитов и миграцию моноцитов. S2 - субъединица связывается с гликолипидом поверхности клеток респираторного тракта; S3 - субъединица связывается с ганглиозидами поверхности фагоцитов
Пили	Адгезия к мерцательному эпителию дыхательных путей
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

### Факторы патогенности листерий

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

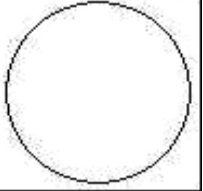
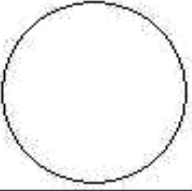
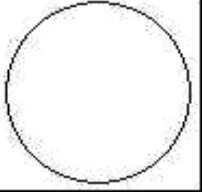
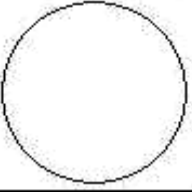
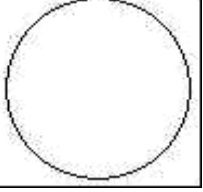
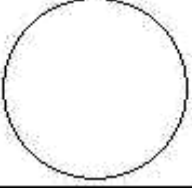
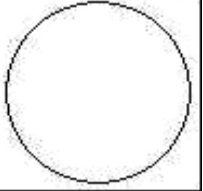
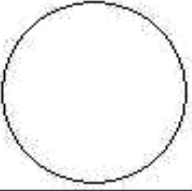
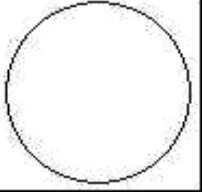
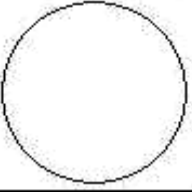
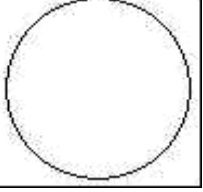
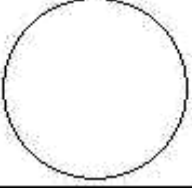
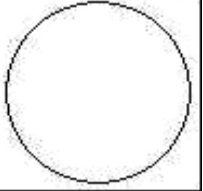
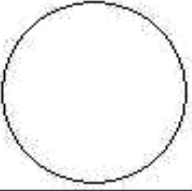
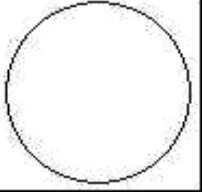
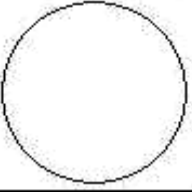
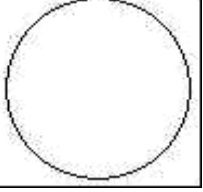
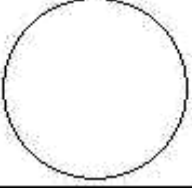
### Лабораторная диагностика, спец. профилактика и терапия дифтерии, коклюша, *Haemophilus-инфекции*

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

**Тема: Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых актиномицетами и микобактериями. Методы микробиологической диагностики анаэробных инфекций.**

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Актиномицеты, систематическое положение, общая характеристика, роль в патологии человека. Микобактерии, классификация. Возбудители туберкулеза, общая характеристика. Патогенез, иммунитет, методы микробиологической диагностики, принципы терапии и профилактики туберкулёза. Проба Манту.</p> <p>Возбудитель лепры, общая характеристика, роль в патологии человека. Возбудители микобактериозов. Нокардии.</p> <p>Анаэробы, классификация, общая характеристика. Возбудители газовой гангрены, столбняка, ботулизма. Систематика и общая характеристика. Характеристика экзотоксинов. Принципы терапии и профилактики анаэробных инфекций.</p> <p>Клостридиальные гастроэнтериты. Клостридия диффициле, роль в патологии человека.</p> <p>Неспоробразующие анаэробы. Бактероиды. Пептококки. Общая характеристика, факторы патогенности, роль в патологии человека.</p> <p>Общие принципы и методы диагностики анаэробных инфекций. Молекулярно-биологическая диагностика – ПЦР.</p>	<p><b>Источники:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Материал лекции.</li> <li>2. [1] С. 436-446; 448-459; [4] – (учебники),</li> <li>3. [2], [5] – (практикумы),</li> <li>4. [6], [9] – (доп. литература).</li> </ol>
---	--

**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты													
<p>1. Учет сахаролитической активности коринебактерий, идентификация.</p> <p>2. Микроскопия готовых мазков мокроты больного туберкулёзом, окраска по Цилю-Нильсену.</p> <p><b>Демонстрация.</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Рост микобактерий на питательных средах.</li> <li>2. Метод флотации.</li> <li>3. Определение лекарственной устойчивости микобактерий туберкулёза.</li> <li>4. Корд-фактор микобактерий туберкулёза, окраска по Цилю-Нильсену.</li> <li>5. Актиномицеты, чистая культура, окраска по Граму.</li> <li>6. Микобактерии лепры, окраска по Цилю-Нильсену.</li> <li>7. Микобактерии туберкулёза в мокроте больного, окраска по Цилю-Нильсену.</li> <li>8. Рост анаэробов на питательных средах.</li> <li>9. Клостридии, окраска по Граму.</li> <li>10. Бактероиды, окраска по Граму.</li> <li>11. Вейлонеллы, окраска по Граму.</li> </ol>	<p>См. занятие № 22.</p> <table border="1" data-bbox="1019 774 2060 1388"> <tr> <td data-bbox="1019 774 1332 981">                     Препарат _____                      _____                      Окраска _____                      _____                 </td> <td data-bbox="1332 774 1534 981">  </td> <td data-bbox="1556 774 1870 981">                     Препарат _____                      _____                      Окраска _____                      _____                 </td> <td data-bbox="1870 774 2060 981">  </td> </tr> <tr> <td data-bbox="1019 981 1332 1189">                     Препарат _____                      _____                      Окраска _____                      _____                 </td> <td data-bbox="1332 981 1534 1189">  </td> <td data-bbox="1556 981 1870 1189">                     Препарат _____                      _____                      Окраска _____                      _____                 </td> <td data-bbox="1870 981 2060 1189">  </td> </tr> <tr> <td data-bbox="1019 1189 1332 1396">                     Препарат _____                      _____                      Окраска _____                      _____                 </td> <td data-bbox="1332 1189 1534 1396">  </td> <td data-bbox="1556 1189 1870 1396">                     Препарат _____                      _____                      Окраска _____                      _____                 </td> <td data-bbox="1870 1189 2060 1396">  </td> </tr> </table> <p style="text-align: right;">Подпись преподавателя</p>		Препарат _____ _____ Окраска _____ _____		Препарат _____ _____ Окраска _____ _____		Препарат _____ _____ Окраска _____ _____		Препарат _____ _____ Окраска _____ _____		Препарат _____ _____ Окраска _____ _____		Препарат _____ _____ Окраска _____ _____	
Препарат _____ _____ Окраска _____ _____		Препарат _____ _____ Окраска _____ _____												
Препарат _____ _____ Окраска _____ _____		Препарат _____ _____ Окраска _____ _____												
Препарат _____ _____ Окраска _____ _____		Препарат _____ _____ Окраска _____ _____												



### Характеристика актиномицетов и микобактерий

Признаки	<i>Actinomyces israelii</i>	<i>M. tuberculosis</i>	<i>M. leprae</i>
Морфология (размеры, форма, взаиморасположение клеток)			
Образование споры			
Наличие капсулы			
Наличие жгутиков			
Окрашивание по Граму			
Спец. методы окраски			
Факторы патогенности		Корд-фактор, сульфатиды, антигены...	

### Лабораторная диагностика и специфическая профилактика актиномикоза, туберкулеза, лепры

Метод	Актиномикоз	Туберкулез	Лепра
Микроскопический			
Бактериологический			
Серологический			
Биологический			
Молекулярно-генетический			
Аллергический			
Специфическая профилактика			
Специфическая терапия			

### Экологическая группа облигатно-анаэробных бактерий

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

### Характеристика некоторых анаэробных бактерий

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

#### Факторы патогенности Clostridium perfringens

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

#### Основные факторы патогенности Clostridium tetani

Факторы патогенности	Биологический эффект
Столбнячный экзотоксин	тетанолизин
	тетаноспазмин

#### Факторы патогенности бактериоидов

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

#### Основные факторы патогенности Clostridium botulinum

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

#### Лабораторная диагностика и специфическая профилактика анаэробных клостридиальных инфекций

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

**Тема: Методы микробиологической диагностики особо опасных инфекций (холера, чума, туляремия, бруцеллёз, сибирская язва).**

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Классификация и общая характеристика особо опасных инфекций (ООИ). Правила забора и транспортировки материала при ООИ. Режим работы. Принципы диагностики ООИ.</p> <p>Возбудитель холеры, систематическое положение. Классификация и общая характеристика, факторы патогенности. Биовары. Дифференциация холерных и нехолерных вибрионов. Патогенез холеры. Методы микробиологической диагностики. Ускоренные методы. Принципы терапии и профилактики.</p> <p>Возбудитель чумы, систематическое положение, характеристика, факторы патогенности. Отличия от других иерсиний. Патогенез, принципы терапии и профилактики чумы.</p> <p>Возбудитель туляремии, систематика, общая характеристика. Патогенез, принципы терапии и профилактики.</p> <p>Возбудители бруцеллеза. Систематика и общая характеристика, факторы патогенности, патогенез. Микробиологическая диагностика бруцеллеза. Принципы терапии и профилактики.</p> <p>Возбудитель сибирской язвы. Систематика и общая характеристика, факторы патогенности. Отличия от непатогенных бацилл. Патогенез. Микробиологическая диагностика сибирской язвы. Принципы терапии и профилактики.</p>	<p><b>Источники:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Материал лекции.</li> <li>2. [1] С. 409-412; .401-403; 423-428; 446-448; [4] – (учебники),</li> <li>3. [2], [5] – (практикумы),</li> <li>4. [6], [9] – (доп. литература).</li> </ol>
---	---

**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты		
<p><b>Демонстрация.</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Рост холероподобного вибриона на щелочном агаре, ТСBS, пептонной воде.</li> <li>2. Фаголизабельность холерного классического и Эль-Тор вибрионов.</li> <li>3. Развернутая реакция агглютинации.</li> <li>4. Биохимические свойства холерного вибриона.</li> <li>5. Подвижность вибриона.</li> <li>6. Вибрион холеры, чистая культура, окраска по Граму.</li> <li>7. Палочка чумы в органах, окраска по Леффлеру.</li> <li>8. Возбудитель туляремии (чистая культура), окраска по Граму.</li> <li>9. Препараты для иммунопрофилактики и диагностики ООИ.</li> <li>10. Возбудитель бруцеллеза, окраска по Граму.</li> <li>11. Рост сибиреязвенных бацилл на МПА.</li> <li>12. Бациллы сибирской язвы в органах животных, окраска по Граму.</li> <li>13. Бациллы сибирской язвы в культуре, окраска по Граму.</li> <li>14. Споры бациллы сибирской язвы, окраска по Ожешко.</li> </ol>	<p>Препарат _____</p>  <p>Окраска _____</p>	<p>Препарат _____</p>  <p>Окраска _____</p>	
	<p>Препарат _____</p>  <p>Окраска _____</p>	<p>Препарат _____</p>  <p>Окраска _____</p>	
<p>Препарат _____</p>  <p>Окраска _____</p>	<p>Препарат _____</p>  <p>Окраска _____</p>	<p>Препарат _____</p>  <p>Окраска _____</p>	

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 24.

Характеристика возбудителей ООИ

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

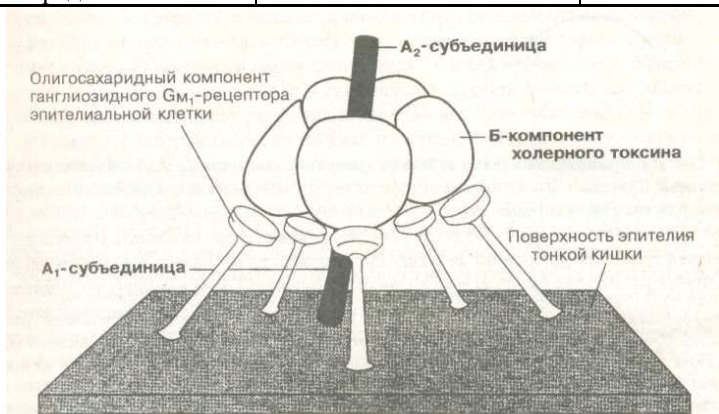


Рис. 12. Строение холерного экзотоксина (холерогена).  
Факторы патогенности *Vibrio cholerae*

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

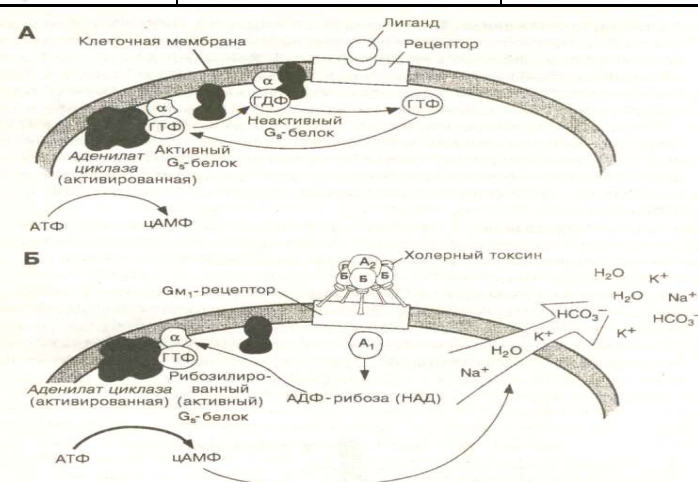


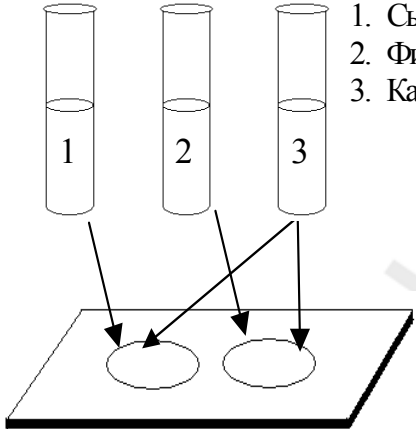
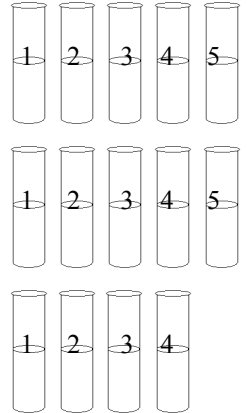
Рис. 13. Принципиальная схема действия холерного экзотоксина. А. Активация аденилатциклазы. В неактивированном состоянии  $G_s$ -белок существует в форме димера, связывающего гуанозин дифосфат (ГДФ). Взаимодействие лиганда с рецептором сопровождается нарушением связи ГДФ с  $G_s$ -белком. ГДФ замещается ГТФ. Взаимодействие ГТФ с  $G_s$ -белком вызывает диссоциацию последнего с высвобождением  $\alpha$ -субъединицы, активирующей аденилатциклазу. Фермент катализирует превращение АТФ в цАМФ. Б. Действие холерного экзотоксина. После связывания  $G_{M1}$ -рецептора А-субъединица катализирует рибозилирование  $\alpha$ -субъединицы  $G_s$ -белка и её активацию. Последняя связывает ГТФ и активирует аденилатциклазу, теряя при этом ГТФазную активность. Массированное образование цАМФ вызывает избыточную  $Na^+$ -зависимую потерю ионов  $Cl^-$  клетками и нарушение всасывания  $Na^+$  и  $K^+$ .

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

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

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Спирохеты, классификация, общая характеристика.                  Трeпонeмы. Систематика и общая характеристика. Патогенез и иммунитет при сифилисе. Материал для исследования. Методы микробиологической диагностики сифилиса. Принципы терапии и профилактики сифилиса.                  Возбудители фузоспирохетозов.                  Лептоспиры. Систематика и общая характеристика. Патогенез, методы микробиологической диагностики, принципы терапии и профилактики лептоспирозов.                  Боррелии. Систематика и общая характеристика. Механизмы патогенеза и методы микробиологической диагностики возвратных тифов. Возбудители боррелиоза Лайма, принципы терапии и профилактики.</p>	<p><b>Источники:</b>                  1. Материал лекции.                  2. [1] С. 459-469; [4] – (учебники),                  3. [2], [5] – (практикумы),                  4. [6], [9] – (доп. литература).</p>
---	--

**Лабораторная работа**

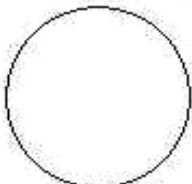
Задание	Методы, результаты	
<p>1. Постановка реакции микропреципитации на стекле (VDRL) с целью серодиагностики сифилиса.</p> <p>2. Учёт РСК (реакции Вассермана) с целью диагностики сифилиса.</p>	<p><b>Реакция микропреципитации на стекле (VDRL)</b></p>  <p>1. Сыворотка пациента 1:20                 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

**Демонстрация.**

1. Лептоспиры в тёмном поле.
2. Боррелии в крови больного, окраска по Романовскому-Гимзе.
3. Реакция Вассермана.
4. Трепонема в зубном налёте.
5. Бледная трепонема, чистая культура, окраска по Романовскому-Гимзе.

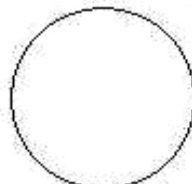
Препарат \_\_\_\_\_

Окраска \_\_\_\_\_



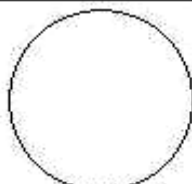
Препарат \_\_\_\_\_

Окраска \_\_\_\_\_



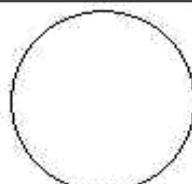
Препарат \_\_\_\_\_

Окраска \_\_\_\_\_



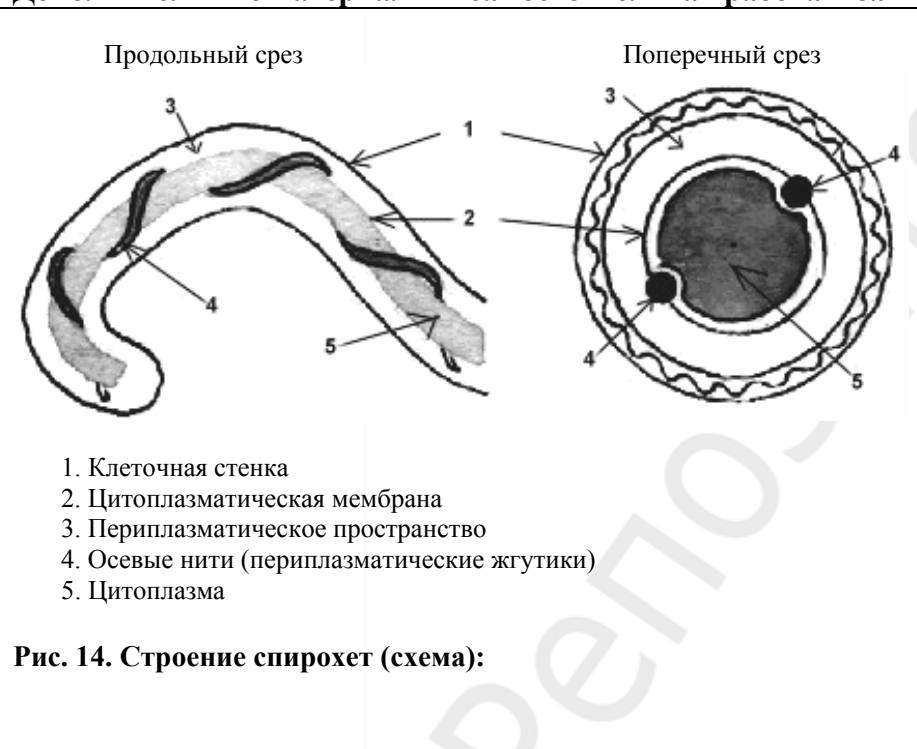
Препарат \_\_\_\_\_

Окраска \_\_\_\_\_



Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

**Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 25.**



**Основные признаки патогенных для человека спирохет**

Показатель		Роды спирохет		
		<i>Treponema</i>	<i>Borrelia</i>	<i>Leptospira</i>
Размеры	Длина	5-20 мкм	3-20 мкм	7-14 мкм
	Толщина	0,09-0,5 мкм	0,2-0,5 мкм	0,1-0,15 мкм
Количество завитков		8-12	2-8	12-24
Форма завитков		Равномерные, правильные	Неравномерные, неправильные	Равномерные, правильные, вторичные завитки
Форма клетки (нарисуйте)				
Окрашивание по Романовскому-Гимзе		Розовый цвет	Сине-фиолетовый цвет	Розовый, красный цвет
Культуральные свойства				
Антигены				
Факторы патогенности				

### Заболевания, вызываемые спирохетами

Основные виды	Вызываемые заболевания
<i>Treponema...</i>	
<i>Treponema...</i>	
<i>Treponema...</i>	
<i>Treponema...</i>	
<i>Borrelia...</i>	
<i>Borrelia...</i>	
<i>Borrelia...</i>	
<i>Leptospira...</i>	

### Методы и биоматериалы для диагностики спирохетозов

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

### Патогенез сифилиса

Стадии болезни	Длительность	Основные патогенетические процессы
Первая стадия		
Вторая стадия		
Третья стадия		

#### Серологическая диагностика сифилиса:

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

Для подтверждения диагноза применяются:

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

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

#### Лабораторная диагностика болезни Лайма (Лайм-боррелиоза):

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

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

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

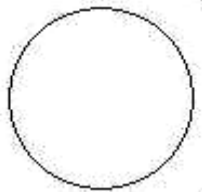
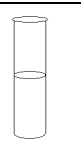
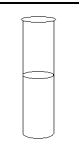
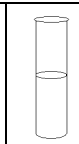



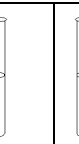

**Серологический метод:** ИФА, непрямая РИФ, иммуноблоттинг. Иногда наблюдаются ложно-положительные результаты из-за перекрестных реакций у пациентов с сифилисом, мононуклеозом, ревматоидным артритом и др. В связи с замедленным иммунным ответом антиборрелиозные антитела выявляются на поздних стадиях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

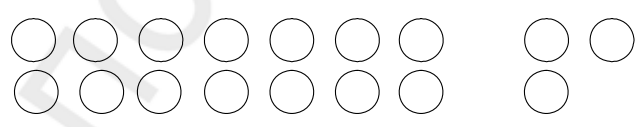
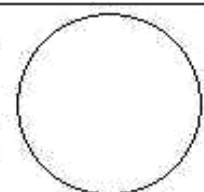


**Тема: Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых риккетсиями, хламидиями, микоплазмами.**

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Риккетсии, систематическое положение, классификация, общая характеристика, роль в патологии человека. Риккетсии сыпного тифа, патогенез, иммунитет и методы диагностики сыпного тифа. Возбудители других риккетсиозов.</p> <p>Хламидии, общая характеристика, роль в патологии человека. Возбудители орнитоза, трахомы, респираторных и урогенитальных хламидиозов. Методы микробиологической диагностики хламидиозов. ПЦР при хламидиозах.</p> <p>Микоплазмы, общая характеристика, роль в патологии человека. Методы микробиологической диагностики микоплазмозов.</p>	<p><b>Источники:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Материал лекции.</li> <li>2. [1] С. 469-482; [4] – (учебники),</li> <li>3. [2], [5] – (практикумы),</li> <li>4. [6], [9] – (доп. литература).</li> </ol>
---	---

**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты									
	1	2	3	4	5	КС	КА	Гем. система:		
1. Постановка РСК с целью диагностики сыпного тифа.  <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; display: flex; align-items: center;"> <div style="margin-right: 10px;"> <p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p> </div>  </div>	Реагенты	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	КС		КА	4 мл 3% взвеси эритроцитов + 4 мл гем. сыворотки
	Физ. р-р	–	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	
	Сыворотка обследуемого 1:20	0,5	0,5	–	–	–	0,5	–	0,5	
	Диагностикум	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	–	0,5	0,5	
	Комплемент	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	
	Инкубация 45 минут при 37° С									
	Гем. система	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	
	Инкубация 30 минут при 37° С									
	Учет									
	Заключение: _____									

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

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

### Современная классификация риккетсий:

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

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

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

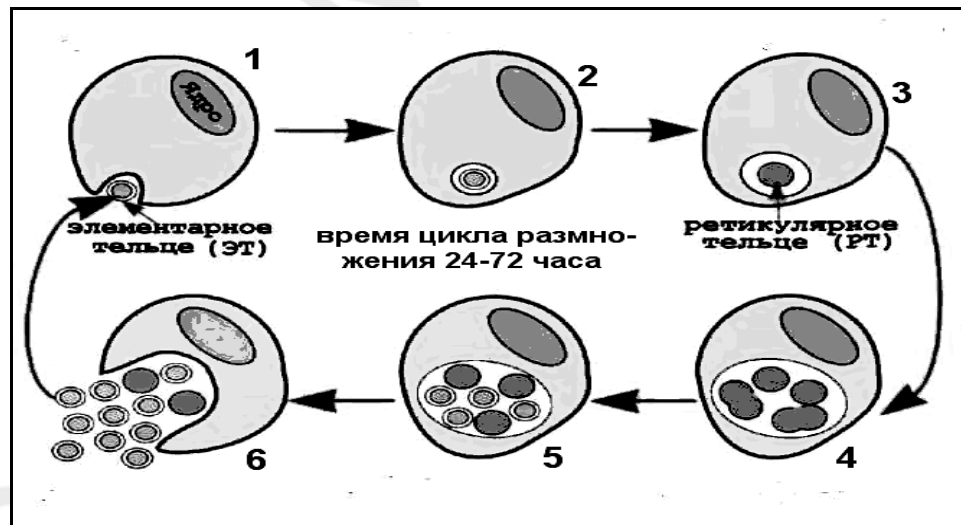
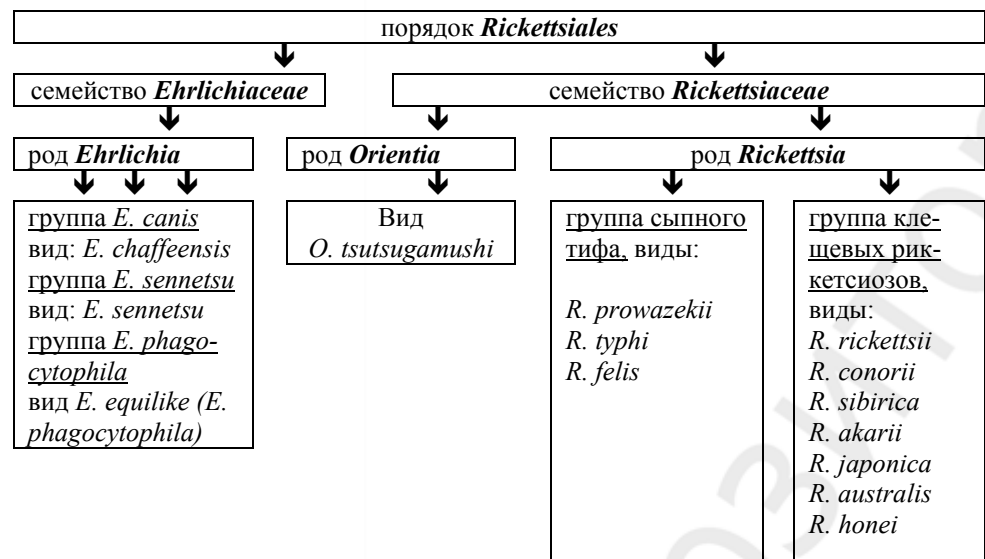


Рис. 15. Схема внутриклеточного цикла размножения хламидий.

Вставьте соответствующие номера стадий цикла развития хламидий:

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

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

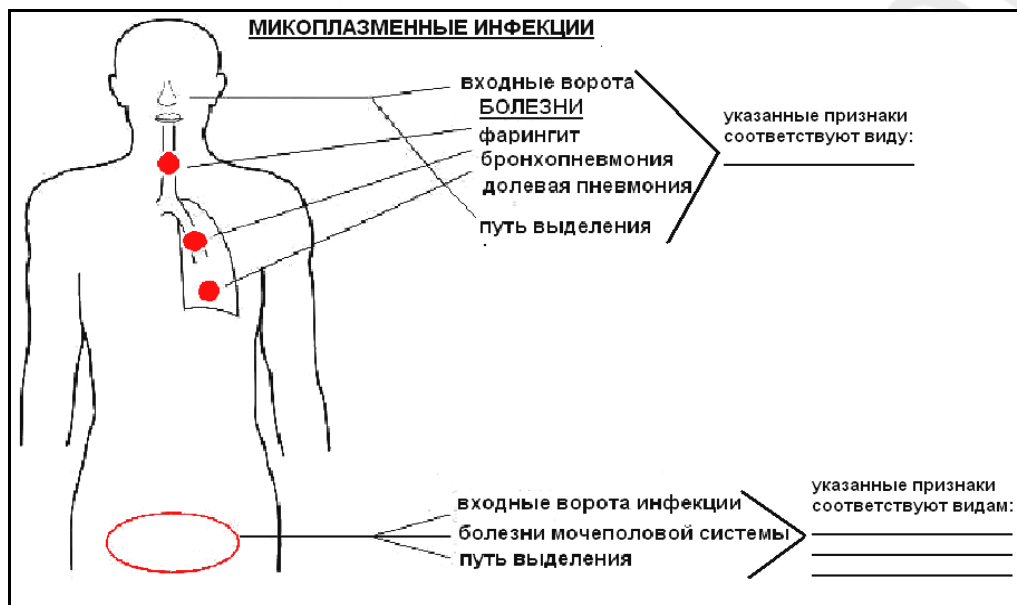
Метод	Использование (+/-) метода при:		
	риккетсиозах	хламидиозах	микоплазмозах
Микроскопический			
Культуральный	Питательная среда		
	Куриный эмбрион		
	Культура клеток		
	Лабораторное животное		
Биологический			
Серологический			
Аллергический			
Молекулярно-генетический			

**Характеристика хламидиозов**

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

**Характеристика микоплазм и микоплазмозов**

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



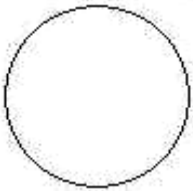
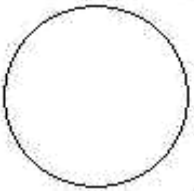
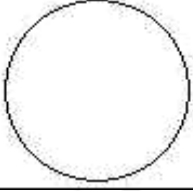
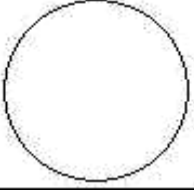
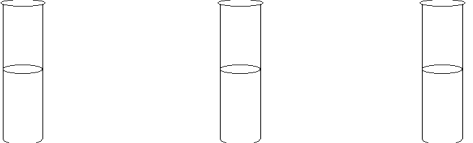
## Тема: Итоговое занятие по теме: «Частная микробиология».



















<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Стафилококки, общая характеристика. Роль в патологии человека. Факторы патогенности и механизмы патогенеза стафилококковых инфекций. Микробиологическая диагностика. Принципы терапии и профилактики стафилококковых инфекций.</li> <li>2. Стрептококки, классификация. Общая характеристика. Факторы патогенности. Антигенная структура. Патогенез, иммунитет, микробиологическая диагностика, принципы терапии и профилактики стрептококковых инфекций.</li> <li>3. Классификация нейссерий. Менингококки, общая характеристика. Менингококковые инфекции, механизмы патогенеза, иммунитет, методы диагностики, профилактика.</li> <li>4. Гонококки, общая характеристика. Механизмы патогенеза и иммунитет. Микробиологическая диагностика острой и хронической гонорей.</li> <li>5. Общая характеристика семейства энтеробактерий.</li> <li>6. Общие принципы бактериологической диагностики острых кишечных инфекций (ОКИ). Питательные среды для энтеробактерий. Классификация, принципы работы, применение.</li> <li>7. Материалы для исследования при ОКИ: методы взятия и характер материала в зависимости от клинической формы болезни и этапа патогенеза.</li> <li>8. Общие принципы серологической диагностики ОКИ.</li> <li>9. Кишечная палочка, общая характеристика. Биологическая роль кишечной палочки. Заболевания, вызываемые эшерихиями.</li> <li>10. Сальмонеллы. Общая характеристика. Представители рода. Серологическая классификация по Кауфману-Уайту. Молекулярно-биологическое типирование.</li> <li>11. Возбудители брюшного тифа, паратифов А и В, общая характеристика. Фаготипирование. Vi-антиген и его значение.</li> <li>12. Механизмы патогенеза и методы микробиологической диагностики брюшного тифа и паратифов.</li> <li>13. Иммунитет при брюшном тифе. Серологическая диагностика брюшного тифа и паратифов. Специфическая профилактика.</li> <li>14. Этиология пищевых интоксикаций и токсикоинфекций бактериальной природы. Материалы и методы диагностики.</li> <li>15. Сальмонеллез. Характеристика возбудителей и методы диагностики. Внутрибольничный сальмонеллез.</li> <li>16. Возбудители дизентерии. Классификация. Характеристика. Патогенез, иммунитет к дизентерии. Методы микробиологической диагностики острой и хронической дизентерии.</li> <li>17. Клебсиеллы. Классификация, общая характеристика. Патогенез, иммунитет, методы микробиологической диагностики клебсиеллезов.</li> <li>18. Синегнойная палочка, общая характеристика, факторы патогенности. Роль в патологии человека.</li> <li>19. Возбудители кишечного иерсиниоза, общая характеристика. Патогенез. Методы диагностики иерсиниоза.</li> <li>20. Возбудитель дифтерии, общая характеристика. Отличия от непатогенных коринебактерий. Механизмы патогенеза и микробиологическая диагностика дифтерии.</li> <li>21. Дифтерийный токсин и его свойства. Анатоксин. Иммунитет при дифтерии и его характер. Определение напряженности антитоксического иммунитета. Принципы терапии и профилактики дифтерии.</li> <li>22. Возбудитель коклюша, общая характеристика. Дифференциация с возбудителем паракоклюша. Патогенез, иммунитет. Микробиологическая диагностика, принципы терапии и профилактики коклюша.</li> <li>23. Гемофилы. Общая характеристика, роль в патологии человека.</li> <li>24. Легионеллы, коксиеллы. Общая характеристика, роль в патологии человека.</li> <li>25. Листерии. Общая характеристика, роль в патологии человека.</li> <li>26. Общая характеристика возбудителей туберкулеза. Патогенез, иммунитет, методы диагностики и специфическая профилактика туберкулеза. Микобактериозы.</li> <li>27. Возбудитель лепры. Характеристика, патогенез, иммунитет.</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>28. Особо опасные инфекции (ООИ). Классификация Основные правила режима работы, взятия, пересылки заразного материала при ООИ. Общие принципы диагностики ООИ.</li> <li>29. Возбудители холеры. Систематика. Общая характеристика. Дифференциация биоваров. Патогенез, иммунитет, принципы терапии и профилактики. Методы микробиологической диагностики.</li> <li>30. Возбудитель чумы, общая характеристика. Патогенез чумы. Иммунитет, принципы терапии и профилактики чумы.</li> <li>31. Возбудитель сибирской язвы, характеристика. Патогенез, иммунитет, принципы терапии и профилактики сибирской язвы.</li> <li>32. Возбудитель туляремии, общая характеристика. Патогенез, иммунитет, принципы терапии и профилактики туляремии.</li> <li>33. Возбудители бруцеллеза, общая характеристика. Дифференциация видов бруцелл. Патогенез, иммунитет, принципы терапии и профилактики бруцеллеза.</li> <li>34. Семейство спирилл. Кампилобактерии, характеристика, роль в патологии человека. Хеликобактер.</li> <li>35. Классификация и общая характеристика анаэробов. Клостридии. Бактероиды, пептококки и другие неспорообразующие анаэробы. Факторы патогенности. Роль в патологии человека.</li> <li>36. Возбудитель столбняка, общая характеристика. Патогенез, иммунитет, принципы терапии и профилактики столбняка.</li> <li>37. Возбудители газовой гангрены, общая характеристика. Патогенез, принципы терапии и профилактики газовой гангрены.</li> <li>38. Возбудитель ботулизма, общая характеристика. Патогенез, принципы терапии и профилактики ботулизма. Клостридиальные гастроэнтериты.</li> <li>39. Методы диагностики анаэробных инфекций.</li> <li>40. Классификация и общая характеристика спирохет.</li> <li>41. Классификация трепонем и трепонематозов. Характеристика возбудителя сифилиса. Патогенез, иммунитет, методы диагностики сифилиса.</li> <li>42. Лептоспиры. Общая характеристика. Патогенез лептоспирозов, иммунитет, специфическая профилактика. Микробиологическая диагностика лептоспирозов.</li> <li>43. Боррелии, общая характеристика. Патогенез, иммунитет при возвратном тифе. Микробиологическая диагностика. Возбудитель боррелиоза Лайма.</li> <li>44. Систематическое положение и характеристика риккетсий. Возбудители риккетсиозов. Патогенез, иммунитет, методы диагностики сыпного тифа.</li> <li>45. Характеристика хламидий. Возбудители трахомы, орнитоза, респираторных и урогенитальных хламидиозов. Механизмы патогенеза и методы диагностики хламидиозов.</li> <li>46. Общая характеристика микоплазм, факторы патогенности, роль в патологии человека. Методы диагностики микоплазмозов.</li> </ol> <p style="text-align: center;"><b>Практические навыки:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Определить морфологию стафилококка, чистая культура, окраска по Граму.</li> <li>2. Определить морфологию стрептококка, чистая культура, окраска по Граму.</li> <li>3. Определить морфологию гонококка в гное, окраска по Граму.</li> <li>4. Определить морфологию энтеробактерии, чистая культура, окраска по Граму.</li> <li>5. Определить морфологию смеси стафилококка и кишечной палочки, окраска по Граму.</li> <li>6. Определить морфологию бацилл сибирской язвы, чистая культура, окраска по Граму.</li> <li>7. Определить морфологию вибриона, чистая культура, окраска по Граму.</li> <li>8. Определить морфологию бруцелл, чистая культура, окраска по Граму.</li> <li>9. Определить морфологию коринебактерий, чистая культура, окраска по Леффлеру.</li> <li>10. Определить морфологию клебсиелл, чистая культура, окраска по Гинсу-Бурри.</li> <li>11. Определить морфологию микобактерий в мокроте, окраска по Цилю-Нильсену.</li> <li>12. Определить биохимические свойства культуры на среде Клиглера.</li> </ol>
---	--

**Тема: Методы вирусологических исследований. Бактериофаги.**

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Вирусы. Систематика и морфология вирусов. Механизм репродукции вирусов. Строгий паразитизм и цитотропизм вирусов. Типы вирусной инфекции. Механизмы противовирусного иммунитета.</p> <p>Принципы диагностики вирусных инфекций.</p> <p>Культивирование вирусов в куриных эмбрионах и организме лабораторных животных. Методы заражения, индикации и идентификации вирусов в них. Культивирование вирусов в культурах клеток. Характеристика культур клеток. Методы индикации и идентификации вирусов.</p> <p>Серологический метод диагностики. Реакция торможения гемагглютинации (РТГА), торможения гемадсорбции, нейтрализации. Ускоренные методы.</p> <p>Вирусы бактерий (бактериофаги). Вирулентные и умеренные бактериофаги. Методы титрования бактериофагов. Практическое использование бактериофагов. Фагодиагностика и фаготипирование.</p>	<p><b>Источники:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Материал лекции.</li> <li>2. [1] С. 68-90; [3], [4] – (учебники),</li> <li>3. [2], [5] – (практикумы),</li> <li>4. [6], [7], [9] – (доп. литература).</li> </ol>
--	---

**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты										
<p>1. Зарисовать демонстрационные препараты:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Культура клеток куриных фибробластов, эозин;</li> <li>2. Культура Нер-2;</li> <li>3. ЦПД</li> <li>4. Реакция гемадсорбции.</li> </ol>	<p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> 		<p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> 		<p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> 		<p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> 				
<p>2. Титрование вируса по цветной пробе.</p> <p>Ингредиенты:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- культура клеток,</li> <li>- разведения вируса</li> </ul> <p>Заключение:</p>	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	КК	КВ	<p><b>Цветная проба</b></p>  <p>Исходный цвет среды</p> <p>Изменение цвета в результате метаболизма клеток</p> <p>Сохранение цвета среды в результате гибели клеток под действием вируса</p>		

<p>4. РТГА с парными сыворотками для диагностики вирусного заболевания.</p> <p>Ингредиенты:          - сыворотка обследуемого          С1 – взята при поступлении,          С2 – взята через 2 недели.          - эритроциты,          - вирус,          - физ. раствор.</p>	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	КС	КВ
									
									
<p>Заключение: _____</p>									

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

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

#### Метод титрования бактериофагов по Грациа.

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

#### Вирусные включения.

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

#### Принципы лабораторной диагностики вирусных инфекций.

В основе лабораторной диагностики вирусных инфекций лежат 4 группы методов:

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

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

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

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

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

**3 группа** — серологическая диагностика вирусных инфекций.

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

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

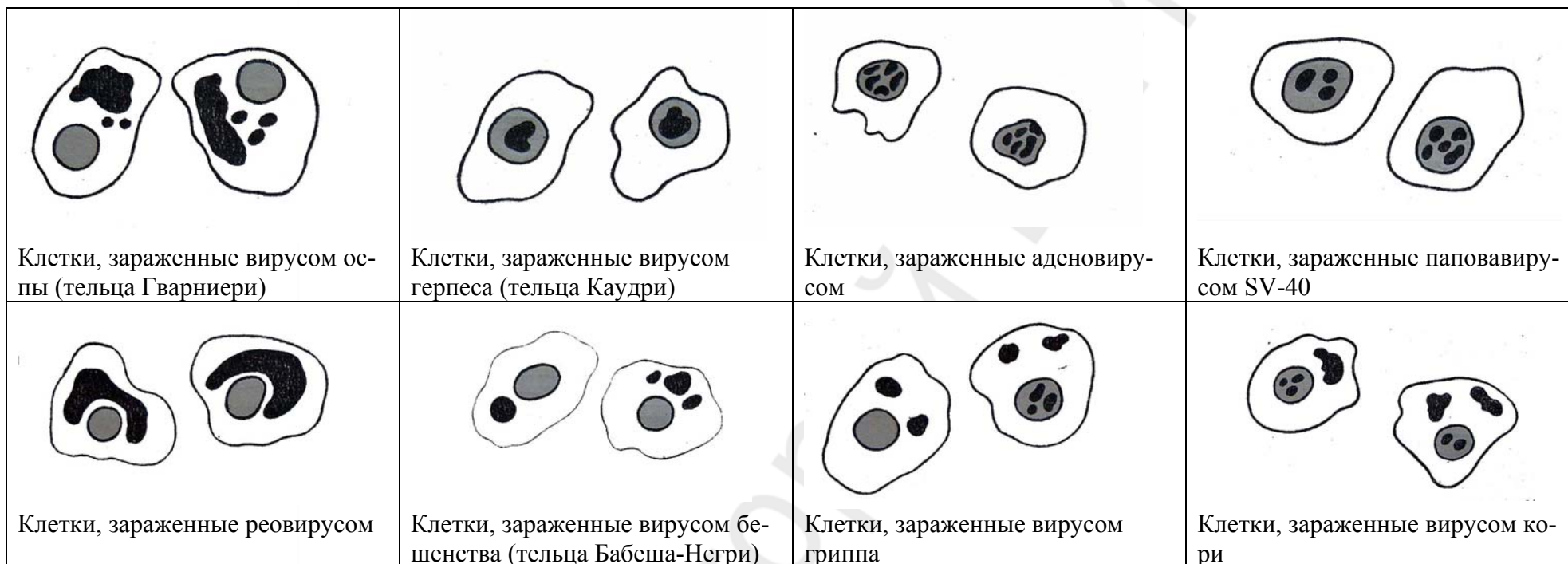


Рис. 16. Внутриклеточные включения при вирусных инфекциях

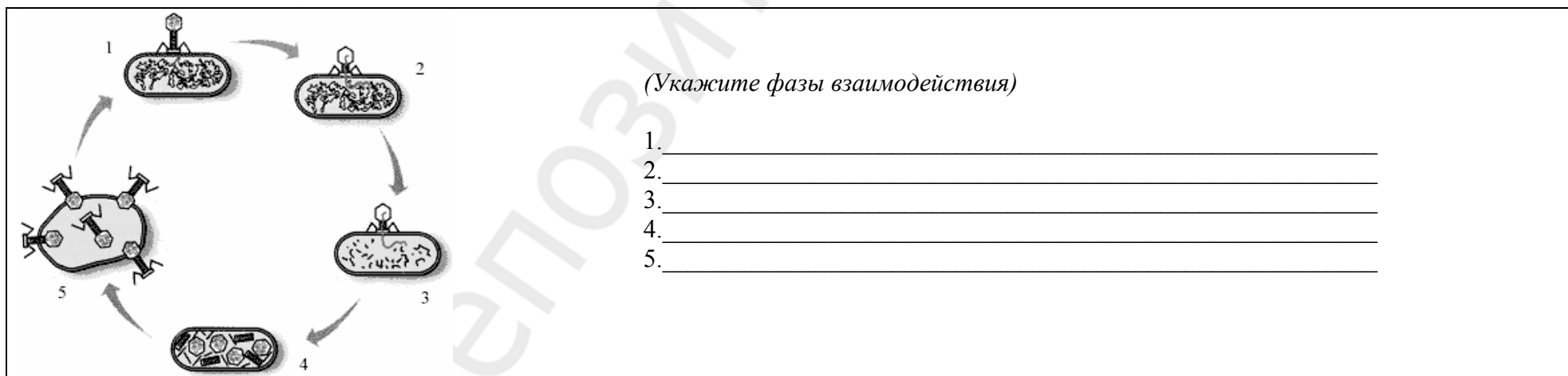


Рис. 17. Взаимодействие бактериофага с восприимчивой бактериальной клеткой

**Тема: Методы вирусологической диагностики заболеваний, вызываемых орто-, парамиксовирусами, коронавирусами.**

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Ортомиксовирусы. Классификация и характеристика семейства. Вирусы гриппа А, В, С. Морфология вириона. Антигенная структура и серотипы. Антигенная изменчивость (дрейф, шифт) и её следствия. Грипп, распространение, патогенез, иммунитет. Методы диагностики гриппа, ускоренные методы. Принципы терапии и профилактики гриппа, препараты для специфической иммуно- и химиопрофилактики и химиотерапии. Вирусы «птичьего» и «свиного» гриппа.</p> <p>Парамиксовирусы. Классификация и характеристика семейства. Дифференциация с вирусами гриппа. Вирусы парагриппа, свойства, роль в патологии человека. Патогенез, иммунитет, диагностика. Вирус эпидемического паротита, свойства, патогенез, иммунитет, специфическая профилактика. Вирус кори, строение, свойства. Корь, патогенез, иммунитет, профилактика. Пневмовирус (РСВ), свойства, роль в патологии человека. Коронавирусы. SARS (ТОРС).</p>	<p><b>Источники:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Материал лекции.</li> <li>2. [1] С. 531-542; [3], [4] – (учебники),</li> <li>3. [2], [5] – (практикумы),</li> <li>4. [6], [7], [9] – (доп. литература).</li> </ol>
--	---

**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты	
<p>1. Заражение куриных эмбрионов вирусом гриппа в аллантаическую полость.</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Изучить схему строения куриного эмбриона (8-11 дней)</li> <li>2. Изучить куриный эмбрион в овоскопе и установить его жизнеспособность:                     <ol style="list-style-type: none"> <li>а) по размеру тени эмбриона</li> <li>б) наличием развитого сосудистого рисунка</li> <li>в) активной подвижности эмбриона</li> <li>г) очертить границу воздушного мешка</li> </ol> </li> <li>3. Установить эмбрион на подставку и провести обработку скорлупы по схеме:                     <ol style="list-style-type: none"> <li>а) 70% спирт</li> <li>б) 5% спиртовой раствор йода</li> <li>в) 70% спирт</li> </ol> </li> <li>4. Произвести заражение эмбриона в следующей последовательности:                     <ol style="list-style-type: none"> <li>а) фламбировать бранши ножниц</li> <li>б) осторожно пробить скорлупу на 3-5 мм выше границы воздушного мешка</li> <li>в) набрать в одноразовый «инсулиновый шприц» 0,2 мл материала (живая вакцина против гриппа)</li> <li>г) ввести иглу шприца по канюлю (25 мм) в прокол перпендикулярно плоскости стола и выпустить материал.</li> </ol> </li> <li>5. Провести повторную обработку скорлупы в зоне прокола согласно пункту 3.</li> <li>6. Герметизировать эмбрион лейкопластырем, маркировать эмбрион (номер группы, инициалы исследователя).</li> </ol>	 <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Подскорлупная оболочка</li> <li>2. Воздушный мешок</li> <li>3. Хорион-аллантаическая оболочка</li> <li>4. Хорион-аллантаическая полость</li> <li>5. Полость амниона</li> <li>6. Желточный мешок</li> <li>7. Белок</li> <li>8. Экстраэмбриональная полость</li> <li>9. Эмбрион</li> </ol> <p><b>Рис. 18. Схема строения куриного эмбриона</b></p>

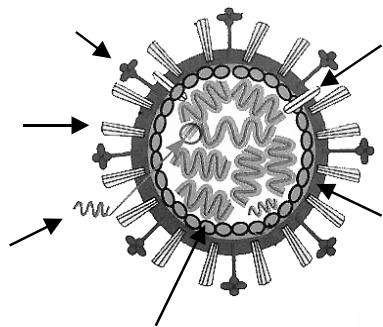
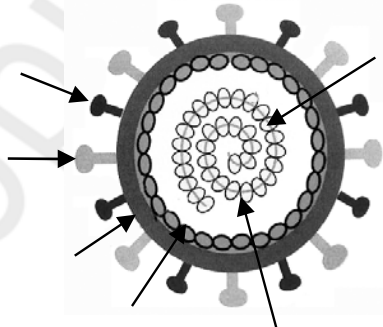


<b>Демонстрация.</b> 1. Препараты для специфической профилактики и терапии гриппа, кори. 2. РТГА с парными сыворотками для серодиагностики гриппа.	<b>Учет РТГА с парными сыворотками</b>									
	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	КЭ	КС	КВ	
										1 сыв. (1 неделя болезни)
										2 сыв. (3 неделя болезни)

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

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

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

<p><b>Структура _____ вирус.</b></p>  <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Гемагглютинин</li> <li>2. Нейраминидаза</li> <li>3. Суперкапсид</li> <li>4. Матриксный белок М1</li> <li>5. Белок М2</li> <li>6. Рибонуклеопротеид</li> </ol>	<p><b>Структура _____ вирус.</b></p>  <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Гликопротеин F</li> <li>2. Гликопротеин HN, H, G</li> <li>3. Суперкапсид</li> <li>4. Матриксный белок</li> <li>5. Нуклеокапсид</li> <li>6. РНК</li> </ol>
--	--

**Диагностика гриппа с помощью выделения вируса на куриных эмбрионах\***

1. Забор материала: носоглоточное отделяемое в первые три дня болезни забирают с помощью тампонов. Тампоны прополаскивают в физрастворе, отжимают и утилизируют, а жидкость отстаивают на холоду и средний слой используют для исследования. Вирус можно концентрировать с помощью эритроцитов морской свинки. В любом случае перед заражением эмбрионов материал обрабатывают антибиотиками (по 500 ед пеницилина+стрептомицина/мл), выдерживают 1 час при комнатной температуре, проверяют на стерильность и используют для заражения.
2. Заражение эмбриона
3. Инкубация 3-4 дня при 35°C
4. Вскрытие (см. занятие №2)
5. Постановка реакции гемагглютинации для индикации вируса
6. Идентификация вируса в реакции РТГА с набором диагностических сывороток (к эталонным штаммам вирусов соответствующих серологических типов).

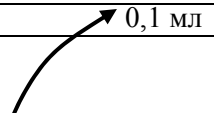
**Серодиагностика гриппа**

Для целей серодиагностики обычно применяют РСК и РТГА. При этом РСК выявляет антитела к серотипам вируса гриппа А, а РТГА позволяет дифференцировать штаммы вирусов в пределах определенного серотипа. Как РСК, так и РТГА ставят с набором типовых штаммов (со стандартным диагностикумом). Тем не менее, иногда требуется применение набора свежевыделенных штаммов. Реакцию ставят в несколько этапов:

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

*\* подробно диагностика гриппа описана в постановлении МЗ РБ от 1 ноября 2000 г. N 48 «О мероприятиях по профилактике гриппа и других острых респираторных вирусных инфекций» и в учебно-методическом пособии кафедры «Вирусология»*

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



0,1 мл

Компоненты	Номера лунок / Разведения								Контроли		
	1	2	3	4	5	6	7	8	Сыв-ки	Эритроцитов	Вируса
	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256			
Физраствор	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1
Сыворотка пациента	0,1	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Вирус 4ГАЕ	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	–	–	0,1
Инкубация 20 мин при комнатной температуре											
1%взвесь куриных эр-цитов	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Инкубация 30 – 60 мин при комнатной температуре											
Результаты	–	–	–	–	–	+	++	+++	–	–	+++

**Учет результатов** начинают с контролей (см. таблицу). При наличии соответствующих антител в исследуемых сыворотках происходит нейтрализация гемагглютинирующей активности вируса и торможение агглютинации эритроцитов. В первых лунках наблюдают положительную РТГА: эритроциты оседают на дно лунки в виде компактной точки («пуговицы»). В последующих лунках, где имеет место снижение титра антител, отмечают отрицательную РТГА — агглютинация эритроцитов на 1, 2 и 3 плюса. В 1-ом и 2-ом контролях агглютинация должна отсутствовать, а в 3-ем — агглютинация эритроцитов должна быть не менее, чем на 3 плюса. РТГА позволяет не только выявить специфические антитела, но и определить их титр. *Титром антител* в РТГА называют наименьшее их количество, способное полностью блокировать гемагглютинацию. В данном примере титр антител составляет 1/32.

#### 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 (РСК, РТГА).
- Вирусологический метод: исследуют слюну (до 3 дня), ликвор (до 6 дня) и мочу (до 9 дня с момента заболевания):
  - 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;
  - выделение вируса на культуре клеток. Заражают культуры клеток почек эмбриона человека, HELA и инкубируют при 35° С. Индикация по ЦПД: через 48-72 часа в культуре появляются гигантские многоядерные клетки и симпласты с цитоплазматическими включениями. Позже наблюдается полное разрушение клеточного монослоя;
  - для идентификации вирусов, выделенных на эмбрионах и культурах клеток, используют РИФ, РН, РТГАдс, РТГА, РСК.
- 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 сутки после появления сыпи). Заражают культуры клеток почек эмбриона человека, Vero и др. Индикация по ЦПД: через 3-4 суток инкубации при 35° С обнаруживают характерное ЦПД – гигантские вакуолизированные многоядерные клетки и синцитий со включениями в цитоплазме; через 7-9 дней появляются внутриядерные включения. Кроме того, наблюдается круглоклеточная дегенерация и образование веретенновидных клеток с цитоплазматическими и внутриядерными включениями. Идентификацию проводят в РИФ, РН и РТГА.
- Серологический метод: ИФА, РНГА в парных сыворотках.
- Молекулярно-генетический метод (ПЦР).

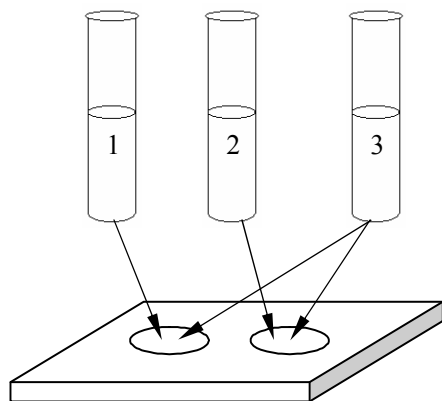
## Тема: Методы вирусологической диагностики заболеваний, вызываемых пикорнавирусами, ротавирусами, ретровирусами.

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Пикорнавирусы. Классификация и характеристика семейства, роль в патологии человека. Этиология, патогенез, иммунитет, диагностика и иммунопрофилактика полиомиелита. Проблема эрадикации полиомиелита. Вирусы Коксаки и ЭКХО, их роль в патологии человека. Дифференциация. Риновирусы. Состав рода. Структура и свойства вирусов. Распространение, патогенез, иммунитет.</p> <p>Ротавирусы, общая характеристика, роль в патологии человека.</p> <p>Ретровирусы. Классификация и характеристика семейства. Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ-1, ВИЧ-2). Морфология вириона. Стадии патогенеза ВИЧ-инфекции, роль CD4+ и CD8+ Т-клеток. СПИД-ассоциированные заболевания. Методы диагностики и профилактики ВИЧ-инфекции. ВИЧ-инфекция в РФ.</p>	<p><b>Источники:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Материал лекции.</li> <li>2. [1] С. 485-513; [3], [4] – (учебники),</li> <li>3. [2], [5] – (практикумы),</li> <li>4. [6], [7], [9] – (доп. литература).</li> </ol>
---	---

### Лабораторная работа

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

**Схема постановки РГА**



1. Аллантоисная жидкость
2. Физиологический раствор
3. Куриные эритроциты

Заключение: \_\_\_\_\_

3. Учёт РГА для определения типа вируса гриппа.

**Учет РГА с целью идентификации вируса гриппа**

	Сыв. против вируса						
	H1N1	H3N2	H5N1	КЭ	КВ	КС	
Вирус, выделенный у больного Ф.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Вирус, выделенный у больного Н.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>		

Заключение: \_\_\_\_\_

<p><b>Демонстрация.</b> 1. Титрование вируса полиомиелита в культуре клеток по цветной пробе.</p>	<p><b>Определение титра вируса полиомиелита по цветной пробе титр цитопатических доз, ТЦД)</b></p> <p style="text-align: center;"> <math>10^{-1}</math> <math>10^{-2}</math> <math>10^{-3}</math> <math>10^{-4}</math> <math>10^{-5}</math> <math>10^{-6}</math>      КК      КВ </p>  <p>Заключение: ТЦД= _____ -</p>
<p>2. Реакция нейтрализации в культуре клеток с парными сыворотками для серодиагностики полиомиелита.</p>	<p><b>Реакция нейтрализации в культуре клеток с парными сыворотками для серодиагностики полиомиелита</b></p> <p style="text-align: center;"> <math>1/10</math> <math>1/20</math> <math>1/40</math> <math>1/80</math> <math>1/160</math>      КС1      КВ      КК </p> <p>1 сыворотка (при поступлении)</p>  <p style="text-align: center;">КС2</p> <p>2 сыворотка (2 неделя болезни)</p>  <p>Заклучение: титр АТ первой сыворотки равен _____ титр АТ второй сыворотки равен _____</p>

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

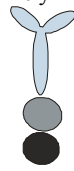
## ИФА для скрининга ВИЧ-инфекции

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)

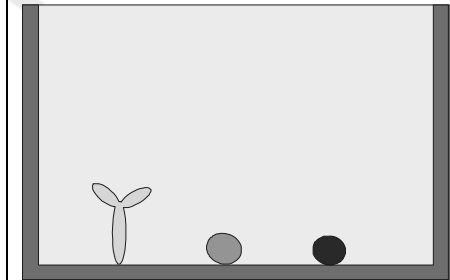
Биотин и авидин (стрептавидин) - представляют собой пару рецептор-лиганд, характеризующуюся высокими аффинностью и специфичностью. Характер и размеры молекул позволяют эффективно использовать их для мечения антител/антигенов. Молекула авидина способна связать четыре молекулы биотина (т.о. сигнал о связывании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

### Схема постановки ИФА для скрининга ВИЧ-инфекции

1. В лунках 96-луночного планшета для серологических реакций сорбированы:



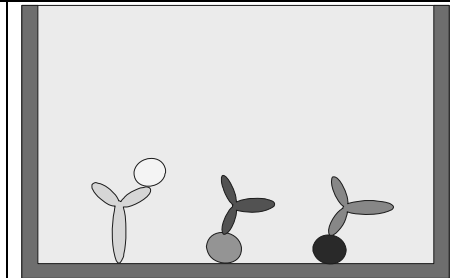
моноклональные антитела к p24,  
рекомбинантные эпитопы gp41,  
рекомбинантные эпитопы gp120



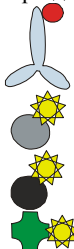
2. При добавлении сыворотки пациента происходит связывание p24 и антител против гликопротеинов ВИЧ на сорбированных лигандах



p24  
антитела против гликопротеинов ВИЧ

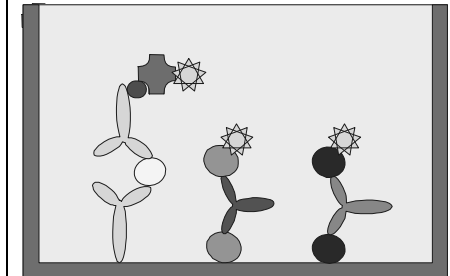


3. При добавлении конъюгатов:

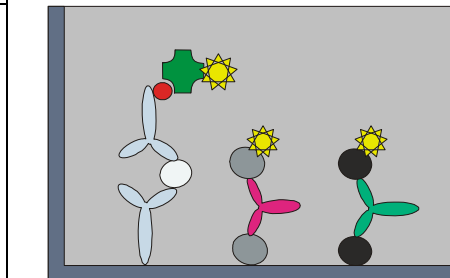


антитела против p24 - биотин  
gp41 – пероксидаза хрена  
gp120 – пероксидаза хрена  
стрептавидин - пероксидаза хрена

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

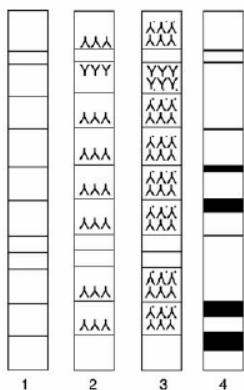


4. При добавлении субстрата происходит дозозависимая ферментация с образованием окрашенного продукта.

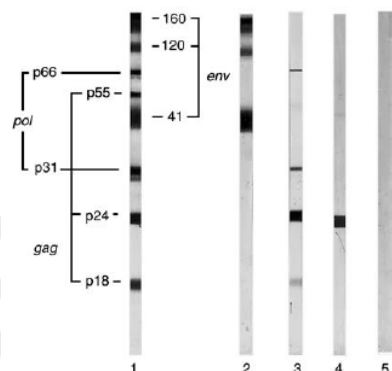


**Цветная проба.** Суть этой реакции заключается в способности вируса подавлять обменные процессы в зараженных клетках культуры ткани. Клеточные суспензии с определенной концентрацией клеток добавляют в пробирки через час после внесения в них смеси вируса с определенными разведениями сыворотки. Цветная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

### Иммуноблоттинг для диагностики ВИЧ-инфекции



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



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

Впишите название семейства, обозначьте цифрами соответствующие структурные элементы вирионов

Структура вирусов.	Структура вирусов.	Структура вирусов.
<ol style="list-style-type: none"> <li>Капсид</li> <li>РНК</li> <li>Кэппирующий белок VPg</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>Наружный капсид</li> <li>Внутренний капсид</li> <li>Белок VP4</li> <li>Белок VP6</li> <li>Белок VP7</li> <li>РНК</li> <li>Гликопротеин М-1С</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>Капсид (p24)</li> <li>Нуклеокапсид (p6, 9)</li> <li>Матриксный белок (p17)</li> <li>Обратная транскриптаза (p55, 63)</li> <li>Интеграза (p11)</li> <li>gp120</li> <li>gp41</li> </ol>

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

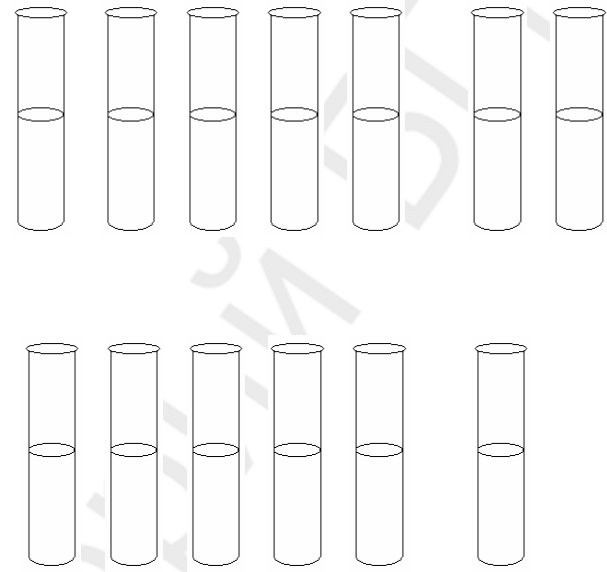
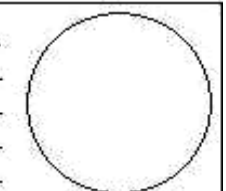
<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Классификация и общие признаки арбовирусов. Тога-, флави-, бунья-, аренавирусы, классификация, структура вирионов, роль в патологии человека. Этиология, патогенез, иммунитет, методы диагностики клещевого энцефалита. Вирус геморрагической лихорадки с почечным синдромом (ГЛПС). Вирус краснухи. Общая характеристика. Роль в патологии человека. Профилактика. Рабдовирусы. Классификация и характеристика рабдовирусов. Патогенез, иммунитет и специфическая профилактика бешенства. Вирусологическая диагностика бешенства. Филовирусы. Вирусы Эбола и Марбург. Онкогенные вирусы (ДНК-геномные и РНК-геномные). Механизмы вирусного канцерогенеза. Этиология медленных инфекций.</p>	<p><b>Источники:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Материал лекции.</li> <li>2. [1] С. 513-529; 564-605; [3], [4] – (учебники),</li> <li>3. [2], [5] – (практикумы),</li> <li>4. [6], [7], [9] – (доп. литература).</li> </ol>
---	--

**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты																										
<p>1. Определение прироста антител в парных сыворотках в РСК с целью диагностики клещевого энцефалита.</p>	<b>Схема постановки РСК</b>																										
	<table border="1" style="width: 100%; text-align: center;"> <tr> <td style="width: 10%;"></td> <td style="width: 10%;">1</td> <td style="width: 10%;">2</td> <td style="width: 10%;">3</td> <td style="width: 10%;">4</td> <td style="width: 10%;">5</td> <td style="width: 10%;">6</td> <td style="width: 10%;">7</td> <td style="width: 10%;">8</td> </tr> <tr> <td><b>Реагенты</b></td> <td>1/10</td> <td>1/20</td> <td>1/40</td> <td>1/80</td> <td>1/160</td> <td>КА</td> <td>КС</td> <td>ГС</td> </tr> </table>		1	2	3	4	5	6	7	8	<b>Реагенты</b>	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	КА	КС	ГС	-	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	4 мл 3% взвеси эритроцитов + 4 мл гем. сыворотки
		1	2	3	4	5	6	7	8																		
	<b>Реагенты</b>	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	КА	КС	ГС																		
	Сыворотка больного*	0,5	0,5				-	0,5																			
	Диагностikum	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	-	4 мл гем. сыворотки																		
	Комплемент	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5																			
	<b>Инкубация 30 мин при 37°C</b>																										
	Гем. система	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0																			
	<b>Инкубация 30 мин при 37°C</b>																										
Учет																											

\*Реакция ставится в двух рядах с первой и второй сыворотками больного соответственно.  
**Учет результатов РСК с целью диагностики клещевого энцефалита**

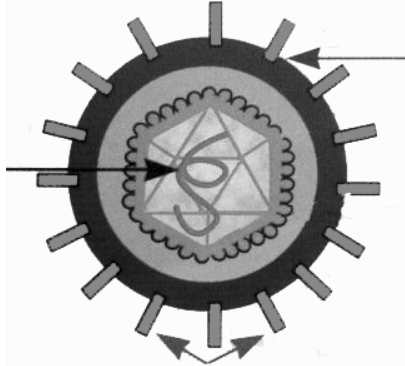
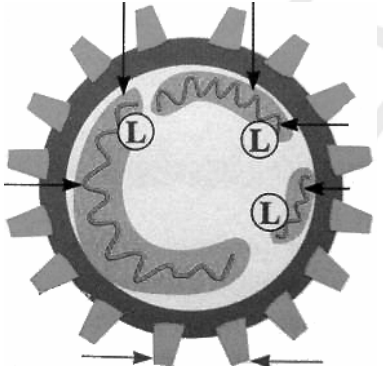
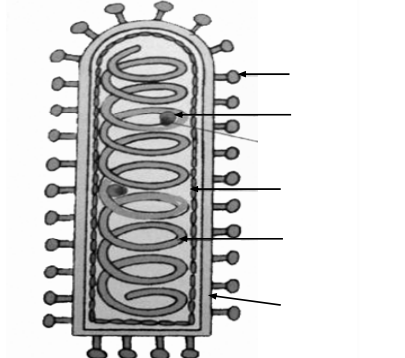
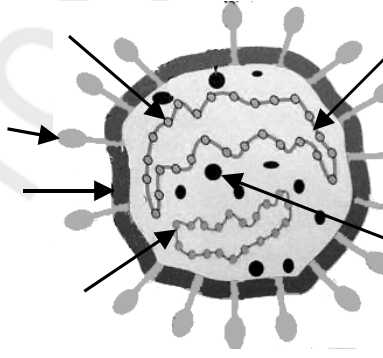
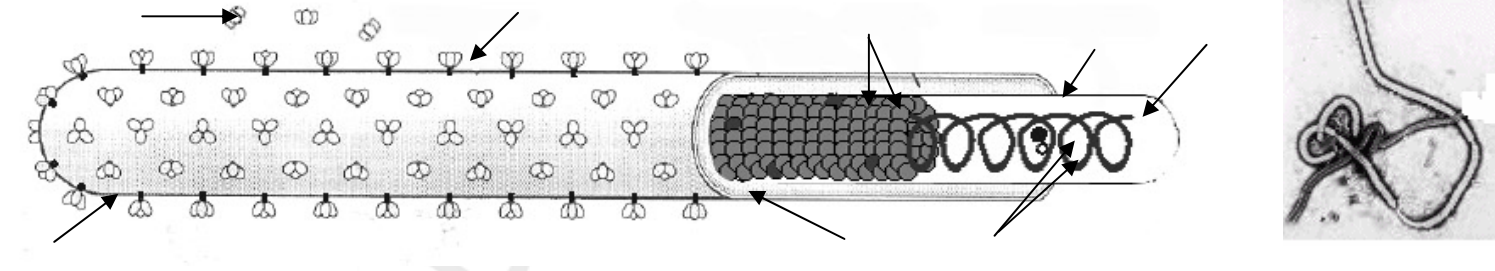


	<p>1/10   1/20   1/40   1/80   1/160   КС   КА</p> 
	<p>1 сыворотка (при поступлении)</p>
	<p>2 сыворотка (2 неделя болезни)</p>
	<p>Заключение: Титр антител в первой сыворотке равен _____</p> <p>Титр антител во второй сыворотке равен _____</p>
<p><b>Демонстрация.</b> 1. Тельца Бабеша-Негри, окраска по Муромцеву.</p>	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; display: flex; align-items: center;"> <div style="flex: 1;"> <p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p> </div> <div style="flex: 1; text-align: center;">  </div> </div>

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 31.

Впишите название семейства, обозначьте цифрами соответствующие структурные элементы вирионов

<p>Структура _____ вирусов.</p>  <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Суперкапсид</li> <li>2. Капсид</li> <li>3. РНК</li> <li>4. Гликопротеины</li> </ol>	<p>Структура _____ вирусов.</p>  <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Нуклеокапсид</li> <li>2. Суперкапсид</li> <li>3. Гликопротеины</li> <li>4. М-РНК</li> <li>5. S-РНК</li> <li>6. L-РНК</li> </ol>
<p>Структура _____ вирусов.</p>  <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Суперкапсид</li> <li>2. Нуклеокапсид</li> <li>3. Гликопротеины</li> <li>4. РНК-полимераза</li> <li>5. Матриксный белок</li> </ol>	<p>Структура _____ вирусов.</p>  <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Суперкапсид</li> <li>2. Нуклеокапсид (бусинки на РНК)</li> <li>3. Рибосома-подобные частицы</li> <li>4. L-сегмент РНК</li> <li>5. S-сегмент РНК</li> <li>6. Гликопротеины</li> </ol>
<p>Структура _____ вирусов.</p>  <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Гликопротеин (gp1+gp2)</li> <li>2. Растворимый гликопротеин</li> <li>3. Суперкапсид</li> <li>4. М-белок (p40+p24)</li> <li>5. Нуклеокапсид</li> <li>6. Нуклеопротеин (NP)</li> <li>7. РНК-полимераза (p30+p35)</li> <li>8. РНК</li> </ol>	

### Диагностика клещевого энцефалита

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

### Диагностика бешенства

1. Материалом для исследования служит мозг животного, нанесшего укус, либо человека, погибшего от заболевания. Также можно использовать ткань слюнных желез. Для биологической пробы ткань мозга забирают стерильными инструментами в асептических условиях.
2. Диагностика основывается на обнаружении телец Бабеша-Негри в срезах, мазках-отпечатках или препаратах гомогената мозга, выявлении специфического антигена (РИФ) или биологической пробы (заражении белых мышей в мозг).
  - а) препараты мозга окрашиваются по Муромцеву (Селлеру, Туревичу и др.). При окраске по Муромцеву фон препарата и цитоплазма нейронов голубая, тельца Бабеша-Негри четко очерчены, фиолетово-розовые, с внутренней структурой (зернистостью). Ядра нейронов фиолетово-синие. Выявление телец Бабеша-Негри (размеры и частота) зависит от продолжительности инфекционного процесса (инкубационного периода). При типичном течении бешенства (буйная форма) максимальное количество телец обнаруживается в клетках Аммонова рога. При паралитической форме – в продолговатом и спинном мозге. Обнаружение телец имеет абсолютное диагностическое значение. Отсутствие телец не исключает бешенства;
  - б) РИФ проводят путем обработки срезов или мазков-отпечатков антирабической сывороткой, меченой флуоресцеином. При люминесцентной микроскопии нормальная мозговая ткань слабо желтая. Антиген вируса бешенства выявляется в виде зеленых гранул различного размера (от 0,2 до 25 мкм).
  - в) биопроба может выполняться только в случае отрицательных результатов морфологического исследования в специализированных лабораториях. 10% гомогенат мозга вводят в мозг 5-6 белым мышатам. С 4 дня после заражения забивают по одному животному/день. Вирусы обнаруживают в препаратах мозга методом РИФ.

### Онкогенные вирусы

Онкогенные вирусы способны вызывать трансформацию («бессмертие» и опухолевую прогрессию) клеток человека и животных *in vitro* и *in vivo*.

#### Признаки трансформации клетки:

- ослабление (потеря) адгезии
- повышение подвижности
- приобретение инвазивных свойств
- утрата чувствительности к механизмам контроля пролиферации и дифференцировки
- способность формировать опухоли
- повышенная частота хромосомных aberrаций, в т.ч. и специфических

### РНК-геномные онкогенные вирусы

Онкогенными РНК-содержащими вирусами являются представители пяти родов ретровирусов (*Retroviridae*), *Alpharetrovirus* (вирус миелобластома птиц — AMV, вирус саркомы Рауса — RSV), *Betaretrovirus* (вирус опухолей молочных желез мышей — MMTV), *Gammaretrovirus* (вирус лейкемии мышей — MuLV), *Deltaretrovirus* (вирус лейкоза крупного рогатого скота, вирус Т-клеточного лейкоза человека — BLV, HTLV), *Epsilonretrovirus* (вирус лейкомы роговицы — WDSV).

Механизмы онкогенной трансформации включают внесение в клетку высокоактивных генов (гомологов нормальных клеточных генов) способных вызывать трансформацию клеток в культуре (**онкогены**). Вирусные онкогены обозначают *v-onc*, а соответствующие клеточные гены — *c-onc*. В настоящее время идентифицированы многие онкогены и определены их функции (ростовые факторы, рецепторы ростовых факторов, G-белки, сигнальные факторы, транскрипционные факторы, регуляторы апоптоза и клеточного цикла и др.).

Онкогенные РНК-геномные вирусы (HTLV) могут вызывать трансформацию и без онкогенов, путем специфической интеграции:

- усиливая собственным промотором активность нормальных клеточных генов (ИЛ2, РИЛ2, *c-fos*);
- нарушая функцию противоопухолевых генов и факторов клетки (ген ретинобластомы, *p53* и др.).

### ДНК-геномные онкогенные вирусы

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

ДНК-геномные онкогенные вирусы используют сходные механизмы трансформации:

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

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

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

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

### ДНК-геномные онкогенные вирусы

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

**Тема: Методы вирусологической диагностики заболеваний, вызываемых вирусами гепатитов, герпес- и аденовирусами.**

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Вирусы гепатитов А, В, С, D, E, G. Классификация и общая характеристика, роль в патологии человека. Патогенез и иммунитет гепатитов А, В, С. Методы лабораторной диагностики вирусных гепатитов. Специфическая и неспецифическая профилактика.</p> <p>Герпесвирусы. Классификация и характеристика семейства. ВПГ-1, ВПГ-2, свойства, роль в патологии человека, патогенез, иммунитет, диагностика, химио- и иммунотерапия. Вирус ветряной оспы и опоясывающего герпеса, свойства, патогенез, иммунитет, диагностика, профилактика ветряной оспы.</p> <p>Цитомегаловирус, свойства, формы инфекции. Вирус Эпштейна-Барр, свойства, роль в патологии человека. Патогенез, иммунитет, диагностика инфекционного мононуклеоза. Вирусы герпеса человека ВГЧ-6, ВГЧ-7, ВГЧ-8, роль в патологии человека.</p> <p>Аденовирусы. Классификация и характеристика семейства. Аденовирусы человека, структура вириона, патогенез, иммунитет, диагностика аденовирусных инфекций.</p>	<p><b>Источники:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Материал лекции.</li> <li>2. [1] С. 543-552; 555-564; [3], [4] – (учебники),</li> <li>3. [2], [5] – (практикумы),</li> <li>4. [6], [7], [9] – (доп. литература).</li> </ol>
---	--

**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты																												
<p>1. Постановка ИФА для диагностики вирусного гепатита С.</p> <table border="1" data-bbox="138 973 504 1324"> <tr> <td></td> <td></td> <td>1</td> <td>2</td> </tr> <tr> <td>CORE</td> <td>A</td> <td rowspan="5">Отрицат. контроль</td> <td rowspan="5">Сыворотка №1</td> </tr> <tr> <td>NS<sub>3</sub></td> <td>B</td> </tr> <tr> <td>NS<sub>4</sub></td> <td>C</td> </tr> <tr> <td>NS<sub>5</sub></td> <td>D</td> </tr> <tr> <td>CORE</td> <td>E</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td rowspan="5">Положит. контроль</td> <td rowspan="5">Сыворотка №2</td> </tr> <tr> <td>NS<sub>3</sub></td> <td>F</td> </tr> <tr> <td>NS<sub>4</sub></td> <td>G</td> </tr> <tr> <td>NS<sub>5</sub></td> <td>H</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> </tr> </table>			1	2	CORE	A	Отрицат. контроль	Сыворотка №1	NS <sub>3</sub>	B	NS <sub>4</sub>	C	NS <sub>5</sub>	D	CORE	E			Положит. контроль	Сыворотка №2	NS <sub>3</sub>	F	NS <sub>4</sub>	G	NS <sub>5</sub>	H			<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Предлагаемый метод основан на наборе «РекомбиБест анти-ВГС – спектр» производства «Вектор-Бест», РФ. Метод выявляет в сыворотке крови человека антитела (IgG и IgM) к антигенам ВГС за счет их взаимодействия с рекомбинантными антигенами, сорбированными на поверхности планшета. Образование соответствующих комплексов антиген-антитело выявляют с помощью иммуноферментного конъюгата и последующей ферментативной реакции с образованием окрашенного продукта.</li> <li>2. Схема постановки: <ol style="list-style-type: none"> <li>а) антигены ВГС сорбированы в лунках стрипов следующим образом: в рядах A, E – core в рядах B,F – NS<sub>3</sub> в рядах C,G – NS<sub>4</sub> в рядах D, H – NS<sub>5</sub></li> <li>б) раскатать по 100 мкл контролей и образцов согласно карте постановки (см. ниже);</li> <li>в) заклеить стрип клейкой лентой и инкубировать в термостате 1 час при 37 °С;</li> <li>г) отмыть стрип 5 раз;</li> <li>д) раскатать 100 мкл конъюгата (антитела против Ig человека, меченные ферментом) в каждую лунку;</li> <li>е) инкубировать в термостате 30 минут при 37 °С;</li> <li>ж) промыть стрип 5 раз;</li> <li>з) раскатать 100 мкл хромогена в каждую лунку;</li> <li>и) инкубировать в термостате 30 минут при 37 °С;</li> <li>к) раскатать по 50 мкл стоп-раствора в каждую лунку;</li> <li>л) учесть результаты на спектрофотометре;</li> <li>м) рассчитать показатели и заполнить протокол исследований.</li> </ol> </li> </ol>
		1	2																										
CORE	A	Отрицат. контроль	Сыворотка №1																										
NS <sub>3</sub>	B																												
NS <sub>4</sub>	C																												
NS <sub>5</sub>	D																												
CORE	E																												
		Положит. контроль	Сыворотка №2																										
NS <sub>3</sub>	F																												
NS <sub>4</sub>	G																												
NS <sub>5</sub>	H																												

## Протокол учета ИФА для диагностики вирусного гепатита С

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

### 1. Оценка верности постановки:

Среднее значение ОП отрицательного контроля < 0,2

Среднее ОП К<sup>-</sup> =

Среднее значение ОП положительного контроля > 0,8

Среднее ОП К<sup>+</sup> =

### 2. Расчет ОП критической для каждого антигена:

ОПкрит (core-Ag) = ОП К- (core) + 0,2 =

ОПкрит (NS<sub>3</sub>-Ag) = ОП К- (NS<sub>3</sub>) + 0,2 =

ОПкрит (NS<sub>4</sub>-Ag) = ОП К- (NS<sub>4</sub>) + 0,2 =

ОПкрит (NS<sub>5</sub>-Ag) = ОП К- (NS<sub>5</sub>) + 0,2 =

### 3. Расчет коэффициента позитивности для каждого антигена:

КП(core-Ag) = ОП иссл. сыв (core) / ОПкрит (core) =

КП(NS<sub>3</sub>-Ag) = ОП иссл. сыв (NS<sub>3</sub>) / ОПкрит (NS<sub>3</sub>) =

КП(NS<sub>4</sub>-Ag) = ОП иссл. сыв. (NS<sub>4</sub>) / ОПкрит (NS<sub>4</sub>) =

КП(NS<sub>5</sub>-Ag) = ОП иссл. сыв. (NS<sub>5</sub>) / ОПкрит (NS<sub>5</sub>) =

### 4. Интерпретация результатов:

а) если КП для каждого антигена менее 1, исследуемый образец считают отрицательным;

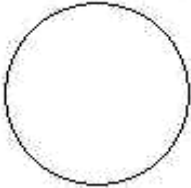
б) результат следует считать положительным, если КП больше 1 для: core-Ag или любых двух антигенов;

в) результат следует считать неопределенным, если КП больше 1 только для одного неструктурного белка.

Врач-лаборант

### Демонстрация.

1. Методы определения HBs-антигена.
2. ЦПД аденовирусов.

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

Подпись преподавателя

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 32.

## Методы обнаружения HbsAg в материалах больных вирусным гепатитом В

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



В настоящее время методы не применяются

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

## Клинико-эпидемиологическое значение маркеров вирусов гепатитов А, В, С, D и Е

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

### Вирусологическая диагностика герпетической инфекции

**А) Ранняя диагностика:** морфологическое исследование материалов из очага поражения и выделение из него вируса.

### Вирусологическая диагностика ветряной оспы

**А) Методы ранней диагностики:** микроскопия материала из

<p>Материалом служит соскоб или мазок-отпечаток с элементов сыпи (герпетические везикулы).</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Мазки окрашивают по Романовскому-Гимзе или гематоксилином-эозином. Для герпетической инфекции характерно наличие в препаратах гигантских клеток с внутриядерными включениями.</li> <li>• Мазки окрашивают антителами, мечеными флуорохромами. Герпетический антиген выявляется в много- и одноядерных клетках, а также внеклеточно. Метод позволяет обнаружить герпетическую инфекцию в головном и спинном мозге и других тканях (печень) в летальных случаях.</li> <li>• Выделение вируса проводят на       <ul style="list-style-type: none"> <li>– 12-дневных куриных эмбрионах. Заражают на хорион-алантоисную оболочку, инкубируют 48 часов при 37° С. При вскрытии эмбриона на оболочке обнаруживаются макроскопически видимые «оспины». В мазках отпечатках из очагов поражений обнаруживаются одно- и многоядерные клетки с внутриядерными включениями;</li> <li>– различных культурах клеток. Типичное ЦПД включает образование многоядерных синцитиальных клеток с ядерными включениями и круглоклеточная дегенерация с образованием клеточных конгломератов;</li> <li>– мышатах-сосунках. Заражают внутрибрюшинно или в мозг. Заболевание развивается через 3-4 дня и приводит к гибели животных;</li> <li>– кроликах. Кроликов заражают на скарифицированную роговицу (развивается специфический кератоконъюнктивит) или в мозг (летальный энцефалит).</li> </ul> </li> <li>• Идентификацию вируса, выделенного на эмбрионах, культурах клеток или животных, проводят в РИФ или РН.</li> </ul> <p><b>Б) Методы ретроспективной диагностики</b> Для серологической диагностики применяют ИФА и РСК в парных сыворотках. При интерпретации следует иметь в виду возможность перекрестных реакций между различными вирусами группы герпеса.</p>	<p>очагов поражений, обнаружение вирусного антигена либо выделение вируса в культуре клеток.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Лучшим материалом для микроскопии вируса является содержимое свежих везикул: при микроскопии обнаруживаются вирусные частицы, выявляются многоядерные гигантские клетки с внутриядерными включениями.</li> <li>• Для быстрой идентификации вируса можно применить РИФ. Специфический антиген обнаруживается внеклеточно в виде ярких зерен и скоплений, а также в одно- или многоядерных клетках.</li> <li>• Вирус выделяют на различных культурах клеток человека. Характерное ЦПД – образование многоядерных гигантских клеток (характерно для эпителиальных клеток) и скопления округлившись клеток (характерны для фибробластов). Часто обнаруживаются внутриядерные эозинофильные включения. При отсутствии ЦПД проводят пассажи на культуре клеток. При отсутствии ЦПД в третьем пассаже результат считают отрицательным. Выделенный вирус идентифицируют в РН или РИФ.</li> </ul> <p><b>Б) Методы ретроспективной диагностики:</b> антитела обнаруживают в реакции ИФА, РН или РСК в парных сыворотках.</p>
<p><b>Вирусологическая диагностика ВЭБ-инфекции</b></p> <p><b>1. Выявление гетерофильных антител</b> — IgM, взаимодействующих с антигенами животных неродственных видов, например барана или быка. Эти антитела выявляются примерно у 90% больных инфекционным мононуклеозом. Гетерофильные антитела в низком титре могут присутствовать и у здоровых людей.</p> <p><b>а) Проба Пауля—Буннелля</b> — стандартный метод лабораторной диагностики инфекционного мононуклеоза. Он заключается в выявлении гетерофильных антител к эритроцитам барана с помощью реакции геммагглютинации. Гетерофильные антитела при инфекционном мононуклеозе отличаются от гетерофильных антител, присутствующих в сыворотке здоровых и больных сывороточной болезнью, по способности абсорбироваться тканью почек морской свинки и эритроцитами быка. Диагностически значимым считается титр 1:128—1:256. Гетерофильные антитела обычно обнаруживают через 3—4 нед. после начала заболевания. Реакция Пауля—Буннелля бывает положительной при лейкозах, вирусных гепатитах, цитомегаловирусной инфекции, лимфоме Беркитта, ревматоидном артрите и после введения иммунных сывороток. Титр антител не отражает тяжести заболевания, однако при измерении в динамике позволяет следить за течением заболевания.</p> <p><b>б) Экспресс-тест на гетерофильные антитела.</b> Гетерофильные антитела в этом исследовании выявляются при агглютинации стабилизированных формалином эритроцитов лошади.</p> <p><b>2. Серологический метод.</b> Инфекционный мононуклеоз не всегда сопровождается появлением гетерофильных антител. Они, в частности, отсутствуют у детей. В этом случае применяют серологический метод, который позволяет выявить:</p> <p><b>а) антитела к капсидному антигену вируса Эпштейна—Барр (РИФ или ИФА).</b> На ранней стадии заболевания в сыворотке больного появляются IgM к капсидному антигену. Их титр становится максимальным через 2 нед после начала заболевания и снижается в течение 2—3 мес. Присутствие IgM к капсидному антигену вируса Эпштейна—Барр свидетельствует о недавнем заражении, а IgG — о ранее перенесенном заболевании.</p> <p><b>б) антитела к ранним антигенам вируса Эпштейна—Барр (РИФ или ИФА).</b> Титр этих антител становится максимальным через 2—3 нед после начала заболевания.</p> <p><b>в) антитела к ядерному антигену вируса Эпштейна—Барр (РИФ или ИФА).</b> Антитела к ядерному антигену появляются примерно через 4 нед после начала заболевания и сохраняются на протяжении всей жизни.</p>	

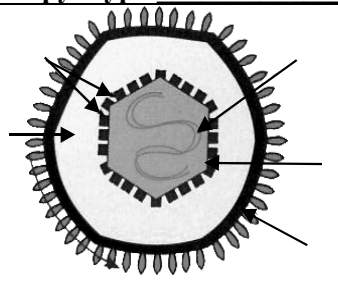
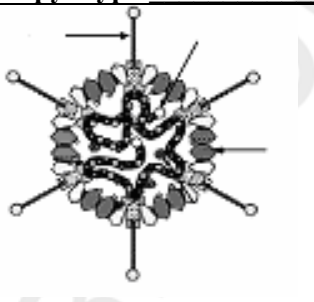
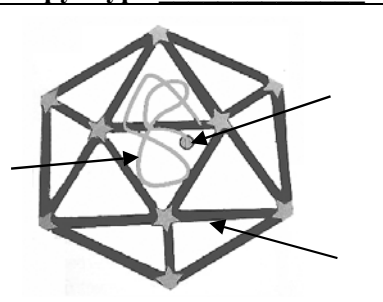
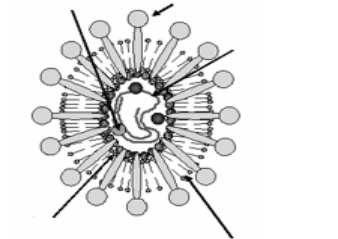
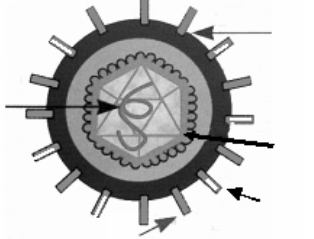
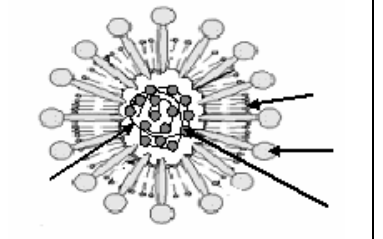


### Характеристика антител против антигенов ВЭБ

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

### Вирусологическая диагностика аденовирусной инфекции.

1. Материалом служат смывы и соскобы (назофарингеальный, конъюнктивальный и др), фекалии, моча, биопсийный и аутопсийный материал.
2. Ранние методы диагностики включают обнаружение антигенов или ДНК вируса в материале больного или экспресс методы выделения и идентификации вируса:
  - обнаружить и идентифицировать вирус можно в РИФ, ИФА или РСК. Антигены аденовирусов выявляются в цитоплазме и ядре пораженной клетки.
  - выделить вирус можно в различных культурах клеток, однако лучше использовать эпителиальные клетки (НЕК, HELA, А-549). Характерное ЦПД:
    - мелкоклеточная дегенерация с образованием конгломератов клеток по типу виноградных гроздьев;
    - образование отдельных мелких круглых клеток по всей культуре;
    - образование цитоплазматических и внутриядерных включений;
    - появление зернистости, вакуолей, изменением ядер (пикноз, распад);
  - вирус идентифицируют (типируют) в РИ, РИФ, РСК;
  - все большее применение находят ПЦР и др. молекулярно-генетические методы;
  - электронная микроскопия имеет ограниченное применение.
3. Ретроспективная диагностика (эпидемиологическое значение): антитела выявляют в ИФА, РТГА, РСК, в парных сыворотках.

Структура вирусов.	Структура вирусов.	Структура вирусов.
 <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Суперкапсид</li> <li>2. Гликопротеины</li> <li>3. Икосаэдрический капсид</li> <li>4. Капсомеры</li> <li>5. Тегумент</li> <li>6. ДНК вируса</li> </ol>	 <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Фибриллярная нить</li> <li>2. ДНК</li> <li>3. Капсид</li> </ol>	 <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Капсид</li> <li>2. РНК</li> <li>3. Кэпирующий белок VPg</li> </ol>
Структура вируса	Структура вируса	Структура вируса
 <ol style="list-style-type: none"> <li>1. HBs-антиген</li> <li>2. Суперкапсид</li> <li>3. Капсид</li> <li>4. Полимераза</li> <li>5. ДНК</li> </ol>	 <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Суперкапсид</li> <li>2. Нуклеокапсид</li> <li>3. Гликопротеин E1</li> <li>4. Гликопротеин E2</li> <li>5. РНК</li> </ol>	 <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Суперкапсид</li> <li>2. HBs-антиген</li> <li>3. Дельта-антиген (бусинки на РНК)</li> <li>4. РНК</li> </ol>

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

- |   |  |
|---|--|
| <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Систематическое положение и классификация вирусов.</li> <li>2. Формы существования вирусов. Морфология и биохимическая структура вирионов.</li> <li>3. Структура, свойства и функции нуклеиновых кислот, белков, липидов вирионов.</li> <li>4. Взаимодействие вирусов с восприимчивой клеткой. Строгий паразитизм и цитотропизм вирусов и факторы, его обуславливающие. Клеточные и вирусоспецифические рецепторы.</li> <li>5. Особенности инфекции, механизмы неспецифического и специфического иммунитета при вирусных заболеваниях. Интерфероны <math>\alpha</math>, <math>\beta</math>, <math>\gamma</math>.</li> <li>6. Типы вирусной инфекции клеток. Изменения клеток хозяина при вирусной инфекции. Цитопатическое действие вирусов, типы.</li> <li>7. Включения при вирусных заболеваниях. Природа, локализация. Диагностическое значение.</li> <li>8. Общие принципы диагностики вирусных инфекций. Методы экспресс-диагностики. Молекулярно-биологическое типирование.</li> <li>9. Культуры клеток, классификация, характеристика. Культивирование вирусов на культурах клеток. Подготовка материала, заражение культуры. Методы индикации и идентификации вирусов.</li> <li>10. Культивирование вирусов в курином эмбрионе. Методы заражения. Индикация и идентификация вирусов.</li> <li>11. Выделение вирусов на лабораторных животных. Способы заражения животных, индикация и идентификация вирусов.</li> <li>12. Серологические реакции при вирусных инфекциях. Реакции торможения гемагглютинации, торможения гемадсорбции, нейтрализации.</li> <li>13. Этиология острых респираторных вирусных заболеваний. Классификация вирусов гриппа. Общая характеристика. Свойства структурных и неструктурных вирусных белков. Геном вируса.</li> <li>14. Антигенная структура вирусов гриппа и ее изменчивость, роль в эпидемическом и пандемическом распространении гриппа. Механизмы естественного и приобретенного иммунитета.</li> <li>15. Механизмы патогенеза, специфическая и неспецифическая терапия и профилактика гриппа.</li> <li>16. Парамиксовирусы. Состав семейства. Вирусы парагриппа, характеристика, дифференциация с вирусами гриппа. Вирус эпидемического паротита. Респираторно-синцитиальный вирус.</li> <li>17. Современные методы лабораторной диагностики гриппа и парагриппа.</li> <li>18. Вирус кори, морфология, культуральные и антигенные свойства. Патогенез и иммунитет при кори. Специфическая профилактика кори: вакцина, иммуноглобулины.</li> <li>19. Вирус бешенства, морфология, биологические свойства, вирусные включения. Патогенез заболевания. Лабораторная диагностика бешенства.</li> </ol> | <ol style="list-style-type: none"> <li>20. Эпидемиология, специфическая и неспецифическая профилактика бешенства. Антирабическая вакцина и гамма-глобулин. Работы Пастера.</li> <li>21. Ретровирусы. Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ), характеристика. Эпидемиология, патогенез, методы лабораторной диагностики, профилактики ВИЧ-инфекции.</li> <li>22. СПИД, определение, стадии развития. Роль <math>CD4^+</math> и <math>CD8^+</math> Т-клеток. СПИД-ассоциированные заболевания.</li> <li>23. Классификация вирусов гепатита. Характеристика вируса гепатита А. Патогенез, иммунитет, методы профилактики гепатита А.</li> <li>24. Характеристика вируса гепатита В. Геном, основные белки. Патогенез, иммунитет, профилактика, лабораторная диагностика гепатита В.</li> <li>25. Гепатиты С, D, E, G. Характеристика вирусов, эпидемиология, патогенез заболеваний.</li> <li>26. Классификация и характеристика экологической группы арбовирусов. Тога- и флави-вирусы. Значение в патологии человека. Вирусологическая диагностика клещевого энцефалита.</li> <li>27. Вирус краснухи. Общая характеристика. Роль в патологии. Профилактика краснухи.</li> <li>28. Буньявирусы, общая характеристика, вызываемые заболевания.</li> <li>29. Пикорнавирусы, классификация, общая характеристика семейства.</li> <li>30. Вирус полиомиелита, морфологические и культуральные свойства, серологические варианты. Патогенез и методы лабораторной диагностики полиомиелита. Специфическая профилактика полиомиелита. Эрадикация полиомиелита. Иммунодефицитные состояния – полиомиелит и вялые параличи.</li> <li>31. Вирусы Коксаки и ЭКХО, характеристика. Роль в патологии человека. Принципы дифференциации.</li> <li>32. Риновирусы. Ротавирусы. Общая характеристика. Роль в патологии человека.</li> <li>33. Аденовирусы, морфология, культуральные, биологические свойства, серологическая классификация. Механизмы патогенеза, лабораторная диагностика аденовирусных инфекций.</li> <li>34. Герпесвирусы. Классификация. Общая характеристика. Основные белки. Заболевания человека, вызываемые альфа-герпесвирусами первого и второго серотипов.</li> <li>35. Этиология ветряной оспы, злокачественного герпеса, цитомегалии, инфекционного мононуклеоза. Механизмы патогенеза. Лабораторная диагностика.</li> <li>36. Прионы. Медленные инфекции.</li> <li>37. Теории вирусного канцерогенеза. Онкогенные вирусы. Онкогены клеточные и вирусные.</li> <li>38. Вирусы бактерий (бактериофаги), свойства, классификация. Взаимодействие бактериофагов с восприимчивой бактериальной клеткой. Вирулентные и умеренные фаги. Лизогения.</li> <li>39. Практическое использование бактериофагов. Фагодиагностика, фаготипирование, фаготерапия. Методы титрования бактериофагов.</li> </ol> |
|---|--|

**Тема: Клиническая микробиология. Методы диагностики гнойно-септических инфекций, подкожной клетчатки, сепсиса.**

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Клиническая микробиология: определение, цели, задачи. Условно-патогенные микробы (УПМ). Особенности эпидемиологии, патогенеза, диагностики заболеваний, вызываемых УПМ. Критерии этиологической значимости.</p> <p>Клинические формы и этиология гнойно-септических инфекций кожи и подкожной клетчатки. Методы микробиологической диагностики.</p> <p>Бактериологический метод. Материал для исследования (гной, экссудат), правила и методы забора. Критерии оценки этиологической значимости выделенных микроорганизмов. Определение чувствительности к антибиотикам.</p> <p>Бактериемия. Сепсис. Септикопиемия. Этиология, определение понятий. Методы микробиологической диагностики сепсиса. Бактериологический метод. Правила и методы забора крови для исследования, особенности выделения возбудителя и оценки результатов. Определение чувствительности к антибиотикам.</p>	<p><b>Источники:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Материал лекции.</li> <li>2. [1] С. 654-665; [4] – (учебники),</li> <li>3. [2], [5] – (практикумы),</li> <li>4. [6], [9], [10] – (доп. литература).</li> </ol>
--	---

**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты
<p>1. Самостоятельная работа (1 час) – исследование гноя, взятого из ожоговой раны.</p> <p>2. Исследования крови лихорадящего больного: посев в среду обогащения.</p>	<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="text-align: center;"> <p><b>Исследование гноя (I этап)</b></p>  <p>Гной → 0,1 мл → 9,9 мл физ. р-р → 0,1 мл → 0,1 мл</p> <p>Посев на сектора по 0,05 мл (1 капля)</p> <p>ЖСА      Левина      МПА с фурагином</p> </div> <div style="text-align: center;"> <p><b>Исследование крови (I этап)</b></p>  <p>Кровь, 10 мл → Сахарный бульон, (среда обогащения), 37°C</p> </div> </div> <div style="margin-top: 20px;"> <p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p>  </div>

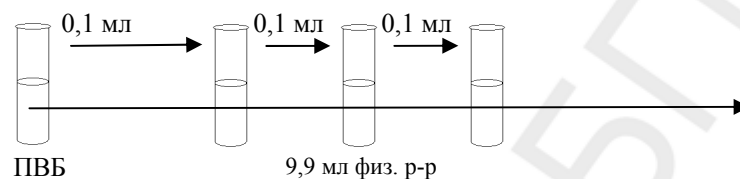
3. Исследование промывных вод бронхов больного пневмонией:

- а) приготовление микропрепарата с окраской по Граму, микроскопия;
- б) количественный посев на различные питательные среды.

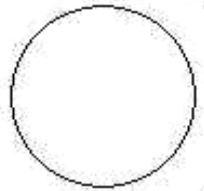
**Демонстрация.**

- 1. Различные виды материала.

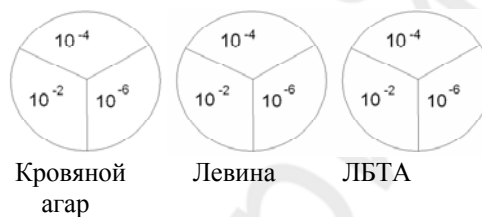
**Исследование ПВБ (I этап)**



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



Посев на сектора по 0,05 мл (1 капля)



Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

**Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 34.**

**Критерии этиологической роли УПМ**

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

**Этиология (основные возбудители) ГСИ кожи, подкожной клетчатки**

1. \_\_\_\_\_
2. \_\_\_\_\_
3. \_\_\_\_\_
4. \_\_\_\_\_
5. \_\_\_\_\_

**Тема: Клиническая микробиология (продолжение). Микробиологическая диагностика гнойно-септических инфекций бронхо-лёгочной системы, уросистемы. Внутрибольничные инфекции.**

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Клинические формы и этиология неспецифических инфекций бронхов и лёгких. Методы микробиологической диагностики. Материал для исследования, правила и методы забора. Бактериологический метод. Критерии оценки этиологической роли выделенных бактерий. Определение чувствительности к антибиотикам.</p> <p>Клинические формы и этиология уроинфекций. Методы микробиологической диагностики. Материал для исследования, правила и методы забора. Бактериологическое исследование мочи. Критерии оценки этиологической роли выделенных микробов. Определение чувствительности к антибиотикам. Антибиотикограмма.</p> <p>Внутрибольничные инфекции. Возбудители. Принципы микробиологической диагностики внутрибольничных инфекций. Профилактика.</p>	<p><b>Источники:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Материал лекции.</li> <li>2. [1] С. 665-668; 678-683; [4] – (учебники),</li> <li>3. [2], [5] – (практикумы),</li> <li>4. [6], [9], [10] – (доп. литература).</li> </ol>
--	--

**Лабораторная работа**

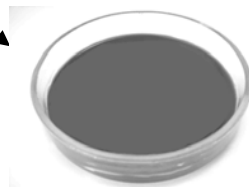
Задание	Методы, результаты
<p>1. Самостоятельная работа - исследование гноя, взятого из ожоговой раны.</p>	<p style="text-align: center;"><b>Исследование гноя (II этап)</b></p> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;"> <p>ЖСА      Левина      МПА с фурагином</p> </div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-left: 20px;"> <p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p> </div> <div style="margin-left: 20px;"> </div> </div> <p>Характеристика колоний:</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>Расчет количества бактерий в 1 мл материала:</p> <p><math>N \text{ (КОЕ/мл)} = n \times 20 \times 10^x</math>, где:</p> <p>n – кол-во колоний на секторе,</p> <p>20 – коэф. перерасчета на 1 мл,</p> <p><math>10^x</math> – степень разведения материала.</p> <p>N = _____ КОЕ/мл</p> <p>Заключение: _____</p> <div style="margin-top: 20px; text-align: center;"> <p>Парафенилендиамин</p> <p>Тест на оксидазv</p> </div>

2. Продолжение исследования крови, промывных вод бронхов.

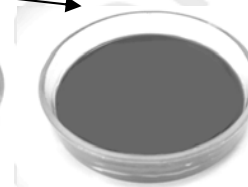
**Исследование крови (II этап)**



Сахарный бульон



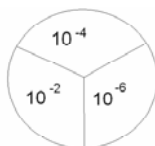
Кровяной агар 37°C



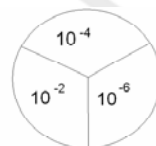
ЖСА

Препарат _____	
Окраска _____	
_____	

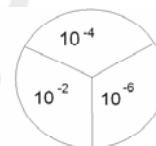
**Исследование ПВБ (II этап)**



Кровяной агар



Левина



ЛБТА

Препарат _____	
Окраска _____	
_____	

Характеристика колоний:

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

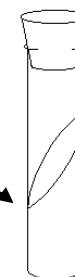
\_\_\_\_\_

Расчет количества бактерий в 1 мл материала:

$$N \text{ (КОЕ/мл)} = n \times 20 \times 10^x, \text{ где:}$$

- n – кол-во колоний на секторе,
- 20 – коэф. перерасчета на 1 мл,
- $10^x$  – степень разведения материала.

N = \_\_\_\_\_ КОЕ/мл



Среда Ресселя

**Демонстрация.**

1. Рост синегнойной палочки на фурагиновом МПА (количественный посев)
2. Рост клебсиеллы пневмонии на лактозобромтимоловом агаре (количественный посев).

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

## Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 35.

### Этиология (основные возбудители) респираторных ГСИ

1.
2.
3.
4.
5.

### Этиология (основные возбудители) ГСИ мочевыделительной системы

1.
2.
3.
4.
5.

**Внутрибольничная инфекция** (синонимы: госпитальная инфекция, нозокомиальная инфекция) – любое клинически распознаваемое инфекционное заболевание, приобретенное, пациентом вследствие его пребывания или оказания различных видов стационарной и амбулаторно-поликлинической медицинской помощи в организациях здравоохранения, при оказании скорой медицинской помощи и медицинской помощи медицинским персоналом на дому, а также инфекционное заболевание сотрудника организации здравоохранения в результате его профессиональной деятельности, вне зависимости от времени проявления симптомов заболевания.

От ВБИ следует отличать внебольничные (заносные) случаи инфекционных заболеваний, зарегистрированные в процессе оказания медицинской помощи в стационарных, амбулаторно-поликлинических условиях или на дому. Основными их признаками являются: отсутствие причинно-следственной связи с выполнением лечебно-диагностических манипуляций и процедур; приобретение инфекционного заболевания в пределах минимального инкубационного периода до обращения за медицинской помощью.

### Особенности диагностики ВБИ

- Микробиологическое исследование трех объектов:
  1. Материал от больного,
  2. Источник инфекции
  3. Факторы передачи
- Типирование (установление внутривидовой принадлежности и родства штаммов).

### Этиология (основные возбудители) ВБИ

1.
2.
3.
4.
5.

### КЛАССИФИКАЦИЯ ВБИ

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

**По способу инфицирования больных:** экзогенные; эндогенные; аутоинфекции.

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

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

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

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

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

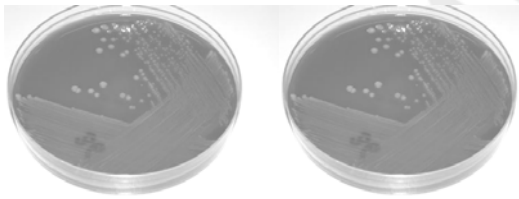
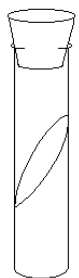
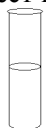
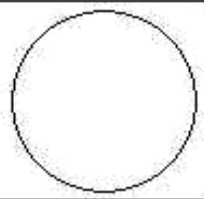
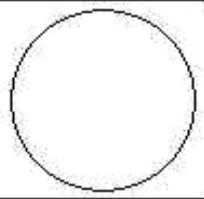
**По степени тяжести:** микробоносительство; легкие формы; среднетяжелые формы; тяжелые формы.

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

**Тема: Микробиологическая диагностика протозойных и грибковых заболеваний. Клиническая микробиология (окончание).**

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Общая характеристика и классификация простейших. Патогенные представители. Лабораторная диагностика малярии, токсоплазмоза, амебиаза, лямблиоза, трихомониоза. Возбудитель криптоспоридиоза. Классификация и общая характеристика грибов. Возбудители дерматомикозов, кератомикозов, глубоких микозов. Кандидоз и условия, способствующие его возникновению. Общие принципы диагностики микозов. Возбудитель пневмоцистоза.</p>	<p><b>Источники:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Материал лекции.</li> <li>2. [1] С. 606-653; 671-678; [4] – (учебники),</li> <li>3. [2], [5] – (практикумы),</li> <li>4. [6], [9] – (доп. литература).</li> </ol>
--	--

**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты
<p>1. Окончание исследования крови и промывных вод бронхов.</p>	<div style="text-align: center;"> <p><b>Исследование крови (III этап)</b></p>  <p>Кровяной агар      ЖСА</p> </div> <p>Характеристика колоний: _____</p> <p><b>Заключение:</b> _____</p> <div style="text-align: center;"> <p><b>Исследование ПВБ (III этап)</b></p>  <p>Среда Ресселя</p> <p>Ферментация:                      Лактозы _____                      Глюкозы _____</p> </div> <p><b>Заключение:</b> _____</p> <div style="display: flex; justify-content: space-between; margin-top: 20px;"> <div style="width: 45%;"> <p>Тест на плазмокоагулазу</p>  <p>Цитратная кроличья плазма: 37°C – 2, 4, 24 часа (коагуляция)</p> </div> <div style="width: 45%;"> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 10px;"> <p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p> </div>  </div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="width: 45%;"> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> <p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p> </div>  </div> </div>



<b>Демонстрация.</b> 1. Патогенные простейшие. 2. Кандиды (по Граму). 3. Рост кандид и дерматофитов на питательных средах.	Препарат _____ _____ Окраска _____ _____	Препарат _____ _____ Окраска _____ _____	Препарат _____ _____ Окраска _____ _____
	Препарат _____ _____ Окраска _____ _____	Препарат _____ _____ Окраска _____ _____	Препарат _____ _____ Окраска _____ _____
	Препарат _____ _____ Окраска _____ _____	Препарат _____ _____ Окраска _____ _____	Препарат _____ _____ Окраска _____ _____

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

### Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 36.

#### ДИАГНОСТИКА МИКОЗОВ

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

#### **Серологический метод:**

РИФ, которая рассматривается как экспресс-метод серологической идентификации грибковых антигенов.

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

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

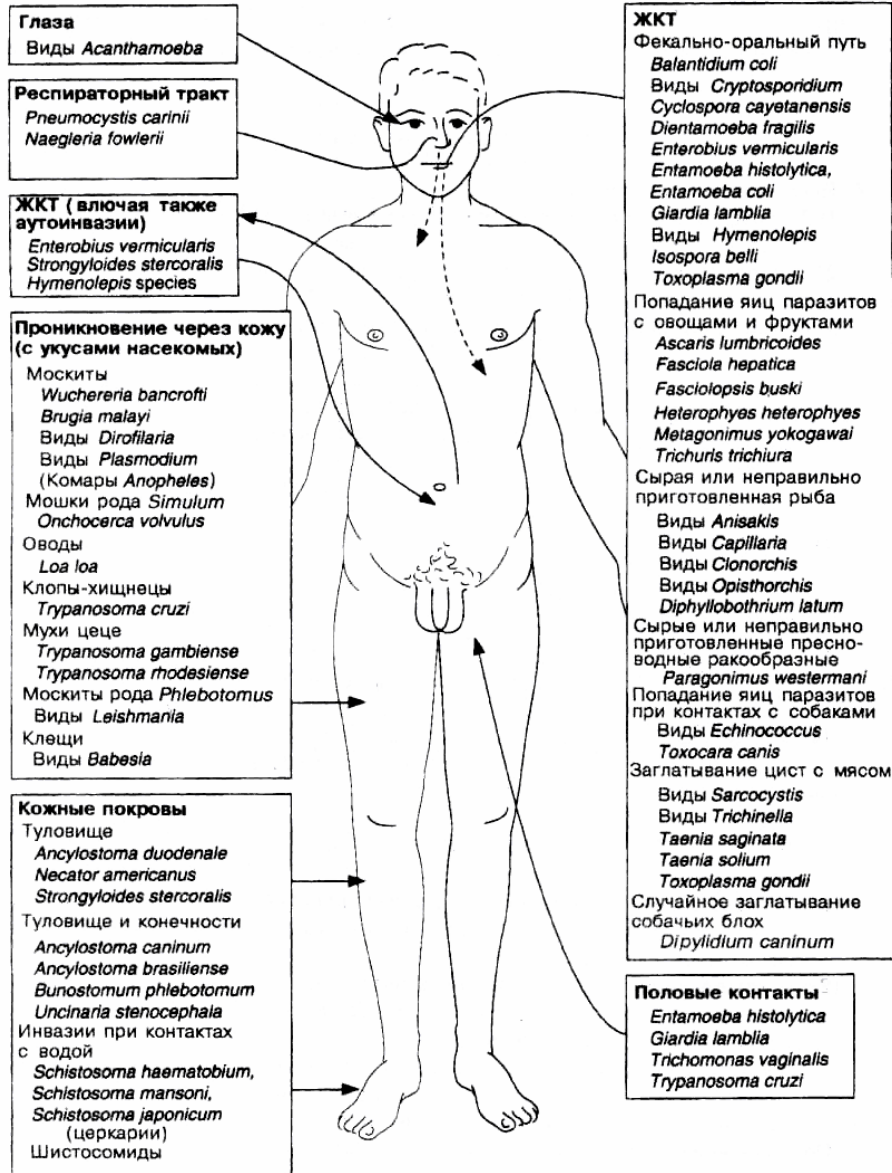
**Аллергический метод.** Проводятся кожные пробы с аллергенами грибов (например - кандид), Метод недостаточно специфичен из-за групповых антигенов грибов разных видов.

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

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

**Характеристика эукариотической клетки (грибы, простейшие)  
в сравнении с прокариотической (бактерии)**

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



**Рис. 19. Основные пути проникновения патогенных простейших в организм человека.**

## МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ПРОТОЗОЙНЫХ ИНВАЗИЙ

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

## Литература

### Основная

1. *Борисов, Л. Б.* Медицинская микробиология, вирусология, иммунология / Л. Б. Борисов. М. : МИА, 2001, 2005. 736 с.
2. *Борисов, Л. Б.* Руководство к практическим занятиям по микробиологии / Л. Б. Борисов. М., 1993. 240 с.
3. *Букринская, А. Г.* Вирусология : учеб. пособие для мед. ин-тов / А. Г. Букринская. М. : Медицина, 1986. 336 с.
4. *Коротяев, А. И.* Медицинская микробиология, иммунология и вирусология : учеб. для мед. вузов / А. И. Коротяев, С. А. Бабичев. СПб. : Специальная литература, 1998. 592 с.
5. *Павлович, С. А.* Медицинская микробиология : практикум / С. А. Павлович, К. Д. Пяткин. Минск : Выш. шк., 1993. 200 с.

### Дополнительная

6. *Атлас по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии* / А. А. Воробьев [и др.] ; под ред. А. А. Воробьева, А. С. Быкова. М. : МИА, 2003. 236 с.
7. *Вирусология* (характеристика возбудителей, патогенез и диагностика вирусных инфекций) : учеб.-метод. пособие / Л. П. Титов [и др.]. Минск : БГМУ, 2003. 76 с.
8. *Горбунов, В. А.* Микробиологические основы противомикробных мероприятий : учеб.-метод. пособие / В. А. Горбунов, Е. И. Гудкова. – Минск : БГМУ, 2006. 40 с.
9. *Красильников, А. П.* Микробиологический словарь-справочник / А. П. Красильников, Т. Р. Романовская. 2-е изд., доп. и перераб. Минск : Асар, 1999. 400 с.
10. *Основы клинической микробиологии и иммунологии* : учеб.-метод. пособие / под ред. А. П. Красильникова. Минск : МГМИ, 1989. Ч. 1. 61 с.
11. *Ройт, А.* Иммунология ; пер. с англ. / А. Ройт, Дж. Бростофф, Д. Мейл. М. : Мир, 2000. 592 с.
12. *Слизень, В. В.* Молекулярная биология бактерий : учеб.-метод. пособие / В. В. Слизень, Л. П. Титов. Минск : БГМУ, 2007. 48 с.
13. *Титов, Л. П.* Иммунология : терминологический словарь / Л. П. Титов. 2-е изд. Минск : БГМУ, 2002, 2004. 213 с.
14. *Титов, Л. П.* Особенности строения, развития и функционирования иммунной системы детского организма : учеб.-метод. пособие / Л. П. Титов, Е. Ю. Кирильчик, Т. А. Канашкова. Минск : БГМУ, 2007. 28 с.
15. *Черношей, Д. А.* Методы иммуноанализа, основанные на применении меченых компонентов : учеб.-метод. пособие / Д. А. Черношей, Т. А. Канашкова. Минск : БГМУ, 2007. 28 с.
16. *Аллергия.* Медиаторный тип ГНТ. Методы диагностики : учеб.-метод. пособие / Д. А. Черношей [и др.]. Минск : БГМУ, 2009. 31 с.

# Приложение

## КЛАССИФИКАЦИЯ МИКРОБОВ (ПРОКАРИОТЫ)

по Берджи, 2001 (сокращенная) ДОМЕН (Domain) – БАКТЕРИЯ

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

			<i>Helicobacteriaceae</i>	<i>Helicobacter</i>	<i>H.pylori, H.heilmanii</i> u òп.
				<i>Wolinella</i>	<i>W.succinogenes</i>

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

**Приложение 2.**

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

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

**Классификация и некоторые свойства арбовирусов и вирусов с природной очаговостью**

Семейство (род)	Геном	Суперкапсид	Форма, размер вириона (нм)	Число вирусов	Типовые представители (основные заболевания)
<i>Arenaviridae</i> ( <i>Arenavirus</i> )	фрагментированная, однонитчатая -РНК	+	сферическая, 50-300	12	Вирусы Ласса, Мачупо, Такарибе, ЛХМ (геморрагическая лихорадка Ласса, аргентинская геморрагическая лихорадка, лимфоцитарный хориоменингит)
<i>Bunyaviridae</i> ( <i>Bunyavirus</i> ) ( <i>Phlebovirus</i> ) ( <i>Nairovirus</i> ) ( <i>Uukuvirus</i> ) ( <i>Hantavirus</i> )	фрагментированная, однонитчатая, кольцевая, -РНК	+	сферическая, 90-100	227 124 34 21 6 6	Вирусы геморрагических лихорадок и энцефалитов (калифорнийский энцефалит, лихорадка Буньямвера, Конго-крымская геморрагическая лихорадка, москитная лихорадка, лихорадка Укумieni, геморрагическая лихорадка с почечным синдромом)
<i>Togaviridae</i> ( <i>Alfavirus</i> )	однонитчатая +РНК, нефрагментированная	+	сферическая, 30-90	31	Вирусы Синдбис, лошадиных энцефалитов (венесуэльский западный и восточный энцефалит лошадей, геморрагическая лихорадка Чикунгунья, лихорадка карельская, лихорадка Синдбис, лихорадка О'Нонг-О'Ньонг)
<i>Flaviviridae</i> ( <i>Flavivirus</i> )	однонитчатая +РНК, нефрагментированная	+	сферическая, 30-90	63	Вирусы клещевого энцефалита, жёлтой лихорадки, Денге, японского энцефалита, (клещевой энцефалит, японский энцефалит, жёлтая геморрагическая лихорадка, лихорадка Денге, западно-нильская лихорадка)
<i>Rhabdoviridae</i> ( <i>Lyssavirus</i> ) ( <i>Vesiculiviridae</i> )	однонитчатая -РНК, нефрагментированная	+	пулевидная, 130-380, 50-95	60 2 10	Вирус бешенства, вирус везикулярного стоматита (бешенство, везикулярный стоматит)
<i>Reoviridae</i> ( <i>Orbivirus</i> )	двунитчатая +РНК, фрагментированная	-	сферическая, 60-80	60	Вирус колорадской клещевой лихорадки
<i>Filoviridae</i>	однонитчатая +РНК, нефрагментированная	+	плеоморфная, нитевидная, 200-4000	2	Вирусы лихорадки Эбола, Марбург

Приложение 3.

КЛАССИФИКАЦИЯ ГРИБОВ

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

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

**Не имеют медицинского значения:**

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



### Клиническая классификация микозов


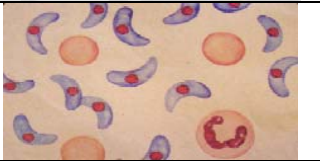
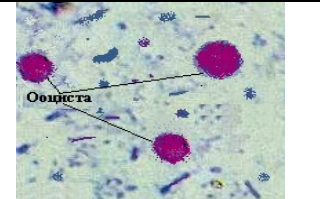
Клиническая классификация	Названия грибов	Болезни
Возбудители поверхностных микозов (кератомикозов)	<i>Malassezia furfur</i>	Пестрый лишай (отрубевидный лишай)
	<i>Exophiala werneckii</i>	Черный лишай
	<i>Piedraia hortae</i>	Черная пьедра
	<i>Trichosporon beigeli</i>	Белая пьедра
Возбудители эпидермофитий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

Приложение 4.

КЛАССИФИКАЦИЯ ПРОСТЕЙШИХ

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

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

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

## Приложение 5.

### Заболеваемость инфекционными и паразитарными болезнями населения Беларуси в 2008 году

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

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

## Приложение 6. Состав и принцип работы некоторых дифференциальных сред для микроорганизмов.

<p><b>Среда Левина</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Ингредиенты</th> <th>г/л</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Пептический перевар животной ткани</td> <td>10,00</td> </tr> <tr> <td>Калия гидрофосфат</td> <td>2,00</td> </tr> <tr> <td>Лактоза</td> <td>10,00</td> </tr> <tr> <td>Эозин Y</td> <td>0,40</td> </tr> <tr> <td>Метиленовый синий</td> <td>0,065</td> </tr> <tr> <td>Агар-агар</td> <td>15,00</td> </tr> </tbody> </table> <p>Конечное значение pH (при 25°C) 7,1 ± 0,2</p>		Ингредиенты	г/л	Пептический перевар животной ткани	10,00	Калия гидрофосфат	2,00	Лактоза	10,00	Эозин Y	0,40	Метиленовый синий	0,065	Агар-агар	15,00	<p>Среда используется для дифференциации энтеробактерий. Метиленовый синий и эозин подавляют рост грам+ бактерий и служат индикаторами ферментации лактозы. На этой среде могут вырастать дрожжи и некоторые грам+ бактерии, например, энтерококки.</p>																												
Ингредиенты	г/л																																											
Пептический перевар животной ткани	10,00																																											
Калия гидрофосфат	2,00																																											
Лактоза	10,00																																											
Эозин Y	0,40																																											
Метиленовый синий	0,065																																											
Агар-агар	15,00																																											
<p><b>Среда Эндо</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Ингредиенты</th> <th>г/л</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Пептический перевар животной ткани</td> <td>10,00</td> </tr> <tr> <td>Лактоза</td> <td>10,00</td> </tr> <tr> <td>Калия гидрофосфат</td> <td>3,50</td> </tr> <tr> <td>Натрия сульфит</td> <td>2,50</td> </tr> <tr> <td>Фуксин основной</td> <td>0,50</td> </tr> <tr> <td>Агар-агар</td> <td>15,00</td> </tr> </tbody> </table> <p>Конечное значение pH (при 25°C) 7,5 ± 0,2</p>		Ингредиенты	г/л	Пептический перевар животной ткани	10,00	Лактоза	10,00	Калия гидрофосфат	3,50	Натрия сульфит	2,50	Фуксин основной	0,50	Агар-агар	15,00	<p>Среда для дифференциации микроорганизмов, ферментирующих и неферментирующих лактозу. Сульфит натрия и основной фуксин подавляют рост грам+ микроорганизмов. Лактоза разлагается микроорганизмами до альдегида и кислоты. Альдегид в свою очередь освобождает фуксин из фуксин-сульфитного комплекса, усиливая красное окрашивание колоний. У кишечных палочек эта реакция очень выражена и сопровождается кристаллизацией фуксина, что проявляется зеленоватым металлическим блеском колоний.</p>																												
Ингредиенты	г/л																																											
Пептический перевар животной ткани	10,00																																											
Лактоза	10,00																																											
Калия гидрофосфат	3,50																																											
Натрия сульфит	2,50																																											
Фуксин основной	0,50																																											
Агар-агар	15,00																																											
<p><b>Среда Ресселя</b></p> <p>Среду используют для дифференциации грамотрицательных бактерий кишечной группы по их способности ферментировать глюкозу и лактозу с образованием газа или без него.</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Ингредиенты</th> <th>г/л</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Пептический перевар животной ткани</td> <td>2,50</td> </tr> <tr> <td>Гидролизат казеина</td> <td>7,50</td> </tr> <tr> <td>Мясной экстракт</td> <td>3,00</td> </tr> <tr> <td>Лактоза</td> <td>10,00</td> </tr> <tr> <td>Глюкоза</td> <td>1,00</td> </tr> <tr> <td>Натрия хлорид</td> <td>5,00</td> </tr> <tr> <td>Феноловый красный</td> <td>0,025</td> </tr> <tr> <td>Агар-агар</td> <td>15,00</td> </tr> </tbody> </table> <p>Конечное значение pH (при 25°C) 7,3 ± 0,2</p>		Ингредиенты	г/л	Пептический перевар животной ткани	2,50	Гидролизат казеина	7,50	Мясной экстракт	3,00	Лактоза	10,00	Глюкоза	1,00	Натрия хлорид	5,00	Феноловый красный	0,025	Агар-агар	15,00	<p>Среда Клиглера</p> <p>Среду используют для изучения у грамотрицательных бактерий способности ферментировать глюкозу и лактозу, а также продуцировать сероводород.</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Ингредиенты</th> <th>г/л</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Пептический перевар животной ткани</td> <td>15,00</td> </tr> <tr> <td>Мясной экстракт</td> <td>3,00</td> </tr> <tr> <td>Дрожжевой экстракт</td> <td>3,00</td> </tr> <tr> <td>Протеозопептон</td> <td>5,00</td> </tr> <tr> <td>Лактоза</td> <td>10,00</td> </tr> <tr> <td>Глюкоза</td> <td>1,00</td> </tr> <tr> <td>Железа сульфат</td> <td>0,20</td> </tr> <tr> <td>Натрия хлорид</td> <td>5,00</td> </tr> <tr> <td>Натрия тиосульфат</td> <td>0,30</td> </tr> <tr> <td>Феноловый красный</td> <td>0,024</td> </tr> <tr> <td>Агар-агар</td> <td>15,00</td> </tr> </tbody> </table> <p>Конечное значение pH (при 25°C) 7,4 ± 0,2</p>	Ингредиенты	г/л	Пептический перевар животной ткани	15,00	Мясной экстракт	3,00	Дрожжевой экстракт	3,00	Протеозопептон	5,00	Лактоза	10,00	Глюкоза	1,00	Железа сульфат	0,20	Натрия хлорид	5,00	Натрия тиосульфат	0,30	Феноловый красный	0,024	Агар-агар	15,00
Ингредиенты	г/л																																											
Пептический перевар животной ткани	2,50																																											
Гидролизат казеина	7,50																																											
Мясной экстракт	3,00																																											
Лактоза	10,00																																											
Глюкоза	1,00																																											
Натрия хлорид	5,00																																											
Феноловый красный	0,025																																											
Агар-агар	15,00																																											
Ингредиенты	г/л																																											
Пептический перевар животной ткани	15,00																																											
Мясной экстракт	3,00																																											
Дрожжевой экстракт	3,00																																											
Протеозопептон	5,00																																											
Лактоза	10,00																																											
Глюкоза	1,00																																											
Железа сульфат	0,20																																											
Натрия хлорид	5,00																																											
Натрия тиосульфат	0,30																																											
Феноловый красный	0,024																																											
Агар-агар	15,00																																											
<p><b>Среда Раппопорта (модифицированная)</b></p> <p>Среды рекомендуют для селективного обогащения и выделения сальмонелл из пищевых продуктов и других объектов внешней среды.</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Ингредиенты</th> <th>г/л</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Гидролизат казеина</td> <td>5,00</td> </tr> <tr> <td>Натрия хлорид</td> <td>8,00</td> </tr> <tr> <td>Калия дигидрофосфат</td> <td>1,60</td> </tr> <tr> <td>Магния хлорид (x 6 H<sub>2</sub>O)</td> <td>40,00</td> </tr> <tr> <td>Малахитовый зеленый</td> <td>0,04</td> </tr> </tbody> </table> <p>Конечное значение pH (при 25°C) 5,2 ± 0,2</p>		Ингредиенты	г/л	Гидролизат казеина	5,00	Натрия хлорид	8,00	Калия дигидрофосфат	1,60	Магния хлорид (x 6 H <sub>2</sub> O)	40,00	Малахитовый зеленый	0,04	<p>Готовая среда имеет вид геля красного (малинового) цвета в пробирках, имеет скошенную часть и столбик высотой 2,5 см. Модифицированная среда Ресселя вместо фенолового красного содержит бромтимоловый синий индикатор (исходный цвет среды – оливковый (зеленый), при закислении – желтый, при защелачивании – синий).</p> <p>Образование кислоты в ходе инкубирования определяют по изменению цвета индикатора в скошенной части (аэробная ферментация) и в столбике среды. На образование газа в ходе ферментации указывают пузырьки и разрывы среды в столбике. По мере расхода глюкозы в аэробных условиях выделяющиеся амины снова защелачивают среду. В анаэробных условиях (в столбике) среда остается кислой.</p> <p>Готовая среда имеет вид геля красного (малинового) цвета в пробирках, имеет скошенную часть и столбик высотой 2,5 см. Лучшие результаты получают на свежеприготовленной среде. Три основных типа реакций на среде Клиглера и ее аналогах:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li><b>Неферментирующие бактерии</b> не способствуют «закислению» среды, цвет среды не изменен.</li> <li><b>Лактозонегативные бактерии.</b> В случае ферментации глюкозы вначале происходит «закисление» скошенной части и столбика, затем pH среды сдвигается в щелочную сторону под влиянием аминов, образованных в результате декарбоксилирования пептидов в присутствии кислорода (скошенная часть).</li> <li><b>Лактозоферментирующие бактерии.</b> Постоянное «закисление» всей среды большим количеством кислот, образующихся при одновременной ферментации глюкозы и лактозы.</li> </ol> <p>Тиосульфат натрия и сульфат железа усиливают и визуализируют образование H<sub>2</sub>S (черное окрашивание среды).</p>																														
Ингредиенты	г/л																																											
Гидролизат казеина	5,00																																											
Натрия хлорид	8,00																																											
Калия дигидрофосфат	1,60																																											
Магния хлорид (x 6 H <sub>2</sub> O)	40,00																																											
Малахитовый зеленый	0,04																																											
<p><b>Среда Плоскирева (модифицированная).</b></p> <p>Эта дифференциально-селективная среда используется для выделения сальмонелл и шигелл из патологического материала, подозрительных пищевых материалов и т.п.</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Ингредиенты</th> <th>г/л</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Протеозопептон</td> <td>5,00</td> </tr> <tr> <td>Мясной экстракт</td> <td>5,00</td> </tr> <tr> <td>Лактоза</td> <td>10,00</td> </tr> <tr> <td>Желчные кислоты, смесь</td> <td>8,50</td> </tr> <tr> <td>Натрия цитрат</td> <td>8,50</td> </tr> <tr> <td>Натрия тиосульфат</td> <td>8,50</td> </tr> <tr> <td>Железа цитрат</td> <td>1,00</td> </tr> <tr> <td>Бриллиантовый зеленый</td> <td>0,00033</td> </tr> <tr> <td>Нейтральный красный</td> <td>0,025</td> </tr> <tr> <td>Агар-агар</td> <td>13,50</td> </tr> </tbody> </table> <p>Конечное значение pH 7,0 ± 0,2</p>		Ингредиенты	г/л	Протеозопептон	5,00	Мясной экстракт	5,00	Лактоза	10,00	Желчные кислоты, смесь	8,50	Натрия цитрат	8,50	Натрия тиосульфат	8,50	Железа цитрат	1,00	Бриллиантовый зеленый	0,00033	Нейтральный красный	0,025	Агар-агар	13,50	<p>Пептон и мясной экстракт обеспечивают присутствие необходимых питательных веществ. Лактоза является ферментируемым субстратом. Желчные кислоты, тиосульфат и бриллиантовый зеленый подавляют рост грам+ и колиформных бактерий. Некоторые кишечные микроорганизмы восстанавливают тиосульфат натрия до сульфита и газообразного сероводорода. Продукцию сероводорода определяют по образованию черного преципитата сульфида железа, такие микроорганизмы образуют на среде колонии с черным центром.</p> <p>Высокая селективность среды позволяет непосредственно засеивать их большим объемом инокулюма (фекалиями, ректальными тампонами и другим материалом, подозрительным на содержание патогенных кишечных бактерий).</p> <p>При росте ферментирующих лактозу представителей нормальной кишечной микрофлоры образуются кислые продукты – колонии окрашиваются в красный цвет. Колонии не ферментирующих лактозу бактерий бесцветны, прозрачны с черным центром или без него. Рост сальмонелл не подавляется: они образуют бесцветные колонии с черным центром (продукция H<sub>2</sub>S). Шигеллы растут в виде бесцветных колоний, но без черного центра, т.к. не продуцируют H<sub>2</sub>S.</p>																				
Ингредиенты	г/л																																											
Протеозопептон	5,00																																											
Мясной экстракт	5,00																																											
Лактоза	10,00																																											
Желчные кислоты, смесь	8,50																																											
Натрия цитрат	8,50																																											
Натрия тиосульфат	8,50																																											
Железа цитрат	1,00																																											
Бриллиантовый зеленый	0,00033																																											
Нейтральный красный	0,025																																											
Агар-агар	13,50																																											

<b>Введение. Список сокращений.</b> .....	3
<b>Первый семестр</b>	
<b>Занятие № 1.</b> Методы исследования в микробиологии. Бактериоскопический метод исследования. Характеристика основных форм бактерий. Простые методы окраски.....	4
<b>Занятие № 2.</b> Бактериоскопический метод исследования. Структура бактериальной клетки. Сложные методы окраски .....	7
<b>Занятие № 3.</b> Бактериоскопический метод исследования. Морфология спирохет, актиномицетов, риккетсий, хламидий, микоплазм.....	11
<b>Занятие № 4.</b> Противомикробные мероприятия. Методы стерилизации и дезинфекции. Асептика, антисептика. Культуральный (бактериологический) метод исследования. Методы выделения чистых культур бактерий .....	13
<b>Занятие № 5.</b> Культуральный (бактериологический) метод исследования. Методы идентификации чистых культур бактерий.....	19
<b>Занятие № 6.</b> Методы изучения генетики бактерий. Методы молекулярной диагностики .....	22
<b>Занятие № 7.</b> Экология микробов. Методы изучения нормальной микрофлоры тела человека. Инфекция .....	24
<b>Занятие № 8.</b> Методы изучения чувствительности микробов к антибиотикам. Биологический метод исследования.....	26
<b>Занятие № 9.</b> ИТОГОВОЕ ЗАНЯТИЕ ПО ТЕМЕ: «Морфология и физиология микроорганизмов. Инфекция».....	29
<b>Занятие № 10.</b> Методы клинической и инфекционной иммунологии. Иммунная система. Методы изучения естественного иммунитета.....	30
<b>Занятие № 11.</b> Методы клинической и инфекционной иммунологии. Гуморальный иммунный ответ.....	34
<b>Занятие № 12.</b> Методы клинической и инфекционной иммунологии. Серологический метод исследования.....	39
<b>Занятие № 13.</b> Методы клинической и инфекционной иммунологии. Серологический метод исследования .....	42
<b>Занятие № 14.</b> Методы клинической и инфекционной иммунологии. Клеточный иммунный ответ. Аллергия.....	45
<b>Занятие № 15.</b> Иммунопрофилактика и иммунотерапия. Методы оценки поствакцинального иммунитета. Клиническая иммунология .....	50
<b>Занятие № 16.</b> ИТОГОВОЕ ЗАНЯТИЕ ПО ТЕМЕ: «Иммунология. Иммунитет. Аллергия».....	53
<b>Занятие № 17.</b> Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых стафилококками .....	54
<b>Занятие № 18.</b> Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых стрептококками, нейссериями .....	56
<b>Второй семестр</b>	
<b>Занятие № 19 (1).</b> Методы микробиологической диагностики острых кишечных инфекций (ОКИ), вызываемых энтеробактериями .....	59
<b>Занятие № 20 (2).</b> Методы микробиологической диагностики ОКИ, вызываемых энтеробактериями (продолжение).....	62
<b>Занятие № 21 (3).</b> Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых клебсиеллами, иерсиниями, кампилобактериями, псевдомонадами. Методы диагностики пищевых отравлений .....	65
<b>Занятие № 22 (4).</b> Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых коринебактериями, бордетеллами, гемофилами, листериями, легионеллами.....	68

<b>Занятие № 23 (5).</b> Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых актиномицетами и микобактериями. Методы микробиологической диагностики анаэробных инфекций .....	71
<b>Занятие № 24 (6).</b> Методы микробиологической диагностики особо опасных инфекций (холера, чума, туляремия, бруцеллёз, сибирская язва) .....	74
<b>Занятие № 25 (7).</b> Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых спирохетами .....	77
<b>Занятие № 26 (8).</b> Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых риккетсиями, хламидиями, микоплазмами .....	80
<b>Занятие № 27 (9).</b> ИТОГОВОЕ ЗАНЯТИЕ ПО ТЕМЕ: «Частная микробиология» .....	83
<b>Занятие № 28 (10).</b> Методы вирусологических исследований. Бактериофаги .....	84
<b>Занятие № 29 (11).</b> Методы вирусологической диагностики заболеваний, вызываемых орто- и парамиксовирусами, коронавирусами .....	87
<b>Занятие № 30 (12).</b> Методы вирусологической диагностики заболеваний, вызываемых пикорнавирусами, ротавирусами, ретровирусами .....	90
<b>Занятие № 31 (13).</b> Методы вирусологической диагностики заболеваний, вызываемых арбовирусами и вирусами с природной очаговостью. Онкогенные вирусы. Медленные инфекции .....	95
<b>Занятие № 32 (14).</b> Методы вирусологической диагностики заболеваний, вызываемых вирусами гепатитов, герпес- и аденовирусами .....	100
<b>Занятие № 33 (15).</b> ИТОГОВОЕ ЗАНЯТИЕ ПО ТЕМЕ: «Вирусология» .....	105
<b>Занятие № 34 (16).</b> Клиническая микробиология. Методы диагностики гнойно-воспалительных заболеваний кожи, подкожной клетчатки, сепсиса .....	106
<b>Занятие № 35 (17).</b> Клиническая микробиология (продолжение). Микробиологическая диагностика воспалительных заболеваний бронхо-лёгочной системы, уросистемы. Внутрибольничные инфекции .....	108
<b>Занятие № 36 (18).</b> Микробиологическая диагностика протозойных и грибковых заболеваний. Клиническая микробиология (окончание) .....	111
<b>ЛИТЕРАТУРА</b> .....	115
<b>Приложение 1.</b> Классификация микробов (Прокариоты) по Берджи, 2001 (сокращенная) Домен (Domain) – <i>Bacteria</i> .....	116
<b>Приложение 2.</b> Классификация и некоторые свойства вирусов человека и животных (царство <i>Vira</i> ) .....	118
<b>Приложение 3.</b> Классификация грибов. Клиническая классификация микозов .....	119
<b>Приложение 4.</b> Классификация простейших .....	121
<b>Приложение 5.</b> Заболеваемость инфекционными и паразитарными болезнями населения Беларуси в 2008 году .....	123
<b>Приложение 6.</b> Состав и принцип работы некоторых дифференциальных сред для микроорганизмов .....	124

Учебное издание

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

**МЕДИЦИНСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ, ВИРУСОЛОГИЯ, ИММУНОЛОГИЯ**

Практикум

*3-е издание, исправленное*

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

Подписано в печать 19.11.09. Формат 60×84/8. Бумага писчая «Снегурочка».

Печать офсетная. Гарнитура «Times».

Усл. печ. л. 14,88. Уч.-изд. л. 7,87. Тираж 780 экз. Заказ 696.

Издатель и полиграфическое исполнение:

учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет».

ЛИ № 02330/0494330 от 16.03.2009.

ЛП № 02330/0150484 от 25.02.2009.

Ул. Ленинградская, 6, 220006, Минск.