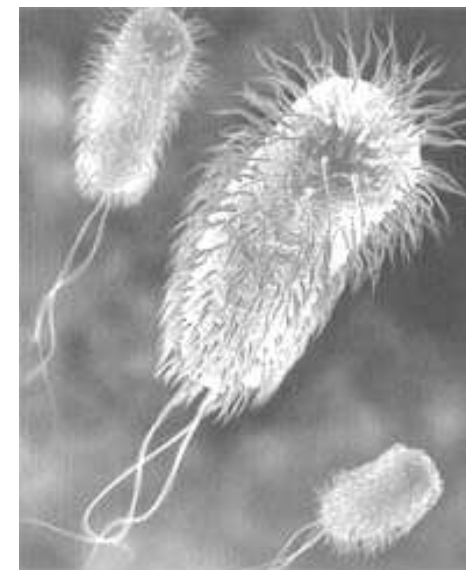


МИКРОБИОЛОГИЯ, ВИРУСОЛОГИЯ, ИММУНОЛОГИЯ

Практикум для лечебного и педиатрического факультетов

Студента ____ группы _____ факультета



Минск БГМУ 2025

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

МИКРОБИОЛОГИЯ, ВИРУСОЛОГИЯ, ИММУНОЛОГИЯ

Практикум для лечебного и педиатрического факультетов

9-е издание, исправленное



Минск БГМУ 2025

УДК 579:578:612.017(076.5)(075.8)
ББК 52.64:52.63:52.54я73
М59

Рекомендовано Научно-методическим советом университета
в качестве практикума 16.10.2024 г., протокол № 2

А в т о р ы: канд. мед. наук, доц. Т. А. Канашкова (зан. 1–36); канд. мед. наук, доц. И. А. Гаврилова (зан. 1–36); канд. мед. наук, доц. Д. А. Черношей (зан. 10–15, 28–32); канд. мед. наук, доц. Е. Ю. Кирильчик (зан. 10–15); канд. мед. наук, доц. В. А. Горбунов (зан. 1–8, 17–26, 33–34); канд. мед. наук, доц. Л. И. Каскевич (зан. 1–4, 11, 17–19, 25, 26, 36)

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

Микробиология, вирусология, иммунология : практикум для лечеб-
М59 **ного и педиатрического факультетов / Т. А. Канашкова, И. А. Гаврилова, Д. А. Черношей [и др.]. – 9-е изд., испр. – Минск : БГМУ, 2025. – 116 с.**

ISBN 978-985-21-1727-2.

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 2017 году.

Предназначен для студентов лечебного, педиатрического, военно-медицинского факультетов и медицинского факультета иностранных учащихся, обучающихся по специальности «Лечебное дело».

УДК 579:578:612.017(076.5)(075.8)
ББК 52.64:52.63:52.54я73

ISBN 978-985-21-1727-2

© УО «Белорусский государственный
медицинский университет», 2025

ВВЕДЕНИЕ

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

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

Коллектив авторов

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АПК	— антигенпрезентирующие клетки	Лф	— лимфоциты
АГ	— антиген	МИК (МПК)	— минимальная ингибирующая (подавляющая) концентрация
АТ (Ig)	— антитела (иммуноглобулины)	МПА	— мясопептонный агар
ВИЧ	— вирус иммунодефицита человека	МПБ	— мясопептонный бульон
ВОЗ	— Всемирная организация здравоохранения	Мф	— макрофаги
ГКГС (МНС)	— главный комплекс гистосовместимости (major histocompatibility complex)	ПЦР	— полимеразная цепная реакция
ГСИ	— гнойно-септическая инфекция	РГА	— реакция гемагглютинации
ЕК (NK)	— естественные киллеры (Natural killer cells)	РИФ	— реакция иммунофлюоресценции
ЖСА	— желточно-солевой агар	РН	— реакция нейтрализации
ИЛ (IL)	— интерлейкин (Interleukin)	РНГА (РПГА)	— реакция непрямой (пассивной) гемагглютинации
ИСМП	— инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи	РСК	— реакция связывания комплемента
ИФА	— иммуноферментный анализ	РТГА	— реакция торможения гемагглютинации
ИФН (IFN)	— интерферон (Interferon)	РТГА_{дс}	— реакция торможения гемадсорбции
ИХА	— иммунохроматографический анализ	ТКР (TCR)	— Т-клеточный рецептор
КА	— контроль антигена (в серологии)	Тх (Th)	— Т-хелперы
КИО	— клеточный иммунный ответ	УПМ	— условно-патогенный микроорганизм
КОЕ	— колониеобразующая единица	ФНО (TNF)	— фактор некроза опухолей (Tumor necrosis factor)
КС	— контроль сыворотки (в серологии)	ЦПД	— цитопатическое действие
ЛПС	— липополисахарид	ЦТЛ	— цитотоксические лимфоциты (Т-киллеры)

Занятие № 1

Дата: _____

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

Перечень изучаемых вопросов: Микробиология как наука: предмет и задачи, объекты изучения, методы микробиологии, разделы, основные этапы развития. История кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии БГМУ, основные направления работы.

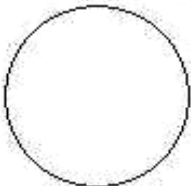
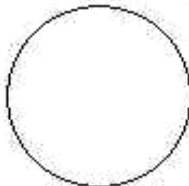
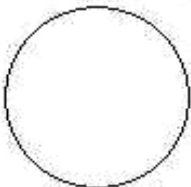
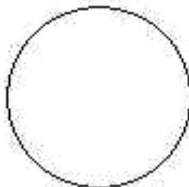
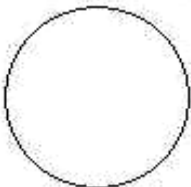
Устройство микробиологической лаборатории, режим работы в ней. Правила биологической безопасности и работы с заразным материалом и культурами микроорганизмов. Правила работы со спиртовками, электрическими приборами.

Мир микробов. Принципы систематики микроорганизмов, классификация, номенклатура, таксономические группы. Эволюция микроорганизмов.

Основные формы бактерий, их характеристика.

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

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты	
1. Приготовить препарат из агаровой культуры кишечной палочки (<i>Escherichia coli</i>), окрасить метиленовым синим¹, микроскопировать, зарисовать. 2. Приготовить препарат из бульонной культуры стафилококка (<i>Staphylococcus spp.</i>), окрасить водным фуксином¹, микроскопировать, зарисовать.	Препарат _____ Окраска _____ 	Препарат _____ Окраска _____ 
Зарисовать демонстрационные препараты: 1. <i>Streptococcus spp.</i>, чистая культура, окраска генцианвиолетом. 2. <i>Vibrio spp.</i>, чистая культура, окраска водным фуксином. 3. <i>Bacillus spp.</i>, чистая культура, окраска генцианвиолетом.	Препарат _____ Окраска _____ 	Препарат _____ Окраска _____ 
¹ Простые методы окраски предполагают использование одного красителя. Как правило, бактерии окрашиваются в цвет красителя. Время экспозиции водного фуксина — 2–3 мин; метиленового синего — 5 мин.	Препарат _____ Окраска _____ 	

Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 1.

ПРАВИЛА

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

1. Студенты допускаются к выполнению лабораторных работ только после проведения инструктажа преподавателем по технике безопасности при работе с микробными культурами, биологическим материалом, электроприборами и спиртовками. Инструктаж проводят в начале каждого семестра и регистрируют проведение в специальном журнале.
2. Студенты должны быть предупреждены об имеющейся биологической опасности при работе с микроорганизмами. Разрешается работа только с микроорганизмами низкого индивидуального и общественного биологического риска.
3. Верхнюю одежду необходимо оставлять в гардеробе; все студенты, находящиеся в помещениях кафедры, должны быть в застегнутых медицинских халатах, при необходимости соблюдать масочный режим.
4. В каждой группе назначается дежурный, который помогает преподавателю в организации и проведении лабораторных работ, поддерживает дисциплину в практикуме в отсутствие преподавателя, следит за приведением практикума в порядок после выполнения лабораторной работы и состоянием микроскопов.
5. Во время работы двери практикума должны быть закрыты. Не допускаются излишне громкие разговоры, прием пищи и питья, применение косметических средств, замена контактных линз.
6. К лабораторной работе необходимо приступать только после пояснения и практической демонстрации навыка преподавателем. При выполнении лабораторной работы все лишние предметы должны быть убраны со столов, каждый студент должен пользоваться только закрепленным за ним рабочим местом и содержать его в надлежащем порядке.
7. В процессе выполнения лабораторной работы запрещено перемещение по кабинету с микробными культурами, чашками Петри, включенными спиртовками.
8. При работе с культурами и биоматериалом ни в коем случае нельзя прикасаться к ним руками. Необходимо пользоваться специальными инструментами (бактериологические петли, пинцеты, пипетки и др.). Не допускается соприкосновение рук с конденсатом воды в засеянных чашках, переливание инфицированных жидкостей из сосуда в сосуд через край. Запрещается работа с пипеткой при помощи рта.
9. Все виды работ с микробными культурами и инфекционным материалом производят вблизи пламени спиртовки, соблюдая технику асептики.
10. Пробирки, чашки Петри и пр. после проведения посевов обязательно подписываются.
11. По окончании работы запрещается оставлять на рабочих столах нефиксированные мазки, чашки Петри, пробирки и др. посуду с инфекционным материалом.
12. Инструменты, посуда, микробные культуры и биоматериал после окончания работы подлежат обязательной стерилизации в лаборатории (петли, пинцеты) или вне её. В последнем случае их помещают в специальные контейнеры и удаляют из лаборатории.
13. Работа с кровью, заразным материалом ведется в резиновых перчатках.
14. Студент немедленно сообщает преподавателю обо всех нестандартных аварийных ситуациях, создающих угрозу биологической безопасности.
15. После окончания работы студент самостоятельно приводит в полный порядок свое рабочее место. Мытье рук перед уходом из лаборатории является обязательным.
16. Обязательным является соблюдение правил техники безопасности при работе со спиртовками и электрическими приборами.

Бактериоскопический (микроскопический) метод исследования — совокупность способов обнаружения и изучения морфологических и тинкториальных¹ свойств бактерий (микроорганизмов) в исследуемом материале (лабораторная культура, патологический материал, пробы из внешней среды) с помощью микроскопии.

Цели метода:

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

Этапы метода:

1. Забор, хранение и транспортировка материала.
2. Приготовление микропрепарата.

Типы микропрепаратов:

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

3. Микроскопия

Типы микроскопии:

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

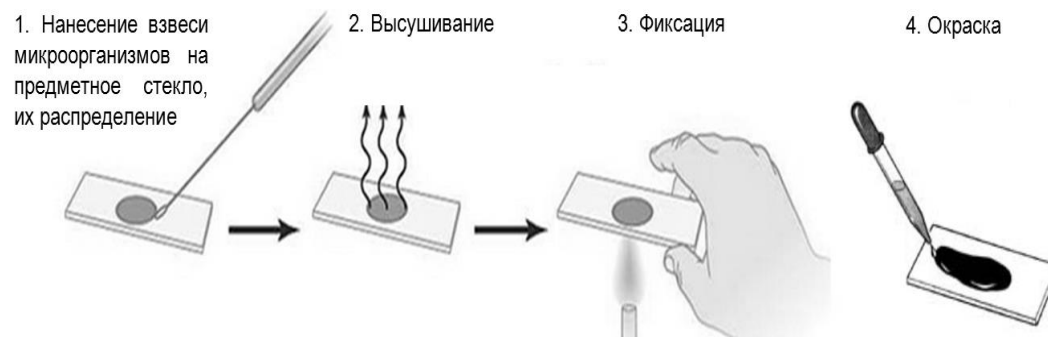
4. Заключение¹

Оценка метода:

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

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

Этапы приготовления бактериологического (фиксированного мазка):



Устройство светового микроскопа



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

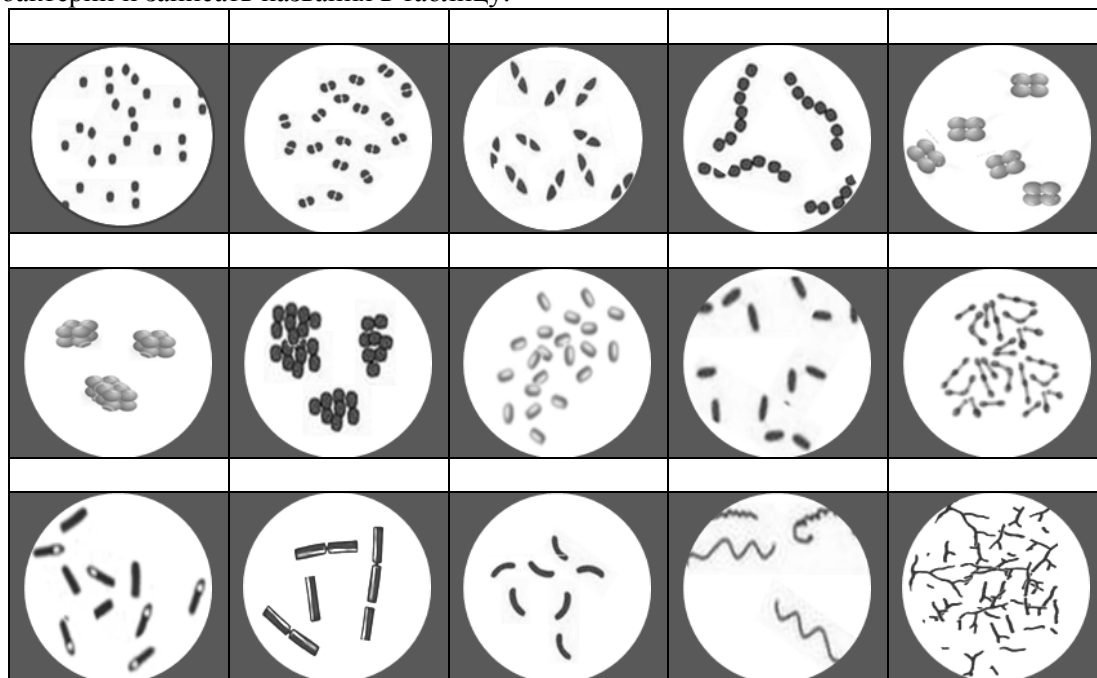
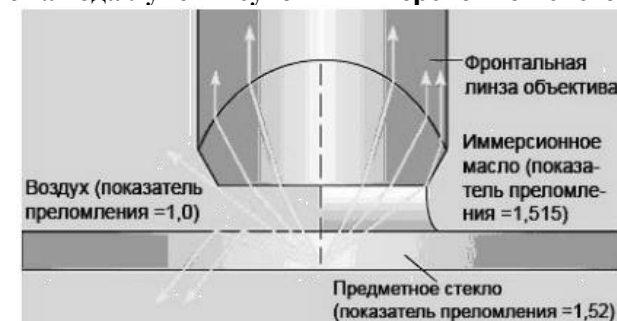


Схема хода лучей в сухой и иммерсионной системах



Рассчитать разрешающую способность светового микроскопа при суховоздушной и иммерсионной системах.

Разрешающая способность = $0,61 \times \lambda / n \times \sin \alpha$,
 где: λ (длина световой волны) = 0,55 мкм;
 n — показатель среды преломления между препаратом и фронтальной линзой объектива;
 α — половина апертурного угла;
 $n \times \sin \alpha$ для суховоздушной системы = 0,95
 для иммерсионной системы = 1,6

Результат:

Разрешение иммерсионного микроскопа _____ мкм

Разрешение суховоздушного микроскопа _____ мкм

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

Перечень изучаемых вопросов. Отличия прокариотов от эукариотов. Структура бактериальной клетки. Поверхностные образования. Структура и функции капсулы, жгутиков, фимбрий, методы выявления. Выявление капсулы методом Бурри–Гинса. 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.

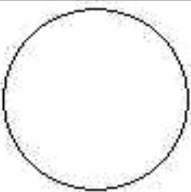
Строение и функции цитоплазматической мембраны и цитоплазматических органелл (нуклеоид, мезосомы, рибосомы, плазмиды, включения). Методы выявления нуклеоида, волутиновых зерен. Окраска по Нейссеру и Леффлеру. Кислотоустойчивость бактерий. Техника и механизм окраски по Цилю–Нильсену. Покоящиеся формы микроорганизмов. Споры бактерий, значение, стадии спорообразования. Методы выявления спор, окраска по Ожешко.

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.

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.

Лабораторная работа

1. Приготовить препарат из смеси грамположительных и грамотрицательных бактерий, окрасить по Граму, микроскопировать, зарисовать.

Препарат _____	

Окраска _____	

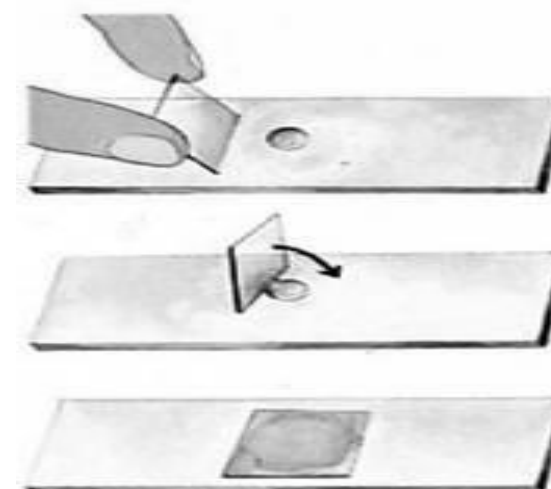
Техника окраски по Граму:

1. на фиксированный мазок через фильтровальную бумагу наливают раствор генциан-виолета (основной краситель) на 1–2 мин, бумагу снимают, препарат промывают водой (тонкие мазки не промывают);
2. наносят раствор Люголя на 1 мин. Раствор Люголя сливают, водой не промывают;
3. на мазок наносят 96 % этанол (30–60 сек.), промывают водой;
4. наносят водный фуксин (дополнительный краситель) на 2–3 мин, промывают водой;
5. высушивают фильтровальной бумагой, микроскопируют с иммерсионной системой.

Грам+ бактерии прочно фиксируют комплекс генцианвиолета и йода, не обесцвечиваются этанолом, не воспринимают дополнительный краситель (фуксин). У Грам– бактерий этот комплекс легко вымывается этанолом — окрашиваются фуксином в розово-красный цвет.

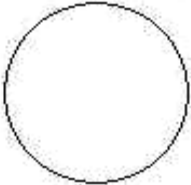
Грам+ фиолетовые; Грам– розово-красного цвета

2. Приготовить препарат «раздавленная капля» из взвеси подвижных бактерий, микроскопировать в нативном состоянии.

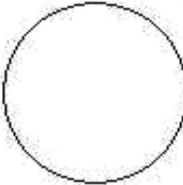


Зарисовать демонстрационные препараты:

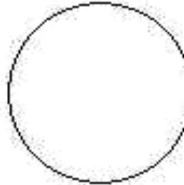
1. *Staphylococcus spp.* и *Escherichia coli*, окраска по Граму.
2. Капсула *Klebsiella spp.* Окраска по Бурри–Гинсу.
3. Зерна воллютина *Corynebacterium diphtheriae*. Окраска по Леффлеру.
4. Зерна воллютина *Corynebacterium diphtheriae*. Окраска по Нейссеру.
5. Смесь *Mycobacterium tuberculosis* и *Sarcina spp.* Окраска по Цилю–Нильсену.
6. Споры *Bacillus anthracis*. Окраска по Ожешко.
7. *Rickettsia spp.*, окраска по Граму.
8. *Treponema denticola* в зубном налёте, окраска по Граму.
9. *Borrelia recurrentis* в крови больного возвратным тифом, окраска по Романовскому–Гимзе.
10. Цитоплазматические включения *Chlamydia spp.*, окраска по Романовскому–Гимзе.
11. *Actinomyces spp.*, чистая культура, окраска по Граму.

Препарат _____	

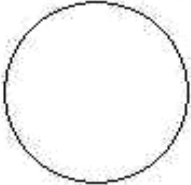
Окраска _____	

Препарат _____	

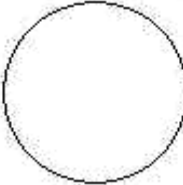
Окраска _____	

Препарат _____	

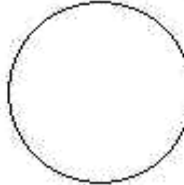
Окраска _____	

Препарат _____	

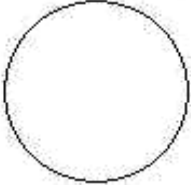
Окраска _____	

Препарат _____	

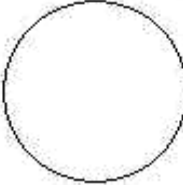
Окраска _____	

Препарат _____	

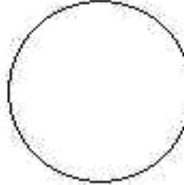
Окраска _____	

Препарат _____	

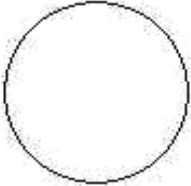
Окраска _____	

Препарат _____	

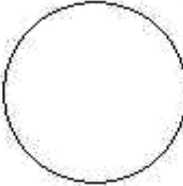
Окраска _____	

Препарат _____	

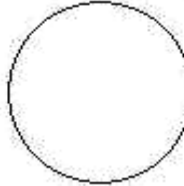
Окраска _____	

Препарат _____	

Окраска _____	

Препарат _____	

Окраска _____	

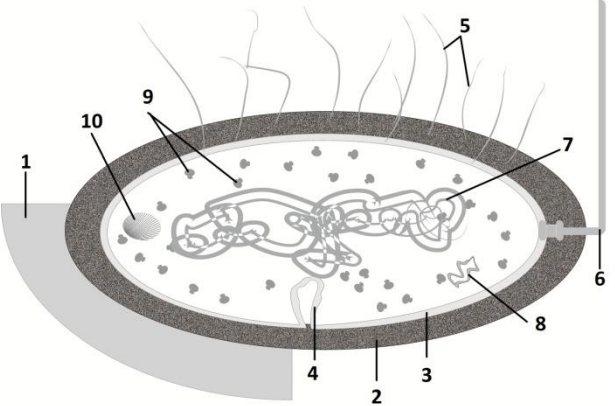
Препарат _____	

Окраска _____	

Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 2.

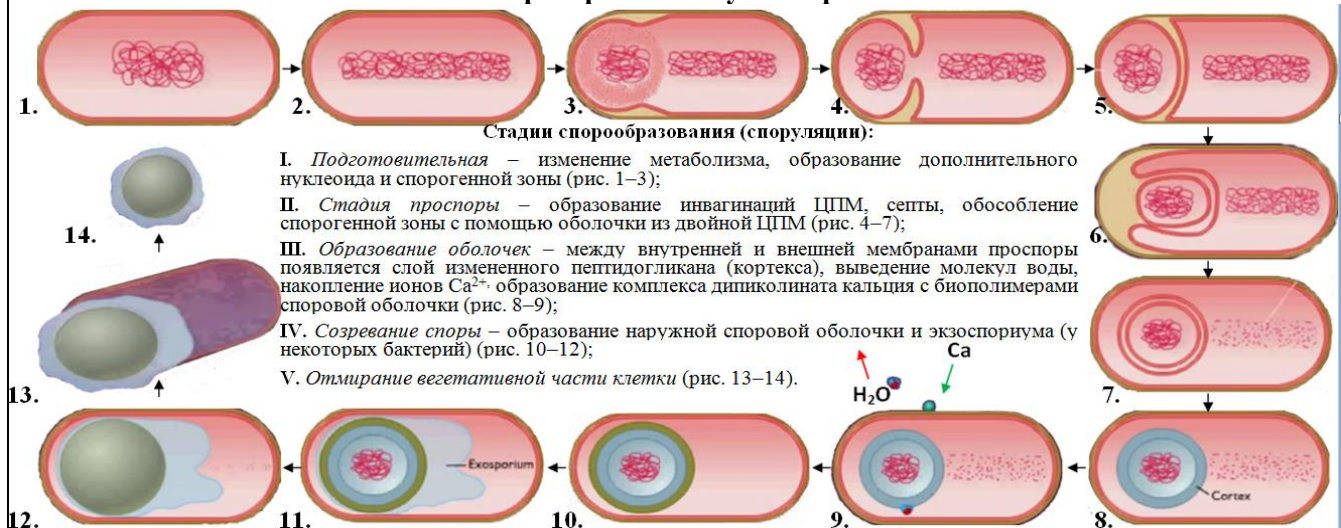
Укажите названия структур бактериальной клетки, их функции, методы выявления.

Схема строения бактериальной клетки 	Структура бактерии	Химический состав, строение	Функции	Методы выявления
	1.			
	2.			
	3.			
	4.			
	5.			
	6.			
	7.			
	8.			
	9.			
	10.			

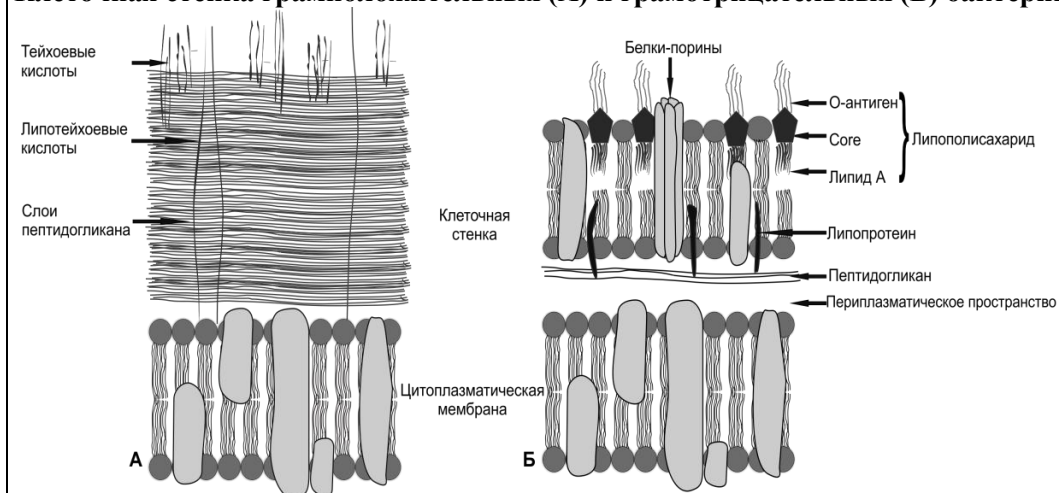
Нарисуйте варианты расположения жгутиков бактерий.

монотрих	лофотрих
	
амфитрих	перитрих
	

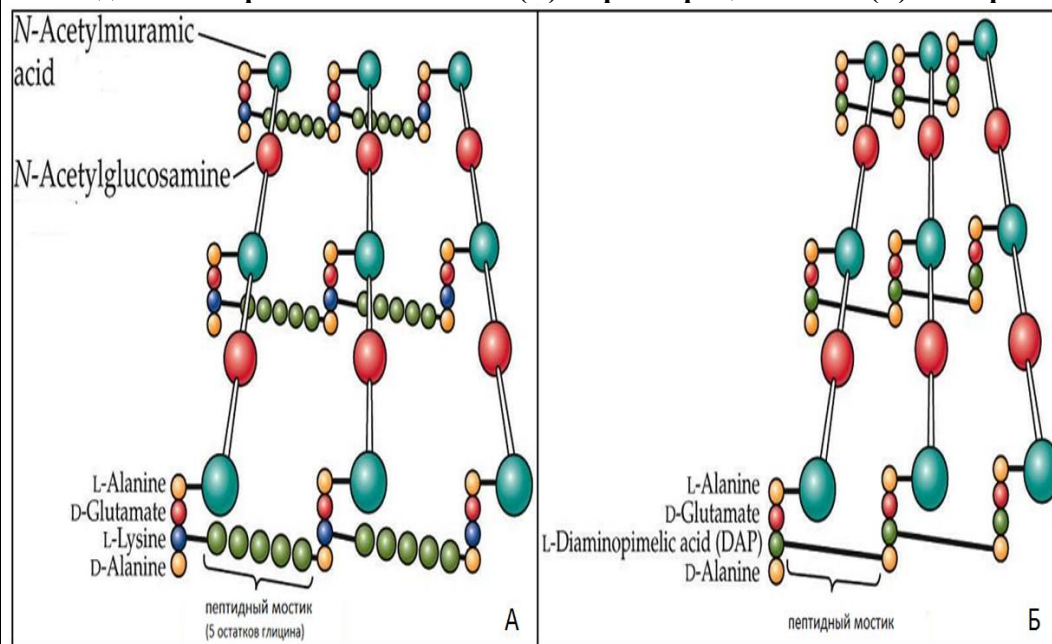
Спорообразование у бактерий



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



Пептидогликан грамположительных (А) и грамотрицательных (Б) бактерий



Различия между Грам+ и Грам– бактериями

Признак	Грамм+	Грамм–
Толщина КС, нм		
Содержание ПГ (%)		
Структура ПГ		
Наличие тейхоевых кислот		
Периплазматическое пространство		
Наружная мембрана		
Липополисахарид		
Белки-порины		
Спорообразование		

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

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

Сложные методы окраски клеточных структур бактерий

Окраска по Бурри–Гинсу (для выявления капсул)

1. Смешивают каплю взвеси микроба с каплей туши и при помощи стекла со шлифованным краем готовят препарат так же, как и мазок крови.
2. Препарат высушивают и фиксируют в пламени.
3. 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 Цилю–Нильсену (дифференциация кислотоустойчивых и кислотоподатливых бактерий)

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.

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.

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

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

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

Окраска по Леффлеру (для выявления зерен волютина)

1. На фиксированный мазок на 5 мин наносят щелочной раствор метиленовой синьки, промывают водой (простой метод).
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 на 2 мин наносят ацетат синьки Нейссера, промывают водой («кислый» краситель).
2. Наносят раствор Люголя — 30 секунд, промывают водой.
3. Везувин (или хризоидин) — 0,5–1 мин (щелочной краситель), промывают водой, высушивают фильтровальной бумагой, наносят иммерсионное масло, микроскопируют.

Механизм окраски. Структуры со щелочной pH воспринимают кислый краситель, структуры с кислой pH окрашиваются щелочным красителем.

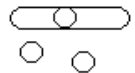
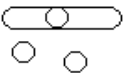
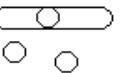
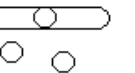
Зерна волютина, имеющие щелочную pH, окрашиваются в темно-синий цвет. Цитоплазма (кислая pH) окрашивается в желтый цвет.

Окраска по Ожешко (для выявления спор)

1. На нефиксированный мазок наносят 0,5 % соляной к-ты при подогревании, промывают 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 оболочек — «протравливания» — их обрабатывают 0,5 % раствором серной кислоты. Затем препарат окрашивают по методу Циля–Нильсена.

Споры (кислотоустойчивы) рубиново-красного цвета, вегетативные клетки — синего.

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

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

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

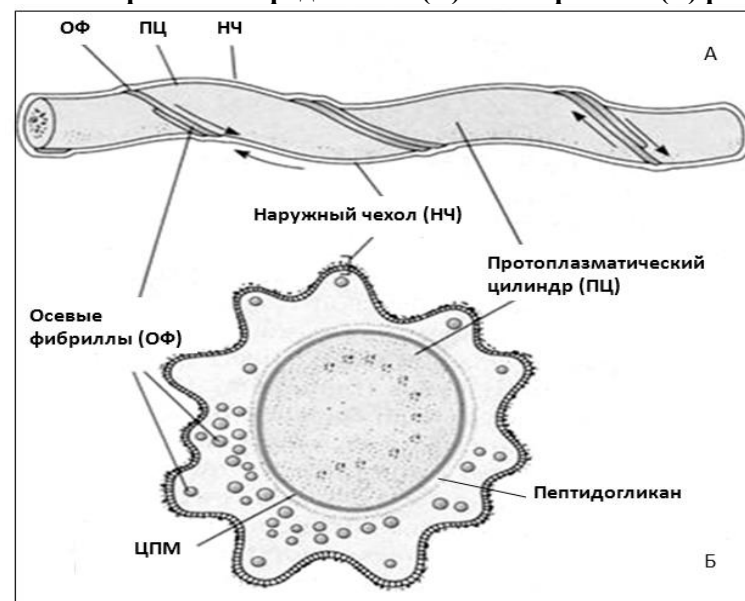
Механизм окраски. Краситель состоит из эозина, метиленового синего и азура, растворённых в метаноле или в смеси метанола с глицерином.

Окрашивает *ацидофильные образования в различные оттенки красного цвета, базофильные — в цвета от пурпурного до синего.*

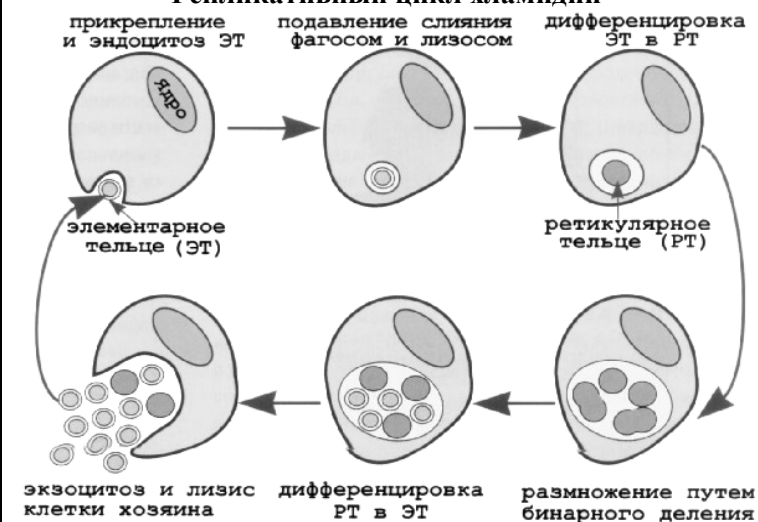
Дифференциация патогенных спирохет

Признак		<i>Treponema spp.</i>	<i>Borrelia spp.</i>	<i>Leptospira spp.</i>
Размеры, мкм	Длина			
	Толщина			
Количество завитков				
Характер завитков				
Окрашивание по Романовскому–Гимзе				
Схематический рисунок				

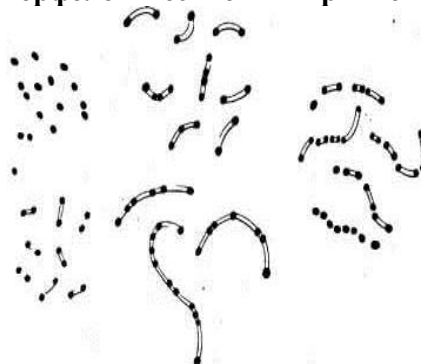
Клетка спирохеты в продольном (А) и поперечном (Б) разрезе



Репликативный цикл хламидий

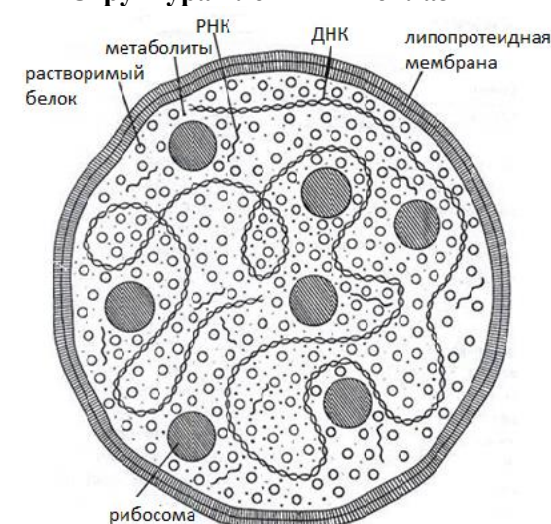


Морфологические типы риккетсий



- кокковидные однозернистые
- палочковидные двухзернистые
- удлиненные палочки трёх-, четырёхзернистые
- нитевидные многозернистые

Структура клетки микоплазмы



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

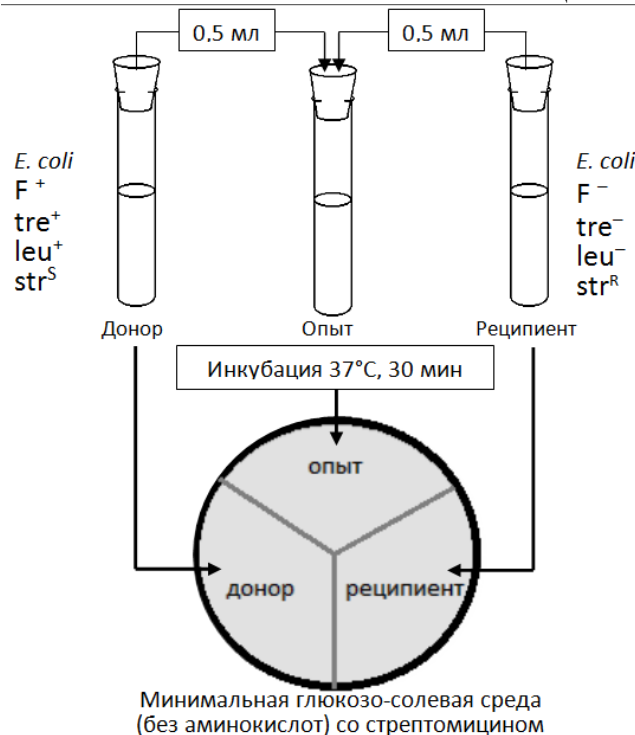
Перечень изучаемых вопросов. Устройство генетического аппарата бактерий. Виды изменчивости микроорганизмов. Практическое значение изменчивости. Генотипическая изменчивость. Мутации. Генетические рекомбинации: трансформация, трандукция, конъюгация. Принцип генетического анализа. Методы выделения мутантов. Плазмиды и их функции.

Методы молекулярной диагностики (молекулярная гибридизация, полимеразная цепная реакция). Определение. Задачи. Преимущества (см. методическое пособие). Молекулярная гибридизация: материал для исследования, зонды, постановка реакции, учёт и интерпретация результатов. Области применения. Полимеразная цепная реакция (ПЦР): материал для исследования, реагенты, аппаратура, постановка ПЦР, учёт и интерпретация результатов. Области применения.

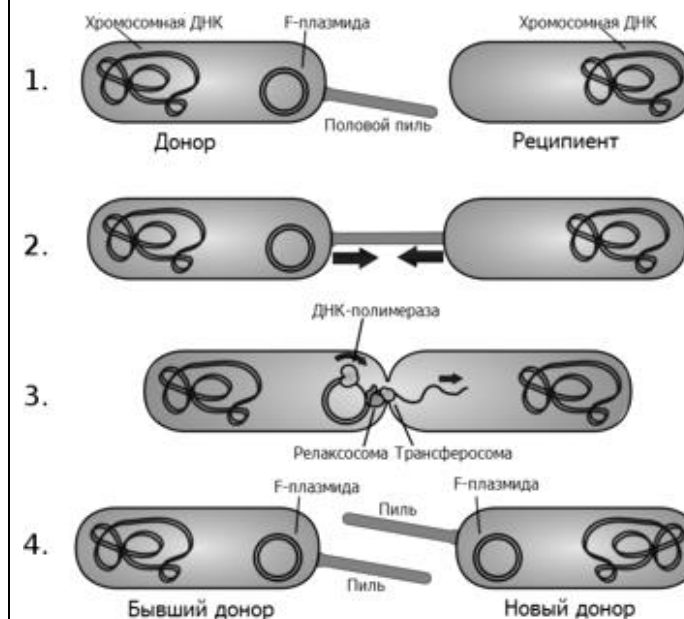
Лабораторная работа

1. Поставить опыт по конъюгации:
 - 1) инкубировать смесь культур *E. coli* донора и реципиента;
 - 2) сделать высев на минимальную среду.

Учет результатов (после 24 часов инкубации при 37 °С)

Схема постановки опыта по конъюгации

Заключение: _____

Сущность конъюгации

Подпись преподавателя _____

2. Учет результатов полимеразной цепной реакции (детекция продуктов амплификации, интерпретация результатов).

Схема проведения ПЦР

1. Экстракция (выделение ДНК):

- Маркировка эппендорфов (микропробирок) на 1,5 мл для выделения ДНК.
- Внесение 100 мкл биологического материала и 100 мкл отрицательного контроля в пробирки для выделения ДНК.
- Встряхивание и кипячение 10 мин (в лаборантской).

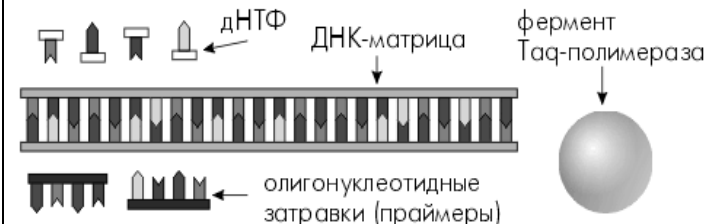
2. Постановка ПЦР:

- Приготовление реакционной смеси (см. рисунок).
- Маркировка пробирок для ПЦР (эппендорфы на 0,5 мл с парафином).
- Внесение 10 мкл реакционной смеси и 10 мкл жидкости из пробирок для выделения в ПЦР-пробирки.
- Амплификация (демонстраторий), 1 час.

3. Детекция: электрофорез в геле (20 мин), просмотр на трансиллюминаторе.

4. Учет и оценка результата.

Состав реакционной смеси



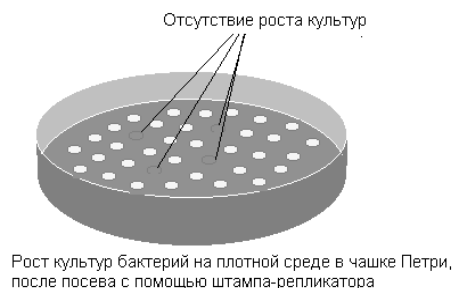
Исходные компоненты ПЦР

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

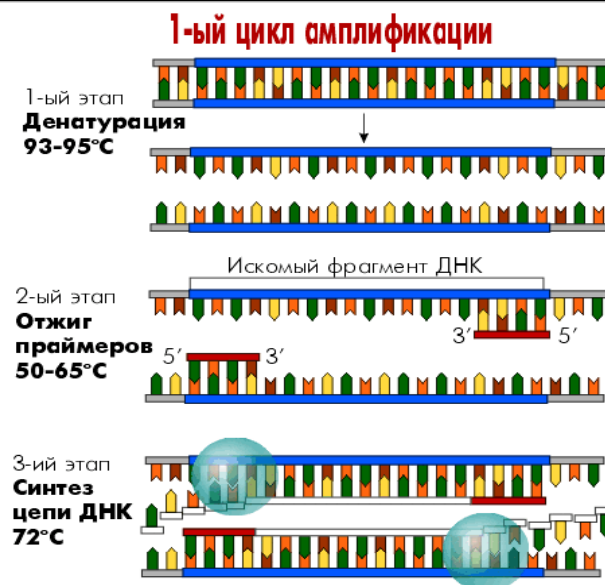
Демонстрация: Метод реплик

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

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



Характеристика этапов ПЦР



Подпись преподавателя _____

ТЕМА: Противомикробные мероприятия: методы стерилизации и дезинфекции, антисептика, асептика.
Культуральный (бактериологический) метод исследования. Методы выделения чистых культур бактерий

Перечень изучаемых вопросов: Определение понятий асептики, стерилизации, дезинфекции, антисептики.

Стерилизация. Способы и режимы проведения. Контроль качества стерилизации. Отличия стерилизации от дезинфекции.

Дезинфекция. Способы и виды дезинфекции. Виды дезинфектантов. Механизмы действия на микробы.

Антисептические средства, происхождение, свойства, группы, механизмы действия на микробы. Типы антисептики.

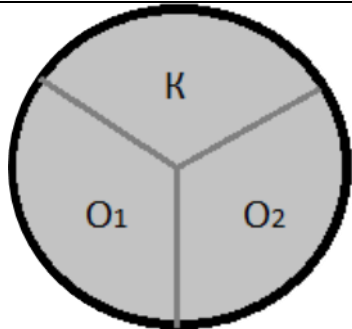
Методы контроля качества стерилизации, дезинфекции, антисептики.

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. Методы и аппаратура для создания анаэробии.

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

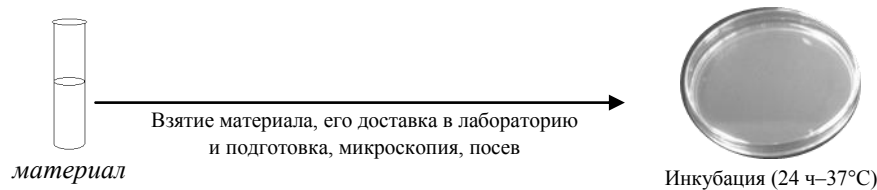
Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты	
1. Поставить опыт по антисептической обработке кожи рук.	Опыт по антисептике: 1. Контроль (К) — отпечаток кожи рук без обработки. 2. Опыт 1 (O₁) — отпечаток кожи рук после гигиенического мытья рук с мылом. 3. Опыт 2 (O₂) — отпечаток кожи рук после обработки антисептиком: • Обработка дистальной фаланги пальца 1 % раствором йодопирона (антисептик) — 2 мин; • Обработка дистальной фаланги пальца 1 % раствором тиосульфата натрия (нейтрализатор) — 2 мин; • Отпечаток пальца. Среда с посевом помещается в термостат на 24–48 ч, 37 °С.	 Схема постановки опыта
Демонстрация: • Аппаратура для стерилизации, растворы для дезинфекции, антисептики.	Учет опыта по антисептике: 1. Количество колоний бактерий на контрольном отпечатке _____. 2. Количество колоний бактерий на отпечатке «опыт 1» _____. 3. Количество колоний бактерий на отпечатке «опыт 2» _____. Закключение: _____ _____ _____	

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

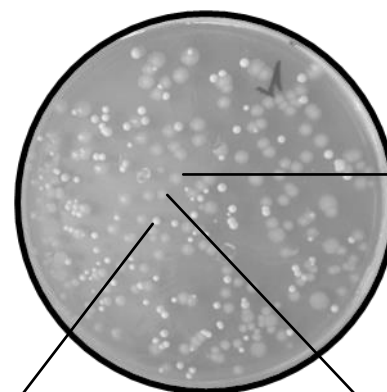
- охарактеризовать колонии;
- приготовить мазки из различных типов колоний, определить морфологию микроорганизмов в мазках;
- произвести посев грамотрицательных бактерий для накопления биомассы чистой культуры.

I этап бактериологического исследования:



II этап бактериологического исследования (выделение чистой культуры):

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



Инкубация

III этап

Препарат _____

Окраска _____

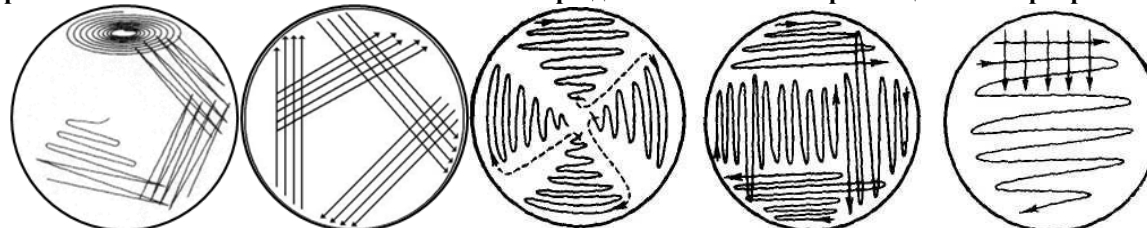
Препарат _____

Окраска _____

Демонстрация:

- техники посева на питательные среды;
- различные виды питательных сред и виды биоматериалов;
- различные типы колоний;
- аппаратура для создания анаэробноза.

Варианты техники посева петлей на чашки Петри для механического разобщения микроорганизмов

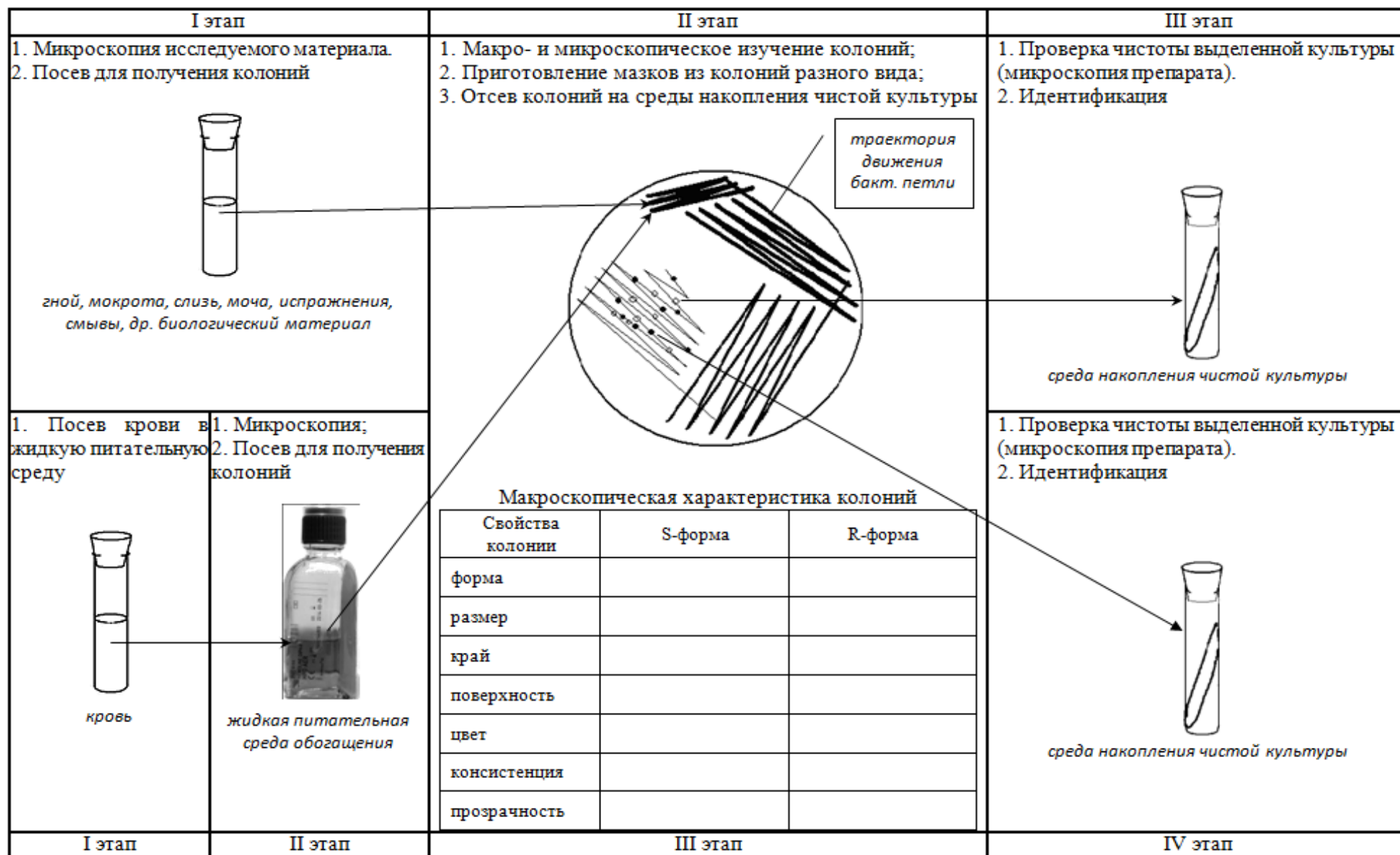


Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 4.

Классификация питательных сред По происхождению 1) естественные — натуральные продукты животного или растительного происхождения (мясо, молоко, картофель, сенной отвар); 2) искусственные содержат высокомолекулярные органические компоненты естественного происхождения (пептон, мясной экстракт, казеин). Различают простые и сложные (с добавлением факторов роста) питательные среды; 3) 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. По назначению 1) общего назначения (МПБ, МПА) — для роста большинства микробов; 2) элективные — избирательно способствуют росту одного вида микробов из смеси (напр., 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); • Содержащие индикаторы, углеводы или многоатомные спирты; ферментативное расщепление приводит к сдвигу pH и изменению окраски среды (напр., среды Гисса, Клиглера и др.); • Среда для определения редуцирующей способности (напр., среды с кра-сителями, обесцвечивающимися при восстановлении и др.); • Среда, включающие вещества, ассимилируемые только определенной группой бактерий (напр., цитратный агар Симмонса). По цели использования 1) транспортные (для доставки материала в лабораторию); 2) обогащения (подавляют рост микробов, сопутствующих возбудителю, стимулируют рост возбудителя); 3) выделения чистой культуры (для получения изолированных колоний); 4) накопления чистой культуры; 5) консервирующие (для длительного хранения культур в условиях низ-ких температур). По консистенции 1) жидкие; 2) полужидкие (при добавлении агар-агара в концентрации 0,5–0,7 %); 3) плотные — свыше 1 % агар-агара.	Бактериологический (культуральный) метод исследования — совокупность спосо-бов, направленных на выделение и идентификацию чистых культур бактерий (микроор-ганизмов) с помощью культивирования на питательных средах. Чистая культура — бактерии одного вида, выращенные в лабораторных условиях, свойства которых находятся в процессе изучения (чаще всего чистую культуру полу-чают путем отбора и культивирования изолированной колонии). Колония бактерий — изолированное скопление бактерий одного вида на плотной питательной среде (потомство одной микробной клетки). Цели метода: 1. Установление этиологии инфекционного заболевания. 2. Определение чувствительности микроорганизма к антибиотикам и бактериофагам. 3. Определение количества микроорганизмов в материале. 4. Типирование микроорганизмов (определение фаго- и сероваров) в эпидемиологиче-ских целях. Этапы метода (принципиальная последовательность): 1. Забор материала (его транспортировка и хранение при необходимости). 2. <i>Выделение чистой культуры</i> • Подготовка материала к исследованию • Приготовление микропрепаратов из материала • Обогащение материала (при необходимости) • Посев на питательные среды для получения изолированных колоний 3. <i>Накопление чистой культуры</i> • Изучение морфотипов колоний (макро- и микроскопическое) • Отсев колоний на среду накопления 4. <i>Идентификация чистой культуры</i> • Оценка чистоты выделенной культуры (макро- и микроскопически) • Изучение биохимических, серологических, биологических и др. свойств возбу-дителя для определения его систематического положения 5. Заключение: вид (подвид) микроорганизма, его количество в материале (для условно-патогенных), устойчивость к антибиотикам (при определении АБ-резистентности). Оценка метода: + высокая чувствительность (около 10² микробов в мл) и специфичность; ранний метод диагностики; возможность определения количества микробов в материале; возможность оценки чувствительности возбудителя инфекции к антибиотикам. – относительная длительность; трудоёмкость; опасность инфицирования; метод дорого-стоящий.
--	---

Этапы бактериологического метода исследования



Методы выделения чистых культур аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов

1. Методы механического разобщения микроорганизмов:

- а) посев материала на чашки Петри шпателем или петлей;
- б) посев разведений материала — готовят десятикратные разведения материала в расплавленном и остуженном до 45 °С МПА, затем выливают содержимое пробирок в стерильные чашки Петри, дают агару застыть и инкубируют чашки в термостате;
- в) разобщение на основе подвижности микробов. Материал засевают в каплю конденсационной жидкости скошенного МПА. При этом подвижные микробы как бы «мигрируют» вверх по агаровому скосу и располагаются в верхней части агара. При 2–3-кратном пассировании этих колоний в конденсационную жидкость скошенного агара удастся 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 фильтрах. Этот метод используют для получения чистых культур вирусов и микоплазм.

2. Метод заражения чувствительных лабораторных животных (биологический) основан на избирательной чувствительности организма животного к микробам различных видов, что выражается в высокой 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) температуры: спорообразующие микробы выживают при нагревании смеси микробов до 80 °С, 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) щелочей: использование щелочной пептонной воды для выделения *V. cholerae*;
- г) солей: рост стафилококка на средах с добавлением 10 % NaCl;
- д) антибиотиков: при посеве смеси микробов на среду с добавлением антибиотика вырастают нечувствительные к нему микробы;
- е) красителей: подавление роста Грам+ бактерий добавленным к питательной среде метиленовым синим (среда Левина);
- ж) специфических ингибиторов: среда с теллуридом калия используется для выделения *C. diphtheriae*.

Принципы и методы выделения чистых культур и культивирования облигатно-анаэробных микроорганизмов

1. **Забор материала в строго анаэробных условиях** (из глубины очага поражения при его вскрытии или пунктировании; кровь засевают во флаконы со средой для анаэробов, не вскрывая их (прокалывая шприцем с кровью резиновую пробку)).

2. **Использование транспортных сред**, предотвращающих токсическое действие кислорода и бескислородных газовых смесей при транспортировке.

3. **Применение специальных сред для культивирования** с добавлением факторов роста (дрожжевой экстракт (0,5 %), витамин К, гемин, бараньи эритроциты, лошадиная сыворотка, твин-80, аргинин и др.) и селективных ингибирующих добавок (антибиотики аминогликозиды), имеющих низкий окислительно-восстановительный потенциал.

4. **Культивирование в атмосфере с содержанием кислорода не более 0,1 %**. В современной лабораторной практике работу с анаэробами проводят с использованием анаэробных камер (см. рис. Г), микроанаэростатов (А, Б), анаэробных пакетов (В). Возможно выращивание анаэробов в высоком столбике питательной среды после удаления из неё растворенного кислорода длительным кипячением. Среду быстро охлаждают, засевают материал, столбик среды заливают стерильным вазелиновым маслом или парафином. Пробирку закрывают резиновой пробкой.

Аппаратура для создания анаэробноза



А — микроанаэростат, Б, В — вакуумный контейнер с газогенерирующими пакетами, Г — стационарный анаэробный бокс

Противомикробные мероприятия — совокупность способов уничтожения, подавления жизнедеятельности, снижения численности и ограничения распространения потенциально патогенных для человека микроорганизмов в целях профилактики и лечения инфекционных заболеваний.

Противомикробный режим — совокупность строго регламентированных и обязательных для выполнения противомикробных мероприятий в лечебных, детских или иных учреждениях и производствах.

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

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

Дезинфекция — комплекс способов полного, частичного или селективного уничтожения потенциально патогенных для человека микроорганизмов на объектах внешней среды с целью разрыва путей передачи возбудителей инфекционных заболеваний от источников инфекции к восприимчивым людям.

Антисептика — совокупность способов уничтожения или подавления жизнедеятельности потенциально опасных для здоровья человека микроорганизмов на коже, слизистых оболочках и в полостях с целью профилактики или лечения инфекционных процессов.

Впишите в таблицу возможные способы стерилизации указанных объектов.

Стерилизуемые объекты	Способы стерилизации
Бактериологические петли	
Перевязочный материал (марля, вата, бинт)	
Изделия из резины, пластика	
Стеклянные изделия	
Основные питательные среды (МПА, МПБ)	
Питательные среды с нативным белком	
Воздух (в операционных)	
Растворы, содержащие вещества, инактивирующиеся при температуре свыше 60 °С	

Аппаратура для проведения стерилизации

Стерилизаторы паровые (автоклавы)		Сухожаровые шкафы
вертикальный	горизонтальные	
		
		

Опишите методы контроля качества стерилизации.

физический	
химический	
бактериологический	

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

Перечень изучаемых вопросов: Идентификация микробов, её принципы и методы. Вид бактерий, критерии вида.

Биохимические свойства микробов и методы их изучения. Ферменты микробов, их значение для идентификации: а) протеолитические (протеазы, пептидазы, дез-аминазы, декарбоксилазы, цистиназа, триптофаназа, уреазы); б) сахаролитические (карбогидраза, амилаза); в) липолитические (липаза, лецитиназа); г) окислительно-восстановительные (дегидрогеназы, оксидазы, каталаза); д) гемолизины. Альфа-, бета-, гамма-гемолиз.

Автоматические микробиологические анализаторы, принципы работы.

Лабораторная работа

1. Учет опыта по антисептике (см. занятие № 4).

2. Третий этап выделения чистых культур аэробов (идентификация культуры):

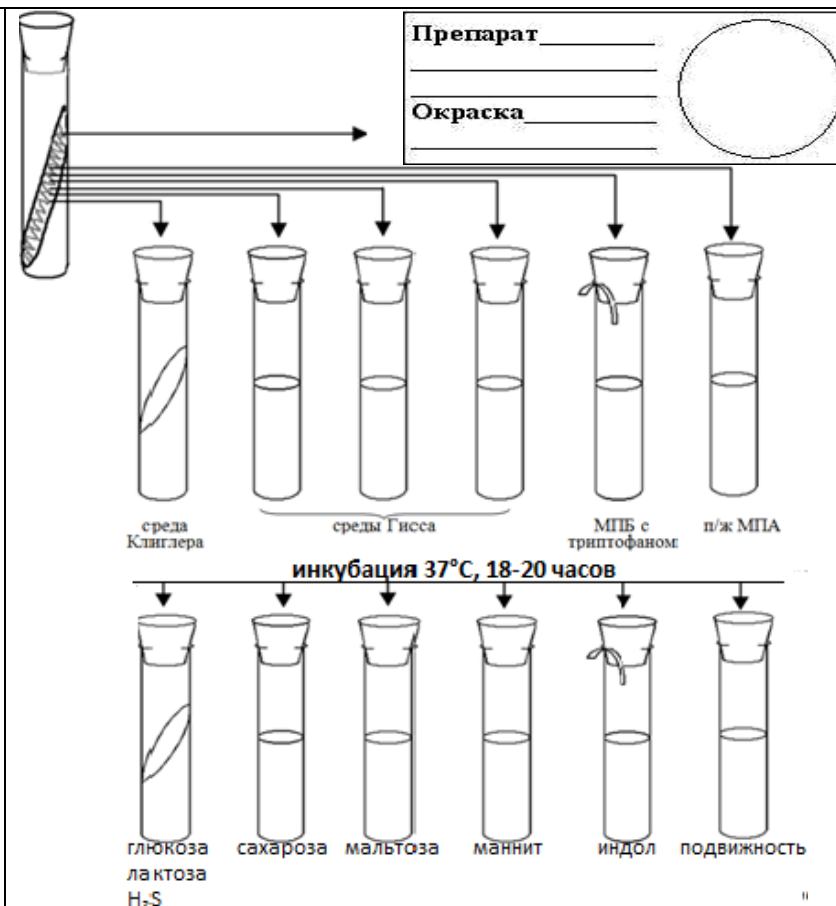
- приготовить мазок для подтверждения чистоты выделенной культуры, окрасить по Граму, определить морфологию бактерий в мазке;
- произвести посев на среду Клиглера, на среды с сахарозой, мальтозой, маннитом, поставить пробы на индол и на подвижность.

Учёт (проводится на занятии № 6):

- 1) провести учет результатов биохимических тестов и теста на подвижность;
- 2) осуществить интерпретацию результатов, сделать заключение (см. таблицу).

Вид	Морфология	Культуральные свойства	Биохимические и др. признаки							
			глюкоза	лактоза	мальтоза	маннит	сахароза	H ₂ S	индол	подвижность
<i>E. coli</i>	Грам-палочка	S-колонии средних размеров	КГ	КГ	КГ	КГ	—	—	+	+
<i>S. Typhi</i>	Грам-палочка	S-колонии средних размеров	К	—	К	К	—	+	—	+
<i>S. Paratyphi A</i>	Грам-палочка	S-колонии средних размеров	КГ	—	КГ	КГ	—	—	—	+
<i>S. Schottmuelleri</i>	Грам-палочка	S-колонии средних размеров	КГ	—	КГ	КГ	—	+	—	+
Х-микроб										

Заключение: по морфологическим, культуральным и биохимическим признакам идентифицирован _____



Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 5.

Биохимическая идентификация микроорганизмов основывается на определении ферментов микроорганизмов. Присутствие ферментов определяют по их способности разлагать соответствующие субстраты.

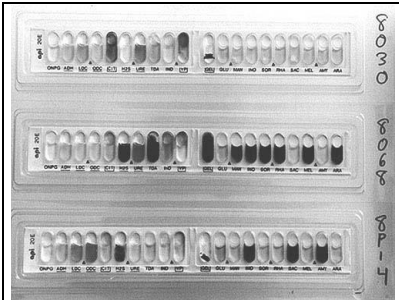
Дифференциально-диагностические среды — специальные питательные среды, применяемые для определения видовой принадлежности микробов и изучения их свойств по утилизации или ферментативному расщеплению субстрата, содержащегося в среде.

Определение некоторых биохимических свойств микроорганизмов

Ферменты	Среда для детекции
САХАРОЛИТИЧЕСКИЕ ФЕРМЕНТЫ	
карбогидразы	Дифференциально-диагностические среды для энтеробактерий (Эндо, Левина, Плоскирева) с лактозой и анилиновыми красителями. Лас+ бактерии образуют окрашенные колонии, Лас-: бледно-розовые или бесцветные колонии
	Полиуглеводные среды (Клигlera, Ресселя, Олькеницкого)
	Жидкие или полужидкие моноуглеводные среды Гисса («пёстрый ряд»)
ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИЕ ФЕРМЕНТЫ	
желатиназа	Посев уколом в столбик желатина. Gel+: разжижение желатина
триптофаназа	МПБ с триптофаном и индикатор на индол (щавелевая кислота). В положительном случае — появление розового окрашивания
десульфуразы	Среды с цистеином, метионином и реактивом на H_2S (солями железа, свинца, висмута). H_2S +: почернение среды из-за образования сульфидов металлов
уреаза	Среда с мочевиной и pH-индикатором (феноловым красным) Ure+: покраснение среды в результате её защелачивания
ЛИПОЛИТИЧЕСКИЕ ФЕРМЕНТЫ	
лецитиназа	Посев на желточный агар. Lec+: появление вокруг колоний опалесцирующих зон («венчики помутнения»)
ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫЕ ФЕРМЕНТЫ	
оксидаза	Индикаторная бумага с тетраметилпарафенилендиаминном Oxi+: появление фиолетового окрашивания
каталаза	Внесение культуры в каплю 3 % H_2O_2 . Cat+: появление пузырьков газа
ФЕРМЕНТЫ-ТОКСИНЫ	
гемолизины	Посев на кровяной агар (5–10 %). β -гемолиз (полный гемолиз) — образуются зоны просветления вокруг колоний. α -гемолиз (неполный гемолиз) — наличие зон зеленого цвета вокруг колоний. Отсутствие гемолиза — γ -гемолиз
плазмокоагулаза	Внесение культуры в цитратную плазму крови кролика. В положительном случае — коагуляция плазмы (образование желеобразного сгустка)

Раскрасьте ячейки в соответствии с цветом.

Индикатор	Цвет индикатора при pH		
	кислая	нейтральная	щелочная
Андреде	красный	светло-желтый	светло-желтый
Бромтимоловый синий	желтый	травянисто-зеленый	синий
ВР	синий	бесцветный	розовый
Феноловый красный	желтый	красный	малиновый



Тест-система для биохимической идентификации бактерий

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.

Автоматические микробиологические анализаторы (внешний вид)



Методы идентификации микроорганизмов

Критерии вида						
морфологический	культуральный	биохимический	серологический	биологический	генетический	экологический
• форма • размер • взаимное расположение • подвижность • наличие капсулы • спорообразование • наличие включений • тинкториальные свойства • кислотоустойчивость	• рост на специальных средах • условия роста и размножения • характер роста в жидкой среде (диффузное помутнение, пленка, придонный рост и др.) • характер колоний: (форма, размер, цвет, поверхность, край, консистенция, прозрачность)	• ферменты (см. таблицу ниже) • профиль жирных кислот (для анаэробов)	• определение антигенной структуры • определение видов- и типоспецифических антигенов <i>Взаимодействие со специфическими сы-воротками</i>	• вирулентность для животных • токсигенность • чувствительность к бактериофагам (определение фаго-вара) • чувствительность к антибиотикам	• содержание Г+Ц (%) в ДНК • последовательность нуклеотидов в ДНК и РНК <i>Применяют молекулярно-генетические методы (ПЦР, гибридизацию, секвенирование)</i>	• естественное место обитания вида
ферменты						
протеолитические	сахаролитические	липолитические	окислительно-восстановительные	ферменты-токсины		
• протеазы, • протеиназы, • аминопептидазы, • карбоксипептидазы, • декарбоксилазы, • триптофаназа, • десульфуразы, • уреазы	• амилазы, • целлюлазы, • карбогидразы (сахараза, мальтаза, лактаза и др.)	• липазы, • лецитиназа	• оксидазы, • каталазы, • дегидразы, • пероксидазы	• гемолизины, • плазмокоагулазы, • лецитиназа, • гиалуронидаза, • ДНК-азы, • РНК-азы		

ТЕМА: Основы учения об инфекции. Методы изучения нормальной микрофлоры тела человека**Перечень изучаемых вопросов:**

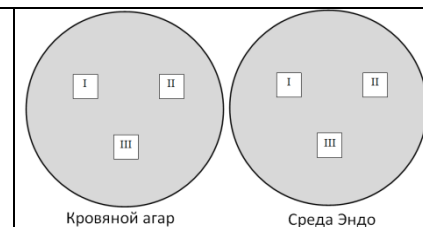
Инфекция, определение, условия возникновения, роль микро- и макроорганизма. Отличительные признаки инфекционных заболеваний. Типы инфекций.

Патогенность и вирулентность микробов, генетический контроль, островки патогенности. Факторы патогенности, единицы измерения вирулентности. Методы определения адгезинов, токсигенности, ферментов-токсинов, капсульного вещества.

Нормальная микрофлора человека и её биологическая роль. Методы изучения нормальной микрофлоры. Гнотобиология. Дисбактериоз, причины развития, принципы коррекции.

Лабораторная работа**1) Посев для изучения нормальной микрофлоры и выявления дисбактериоза**

1. Стерильные кусочки фильтровальной бумаги 1×1 см в чашке Петри увлажнить стерильным физ. раствором.
2. Стерильным пинцетом поместить кусочек бумаги на поверхность кожи и слизистых оболочек в три исследуемых биотопа (I, II, III) — 0,5 мин (в каждый биотоп помещается по 2 квадрата бумаги).
3. Поместить бумагу на поверхность плотной питательной среды (отпечаток) — 1 мин.
4. Бумагу удалить.
5. Чашки с отпечатками инкубировать при 37 °С, 24–48 ч.



Учет посева микрофлоры (выполняется на следующем занятии): определить наличие роста, описать колонии, приготовить препараты из разных типов колоний, окрасить по Граму, микроскопировать.

Биотоп	I:		II:		III:	
Количество и характер колоний на средах	Кровяной агар	Среда Эндо	Кровяной агар	Среда Эндо	Кровяной агар	Среда Эндо

Препарат _____

Окраска _____

Препарат _____

Окраска _____

Препарат _____

Окраска _____

2) Приготовление и окраска по Граму препарата зубного налета, микроскопия

Препарат _____

Окраска _____

3) Учёт результатов биохимической идентификации (см. занятие № 5)

Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 6.

Методы изучения нормальной микрофлоры

1. Микроскопический метод. Имеет самостоятельное значение для изучения биотопов организма человека, в которых обитает большое количество различных видов микроорганизмов (полость рта, кишечник, вагина). Метод 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 микроорганизмы, которые не культивируются на питательных средах.

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

Принципы бактериологического исследования:

а) использование качественной (видовой состав) и количественной (количественное соотношение разных видов) оценки микрофлоры;

б) первичный посев материала без предварительного обогащения, так как обогащение нарушает количественные соотношения видов;

в) использование большого набора различных питательных сред, подбор условий культивирования (аэробные, анаэробные, атмосфера CO₂ и т. д.).

Методы взятия материала для исследования:

- получение естественных экскретов (слюна, моча, испражнения);

- метод аппликаций (отпечатков) — снятие микроорганизмов с помощью бумажных фильтров определенной площади и перенос отпечатков фильтров на поверхность агаровой среды;

- соскоб со слизистых;

- метод смывов увлажненным стерильным ватным тампоном с кожи или слизистых;

- аспирационный метод (из межзубных пространств, периодонтальных карманов, из верхних и средних отделов дыхательных путей).

- взятие материал из желудка и кишечника с помощью зондов.

КЛАССИФИКАЦИЯ ИНФЕКЦИЙ (ИНВАЗИЙ)

<u>По природе возбудителя:</u> • бактериозы • вирусозы • микозы • протозоозы • гельминтозы • инфестации • прионные болезни	<u>По числу возбудителей:</u> • моноинфекция • смешанная (микст-инфекция)	<u>По источникам инфекции:</u> • антропонозы (человек) • зоонозы (животные) • антропозоонозы (чаще человек, реже животное) • зооантропонозы (чаще животное, реже человек) • сапронозы (внешняя среда)
<u>По путям инфицирования:</u> • экзогенные • эндогенные • аутоинфекция	<u>По механизмам передачи:</u> • аэрозольный • фекально-оральный • контактный • трансмиссивный • вертикальный (трансплацентарный)	<u>По кратности инфицирования:</u> • однократная • реинфекция • суперинфекция • вторичная • рецидив
<u>По выраженности:</u> • abortивная • микробоносительство • инаппарантная • латентная • манифестная	<u>По длительности:</u> • молниеносные • острые • подострые • первично-хронические • вторично-хронические • медленные	<u>По распространенности:</u> • очаговая • системная • генерализованная: – бактериемия – вирусемия – токсинемия – сепсис, септицемия, септикопиемия
<u>По месту заражения:</u> • внутрибольничные • внебольничные	<u>В зависимости от поражаемых систем органов:</u> • инфекции дыхательных путей; • инфекции ЖКТ; • инфекции крови; • инфекции кожи и др.	
<u>Стадии инфекционного заболевания:</u> • инкубационный период — от момента внедрения возбудителя в макроорганизм до появления первых неспецифических клинических симптомов болезни; • продромальный период (неспецифические симптомы: температура, головная боль, миалгии и др.); • разгар заболевания (специфические диагностические симптомы); • исход заболевания: (выздоровление, микробоносительство, хронизация, летальный).		

ТЕМА: Микробиологические основы химиотерапии и антисептики бактериальных инфекций. Методы изучения чувствительности микробов к антибиотикам. Биологический метод исследования

Перечень изучаемых вопросов:

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.

Лабораторная работа

1) Провести учет посева микрофлоры, приготовить препараты из разных типов колоний, окрасить, микроскопировать (см. занятие № 6)

2) Поставить опыт по определению чувствительности бактерий к антибиотикам методом бумажных дисков.

Мюллер–Хинтон агар (состав среды):

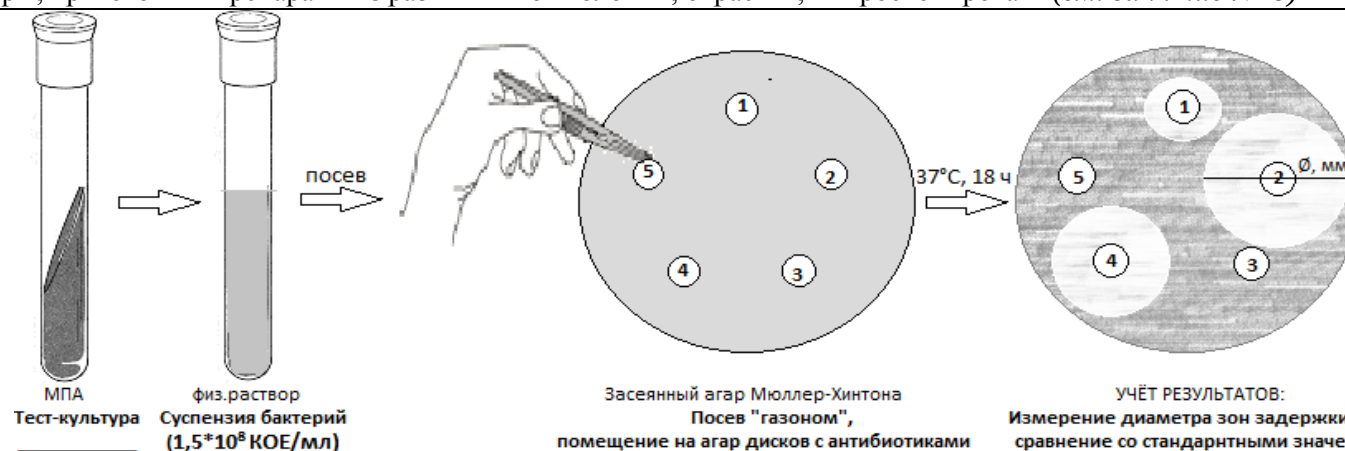
Мясной экстракт — 2,0

Панкреатический гидролизат казеина — 17,5

Крахмал кукурузный — 1,5

Агар-агар — 17,0

Вода дистиллированная — 1 л
pH 7,4±0,2



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

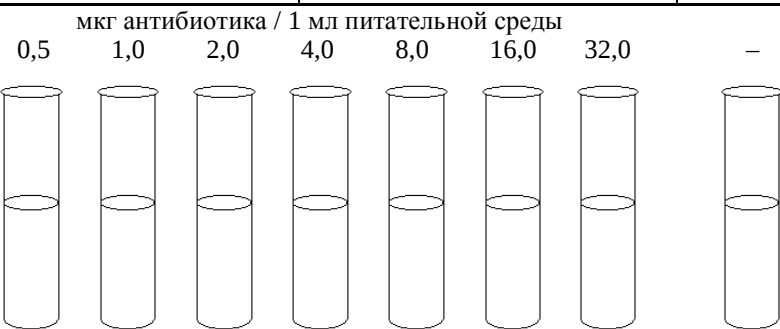
Антибиограмма:

Антибиотик	Диаметр зоны, мм	Интерпретация результата

Критерии интерпретации результатов определения чувствительности бактерий

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

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



Заключение: минимальная ингибирующая концентрация антибиотика составляет _____ мкг/мл.

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		

Контроль — среда
без антибиотика

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

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

Подпись преподавателя_____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 7.

Определение чувствительности-устойчивости бактерий к антибиотикам

I. Фенотипические методы:

1) Диффузионные методы:

- диско-диффузионный (метод бумажных дисков);
- эпиллометрический (метод Е-тестов).

2) Методы серийных разведений антибиотика:

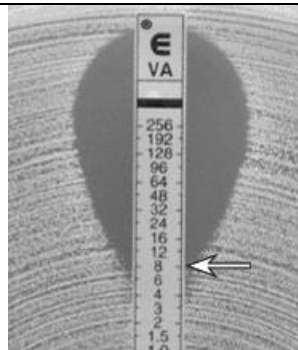
- в бульоне;
- в агаре.

3) Ускоренные методы — оценка жизнеспособности бактерий проводится с применением индикаторов их метаболической активности (окислительно-восстановительного потенциала).

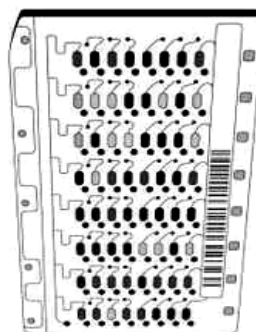
4) Автоматизированный метод с использованием автоматических микробиологических анализаторов.

II. Генотипические методы — выявление генетических маркеров резистентности с помощью методов молекулярно-биологического анализа (ПЦР, ПЦР-ПДРФ, ДНК-гибридизация, секвенирование).

Метод Е-тестов. Используют стандартные пластиковые полоски с нанесенным на них экспоненциально убывающим градиентом концентрации антибиотика (напр., 256–0,016 мкг/мл). Метод основан на диффузии антибиотиков в агар. Позволяет определять активные препараты и их минимальную ингибирующую концентрацию (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 (указана стрелкой на рисунке).



Автоматические микробиологические анализаторы используют стандартные тест-системы — карты с лунками, заполненными дегидратированными антибиотиками, углеводами, индикаторами pH (рис.). После приготовления исследователем суспензии тест-бактерий прибор автоматически распределяет взвесь микробов по лункам тест-системы, инкубирует при 35 °С. Каждые 2 часа прибор проводит нефелометрию и спектрофотометрию образца и по изменению мутности и цвета среды определяет МИК антибиотика. Сравнивает ее со стандартными величинами МИК и относит тест-культуру к чувствительным, умеренно-устойчивым или резистентным штаммам.



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

Цели метода:

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

Этапы метода:

1. Забор и обработка материала.
2. Выбор лабораторных животных, исходя из их чувствительности к предполагаемому возбудителю, их стандартизация и маркировка.
3. Заражение животных.

Способ заражения зависит от тропизма микроба, вида материала, вида животного

4. Прижизненный забор материала от животного и проведение бактериологического и серологического исследования, постановка аллергической пробы.
5. Вскрытие, изучение патоморфологической картины, протокольный посев органов павших или убитых животных (для выявления обсемененности и выделения чистой культуры). Приготовление мазков-отпечатков из внутренних органов.
6. Идентификация выделенной культуры.
7. Заключение по результатам исследования.

Оценка метода:

+ относительно высокая чувствительность, высокая специфичность, ранний метод диагностики
– длительность, ограниченная доступность, опасность инфицирования

Занятие № 8

Дата: _____

ТЕМА: Экология микроорганизмов. Итоговое занятие «Общая микробиология»

Перечень изучаемых вопросов: Экология микроорганизмов. Формы экологических связей. Практическое использование микробного антагонизма. Понятие о бактериоциногении. Распространение микробов в природе. Микрофлора почвы, воздуха и воды.

Перечень вопросов к итоговому занятию:

1. Микробиология как наука, основные этапы развития, основоположники. Медицинская микробиология, задачи, методы. 2. Характеристика бактериоскопического метода исследования. 3. Световые микроскопы. Принципы устройства простого, фазово-контрастного, темнопольного, люминесцентного микроскопов и их применение в микробиологии. Техника иммерсионной микроскопии. 4. Типы микроскопических препаратов. Этапы приготовления фиксированного мазка. Простые методы окраски. 5. Дифференциально-диагностические методы окраски микробов. Окраска по Граму, механизм и техника окраски. 6. Морфология бактерий. Отличия прокариотов от эукариотов. Основные формы бактерий. 7. Структура бактериальной клетки. Поверхностные образования бактерий, их строение, функции, 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 и проникновения питательных веществ в клетку через мембрану. 19. Дыхательный аппарат бактерий. Пути биологического окисления. Классификация микробов по этому признаку. 20. Способы размножения микробов. Механизм и фазы клеточного деления. 21. Характеристика бактериологического метода исследования. 22. Питательные среды для аэробов и анаэробов. Требования, предъявляемые к питательным средам, классификация. 23. Методы выделения чистых культур аэробов. 24. Методы выделения чистых культур анаэробов. 25. Идентификация микроорганизмов: морфологическая, культуральная, серологическая, биологическая, генетическая. 26. Биохимическая идентификация бактерий: определение протеолитических, сахаролитических, липолитических свойств, выявление гемолизина и оксидоредуктаз. Использование	автоматических микробиологических анализаторов. Генетический аппарат бактерий: нуклеоид, плазмиды, мобильные генетические элементы, их характеристика. Биологическая роль плазмид. 27. Виды изменчивости бактерий. Фенотипическая и генотипическая изменчивость. Понятие о популяционной изменчивости. 28. Мутационная изменчивость. Генетические рекомбинации. Практическое значение изменчивости микроорганизмов. Понятие о генной инженерии и биотехнологии. 29. Характеристика молекулярно-биологического метода исследования. Цели. Задачи. Методы. Молекулярная гибридизация. 30. 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. Группы дезинфектантов. 45. Антисептика, определение понятия, способы проведения. Группы антисептиков. 46. Асептика, определение понятия, методы. Противомикробный режим. 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 <i>E. coli</i>, 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: Иммунная система. Врожденный иммунитет**Перечень изучаемых вопросов:**

Иммунная система организма человека: органы, клетки, молекулы (CD-антигены, молекулы I, II, III классов ГКГС, цитокины, адгезины и др.).

Иммунитет, определение понятия, виды иммунитета. Факторы иммунной и неиммунной природы врожденного иммунитета.

Система комплемента: состав, пути активации, функции. Лизоцим. Бета-лизины. Белки острой фазы.

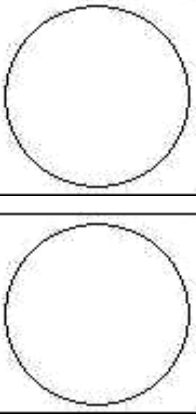
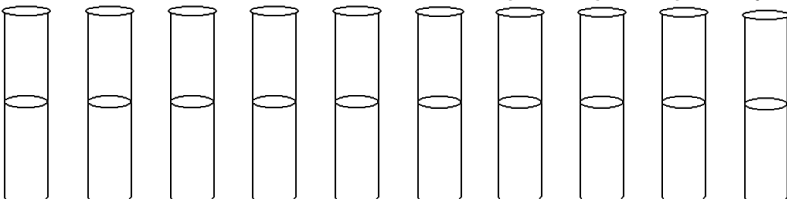
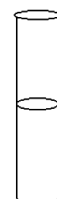
Система полиморфноядерных и мононуклеарных фагоцитов. Фагоцитарная реакция: фазы, механизмы внутриклеточной бактерицидности, исходы.

Антигенпрезентирующие клетки (АПК). Естественные киллеры (NK).

Механизмы распознавания в системе врожденного иммунитета. Рецепторы, распознающие структуры микробов. Toll-подобные рецепторы.

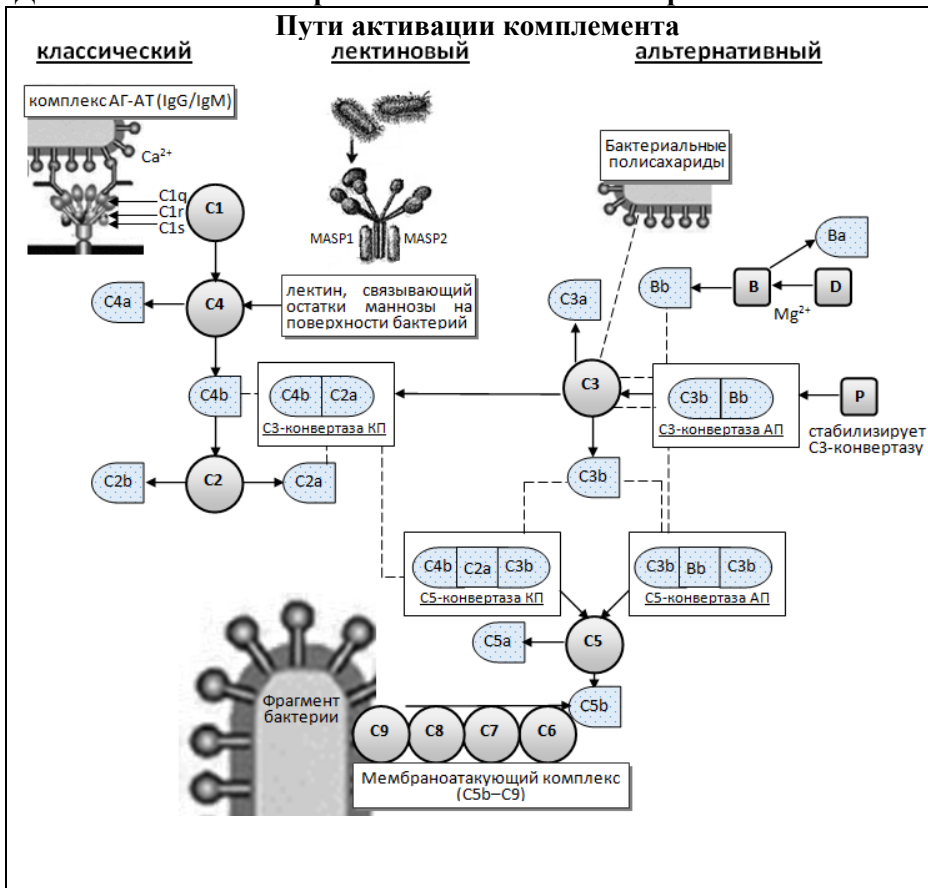
Методы определения активности комплемента и показателей фагоцитоза.

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
1. Определить показатели фагоцитоза в готовых препаратах, окрашенных по Романовскому–Гимзе. 2. Зарисовать демонстрационные препараты: 1) Незавершенный фагоцитоз <i>Neisseria gonorrhoeae</i> нейтрофилами гноя; 2) Незавершенный фагоцитоз <i>Klebsiella rhinoscleromatis</i> макрофагами.	Микробы смешивают с фагоцитами в пробирке или в организме лабораторных животных, через 15–120 мин из смеси готовят микропрепараты, окрашивают по Романовскому–Гимзе, подсчитывают число фагоцитирующих фагоцитов и число фагоцитированных микробов. Рассчитывают фагоцитарный показатель (ФП), фагоцитарное число (ФЧ), показатель завершенности фагоцитоза (ПЗФ). $\text{ФП} = \frac{\text{количество фагоцитирующих фагоцитов}}{\text{количество всех фагоцитов}} \times 100\%, \quad N = 40-60\%$ $\text{ФЧ} = \frac{\text{количество фагоцитированных микробов}}{\text{количество фагоцитирующих фагоцитов}}, \quad N = 4-7$ $\text{ПЗФ} = \frac{\text{ФЧ (через 15 мин)} - \text{ФЧ (через 120 мин)}}{\text{ФЧ (через 15 мин)}} \times 100\%$ Препарат _____ _____ Окраска _____ _____ Препарат _____ _____ Окраска _____ _____ 
3. Учесть активность комплемента по 50 % гемолизу. Определяют объем сыворотки, содержащий такое кол-во комплемента, которое вызывает лизис 50 % сенсibilизированных эритроцитов (условную гемолитическую единицу — CH₅₀). Рассчитывают количество CH₅₀ в 1 мл цельной сыворотки.	Сыворотку разводят физ. р-ром и вносят в пробирки от 0,05 до 0,5 мл. Объем проб доводят до 1,5 мл физ. р-ром. Вносят гемолитическую систему (сенсibilизированные эритроциты бараны и гемолитическая сыворотка кролика). Инкубируют (37°C – 45 мин), осаждают эритроциты центрифугированием, измеряют оптическую плотность надосадочной жидкости, сравнивают со стандартом. Количество сыворотки (1/10), мл 0,05 0,10 0,15 0,20 0,25 0,30 0,35 0,40 0,45 0,50  стандарт (50% гемолиз)  1 CH₅₀ — в _____ мл сыворотки (1/10) X CH₅₀ — в 1 мл сыворотки (1/10) В цельной сыворотке _____ CH₅₀ N = 40 – 60 CH₅₀

Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 9.



Методы оценки функции фагоцитов

Стадия фагоцитоза	Метод
Хемотаксис	Хемотаксис лейкоцитов под агарозой
Адгезия	
Поглощение	Прямые методы: фагоцитоз стафилококка, кандид (расчет фагоцитарного индекса и числа). Непрямые методы: фагоцитоз красителей, частиц латекса, карбо- нильного железа и т. д.
Разрушение микробов	Прямые методы: показатель завершенности фагоцитоза, определе- ние индекса бактерицидности. Непрямые методы: НСТ (МТТ) тест, определение активности мие- лопероксидазы, катионных белков и др.
Презентация АГ	

TOLL-подобные рецепторы

TLR	Лиганды
TLR-1	Триацилированные липопептиды
TLR-2	Липотейхоевая кислота Пептидогликан Липоарабидоманнан Липопептиды микоплазм Клеточная стенка дрожжей (зимозан)
TLR-3	Двухцепочечная РНК, Поли I:C
TLR-4	ЛПС Липотейхоевая кислота Белки теплового шока
TLR-5	Флагеллин
TLR-6	Полипептиды микоплазм, дрожжей (зимозан)
TLR-7	РНК вирусов
TLR-8	РНК вирусов
TLR-9	Бактериальные CpG олигонуклеотиды

Естественные киллеры

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

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.

Основные маркеры клеток иммунной системы (номенклатура CD-АГ)

Антиген	Клетки, несущие антиген	Функции антигена
CD1	Кортикальные тимоциты, ДК	Связан с b2-микроглобулином, участвует в представлении антигена незрелым Т-Лф, презентация липидных АГ
CD3	Зрелые Т-Лф	Связан с антигенраспознающим рецептором Т-Лф (TCR), участвует в их активации
CD4	Т-хелперы	Рецептор к МНС II, обеспечивает взаимодействие Т-Лф с макрофагами. Рецептор к ВИЧ.
CD8	Т-киллеры	Рецептор к МНС I, обеспечивает взаимодействие цитотоксических лимфоцитов с клетками-мишенями
CD28	Часть Т-Лф и В-Лф	Активация Т-Лф, костимуляторный рецептор, молекула адгезии, связывается с CD80, CD86
CD19	В-Лф	Присутствует на пре-В-лимфоцитах и на всех зрелых В-лимфоцитах, участвует в активации В-лимфоцитов
CD20	Зрелые В-Лф	Присутствует на всех В-лимфоцитах. Кальциевый канал, регуляция активации В-Лф
CD21	В-Лф	Рецептор к комплементу и вирусу Эпштейна–Барр
CD40	В-Лф	Индукцирует пролиферацию В-лимфоцитов, активирует синтез цитокинов макрофагами, является молекулой адгезии (рецептор CD40L)
CD11a-с	Лейкоциты (CD11a), моноциты и гранулоциты (CD11b,c)	Участвуют в межклеточной адгезии
CD 16	NK, макрофаги (Мф), гранулоциты	Низкоаффинный рецептор IgG (компонент рецептора Fc IgG)
CD56	NK, часть Т-Лф	Участвует в межклеточных взаимодействиях
CD57	NK и Т-Лф	Присутствует на части лимфоцитов CD8, при некоторых вирусных инфекциях увеличивается число лимфоцитов, несущих одновременно CD8 и CD57
CD117	Гемопозитические клетки	Рецептор фактора стволовых клеток

Биологические эффекты некоторых цитокинов

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

ТЕМА: Антигены. Гуморальный иммунный ответ организма. Антитела**Перечень изучаемых вопросов:** Иммунный ответ организма, определение, условия развития.

Антигены: строение, свойства, классификация.

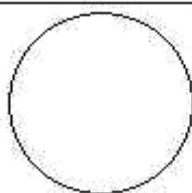
В-система лимфоцитов. В-клеточный рецептор. CD-антигены. Ростовые и дифференцировочные факторы В-лимфоцитов. Динамика развития гуморального иммунного ответа.

Антитела: структура молекулы, классы, функции. Моноклональные антитела, принципы получения, применение.

Методы оценки В-системы лимфоцитов: количественные и функциональные тесты.

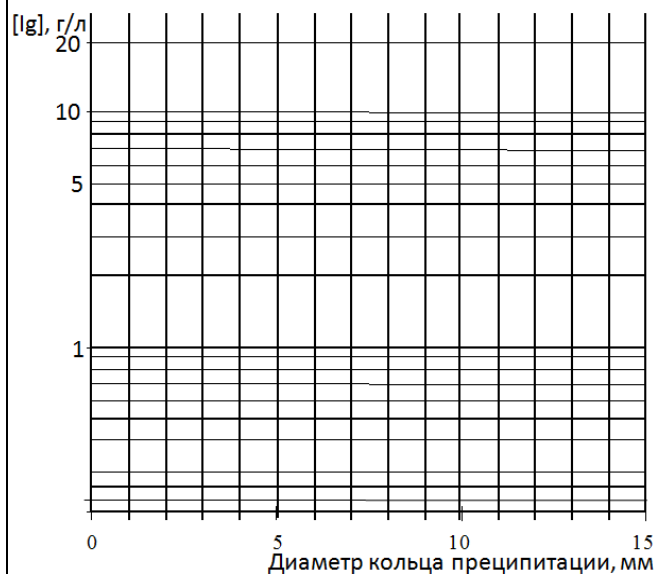
Лабораторная работа**Задание**

1. Определить количественное содержание В-лимфоцитов методом иммунных розеток в готовых препаратах.

Препарат _____**Окраска** _____**Методы, результаты**Метод выявляет маркер CD20 на поверхности В-лимфоцитов;
N В-лимфоцитов – (CD20) = 8–20 % от общего числа лимфоцитов.

2. Определить содержание иммуноглобулинов G класса в сыворотке крови методом простой радиальной иммунодиффузии (РИД) в геле по Манчини.

РИД применяется для определения IgG, IgA, IgM. При постановке реакции иммунную сыворотку (антиIg) вносят в расплавленный агарозный гель, который тонким слоем выливают на стеклянную пластинку (или в чашку Петри). После застывания в геле делают лунки. В лунки помещают раствор исследуемой сыворотки (опыт) и контрольные сыворотки с известной концентрацией Ig (стандарт), которые, диффундируя в гель, образуют зоны преципитации в виде кольца вокруг лунок. Диаметр кольца преципитации пропорционален количеству Ig.

**Построение калибровочного графика по стандарту сыворотки**

Стандарт IgG = 20 г/л

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

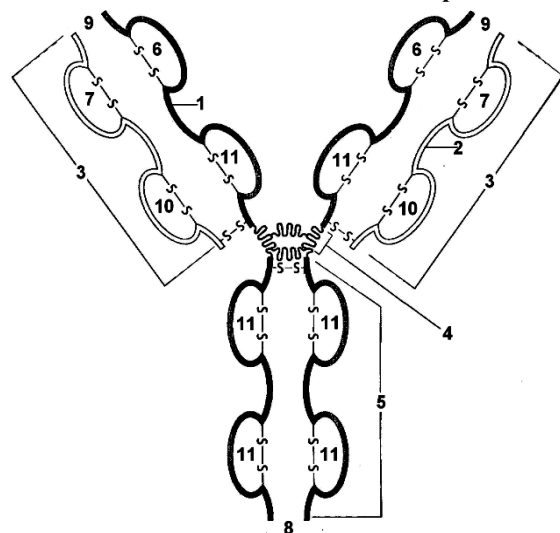
N [IgG] = 11,4 (9,5–14,5) г/л

Заключение:

Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 10.

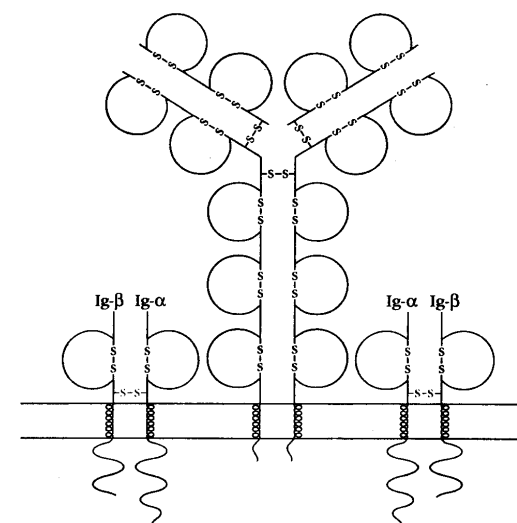
Строение молекулы иммуноглобулина



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	

Впишите цифры, обозначающие элементы молекулы Ig

Строение В-клеточного рецептора IgM



Характеристика иммуноглобулинов

Структура	Молекулярная масса	Концентрация в сыворотке (% от всех Ig)	Характеристика	Класс Ig
	154 кДа	7–18 г/л (85 %)	Четыре субкласса. Мономер. Проникает через плаценту. Высокоэффективны в противомикробной защите. Специфичность высокая	Ig__
	900 кДа	0,4–2,2 г/л (5–10 %)	Пентамер. Образуются преимущественно при первичном иммунном ответе. Специфичность невысокая	Ig__
	160 кДа.	0,5–3,5 г/л (5–15 %)	Два субкласса. Моно-, ди-, тримерные. Сывороточный является мономером, а секреторный (экзокринный) — ди- или тримером. Секреторный выделяется на внешнюю сторону слизистой, обеспечивая местный иммунитет	Ig__
	190 кДа	0,25 мг/л (1 %)	Мономер. Высокая цитотоксичность. Участвуют в аллергических реакциях немедленного типа; в противопаразитарном иммунитете	Ig__
	185 кДа	0,03 мг/мл (0,2 %)	Мономер. Экспрессируются в основном на мембране В-лимфоцитов, участвуют в их дифференцировке, выполняют рецепторную функцию	Ig__

Схема развития гуморального иммунного ответа	
Локализация	Этапы
I. Презентация АГ и индукция Т-Лф	
Ткани	1. Антиген (белки, бактерии) захватывается АПК (клетки Лангерганса), процессируется и транспортируется в регионарные лимфоузлы.
Вторичные лимфоидные органы	2. АПК процессируют и презентруют антигены по <u>эндосомному пути</u> CD4⁺ наивным Т-лимфоцитам (Th-0) (см. схему). 3. Т-лимфоциты активируются, пролиферируют и дифференцируются в эффекторные клетки (Th1, Th2, Th3, Tr1, Tr2, CD4+CD25+ и др.). 4. Т-эффекторы рециркулируют по организму.
Кровь, ткани	
II. Индукция В-Лф	
Ткани	1. Антиген захватывается фолликулярными дендритными клетками и транспортируется во вторичные лимфоидные органы (лимфоузлы, пейеровы бляшки и др.). Антиген не процессируется, сохраняется на мембране (например, в составе иммунных комплексов) в течение длительного времени (до года и более).
Вторичные органы лимфоидной системы, красный костный мозг, кровь	2. В-Лф захватывает антиген, процессирует и презентует его Т-эффектору (Th2). Специфический эффектор активируется и активирует В-лимфоцит с помощью контактных (молекулы адгезии) и дистантных (цитокины) взаимодействий (см. схему). 3. В-лимфоцит пролиферирует, выходит в кровь и перемещается во вторичные лимфатические органы и костный мозг. 4. В-лимфоциты превращаются в плазматиты и синтезируют иммуноглобулины в течение ограниченного времени (до 3 месяцев). 5. Отдельные В-лимфоциты возвращаются в состояние покоя и превращаются в клетки памяти.
III. Реализация функции антител	

Схема получения моноклональных антител		
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	Прибавьерные полости (плевральная, брюшная) и др.	ККМ, периферические органы иммунной системы
Специфичность	Общие структуры микробов (сигналы инфекционного чужого), не-вариабельные 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

ТЕМА: Клеточный иммунный ответ организма. Аллергия и экологическая иммунология

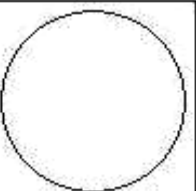
Перечень изучаемых вопросов: Клеточный тип иммунного ответа и его проявления. Т-система лимфоцитов. Маркёры Т-клеток. Т-клеточный рецептор (ТКР). Генетический контроль разнообразия ТКР. Характеристика субпопуляций Т-лимфоцитов: хелперов, киллеров, эффекторов ГЗТ, регуляторов. Т-хелперы 1-го и 2-го типов. 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.

Лабораторная работа

1. Определить количественное содержание CD3+ Т-лимфоцитов методом иммунных розеток в готовых препаратах

Препарат _____

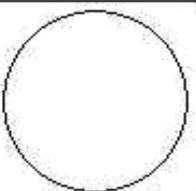
Окраска _____


Зарисовать демонстрационные препараты:

2. Реакция бласттрансформации лимфоцитов.
3. Реакция дегрануляции тучных клеток.

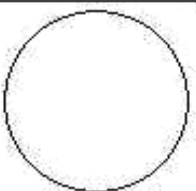
Препарат _____

Окраска _____

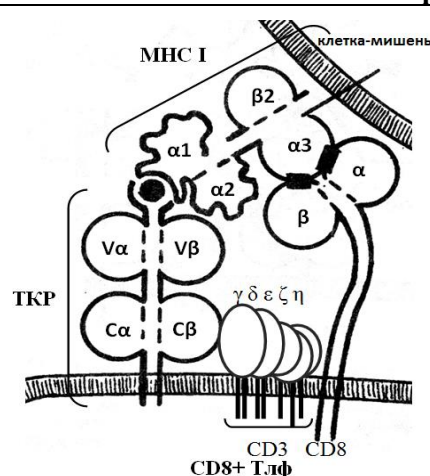
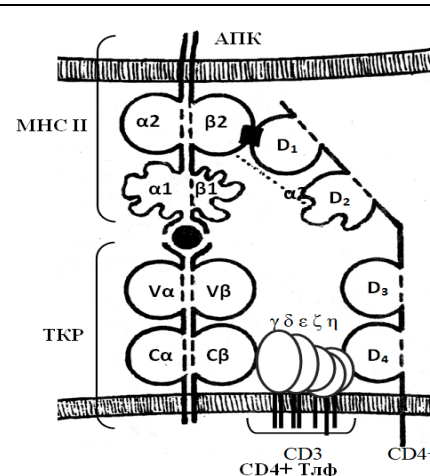


Препарат _____

Окраска _____



Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 11.**Т-клеточный рецептор и ко-рецепторы Т-Лф**

Т-клеточный рецептор (ТКР) — гетеродимер, состоящий из двух различных цепей. Обе цепи являются трансмембранными белками суперсемейства иммуноглобулинов. Внеклеточная часть содержит один переменный и один константный домен. Эта часть молекулы вместе со 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. **Ко-рецепторы.** ТКР ассоциирован с молекулами CD3 и CD4/CD8. CD3 — гетерополимер, состоящий как минимум из пяти полипептидных цепей, которые расположены на мембране как единый кластер, распознаются моноклональными антителами как CD3-специфичность и участвуют в передаче сигнала о распознавании и связывании АГ. Ко-рецепторы CD4 и CD8 тесно связаны с ТКР и распознают молекулы гистосовместимости соответственно II и I классов. Эти рецепторы экспрессируются в соответствии субпопуляционной принадлежностью Т-Лф и обеспечивают рестрикцию распознавания Т-Лф, поскольку АГ, ассоциированные с молекулами МНС II — это продукты переработки экзоантигенов, а ассоциированные с молекулами МНС I — продукты переработки эндоантигенов (АГ, синтезированных внутри клетки).

Характеристика этапов клеточного иммунного ответа

I. Индукция CD4+ Т-эффекторов	II. Индукция CD8+ Т-эффекторов
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 Th. 3. Т-Лф активируются, пролиферируют и дифференцируются в CD4+эффекторные клетки (Th1, Th2, Th3, Tr1, Tr2, CD4+CD25+ и др.): а) Т-лимфоцит и АПК сближаются (LFA1+ICAM1 и др.); б) Происходит распознавание антигена (ТКР+ ГКГС II-Ag); в) Происходит коstimуляция (CD28–CD80, 86); г) на Т-клетках появляется альфа цепь ИЛ2-рецептора (формируется полный ИЛ2Р) и начинается синтез ИЛ2; после аутокринной стимуляции ИЛ2 Т-лф начинает пролиферировать; д) дифференцировка в Th1 происходит под влиянием ИЛ12, выделяемого АПК. Этому способствуют внешние цитокины (ИФН-γ). 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-β; е) зрелые Т-эффекторы поступают в циркуляцию.	1. Индукция CD4+ Т-эффекторов (см. выше). 2. АПК захватывают антиген и транспортируют его во вторичные лимфоидные органы: 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-Лф 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-Лф не обладает цитотоксичностью и не убивает АПК при первоначальной активации. 4. CD8+ лимфоциты пролиферируют, дифференцируются, выходят в кровь и рециркулируют по организму: а) CD8+ лимфоциты нуждаются в ИЛ2 от CD4+ Т-эффекторов; б) необходимость одновременной активации CD4+ и CD8+ Лф свидетельствует в пользу трехкомпонентной модели (АПК+Th+ЦТЛ) и перекрестной презентации.
Т-эффекторы характеризуются: • способностью активироваться при взаимодействии с непрофессиональными АПК; • способностью синтезировать цитокины различного профиля; • способностью к рециркуляции в тканях в нормальных условиях (кожа, слизистые респираторного, желудочно-кишечного, мочеполового трактов, полостей и т. д.); • способностью выходить в любые ткани при воспалении; • быстрой гибелью от апоптоза без активации; • отсроченным апоптозом при активации (в течение короткого времени); • способностью переходить в состояние покоя (клетки памяти, незначительное кол-во).	CD8+ Т-эффекторы выполняют следующие функции: а) киллинг. Активированные Т-киллеры не нуждаются в дополнительных сигналах и при распознавании антигена на клетке-мишени немедленно ее лизируют. Активированный Тк способен лизировать несколько клеток-мишеней. Спустя короткое время Тк подвергается апоптозу. Отдельные 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).
CD4+ Т-эффекторы могут быть идентифицированы по: а) набору адресных молекул для миграции в определенные ткани; б) спектру синтезируемых цитокинов; в) набору рецепторов для хемокинов; г) набору молекул контактного взаимодействия.	Схема дифференцировки Т-хелпера Схема активации Т-киллера (ЦТЛ)
CD4+ Т-эффекторы выполняют функции: а) Т-хелперов: • помощь В-лимфоцитам в синтезе антител: активация и пролиферация В-лимфоцитов (ИЛ6, 2); переключение изотипа иммуноглобулинов, дифференцировка в плазмоциты); • помощь наивным CD8+ Т-Лф: активация и пролиферация (ИЛ2), дифференцировка; б) Т-эффекторов ГЗТ: выделение цитокинов (провоспалительные цитокины, хемокины, факторы роста сосудов, фибробластов); в) Т-регуляторов: выделение супрессорных цитокинов ИЛ10, ТФР-β, контактная супрессия; г) Т-киллеров (незначительная часть): киллинг клеток мишеней путем апоптоза при герпетических инфекциях.	

АЛЛЕРГИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ (заполните таблицу)					
Патогенез		тип ГНТ	тип ГНТ	тип ГНТ	ГЗТ
Стадия сенсibilизации	Аллергены				
	Фактор индукции				
Стадия разрешения					
Десенсибилизация					
Клинические проявления					

МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ АЛЛЕРГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Аллергодиагностические тесты <i>in vivo</i>		<i>in vitro</i> -методы диагностики аллергических заболеваний		
1. Кожные пробы: • Аппликационные (в настоящее время в основном применяют для диагностики контактной ГЗТ). • Скарификационные пробы и прик-тесты (с применением индивидуального одноразового аппликатора, в который устанавливают иглы с ограничителем, который не дает сделать укол на глубину более 0,1 см). Позволяют выявить аллергенспецифическую сенсibilизацию при ГНТ I типа к ряду аллергенов. • Внутрikoжные пробы (в основном применяется для диагностики ГЗТ, а также для выявления дефицитов Т-клеточного звена иммунитета). 2. Провокационные пробы (назальная, ингаляционная, конъюнктивальная, сублингвальная). Позволяют выявить аллергию немедленного типа к определенному аллергену. Основаны на введении аллергена в орган-мишень.		Назначение теста	Принцип теста	Методы
		Определение уровня общего IgE в сыворотке крови	При ГНТ, как правило, отмечается повышение общего уровня IgE в сыворотке крови	ИФА, иммунохемилюминесцентный анализ, РИА
		Обнаружение специфического IgE	Выявление сенсibilизации к определенным аллергенам	РАСТ (радиоаллергосорбентный тест), МАСТ (множественный аллергосорбентный тест), микроэррей, иммуноблот
		Выявление медиаторов аллергического воспаления	Обнаружение: гистамина; триптазы; лейкотриенов и простагландинов; медиаторов эозинофилов	UniCap, ИФА
		Выявление активации клеток-эффекторов ГНТ по медиаторному типу (поздняя фаза ГНТ)	Продукция лейкотриенов и простагландинов Экспрессия маркеров активации (CD63, CD203)	CAST (FAST) Цитофлуориметрия

ТЕМА: Иммунодиагностика инфекционных болезней. Серологический метод исследования

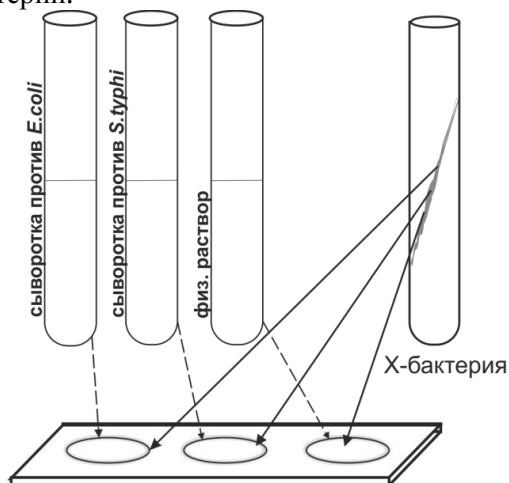
Перечень изучаемых вопросов: Серологический метод исследования, характеристика. Титр антител. Диагностический титр. Диагностикумы. Диагностические сыворотки.

Реакция агглютинации (РА), пассивной гемагглютинации и обратной пассивной гемагглютинации (РПГА, РОПГА), латексагглютинации.

Реакция преципитации. Варианты реакции преципитации: а) кольцепреципитации; б) двойной диффузии в агаре; в) простой радиальной иммунодиффузии в агаре по Манчини; г) иммуноэлектрофорез; д) встречный иммуноэлектрофорез.

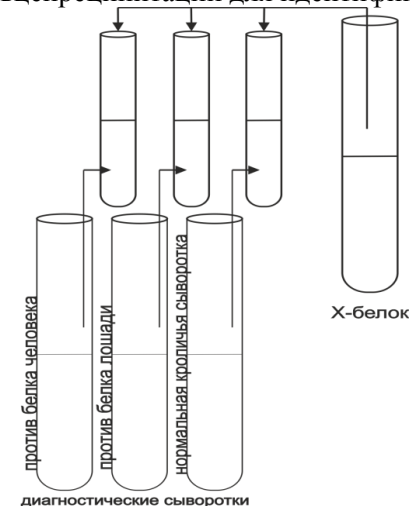
Лабораторная работа

1. Поставить реакцию агглютинации на стекле для сероидентификации X-бактерии.



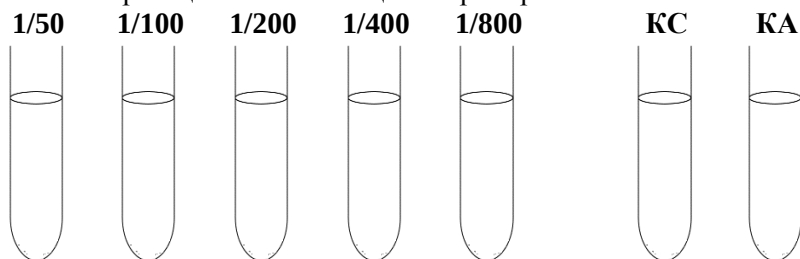
Заключение: _____

3. Поставить реакцию кольцепреципитации для идентификации X-антигена.



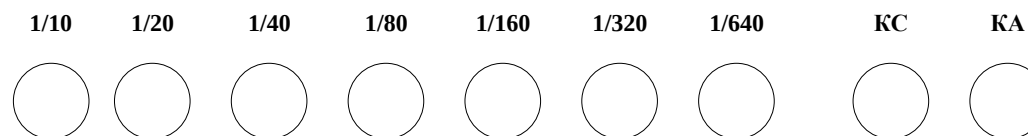
Заключение: _____

2. Учесть реакцию агглютинации в пробирках.



Заключение: _____

4. Учесть реакцию пассивной гемагглютинации.



Заключение: _____

Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 12.

Дайте определение следующим понятиям:

Диагностическая сыворотка _____

Диагностикум _____

Титр сыворотки _____

Диагностический титр _____

Защитный титр _____

Парные сыворотки _____

Сравнительная чувствительность серологических реакций

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

ТЕМА: Методы клинической и инфекционной иммунологии. Твердофазный иммунологический анализ**Перечень изучаемых вопросов:**

Реакции иммунного лизиса, применение.

Реакция иммунофлюоресценции (РИФ), иммуноферментный анализ (ИФА), иммунохроматографический анализ (ИХА) — сущность, варианты постановки, учет, оценка, применение.

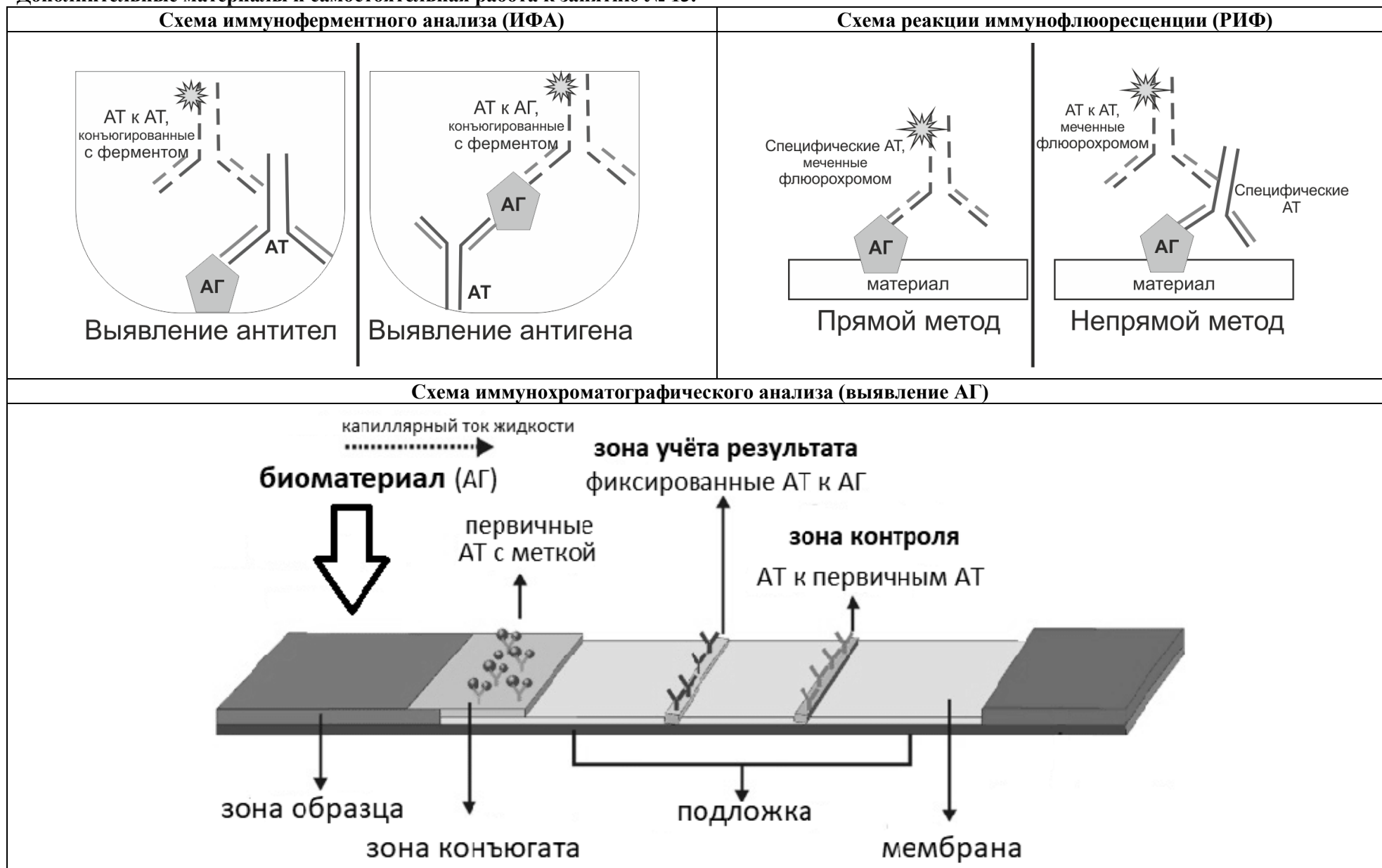
Иммуноблоттинг (вестерн-блоттинг). Иммуноэлектронная микроскопия (ИЭМ). Экспресс-тестирование.

Лабораторная работа

Протокол постановки и учета ИФА для обнаружения HBs-Ag в сыворотке крови																																							
1. 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 50 мкл в каждую лунку; з) учесть ИФА на ридере, распечатать результаты; и) заполнить протокол постановки, провести оценку верности анализа и интерпретацию результатов.	Карта постановки:		Учет ИФА: Оценка достоверности теста: а) средняя ОП отрицательных контролей (ОПК⁻) должна быть < 0,15 ОПК⁻ = б) ОПК⁻ должны находиться в пределах от 0,6 до 1,4 средней ОПК⁻ средняя ОПК⁻ = 0,6 средней ОПК⁻ = 1,4 средней ОПК⁻ = в) средняя ОП положительного контроля (ОПК⁺) должна превышать среднюю ОПК⁻ более чем в 4 раза: ОПК⁺/средняя ОПК⁻ = г) значение ОП слабopоложительного контроля должно превышать уровень cut-off (ОП критической) Расчет уровня cut-off: ОП cut-off = средняя ОПК⁻ + 0,04																																				
	<table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>1</th> <th>2</th> <th>3</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>A</td> <td>Отрицательный контроль</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>B</td> <td>Отрицательный контроль</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>C</td> <td>Слабopоложительный контроль</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>D</td> <td>Положительный контроль</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>E</td> <td>Образец № 1</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>F</td> <td>Образец № 2</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>G</td> <td>Образец № 3</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>H</td> <td>Образец № 4</td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table> (фрагмент иммунологического планшета)				1	2	3	A	Отрицательный контроль			B	Отрицательный контроль			C	Слабopоложительный контроль			D	Положительный контроль			E	Образец № 1			F	Образец № 2			G	Образец № 3			H	Образец № 4		
		1		2	3																																		
	A	Отрицательный контроль																																					
	B	Отрицательный контроль																																					
	C	Слабopоложительный контроль																																					
	D	Положительный контроль																																					
	E	Образец № 1																																					
	F	Образец № 2																																					
	G	Образец № 3																																					
H	Образец № 4																																						
Интерпретация результатов:																																							
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Номер образца</th> <th>ОП образца</th> <th>Заключение</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>2</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>3</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>4</td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>		Номер образца	ОП образца	Заключение	1			2			3			4																									
Номер образца	ОП образца	Заключение																																					
1																																							
2																																							
3																																							
4																																							

Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 13.



ТЕМА: Иммунопрофилактика и иммунотерапия инфекционных болезней. Методы оценки поствакцинального иммунитета**Перечень изучаемых вопросов:**

Иммунопрофилактика и иммунотерапия.

Вакцины, виды, требования, предъявляемые к вакцинам. Новые подходы к созданию вакцин (векторные вакцины, ДНК-вакцины, мРНК-вакцины, с продуктами генов ГКГ, на основе принципа «обратной» вакцинологии и др.).

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.

Лабораторная работа

Лабораторная работа									
Задание	Методы, результаты								
1. Учёт РА для определения напряжённости иммунитета к коклюшу. *Защитный титр — 1/100.	1/50	1/100	1/200	1/400	1/800	КС	КА		
									
	Заключение: _____								
2. Учет РПГА для определения напряжённости противодифтерийного иммунитета. *Защитный титр 1/40.	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	КС	КА
									
	Заключение: _____								
	Защитный титр — суррогатный (условный) показатель иммунной защищенности организма человека от инфекционного заболевания.								

Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 14.

Типы вакцин (заполните таблицу)

	Класс вакцин	Содержит	Преимущества	Недостатки	Примеры
Целномикробные (цельновирионные)	Живые				
	Инактивированные				
	Химерные (векторные)				
Молекулярные	Анатоксины				
	Полисахаридные				
	Конъюгированные				
	Рекомбинантные белковые				
	На основе наночастиц				
На основе нуклеионовых кислот	Плазмидные (ДНК)				
	мРНК				
	Рекомбинантные векторные				

ТЕМА: Основы клинической иммунологии. Методы определения и оценки иммунного статуса. Иммунопатология.**Трансплантационный иммунитет. Противоопухолевый иммунитет****Перечень изучаемых вопросов:**

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.

Понятие об иммунокоррекции. Иммуносупрессия. Иммуностимуляция. Иммуномодуляторы. Препараты тимуса, селезенки, костного мозга. Интерлейкины, интерфероны.

Трансплантационный иммунитет. Типы трансплантатов. Трансплантационные антигены. Условия развития реакции иммунного отторжения трансплантата и его механизмы. Способы диагностики и подавления трансплантационной реакции, осложнения. Реакция «трансплантат против хозяина».

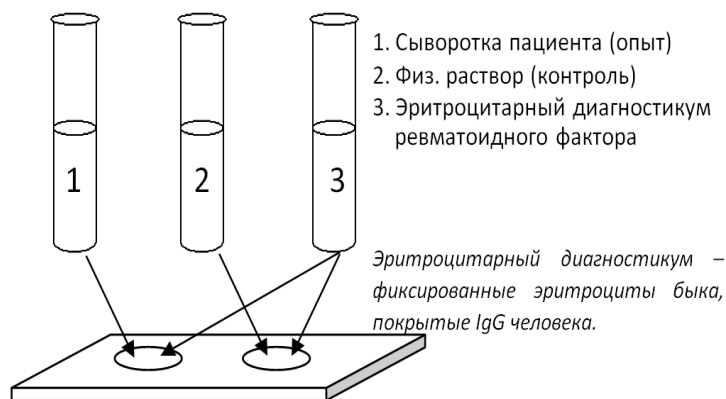
Противоопухолевый иммунитет. Концепция иммунного надзора. Характеристика антигенов опухолей. Механизмы противоопухолевого иммунитета. Механизмы ускользания опухолей от иммунного надзора. Иммунодиагностика и иммунотерапия опухолей. Онкомаркеры.

Лабораторная работа

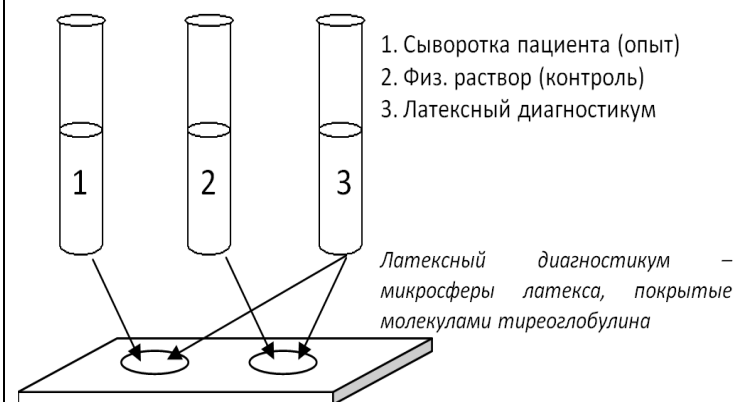
1. Постановка и учет РПГА для определения ревматоидного фактора.

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

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

РПГА:

Заключение: _____

РПЛА:

Заключение: _____

Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 15

Уровни оценки иммунного статуса
I уровень (ориентировочный) — иммунологический скрининг
• абсолютное и относительное количество лейкоцитов; • абсолютное и относительное количество Т-лимфоцитов (CD3+, проточная цитометрия); • абсолютное и относительное количество В-лимфоцитов (CD19+, проточная цитометрия); • концентрация IgG, IgM, IgA (радиальная иммунодиффузия); • фагоцитоз частиц латекса (фагоцитарный показатель, поглотительная активность); • микробицидная активность кислородозависимых систем нейтрофилов (НСТ-тест); • уровень циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК, преципитация с ПЭГ-6000); • общая активность комплемента (по 50 % гемолизу сенсibilизированных БЭР).
II уровень (аналитический) — детальное исследование отдельных звеньев иммунитета по показаниям
• Т-лимфоциты (CD3+, проточная цитометрия); их субпопуляции (CD4+ и CD8+); • соотношение CD4+/CD8+; • В-лимфоциты (CD19+, CD22+, CD72+, проточная цитометрия); • NK- лимфоциты (CD16+, CD56+, проточная цитометрия); • моноциты (CD14+, проточная цитометрия); • IgE, определение субклассов IgG, IgM, IgA (ИФА); • антитела к тиреоглобулину (ИФА); • ревматоидный фактор (ИФА); • пролиферативный ответ Т- и В- лимфоцитов на митогены; • компоненты комплемента (C1, C3 и др., ИФА); • цитокины (ИЛ2, ИЛ4, ИЛ6, γ-ИФН и др., ИФА).
Механизмы ускользания опухолей из-под контроля иммунной системы: 1) низкая экспрессия опухолевых антигенов (шеддинг); 2) низкая степень экспрессии МНС; 3) модуляция мембранных антигенов опухолевых клеток — связывание антител с мембранным антигеном и погружение его внутрь клетки без ресинтеза; 4) опухолевые клетки выделяют растворимые формы мембранных антигенов, которые могут «перехватывать» антитела в циркуляции и блокировать АТЗКЦ; 5) отсутствие экспрессии костимулирующих молекул CD80, CD86, что приводит к анергии ЦТЛ; 6) экспрессия ингибиторных молекул (ФНО, ТФРβ, ИЛ10, PGE2) и снижение экспрессии рецепторов к ингибирующим факторам роста; 7) нарушение экспрессии рецепторов к цитокинам на малигнизированных клетках; 8) усиление экспрессии адгезивных молекул (ICAM-1, VCAM-1) и рецепторов к хемокинам на опухолевых клетках приводит к усилению риска метастазирования; 9) способность опухолевых клеток экспрессировать Fas-L (при этом опухолевые клетки запускают апоптоз ЦТЛ, вступающих с ними в контакт); 10) нарушение ответа иммунокомпетентных клеток на цитокины.

ТЕМА: Противоинфекционный иммунитет. Итоговое занятие «Теоретическая и прикладная медицинская иммунология»**Перечень вопросов к итоговому занятию**

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. Иммунитет, определение понятия, виды иммунитета. Врожденный иммунитет: факторы неиммунной и иммунной природы, характеристика.
6. Система комплемента, пути активации, функции, значение в противоинфекционной защите. Методы определения активности комплемента, показатели.
7. Фагоцитоз. Фагоциты. Стадии фагоцитоза. Механизмы внутриклеточной бактерицидности. Исходы (завершённый, незавершённый фагоцитоз). Хемотаксисы, опсоны, происхождение и роль в противоинфекционном иммунитете.
8. Методы определения показателей фагоцитоза.
9. Механизмы распознавания в системе врожденного иммунитета. Рецепторы, распознающие структуры микробов. Toll-подобные рецепторы.
10. Антигенпрезентирующие клетки, дендритные клетки, функции, роль в индукции иммунного ответа. Естественные киллеры.
11. Иммунный ответ и факторы, определяющие его выраженность. Генетический контроль гуморального и клеточного иммунного ответа.
12. В-лимфоциты. Характеристика. Основные маркёры. В-клеточный-рецептор. Методы определения содержания и функциональной активности В-лимфоцитов.
13. ГИО, этапы. Отличительные черты первичного и вторичного иммунного ответа.
14. Антигены: структура, классификация, характеристика.
15. Антигенная структура бактерий. Групповые, видовые, типовые антигены. Перекрёстно-реагирующие антигены. Антигенная формула.
16. Антитела, структурно-функциональная организация молекулы, свойства. Моноклональные антитела, принцип получения, применение. Антиидиотипические антитела.
17. Классы иммуноглобулинов, характеристика. Субклассы, аллотипы, изотипы, идиотипы иммуноглобулинов. Методы определения концентрации иммуноглобулинов.
18. Механизмы взаимодействия антигенов и антител. Специфичность. Фазы. Проявления. Аффинность. Авидность.
19. Серологический метод исследования. Задачи, этапы, оценка. Титр сыворотки, диагностический титр. Диагностикумы, диагностические сыворотки, применение.
20. Реакция агглютинации. Цели и методы постановки, учёт, оценка. Применение.
21. РПГА, ингредиенты. Методика постановки, учёт, оценка. Применение. Реакция обратной пассивной гемагглютинации. Реакция латексагглютинации.
22. Реакция преципитации. Цели и методы постановки, учёт, оценка. Применение.
23. РИФ, прямой и непрямой методы. Применение.
24. ИФА. Ингредиенты, постановка, учёт, оценка, области применения. РИА.
25. Реакции иммунного лизиса, применение. РСК. Ингредиенты, постановка, учёт, оценка. Применение.
26. Т-лимфоциты, развитие, основные маркеры, субпопуляции. Т-клеточный рецептор, структура, генетический контроль разнообразия.
27. Активация Т-лимфоцитов. Костимуляция. Модель двух сигналов. Анергия. Апоптоз.
28. КИО, его проявления, этапы. Иммунологическая память.
29. Методы определения количества и функциональной активности Т-лимфоцитов.
30. Местный иммунитет, значение. Основные компоненты.
31. Аллергия. Стадии аллергии. Типы аллергических реакций.
32. Аллергены, определение, классификация, характеристика.
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. Противоинфекционный иммунитет. Иммунитет против вне- и внутриклеточных паразитов. Механизмы иммунной инактивации бактерий, грибов, простейших, вирусов и выделяемых ими токсинов и экзoferментов.
40. Трансплантационный иммунитет. Трансплантационные антигены. Типы трансплантационных реакций. Механизмы отторжения трансплантата. Предупреждение.
41. Противоопухолевый иммунитет. Опухолевые антигены. Механизмы ускользания опухолей от иммунного надзора.
42. Клиническая иммунология, определение, цели, задачи. Понятие об экологической иммунологии, основные иммунотропные экологические факторы.
43. Иммунный статус организма, принципы и методы оценки, показатели. Иммунограмма. Влияние условий и образа жизни на функции иммунной системы.
44. Иммунодефицитные состояния: врождённые и приобретённые. Структура первичных иммунодефицитов.
45. Аутоиммунные болезни, классификация. Аутоантигены. Механизмы аутоиммунитета.
46. Вакцины, требования к вакцинам. Виды вакцин, характеристика, методы приготовления. Новые подходы к созданию вакцин.
47. Поствакцинальный иммунитет. Факторы, влияющие на его развитие. Методы определения напряжённости поствакцинального иммунитета. Значение коллективного иммунитета, методы его оценки.
48. Пассивная иммунопрофилактика. Показания к проведению. Лечебно-профилактические иммунные сыворотки и сывороточные препараты, способы получения, области применения.
49. Иммунопрофилактика и иммунотерапия инфекционных болезней. Достижения и проблемы.
50. Иммунокоррекция. Показания к проведению. Методы подавления и стимуляции иммунного ответа, препараты для иммунокоррекции.

Дополнительные вопросы для педиатрического факультета

51. Иммунологические взаимоотношения матери и плода.
52. Критические периоды в формировании иммунной системы.

Перечень практических навыков

1. Учет реакции пассивной (непрямой) гемагглютинации.
2. Постановка и учет ориентировочной реакции агглютинации на стекле.

ТЕМА: Частная медицинская микробиология. Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых стафилококками, стрептококками, нейссериями. ЗАЧЁТ

Перечень изучаемых вопросов:

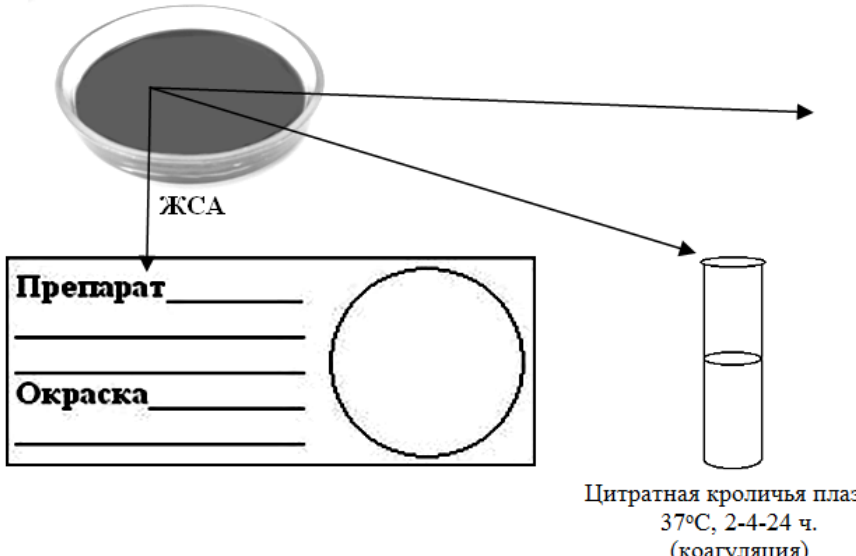
Стафилококки, систематика, общая характеристика, факторы патогенности. Заболевания стафилококковой природы. Методы микробиологической диагностики стафилококковых инфекций. Материал для исследования в зависимости от формы инфекции. Правила забора материала. Схема выделения чистых культур (из гноя, слизи,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

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.

Энтерококки, общая характеристика, роль в патологии человека.

Нейссерии, систематика, общая характеристика, дифференциация патогенных и непатогенных нейссерий. Характеристика возбудителя, механизмы патогенеза, иммунитет, методы диагностики и профилактики менингококковой инфекции. Характеристика возбудителя, механизмы патогенеза, иммунитет, методы микробиологической диагностики острой и хронической гонореи.

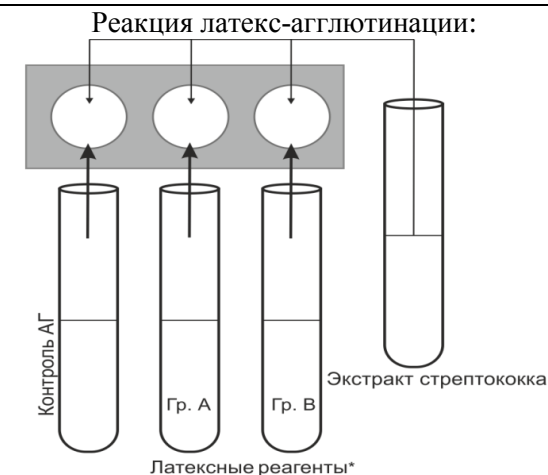
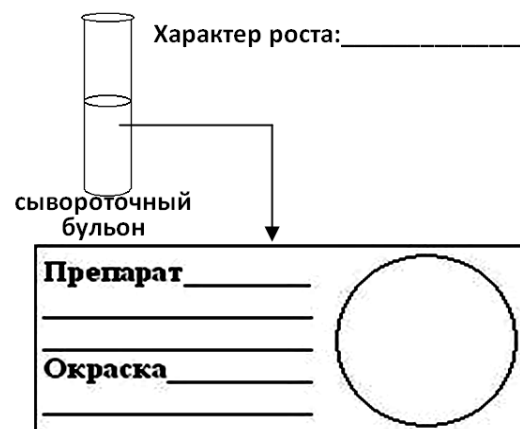
Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты																		
1. Микробиологическая диагностика стафилококковой инфекции (II этап): 1) макро- и микроскопическое изучение колоний на ЖСА; 2) постановка пробы на плазмокоагулазу.	 <table border="1" data-bbox="1579 766 2060 1101"> <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																			
	Закключение: по морфологическим, культуральным и биохимическим признакам идентифицирован _____																		

2. Микробиологическая диагностика стрептококковых инфекций (III этап):

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

* латексный реагент — взвесь микрочастиц латекса, покрытых АТ против соответствующего группового антигена стрептококков.



Заключение: по морфологическим, культуральным и антигенным свойствам идентифицирован _____

3. Зарисовать демонстрационные препараты*:

- 1) Стафилококк в гное, окраска по Граму.
- 2) Стрептококк в чистой культуре, окраска по Граму.
- 3) Пневмококк в чистой культуре, окраска по Граму.
- 4) Пневмококк в органах белой мыши, окраска по Граму.
- 5) Гонококк в гное больного гонореей, окраска по Граму.
- 6) Препарат из ликвора больного менингитом, окраска метиленовым синим.

* название видов бактерий записываются на латинском языке.

Демонстрация:

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

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

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

Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 17.

Характеристика кокков-возбудителей заболеваний человека

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

Характеристика методов диагностики инфекций, вызываемых патогенными кокками

Краткая характеристика метода	Стафилококки	Стрептококки		Энтерококки	Нейссерии	
	<i>S. aureus</i> <i>S. epidermidis</i> , <i>S. saprophyticus</i>	<i>S. pyogenes</i>	<i>S. pneumoniae</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>N. meningitidis</i>	<i>N. gonorrhoeae</i>
Бактериоскопический – цель использования; – диагностическое значение						
Бактериологический – материал для исследования; – этапы метода; – идентификация						
Серологический – цель использования; – диагностическое значение; – методы исследования						
Биологический – цель использования – диагностическое значение						
Молекулярно-генетич. – методы исследования						

Дифференциальные признаки стафилококков, стрептококков, энтерококков, нейссерий

Стафилококки	летициназа	коагулаза	анаэр. фермент. маннита	ДНК-за	фосфатаза	новобиоцин	А-белок	каталаза	оксидаза
<i>S. aureus</i>	+	+	+	+	+	±	+	+	–
<i>S. epidermidis</i>	–	–	–	–	+	+	–		
<i>S. saprophyticus</i>	–	–	–	–	–	–	–		
Стрептококки и энтерококки	гемолиз	серогруппа	набухание капсулы	САМР-тест	лизис желчью	Тест с оптохином	Рост при 6 % NaCl	каталаза	оксидаза
<i>S. pyogenes</i>	β	A	–	–	–	Уст.	–	-	+
<i>S. agalactiae</i>	β	B	–	+	–	Уст	–		
<i>S. pneumoniae</i>	α	–	+	не прим.	+	Чувств.	–		
<i>E. faecalis</i>	γ (α)	–	–	не прим.	–	Уст.	+		
Нейссерии	рост на МПА	рост на сыв. агаре при 22 °С	пигмент	глюкоза	мальтоза	рост с желчью		каталаза	оксидаза
<i>N. meningitidis</i>	–	–	–	+	+	–		+	+
<i>N. gonorrhoeae</i>	–	–	–	+	–	–			
<i>УП нейссерии</i>	+	+	+	+	+	+			

Бактериологическая диагностика стафилококковых инфекций

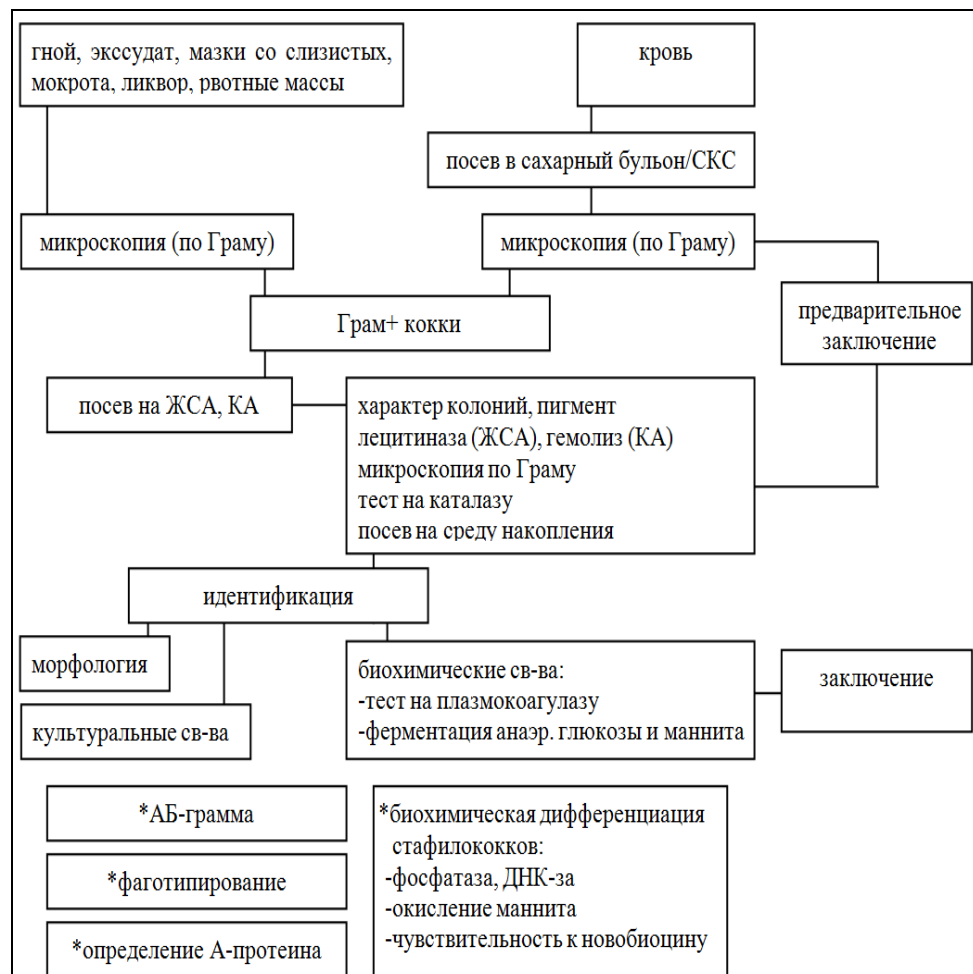
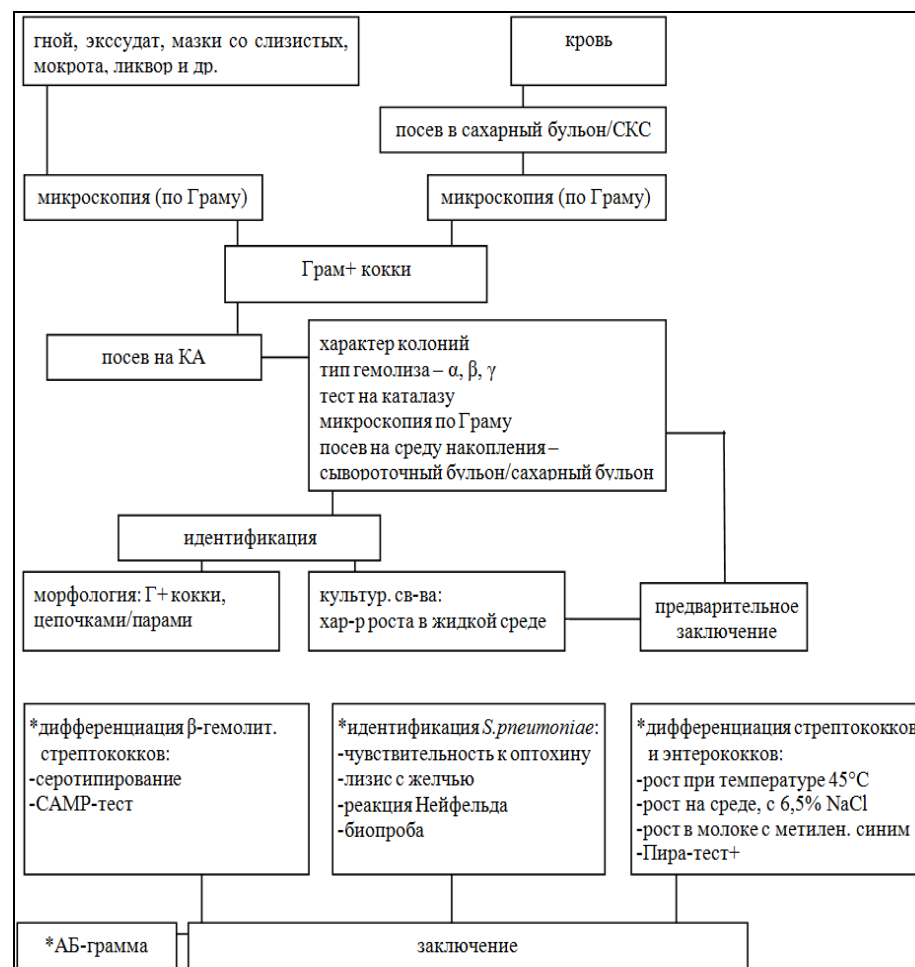


Схема бактериологической диагностики инфекций, вызываемых стрептококками и энтерококками



Сокращения и обозначения:

Знаком «*» помечены дополнительные тесты и исследования.

СКС — среда для контроля стерильности, ЖСА — желточно-солевой агар, КА — кровяной агар.

Перечень вопросов к зачёту:

1. Микробиология: определение, разделы, цели, задачи, объекты и методы исследования. 2. Этапы развития микробиологии. Эволюция микроорганизмов и инфекционных заболеваний. 3. Общие с другими организмами и специфические особенности микроорганизмов. Принципы систематики, классификация, номенклатура микроорганизмов. 4. Морфология бактерий. Формы бактерий. Структура бактериальной клетки. Функции поверхностных и цитоплазматических образований бактерий. Окраска по Граму. Формы бактерий с дефектом клеточной стенки, значение. 5. Особенности метаболизма у прокариотов. Способы питания микроорганизмов. Питательные вещества и механизмы их проникновения в бактериальную клетку. 6. Дыхание микроорганизмов, его типы. Ферменты и структуры клетки, участвующие в процессе дыхания. Классификация бактерий по отношению к кислороду воздуха. 7. Рост и способы размножения бактерий. Механизм и фазы простого деления. Покоящиеся формы микроорганизмов: причины образования, значение. 8. Материал для микробиологического исследования: виды, правила забора, хранения, транспортировки. Режим работы в микробиологических лабораториях. 9. Микроскопический (бактериоскопический) метод исследования: определение, цели, этапы, оценка. Типы микроскопических препаратов. Методы окраски. Виды микроскопов. 10. Культуральный (бактериологический) метод исследования: задачи, этапы, оценка. Питательные среды. 11. Методы выделения и идентификации чистых культур аэробных и анаэробных бактерий. Идентификация микроорганизмов без выделения чистой культуры. 12. Генетический аппарат бактерий (нуклеоид, плазмиды, транспозоны, IS-элементы): характеристика, функции, значение. Понятие о генной инженерии и биотехнологии. 13. Наследственность и изменчивость микроорганизмов. Типы и практическое значение изменчивости. Мутации. Генетические рекомбинации. Фенотипическая изменчивость. 14. Молекулярно-генетические методы исследования (молекулярная гибридизация, полимеразная цепная реакция): определение, принципы проведения. 15. Влияние физических и химических факторов на микроорганизмы. Дезинфекция: определение понятия, цели, типы, способы проведения, оценка качества проведения. Асептика, ее значение. 16. Стерилизация: определение понятия, способы проведения, оценка качества проведения. Стерилизация инструментов и изделий медицинского назначения. 17. Инфекция: определение понятия, причины и условия возникновения. Отличия инфекционных и неинфекционных заболеваний. Периоды инфекционного заболевания. 18. Роль микроорганизмов в инфекционном процессе. Патогенность и вирулентность. Факторы патогенности. Острова патогенности. Типы и свойства экзотоксинов. 19. Роль макроорганизма, факторов внешней среды в инфекционном процессе. 20. Биологический (экспериментальный) метод исследования: определение, цели, этапы, оценка. Дисмикробиоз: причины, следствия, профилактика. Гнотобиология. 21. Экология микробов. Типы экологических связей. Концепция микробной доминанты. 22. Химиотерапия и химиопрофилактика инфекционных заболеваний. Группы и механизмы действия химиотерапевтических препаратов. Химиотерапевтический индекс. 23. Антисептика: определение понятия, типы, категории, способы проведения. Антисептические средства: классификация, механизм действия, побочное действие. 24. Антибиотика: характеристика, классификация, механизмы действия, побочное действие. 25. Естественная и приобретенная резистентность микроорганизмов к антибиотикам: генетические и биохимические механизмы. Изучение чувствительности микроорганизмов к антибиотикам. 26. Иммунология: задачи, методы, направления. Иммулитет: определение, виды иммунитета. 27. Иммунная система организма: органы, клетки, молекулы. 28. Врожденный иммунитет, факторы. Механизмы распознавания патогенов.	29. Система комплемента: состав, пути активации, методы определения активности. Естественные киллеры и механизмы цитотоксичности. Классификация фагоцитов. Фагоцитарная реакция: этапы, механизмы внутриклеточной бактерицидности, исходы. Методы изучения фагоцитоза. 30. Антигены: строение, свойства, классификация. Т-зависимые и Т-независимые АГ. СуперАГ. 31. Антигены микроорганизмов. Типовые, видовые, групповые антигены. Протективные антигены. Перекрёстно-реагирующие антигены, значение. 32. Иммунный ответ организма: определение, условия развития. Гуморальный иммунный ответ: определение, этапы развития. Т-зависимый и Т-независимый ответ. Проявления ГИО. 33. В-лимфоциты: развитие, маркеры, В-клеточный рецептор. Методы определения количества и функциональной активности В-лимфоцитов. 34. Антитела: структура, свойства, классификация. Механизм взаимодействия антител с антигенами. Аффинность и авидность. Методы определения концентрации иммуноглобулинов. Моноклональные АТ. 35. Серологический метод исследования: определение, задачи, основные понятия (диагностический, диагностическая сыворотка, титр, диагностический титр, парные сыворотки), оценка метода. 36. Реакция прямой и пассивной агглютинации: ингредиенты, механизм, способы постановки, учет, применение. 37. Реакции иммунопреципитации: ингредиенты, механизм, способы постановки, учёт, применение. Реакции иммунного лизиса. Реакция связывания комплемента: ингредиенты, механизм, учет. 38. Реакция иммунофлюоресценции, иммуноферментный анализ: ингредиенты, механизмы, способы постановки, учет, применение. Иммуноблоттинг. Радиоиммунный анализ. 39. Т-лимфоциты: развитие, маркеры, субпопуляции. Т-хелперы 1-го и 2-го типов, спектр продуцируемых цитокинов. Методы определения количества и функциональной активности Т-Лф. 40. Т-клеточный рецептор: строение, типы. Т-клеточные эпитопы. Т-клеточная рестрикция. 41. Клеточный иммунный ответ: определение, этапы развития. Модель двух сигналов: ответ, апоптоз, анергия. Проявления КИО. Иммунологическая память. 42. Противоиноксационный иммунитет. Материнский иммунитет: механизмы, значение. 43. Иммунопрофилактика и иммунотерапия инфекционных заболеваний. Активная иммунопрофилактика. Вакцины: требования, виды. Поствакцинальные реакции и осложнения. 44. Поствакцинальный иммунитет: механизмы и факторы, влияющие на его формирование. Показания и противопоказания к вакцинации. Календарь прививок. Коллективный иммунитет к инфекционным заболеваниям, значение. 45. Пассивная иммунопрофилактика и иммунотерапия инфекционных заболеваний: показания к применению, препараты, принципы проведения, осложнения. 46. Аллергология: определение, задачи. Классификация аллергенов. Аллергия: стадии развития, типы реакций. 47. Аллергологический метод исследования: определение, задачи, этапы, оценка. 48. Гиперчувствительность немедленного типа: аллергены, механизмы развития, проявления, способы предупреждения анафилактики. 49. Гиперчувствительность замедленного типа: аллергены, механизм развития, проявления. 50. Лекарственная аллергия: основные аллергены, механизмы и типы аллергических реакций, способы диагностики и предупреждения. 51. Пищевая аллергия. Пищевые продукты, обладающие сенсибилизирующим действием. Профилактика пищевой аллергии. Парааллергия. Идиосинкразия. 52. Аутоантитела: причины образования, роль в патологии. Аутоиммунные заболевания: определение, классификация, причины развития, механизмы повреждения тканей, проявления. 53. Трансплантационный иммунитет. Антигены гистосовместимости. Трансплантационные реакции: типы, механизмы развития, предупреждение. Иммунологическая толерантность. 54. Клиническая иммунология: определение, задачи. Иммунный статус, методы оценки. Иммунодефицитные состояния: классификация, причины, методы выявления, принципы коррекции. Противоопухолевый иммунитет.
---	--

ТЕМА: Методы микробиологической диагностики острых кишечных инфекций, вызываемых энтеробактериями. Эшерихии, сальмонеллы**Перечень изучаемых вопросов:**

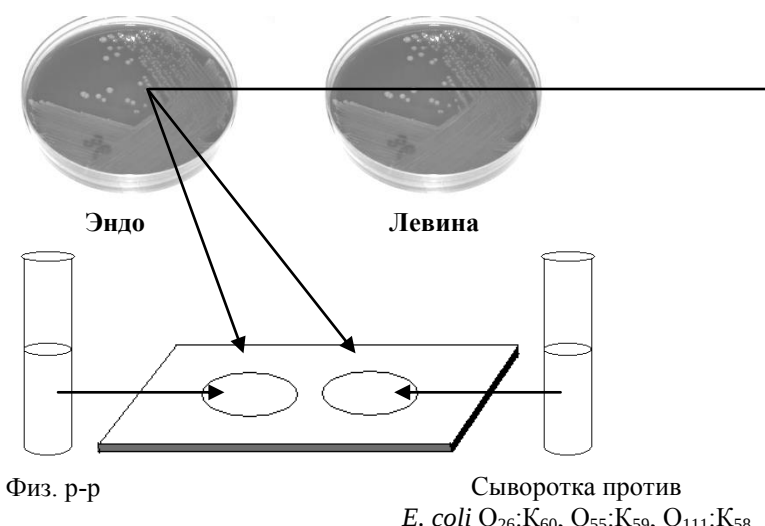
Общая характеристика представителей семейства энтеробактерий. Различия между родами. Общие принципы диагностики острых кишечных инфекций, вызываемых патогенными энтеробактериями. Дифференциально-диагностические среды, принципы их работы.

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

Сальмонеллы, классификация и общая характеристика. Серологическая классификация сальмонелл. Идентификация сальмонелл. Молекулярно-биологическое типирование.

Возбудители брюшного тифа и паратифов. Патогенез брюшного тифа. Микробиологические методы исследования при брюшном тифе в зависимости от этапа патогенеза.

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты																		
1. Бактериологическая диагностика колиэнтеритов (II этап): 1) колоний кишечной палочки на средах Эндо и Левина; 2) приготовление препаратов из колоний с окраской по Граму; 3) постановка реакции агглютинации на стекле со смесью поливалентных ОК-сывороток.	 Препарат _____ _____ Окраска _____ _____ <table border="1"> <caption>Характеристика колоний</caption> <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> Заключение: по морфологическим, культуральным и антигенным свойствам идентифицирован _____	Признак	Эндо	Левина	Форма			Размер			Поверхность			Цвет			Консистенция		
Признак	Эндо	Левина																	
Форма																			
Размер																			
Поверхность																			
Цвет																			
Консистенция																			

2. Бактериологическая диагностика брюшного тифа и паратифов с выделением копрокультуры (II этап):

- 1) описание колоний на среде Левина;
- 2) микроскопия препарата с окраской по Граму;
- 3) отсев на среду Клиглера.

Левина

среда Клиглера

Препарат _____

Окраска _____

Характеристика колоний

Признак	Левина
Форма	
Размер	
Поверхность	
Цвет	
Консистенция	

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

- 1) *Escherichia coli*, окраска по Граму;
- 2) *Salmonella spp.*, окраска по Граму;
- 3) *Shigella spp.*, окраска по Граму.

Препарат _____

Окраска _____

Препарат _____

Окраска _____

Препарат _____

Окраска _____

Демонстрация:

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

Подпись преподавателя _____

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

Роды семейства <i>Enterobacteriaceae</i> , имеющие медицинское значение		Биологические свойства <i>E. coli</i> — представителя нормальной микрофлоры	
		Положительные	Отрицательные

Характеристика сем. *Enterobacteriaceae* (заполняется к занятиям № 1–3)

Роды	<i>Escherichia</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Shigella</i>	<i>Klebsiella</i>
Виды	<i>E. coli</i>	<i>S. typhi</i>, <i>S. paratyphi</i> A <i>S. schottmuelleri</i> <i>S. enteritidis</i>, <i>S. typhimurium</i>	<i>S. dysenteriae</i>, <i>S. flexneri</i>, <i>S. boydii</i>, <i>S. sonnei</i>	<i>K. pneumoniae</i> (подвиды: <i>ozaenae</i>, <i>rhinoscleromae</i>, <i>pneumoniae</i>), <i>K. oxytoca</i>
Морфология: – форма и расположение; – тинкториальные свойства; – капсула (микро-/макро); – подвижность				
Антигены				
Культуральные свойства – питательные среды; – условия роста; – характер роста, колонии				
Биохимические свойства – сахаролитические; – протеолитические				
Патогенность – заболевания; – факторы патогенности; – патогенез инфекций				
Специфическая профилактика и терапия				

Дифференциально-диагностические среды для энтеробактерий 1. Среда с лактозой («чашечные»). Среда Левина. Метиленовый синий и эозин, содержащиеся в среде, подавляют рост грам+ бактерий и служат индикаторами ферментации лактозы: • Лас+: темно-фиолетовые колонии; • Лас–: бесцветные/бледно-розовые колонии. Среда Эндо. Сульфит натрия и основной фуксин подавляют рост грам+ бактерий. Лактоза разлагается микроорганизмами до альдегида и кислоты. Альдегид высвобождает фуксин из фуксин-сульфитного комплекса, усиливая красное окрашивание колоний: • Лас+: малиново-красные с металлическим блеском колонии; • Лас–: бледно-розовые колонии. Среда Плоскирева. Дифференциально-селективная среда для выделения сальмонелл и шигелл. Желчные кислоты подавляют рост грам+ и колиформных бактерий. Содержат лактозу, рН-индикатор, индикатор на H₂S: • Лас+: красные; • Лас–: бесцветные колонии; • H₂S+: в центре колоний появляется почернение. 2. Полиуглеводные среды. Среда Ресселя. Среда с лактозой и глюкозой. Образование кислоты в ходе инкубирования определяют по изменению цвета рН-индикатора на скосе (аэробная ферментация) и в столбике среды. На образование газа в ходе ферментации сахаров указывают пузырьки и разрывы среды в столбике. По мере расхода глюкозы в аэробных условиях выделяющиеся амины снова защелачивают среду. В анаэробных условиях (в столбике) среда остается кислой. Среда Клиглера. Содержит лактозу (10 г/л), глюкозу (1 г/л), рН-индикатор (феноловый красный) и индикатор на H₂S. Ферментация сахаров определяется по изменению цвета среды (пожелтение) в столбике и скошенной части. Ферментация только глюкозы определяется в столбике (желтый столбик). По мере расхода глюкозы в аэробных условиях выделяющиеся амины снова защелачивают среду. При одновременной ферментации глюкозы и лактозы происходит постоянное «закисление» всей среды большим количеством кислот. На образование газа (CO₂) при ферментации углеводов указывают пузырьки или разрывы в среде. Образование сероводорода проявляется почернением в толще среды. 3. Моноуглеводные среды. Среды Гисса. Жидкие или полужидкие среды, содержащие углевод и рН-индикатор. При ферментации сахаров среды изменяют цвет за счет изменения рН («пестрый ряд»). Среда Рапопорта. Элективная жидкая среда, используемая для выделения и дифференциации гемокультур бактерий тифопаратифозной группы. Содержит желчь, стимулирующую рост сальмонелл, глюкозу и индикатор; в среду введен стеклянный поплавоч для улавливания газообразных продуктов ферментации глюкозы. При росте возбудителей появляется помутнение среды, ферментация глюкозы приводит к покраснению среды, образование CO₂ визуализируется по накоплению пузырьков газа в поплавке.	
---	--

Методы диагностики эшерихиозов и сальмонеллезов		
Метод	Использование метода (+/–)	
	Эшерихиозы	Брюшной тиф и паратифы
Микроскопический		
Бактериологический		
Биологический		
Серологический		
Аллергологический		
Молекулярно-генетический		

Диагностика колиэнтеритов (заполните ячейки)		
метод		
материал		
1 сутки	Посев на питательные среды	
2 сутки	Характеристика колоний	
	Микроскопия	
	Постановка ориентировочной РА с _____	
	Отсев на среду накопления	
3 сутки	Биохимическая идентификация	
	Серологическая идентификация: • постановка РА на стекле с _____ • постановка развернутой РА: _____	1. _____ 2. _____
Заключение		

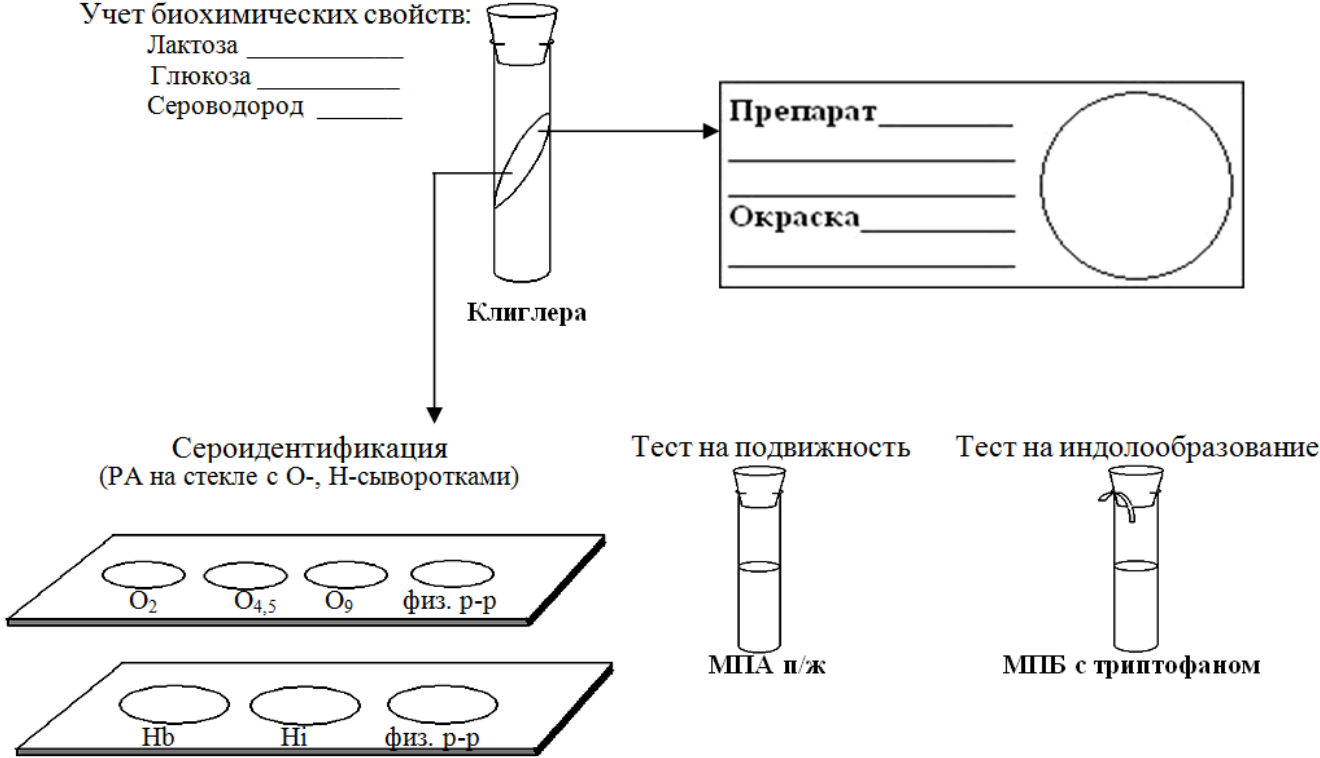
ТЕМА: Методы микробиологической диагностики острых кишечных инфекций, вызываемых энтеробактериями. Сальмонеллы. Шигеллы**Перечень изучаемых вопросов:**

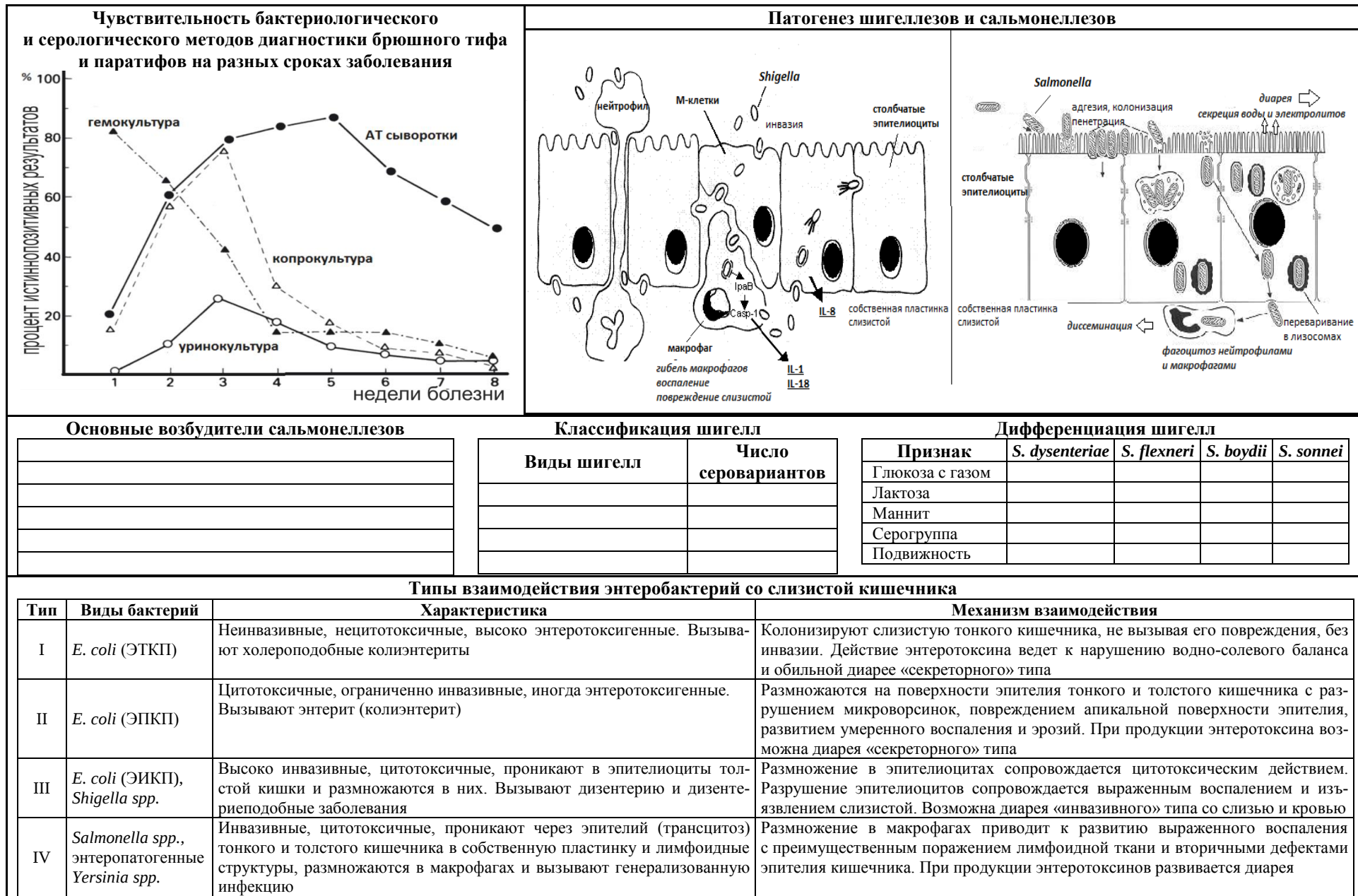
Характеристика иммунитета при брюшном тифе, паратифах. Серологическая диагностика брюшного тифа и паратифов. Постановка и анализ реакции Видаля. Методы отличия диагностической реакции от анамнестической и прививочной. Диагностика бактерионосительства при брюшном тифе.

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.

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
1. Бактериологическая диагностика брюшного тифа и паратифов с выделением копрокультуры (III этап — идентификация): 1) изучение роста на среде Клиглера; 2) определение чистоты культуры, окраска по Граму; 3) учёт пробы на подвижность и индолообразование; 4) определение антигенной структуры выделенного микроба в РА на стекле с моновалентными сыворотками. 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. Препараты для специфической профилактики брюшного тифа и паратифов.	Учет биохимических свойств: Лактоза _____ Глюкоза _____ Сероводород _____  Клиглера Препарат _____ Окраска _____ Сероидентификация (РА на стекле с O-, H-сыворотками) O₂ O_{4,5} O₉ физ. р-р H_b H_i физ. р-р Тест на подвижность МПА п/ж Тест на индолообразование МИБ с триптофаном Заключение: по морфологическим, культуральным, биохимическим и антигенным свойствам идентифицирован _____



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

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

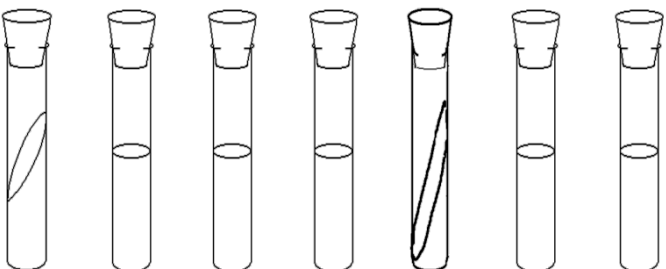
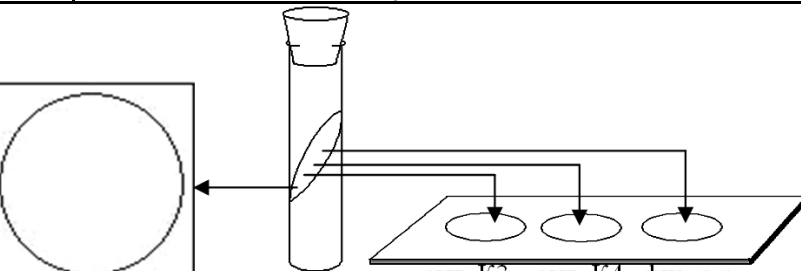
Возбудитель кишечного иерсиниоза, общая характеристика. Патогенез, иммунитет, методы микробиологической диагностики.

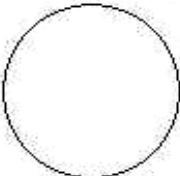
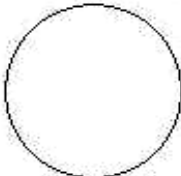
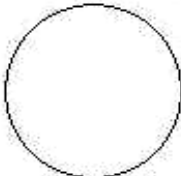
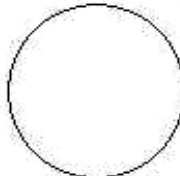
Кампилобактерии, общая характеристика, роль в патологии человека. Механизмы патогенеза. Диагностика кампилобактериоза. Хеликобактер.

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

Классификация, этиология пищевых отравлений. Принципы микробиологической диагностики.

Лабораторная работа

Лабораторная работа		Методы, результаты																																																						
Задание	Учет биохимических свойств:																																																							
1. Самостоятельная работа по теме «Микробиологическая диагностика клебсиелл»: 1) Изучить рост клебсиелл на модифицированной среде Ресселя. 2) Определить наличие капсулы. 3) Произвести учет биохимических свойств клебсиелл. 4) Поставить реакцию капсульной агглютинации на стекле для определения К-антигена и установления сероварианта.																																																								
	Ресселя лактоза лактоза глюкоза сахароза цитрат малонат мочевина глюкоза																																																							
		Реакция капсульной агглютинации:																																																						
Препарат _____ Окраска _____ 		Ресселя сыв. К3 сыв. К4 физ. р-р																																																						
Заключение: по морфологическим, культуральным, биохимическим и антигенным свойствам идентифицирован _____																																																								
		Дифференциально-диагностические 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 синее, 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).																																																						
		<table><tr><th rowspan="2">Биохимические свойства</th><th colspan="3"><i>K. pneumoniae</i></th><th rowspan="2"><i>K. oxytoca</i></th></tr><tr><th><i>s. rhinoscleromatis</i></th><th><i>s. ozaenae</i></th><th><i>s. pneumoniae</i></th></tr><tr><td>Глюкоза с газом</td><td>—</td><td>+/-</td><td>+</td><td>+</td></tr><tr><td>Лактоза</td><td>—</td><td>+/-</td><td>+</td><td>+</td></tr><tr><td>Сахароза</td><td>— (4 сутки +)</td><td>+/-</td><td>+</td><td>+</td></tr><tr><td>Цитрат аммония</td><td>—</td><td>+/-</td><td>+</td><td>+</td></tr><tr><td>Мочевина</td><td>—</td><td>-/+</td><td>+</td><td>+</td></tr><tr><td>Малонат натрия</td><td>+</td><td>—</td><td>+</td><td>+</td></tr><tr><td>Индол</td><td>—</td><td>—</td><td>—</td><td>+</td></tr><tr><td>Рост при 10°C</td><td>—</td><td>—</td><td>—</td><td>+</td></tr><tr><td>О и К антигены</td><td>O2a:K3</td><td>O2b:K4</td><td>O1,O3-5:K1-3</td><td>O1,O3-5:K7-82</td></tr></table>		Биохимические свойства	<i>K. pneumoniae</i>			<i>K. oxytoca</i>	<i>s. rhinoscleromatis</i>	<i>s. ozaenae</i>	<i>s. pneumoniae</i>	Глюкоза с газом	—	+/-	+	+	Лактоза	—	+/-	+	+	Сахароза	— (4 сутки +)	+/-	+	+	Цитрат аммония	—	+/-	+	+	Мочевина	—	-/+	+	+	Малонат натрия	+	—	+	+	Индол	—	—	—	+	Рост при 10°C	—	—	—	+	О и К антигены	O2a:K3	O2b:K4	O1,O3-5:K1-3	O1,O3-5:K7-82
Биохимические свойства	<i>K. pneumoniae</i>				<i>K. oxytoca</i>																																																			
	<i>s. rhinoscleromatis</i>	<i>s. ozaenae</i>	<i>s. pneumoniae</i>																																																					
Глюкоза с газом	—	+/-	+	+																																																				
Лактоза	—	+/-	+	+																																																				
Сахароза	— (4 сутки +)	+/-	+	+																																																				
Цитрат аммония	—	+/-	+	+																																																				
Мочевина	—	-/+	+	+																																																				
Малонат натрия	+	—	+	+																																																				
Индол	—	—	—	+																																																				
Рост при 10°C	—	—	—	+																																																				
О и К антигены	O2a:K3	O2b:K4	O1,O3-5:K1-3	O1,O3-5:K7-82																																																				

2. Учет РСК для серологической диагностики склеромы. Демонстрация. 1. Рост клебсиелл на дифференциально-диагностических средах. 2. Рост <i>P. aeruginosa</i> на цетримидном агаре. Проба на оксидазу.	Учет РСК по схеме										
	Разведения сыворотки			КС	КА	Оценка					
	Вариант	1:5	1:10				1:20				
	1	++++	++++	++++	–	–	Резко положительная				
	2	++++	++++	–	–	–	Положительная				
	3	+++	–	–	–	–	Слабо положительная				
	4	–	–	–	–	–	Отрицательная				
Учет результата:											
Заключение: _____											
3. Зарисовать демонстрационные препараты: 1) Капсула клебсиеллы склеромы, 2) Синегнойная палочка, окраска по Граму. 3) Возбудитель кишечного иерсиниоза, окраска по Бурри-Гинсу. 4) Возбудитель кампилобактериоза, окраска по Граму.											
Препарат _____ _____ Окраска _____ _____			Препарат _____ _____ Окраска _____ _____			Препарат _____ _____ Окраска _____ _____			Препарат _____ _____ Окраска _____ _____		

Подпись преподавателя _____

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

Методы диагностики инфекций					
Возбудители	<i>Klebsiella spp.</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Бактериоскопический					
Бактериологический					
Серологический					
Биологический					
Молекулярно-генетический					

Характеристика кампило- и хеликобактерий, синегнойной палочки			
Виды	<i>C. jejuni</i>	<i>H. pylori</i>	<i>P. aeruginosa</i>
Морфология:			
Культуральные и биохимические свойства			
Патогенность – Заболевания – Факторы патогенности – Механизм действия факторов патогенности			
Специфическая профилактика и терапия			

Диагностика пищевых отравлений бактериальной природы

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

Пищевые токсикоинфекции (ПТИ): ОКИ, возникающие в результате употребления в пищу массивно обсемененных некоторыми бактериями продуктов. Возбудители: условно-патогенные представители 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.	Пищевые микробные токсикозы (интоксикации): острые заболевания, возникающие при употреблении в пищу продуктов, в которых в результате массового размножения микробов содержится большое количество экзотоксина. К ним относят ботулизм, токсикозы, вызванные стафилококковым энтеротоксином, токсинами <i>C. perfringens</i> серовара А, реже — Е, F; и токсинами микроскопических грибов.
Патогенез. Возбудитель размножается в тонком кишечнике, проникает в лимфоидный аппарат, где происходит его массовая гибель с выделением эндотоксина, который вызывает поражение интрамурального нервного аппарата кишечника и клеток ЦНС, сосудов, а бактерии вызывают воспалительный процесс в 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 10⁵–10⁶ 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.

ТЕМА: Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых коринебактериями, бордетеллами, гемофилами, легионеллами, листериями

Перечень изучаемых вопросов. 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).

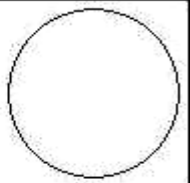
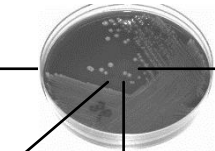
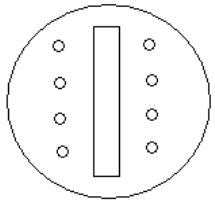
Бордетелла коклюша. Характеристика возбудителя, факторы патогенности. Дифференциация с возбудителем паракоклюша. Патогенез коклюша, иммунитет, диагностика. Принципы терапии и профилактики коклюша.

Гемоглобинофильные бактерии, общая характеристика, роль в патологии человека.

Легионеллы, общая характеристика, роль в патологии человека. Коксии. Ку-лихорадка.

Листерии, общая характеристика, роль в патологии человека.

Лабораторная работа

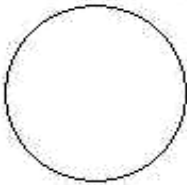
Задание	Методы, результаты																																																																																				
1. Бактериологическая диагностика дифтерии: 1) изучение роста колоний коринебактерий на теллуритовой среде; 2) отсев колоний на «пёстрый ряд» (глюкоза, сахароза, крахмал), тесты на уреазу, цистиназу.	Препарат _____ Окраска _____   посев <u>Культуральные свойства</u> <table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="2">Характеристика колоний</th> </tr> <tr> <th>Признак</th> <th>Сыв. агар с теллуритом 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> <u>Тест на токсигенность</u>  учет <u>Биохимическая идентификация</u> <table border="1"> <thead> <tr> <th>глюкоза</th> <th>сахароза</th> <th>крахмал</th> <th>уреаза</th> <th>цистиназа</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table> <u>инкубация, 37°C — 24 часа</u> <table border="1"> <tbody> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">Вид коринебактерий</th> <th colspan="5">Расщепление</th> </tr> <tr> <th colspan="3">с образованием кислоты</th> <th>цистеина с образованием H₂S</th> <th>мочевины</th> </tr> <tr> <th></th> <th>глюкозы</th> <th>сахарозы</th> <th>крахмала</th> <th></th> <th></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td><i>C. diphtheriae</i></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td><i>gravis</i></td> <td>+</td> <td></td> <td>+</td> <td>+</td> <td>—</td> </tr> <tr> <td><i>mitis</i></td> <td>+</td> <td></td> <td>—</td> <td>+</td> <td>—</td> </tr> <tr> <td><i>C. pseudodiphtheriae (hofmani)</i></td> <td>—</td> <td>—</td> <td>—</td> <td>—</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td><i>C. xerosis</i></td> <td>+</td> <td>+</td> <td>—</td> <td>—</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td><i>C. ulcerans</i></td> <td>+</td> <td>—</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>+</td> </tr> </tbody> </table>	Характеристика колоний		Признак	Сыв. агар с теллуритом калия	Форма		Размер		Поверхность		Край		Цвет		Консистенция		глюкоза	сахароза	крахмал	уреаза	цистиназа											Вид коринебактерий	Расщепление					с образованием кислоты			цистеина с образованием H ₂ S	мочевины		глюкозы	сахарозы	крахмала			<i>C. diphtheriae</i>						<i>gravis</i>	+		+	+	—	<i>mitis</i>	+		—	+	—	<i>C. pseudodiphtheriae (hofmani)</i>	—	—	—	—	+	<i>C. xerosis</i>	+	+	—	—	+	<i>C. ulcerans</i>	+	—	+	+	+
Характеристика колоний																																																																																					
Признак	Сыв. агар с теллуритом калия																																																																																				
Форма																																																																																					
Размер																																																																																					
Поверхность																																																																																					
Край																																																																																					
Цвет																																																																																					
Консистенция																																																																																					
глюкоза	сахароза	крахмал	уреаза	цистиназа																																																																																	
Вид коринебактерий	Расщепление																																																																																				
	с образованием кислоты			цистеина с образованием H ₂ S	мочевины																																																																																
	глюкозы	сахарозы	крахмала																																																																																		
<i>C. diphtheriae</i>																																																																																					
<i>gravis</i>	+		+	+	—																																																																																
<i>mitis</i>	+		—	+	—																																																																																
<i>C. pseudodiphtheriae (hofmani)</i>	—	—	—	—	+																																																																																
<i>C. xerosis</i>	+	+	—	—	+																																																																																
<i>C. ulcerans</i>	+	—	+	+	+																																																																																
Выполняется на занятии № 23. 1) Учет биохимической активности коринебактерий, пробы на токсигенность; идентификация.																																																																																					
Заключение: на основании морфологических, культуральных и биохимических свойств идентифицирован _____																																																																																					

2. Зарисовать демонстрационные препараты:

Демонстрация.

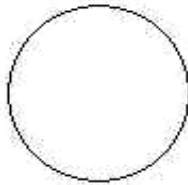
1. Проба на токсигенность коринебактерий дифтерии.
2. РПГА для оценки напряжённости противодифтерийного иммунитета.
3. Препараты для специфической профилактики и лечения дифтерии и коклюша.
4. Рост бордетелл коклюша и паракоклюша на КУА, МПА с тирозином, проба на уреазу.

1) Возбудитель дифтерии, окраска по Нейссеру;

Препарат _____	

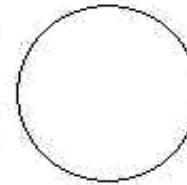
Окраска _____	

2) Возбудитель дифтерии, окраска по Леффлеру;

Препарат _____	

Окраска _____	

3) Возбудитель коклюша, окраска по Граму.

Препарат _____	

Окраска _____	

Подпись преподавателя _____

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

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

Метод	Краткая характеристика метода		
	Дифтерия	Коклюш	<i>Haemophilus</i> -инфекция
Микроскопический			
Бактериологический			
Серологический			
Аллергологический			
Биологический			
Молекулярно-генетический			
Специфическая профилактика			
Специфическая терапия			

Характеристика коринебактерий, бордетелл, гемофилов, легионелл, листерий, коксии

Микроорганизм	Морфология	Культуральные и биохимические свойства	Патогенность	
			Фактор патогенности	Биологический эффект
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>			Белковый экзотоксин (состоит из А и В субъединиц) Гликолипид (6-6'-дизфир-трегалозы) Гиалуронидаза Нейраминидаза	нарушает синтез белка, поражая клетки миокарда, надпочечников, нервных ганглиев нарушает фагоцитоз нарушают проницаемость тканей
<i>Bordetella pertussis</i> , <i>Bordetella parapertussis</i>			Филаментозный гемагглютинин Коклюшный токсин (токсин пертуссин) Пили Пертактин Аденилатциклаза Дерматонекротоксин Трахеальный токсин Эндотоксин (ЛПС)	связывается с гликолипидами мембран клеток мерцательного эпителия дыхательных путей, связывается с R3-гликопротеиновым рецептором поверхности ПМЯЛ и инициирует фагоцитоз 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 адгезия к мерцательному эпителию дыхательных путей адгезия к мерцательному эпителию дыхательных путей подавляет киллинг-активность фагоцитов и миграцию моноцитов повреждает кожу и является летальным фактором для лабораторных животных пептидогликановый фрагмент, разрушающий реснитчатые клетки дыхательных путей; стимулирует реализацию интерлейкина-1 (лихорадка) активирует комплемент и стимулирует выработку цитокинов
<i>Haemophilus influenzae</i>			Полисахаридная (полирибозофосфат) капсула Пили и другие адгезины Липополисахарид и гликопептид Протеаза Ig A	угнетение фагоцитоза прикрепление к эпителиальным клеткам повреждение ресничек и поверхности эпителия подавление местного иммунитета
<i>Legionella pneumophila</i>			1. Факультативный внутриклеточный паразитизм: Токсин (пептид) Каталаза Факторы неизвестной природы 2. Продукция токсинов, ферментов: Термолабильный экзотоксин (цитотоксин и гемолизин) Эндотоксин Протеолитические ферменты: фосфатаза, липаза, нуклеаза 3. Пили, микрокапсула	ингибирование «окислительного взрыва» при фагоцитозе инактивация токсических метаболитов при активации макрофагов ингибируют слияние фагосомы и лизосомы, транспорт электронов нарушение функций или лизис клеток нарушение функций или лизис клеток разрушение клеток хозяина адгезия
<i>Listeria monocytogenes</i>			Эндотоксин Интерналин — мембранный белок Листерииолизин О Фосфолипазы	токсическое действие проникновение листерий в макрофаги и эндотелиоциты, в т. ч. из фагосом в цитоплазму гемолизин, обуславливающий разрушение мембраны фаголизосом растворение мембраны и проникновение в клетку (что защищает возбудителя от действия АТ)
<i>Coxiella burnetii</i>			Пили, белки инвазии, ЛПС I фазы, компоненты секреторной системы	адгезия, нарушение фагоцитоза, длительная персистенция в макрофагах, токсический эффект

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

Перечень изучаемых вопросов: Актиномицеты, систематическое положение, общая характеристика, роль в патологии человека. Микобактерии, классификация. Возбудители туберкулеза, общая характеристика. Патогенез, иммунитет, методы микробиологической диагностики, принципы терапии и профилактики туберкулеза. Проба Манту. Диаскинтест.

Возбудитель лепры, общая характеристика, роль в патологии человека. Возбудители микобактериозов. Нокардии.

Анаэробы, классификация, общая характеристика. Возбудители газовой гангрены, столбняка, ботулизма. Систематика и общая характеристика. Характеристика экзотоксинов. Принципы терапии и профилактики анаэробных инфекций.

Клостридиальные гастроэнтериты. Клостридия диффициле, роль в патологии человека.

Неспорообразующие анаэробы. Бактероиды. Пептококки. Общая характеристика, факторы патогенности, роль в патологии человека.

Общие принципы и методы диагностики анаэробных инфекций. Молекулярно-биологическая диагностика (ПЦР).

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты	
1. Учет сахаролитической активности коринебактерий, идентификация.	См. занятие № 4.	
Демонстрация. 1. Зарисовать демонстрационные препараты: 1) Микобактерии туберкулёза в мокроте больного, окраска по Цилю–Нильсену; 2) Корд-фактор микобактерий туберкулёза, окраска по Цилю–Нильсену; 3) Актиномицеты, чистая культура, окраска по Граму; 4) Клостридии, окраска по Граму; 5) Бактероиды, окраска по Граму; 6) Вейлонеллы, окраска по Граму. 2. Рост микобактерий на питательных средах. 3. Метод флотации. 4. Определение лекарственной устойчивости микобактерий туберкулёза. 5. Рост анаэробов на питательных средах.	Препарат _____ _____ _____ Окраска _____ _____ _____ Препарат _____ _____ _____ Окраска _____ _____ _____ Препарат _____ _____ _____ Окраска _____ _____ _____	Препарат _____ _____ _____ Окраска _____ _____ _____ Препарат _____ _____ _____ Окраска _____ _____ _____ Препарат _____ _____ _____ Окраска _____ _____ _____

Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 5 (22).

Характеристика актиномицетов и микобактерий				
Микроорганизм	Морфология	Культуральные свойства	Патогенность: заболевания	
			Фактор патогенности	Биологический эффект
<i>Mycobacterium</i> spp. – <i>M. tuberculosis</i> , – <i>M. bovis</i> , – <i>M. africanum</i>			1. Токсические липиды: – корд-фактор — гликолипид (трегалозы димиколат)	разрушает митохондрии клеток, нарушает функцию дыхания. Участвует в адгезии, препятствует фагоцитозу.
			– миколовая кислота	обеспечивает кислотоустойчивость, антифагоцитарные свойства
			– фосфатиды (фтионовая к-та)	образование гранул
			– свободные жирные кислоты	обеспечивают цитотоксическое поражение клеток гранулемы (творожистое перерождение).
			– сульфатиды (серосодержащие гликолипиды)	усиливают действие корд-фактора, ингибируют слияние фагосомы с лизосомой
			2. Нуклеопротеиды	Вызывают сенсibilизацию организма (ГЗТ), в инфицированном организме дают положительную кожную пробу
– <i>M. leprae</i>				
<i>Actinomyces</i> spp.				

Методы микробиологической диагностики туберкулеза



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

Экологическая группа облигатно-анаэробных бактерий

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

Лабораторная диагностика и специфическая профилактика анаэробных клостридиальных инфекций

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

Характеристика некоторых анаэробных бактерий

Микроорганизм	Морфология	Культуральные и биохимические свойства	Патогенность		
			Фактор патогенности		Биологический эффект
<i>C. perfringens</i>			1. Токсины (главные):		расщепляет лецитин клеточных мембран; увеличивает сосудистую проницаемость, разрушает эритроциты; некротизирующая активность
			– альфа-токсин (лецитиназа)		
			– 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
			2. Токсины (минорные):		
			– дельта-токсин		гемолиз
			– тета-токсин		гемолиз, цитолиз
			– каппа-токсин		коллагеназа, желатиназа, некротизирующая активность
			– лямбда-токсин		протеаза
			– мю-токсин		гиалуронидаза: увеличивает проницаемость тканей
			– ню-токсин		дезоксирибонуклеаза; гемолитическая, некротизирующая активность
			нейраминидаза		повреждает ганглиозиды клеточных рецепторов, способствует тромбозу в капиллярах
<i>C. tetani</i>			Столбнячный экзотоксин	тетанолизин	
				тетаноспазмин	
<i>C. botulinum</i>			Ботулинический экзотоксин		блокирует передачу нервного импульса в периферических холинэргических синапсах, оказывая нейротоксическое действие (смертельная доза для человека составляет около 0,3 мкг)
<i>B. fragilis</i>			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	пили	адгезия к субстрату
				капсула	защищает бактерии от фагоцитоза
			Метаболиты	летучие и жирные кислоты	угнетают хемотаксис и кислородозависимую цитотоксичность лейкоцитов

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

ТЕМА: Особо опасные инфекции. Методы микробиологической диагностики холеры, чумы, туляремии, бруцеллеза, сибирской язвы

Перечень изучаемых вопросов: Заболевания, на которые распространяются мероприятия по санитарной охране территорий РБ. Правила забора, транспортировки материала и режим работы с возбудителями III-IV групп патогенности. Особо опасные инфекции (ООИ), характеристика, принципы диагностики.

Возбудитель холеры, систематическое положение. Классификация и общая характеристика, факторы патогенности. Биовары. Дифференциация холерных и нехолерных вибрионов. Патогенез, методы микробиологической диагностики. Принципы терапии и профилактики.

Возбудитель чумы, систематическое положение, характеристика, факторы патогенности. Отличия от других иерсиний. Патогенез, принципы терапии и профилактики чумы.

Возбудитель туляремии, систематика, общая характеристика. Патогенез, принципы терапии и профилактики.

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

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

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты		
1. Зарисовать демонстрационные препараты.	1) Бациллы сибирской язвы (чистая культура), окраска по Граму. 2) Бациллы сибирской язвы в органах животных, окраска по Граму. 3) Споры бациллы сибирской язвы, окраска по Ожешко.	4) Вибрион холеры, окраска по Граму; 5) Палочка чумы в органах, окраска по Леффлеру.	6) Возбудитель туляремии, окраска по Граму. 7) Возбудитель бруцеллеза, окраска по Граму.
Демонстрация. 1. Рост холероподобного вибриона на щелочном агаре, TCBS, пептонной воде. 2. Фаголизабельность холерного классического и Эль-Тор вибрионов. 3. Развернутая реакция агглютинации. 4. Биохимические свойства холерного вибриона. 5. Подвижность вибриона. 6. Препараты для иммунопрофилактики и диагностики ООИ. 7. Рост бацилл на МПА.	Препарат _____ _____ _____ Окраска _____ _____ _____ Препарат _____ _____ _____ Окраска _____ _____ _____ Препарат _____ _____ _____ Окраска _____ _____ _____	Препарат _____ _____ _____ Окраска _____ _____ _____ Препарат _____ _____ _____ Окраска _____ _____ _____	Препарат _____ _____ _____ Окраска _____ _____ _____ Препарат _____ _____ _____ Окраска _____ _____ _____
Подпись преподавателя _____			

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

Характеристика возбудителей

Возбудитель	Морфология	Культуральные и биохимические свойства	Патогенность	
			Фактор патогенности	Биологический эффект
<i>Vibrio cholerae</i>			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)
<i>Yersinia pestis</i>			Поверхностный гликопротеин (капсульный АГ, F1-АГ, фракция 1)	защита от поглощения фагоцитами, не токсичен, иммуноген
			Активатор плазминогена — протеаза	активирует лизис фибриновых сгустков, инактивирует С3в и С5а
			V/W(Vi)-АГ	состоит из белка (V-фракция) и ЛП (W-фракция), проявляет антифагоцитарные свойства, способствует внутриклеточному размножению бактерий
			Мышиный токсин	антагонист адренергических рецепторов, белковоподобное вещество, локализован внутриклеточно
			Бактериоцины (пестицины)	иммуногенные свойства
<i>Francisella tularensis</i>			Внутриклеточный паразитизм	Ингибирование лизосомальной функции фагоцитов, благодаря чему бактерии могут длительно находиться в макрофагах ретикулоэндотелиальной системы
			Капсула	Защита от фагоцитоза
			Эндотоксин	Системный токсический эффект. Менее активен, чем эндотоксин других грамотрицательных палочек (например, <i>E. coli</i>)
<i>Brucella spp.</i> <i>B. melitensis</i> , <i>B. abortus</i> , <i>B. suis</i>			Эндотоксин	Системный токсический эффект
			Гиалуронидаза	Разрушает гиалуроновую кислоту
			Белки наружной мембраны	Адгезия
			Секреция низкомолекулярных белков → переживание внутри фагоцитов	Подвleние слияния фагосомы с лизосомой и окислительного взрыва в фагоцитах
<i>Bacillus anthracis</i>			Белковый экзотоксин (синтез контролируется плазмидой)	Экзотоксин содержит 3 фактора (компонента): <u>A1 (летальный фактор)</u> — металлопротеаза, увеличивает продукцию активных форм кислорода в Нф и Мф → увеличение кол-ва перекисных соединений → гибель фагоцитов (цитотоксический эффект), <u>A2 (отечный фактор)</u> — аденилатциклаза, образуется в неактивной форме, активируется при контакте с белком эукариот кальмодулином, вызывает отеки, <u>В (протективный АГ)</u> — взаимодействует с мембранами клеток, обеспечивает проникновение субъединиц A1 и A2 в цитозоль клетки
			Капсула	Антифагоцитарная активность

Лабораторная диагностика, специфическая профилактика и терапия

Метод	Холера	Чума	Бруцеллез	Туляремия	Сибирская язва
<i>Материал для исследования</i>					
Микроскопический					
Бактериологический					
Серологический					
Аллергологический					
Биологический					
Молекулярно-генетический					
Специфическая профилактика					
Специфическая терапия					

Перечень инфекционных заболеваний, на которые распространяются мероприятия по санитарной охране территории Республики Беларусь

№ п/п	Инфекционное заболевание	№ п/п	Инфекционное заболевание
1.	Холера, в т. ч. O139	12.	Болезнь, вызванная вирусом Марбург
2.	Чума	13.	Болезнь, вызванная вирусом Эбола
3.	Желтая лихорадка	14.	Крымская геморрагическая лихорадка (вызванная вирусом Конго)
4.	Оспа, инфекции, вызванные вирусом обезьяньей оспы	15.	Малярия
5.	Острый паралитический полиомиелит, вызванный диким полиовирусом	16.	Сибирская язва
6.	Человеческий грипп, вызванный новым подтипом	17.	Бруцеллез
7.	Тяжелый острый респираторный синдром (ТОРС)	18.	Сап
8.	Лихорадка западного Нила	19.	Мелиоидоз
9.	Геморрагическая лихорадка Хунин (Аргентинская ГЛ)	20.	Сыпной тиф
10.	Геморрагическая лихорадка Мачупо (Боливийская ГЛ)	21.	Менингококковая инфекция
11.	Лихорадка Ласса	22.	Болезнь Крейцфельда–Якоба

ТЕМА: Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых спирохетами

Перечень изучаемых вопросов: Спирохеты, классификация, общая характеристика.

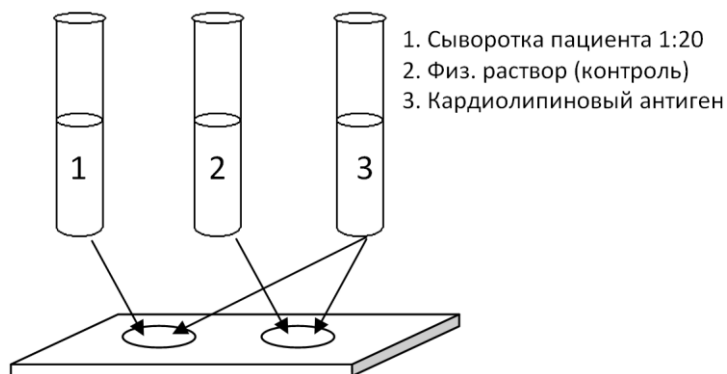
Трепонема. Систематика и общая характеристика. Патогенез и иммунитет при сифилисе. Материал для исследования. Методы микробиологической диагностики сифилиса. Принципы терапии и профилактики сифилиса. Возбудители фузоспирохетозов.

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.

Лабораторная работа

1. Постановка реакции микропреципитации на стекле (VDRL*) с целью серодиагностики сифилиса.



* VDRL (Veneral Disease Research Laboratory) — реакция микропреципитации для выявления антител к неспецифическому кардиолипидному антигену трепонем (липопротеиду). Поскольку липопротеиды трепонем сходны с липопротеидами тканей животных и человека, результаты нетрепонемных реакций часто бывают ложноположительными. Ложноположительные результаты возможны во время беременности, при аутоиммунных, инфекционных заболеваниях и у наркоманов. Окончательно подтверждают диагноз сифилиса только положительные трепонемные реакции (со специфическим трепонемным антигеном).

2. Зарисовать демонстрационные препараты:

1) Трепонема в зубном налёте, окраска по Граму

2) Боррелии в крови больного, окраска по Романовскому–Гимзе.

Препарат _____

Окраска _____

Препарат _____

Окраска _____

Подпись преподавателя _____

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

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

Заболевания, вызываемые спирохетами		Патогенез сифилиса		
Основные виды	Вызываемые заболевания	Стадии болезни	Длительность	Основные патогенетические процессы
		Первая стадия		
		Вторая стадия		
		Третья стадия		

Методы и биоматериалы для диагностики спирохетозов					
Методы	Сифилис	Эпидемический возвратный тиф	Эндемический возвратный тиф	Боррелиоз Лайма	Лептоспироз
Материал для исследования					
Микроскопический					
Бактериологический					
Биологический					
Серологический					
Аллергологический					
Молекулярно-биологический					
Лабораторная диагностика болезни Лайма (Лайм-боррелиоза) Микроскопический метод: темнопольная микроскопия материала (соскобы кожных поражений, центрифугат плазмы, СМЖ, мочи), микроскопия мазков, импрегнированных серебром, РИФ, электронная микроскопия. Бактериологический метод: в 80 % случаев удается выделить культуру <i>B. burgdorferi</i> из кожных поражений (1 стадия болезни) на специальных питательных средах. Молекулярно-генетический метод: ПЦР позволяет идентифицировать ДНК возбудителя в образцах кожи, крови, спинномозговой 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.			Серологическая диагностика сифилиса Применяют комплекс серологических реакций — скрининговые (отборочные) тесты и диагностические (подтверждающие) тесты. <u>Скрининг-диагностика:</u> • «нетрепонемные» тесты (определяют АТ к кардиолипину (неспецифическому) АГ); • положительны на ранних этапах заболевания; • в количественном варианте используются также для контроля эффективности лечения; • используются реакции микропреципитации (РМП) — RPR (Rapid Plasma Reagin) и VDRL; РПГА с кардиолипинным антигеном. <u>Для подтверждения диагноза:</u> • «трепонемные» тесты — определяют АТ к трепонемному (специфическому) АГ; • высокочувствительны и высокоспецифичны; • для контроля излеченности не используются; • применяются: ИФА, РПГА, РИФ со специфическим ультразвуковым экстрактом трепонем. Реакция иммобилизации трепонем (РИТ) отменена.		

ТЕМА: Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых риккетсиями, хламидиями

Перечень изучаемых вопросов: Риккетсии, систематическое положение, классификация, общая характеристика, роль в патологии человека. Риккетсии сыпного тифа, патогенез, иммунитет и методы диагностики сыпного тифа. Возбудители других риккетсиозов.

Хламидии, общая характеристика, роль в патологии человека. Возбудители орнитоза, трахомы, респираторных и урогенитальных хламидиозов. Методы микробиологической диагностики хламидиозов. ПЦР при хламидиозах.

Микоплазмы, общая характеристика, роль в патологии человека. Методы микробиологической диагностики микоплазмозов.

Лабораторная работа

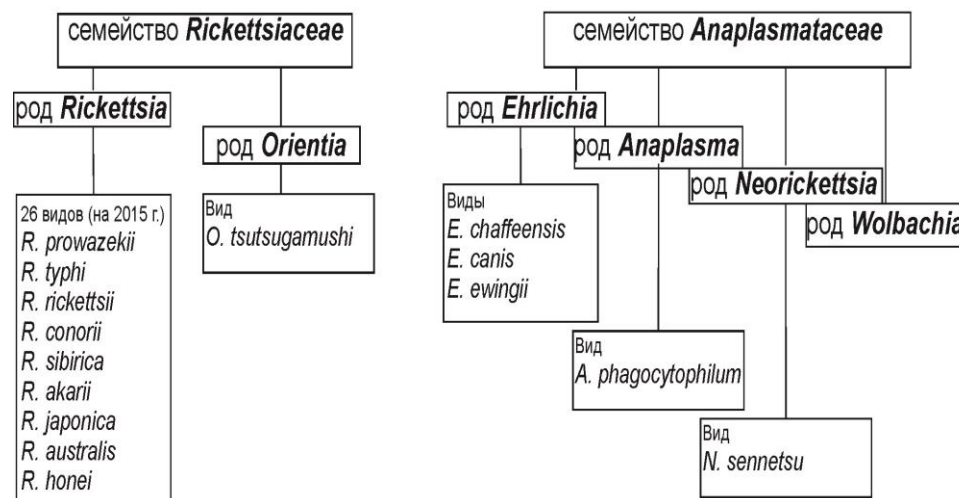
Задание	Методы, результаты									
1. Учет РПГА для дифференциальной диагностики эпидемического и рецидивного сыпного тифа.	I _____	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	КС	КА
	II _____									
2. Зарисовать демонстрационные препараты: 1) Риккетсии Провачека в чистой культуре, окраска по Граму; 2) Хламидии, окраска по Романовскому–Гимзе.	Препарат _____ _____ _____ Окраска _____ _____ Препарат _____ _____ _____ Окраска _____ _____									

Подпись преподавателя _____

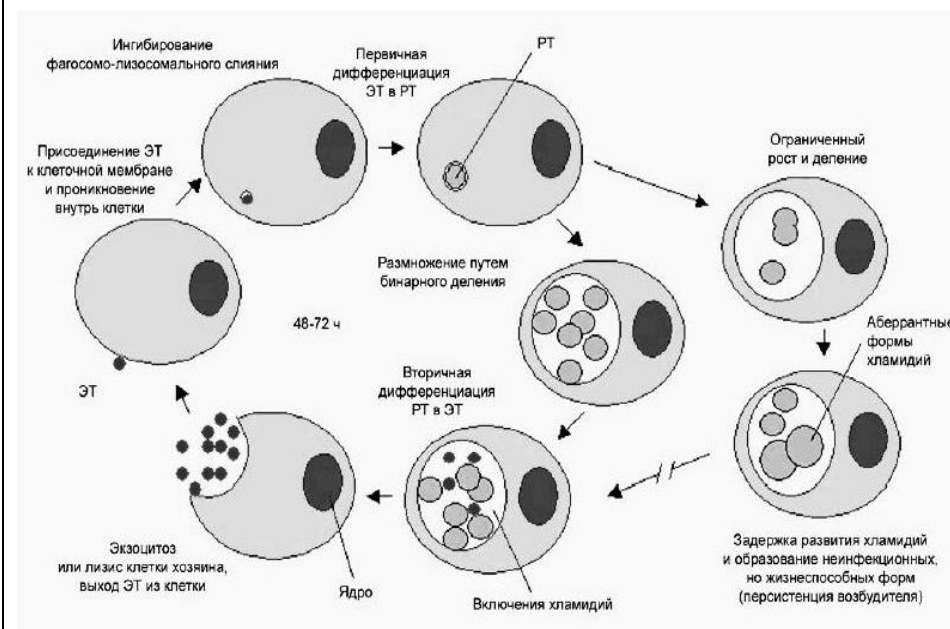
Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 8 (25).

Классификация риккетсий претерпевает постоянные изменения в результате совершенствования методов идентификации и подходов к критерию вида. По результатам молекулярно-филогенетического анализа род *Coxiella* с видом *C. burnetti* исключены из семейства *Rickettsiaceae* и отнесены к порядку *Legionellales*, семейству *Coxiellaceae* с сохранением родовой и видовой номинации. Род *Rochalimaea* перестал существовать, а его представители — *R. quintana* (траншейная, окопная, волынская лихорадка) и *R. henselae* (болезнь кошачьих царапин) включены в семейство *Bartonellaceae*, род *Bartonella*.

порядок *Rickettsiales*



Жизненный цикл хламидий



Характеристика некоторых риккетсиозов человека

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

Диагностика и характеристика возбудителей риккетсиозов, хламидиозов и микоплазмозов

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

Занятие № 9 (26)

Дата: _____

ТЕМА: Итоговое занятие по разделу «Частная медицинская микробиология»

1. Стафилококки, общая характеристика. Роль в патологии человека. Факторы патогенности и механизмы патогенеза стафилококковых инфекций. Микробиологическая диагностика. Принципы терапии и профилактики стафилококковых инфекций. 2. Стрептококки, классификация. Общая характеристика. Факторы патогенности. Антигенная структура. Патогенез, иммунитет, микробиологическая диагностика, принципы терапии и профилактики стрептококковых инфекций. 3. Классификация нейссерий. Менингококки, общая характеристика. Менингококковые инфекции, механизмы патогенеза, иммунитет, методы диагностики, профилактика. 4. Гонококки, общая характеристика. Механизмы патогенеза и иммунитет. Микробиологическая диагностика острой и хронической гонореи. 5. Общая характеристика семейства энтеробактерий. 6. Общие принципы бактериологической диагностики острых кишечных инфекций (ОКИ). Питательные среды для энтеробактерий. Классификация, принципы работы, применение. 7. Материалы для исследования при ОКИ: методы взятия и характер материала в зависимости от клинической формы болезни и этапа патогенеза. 8. Общие принципы серологической диагностики ОКИ. 9. Кишечная палочка, общая характеристика. Биологическая роль кишечной палочки. Заболевания, вызываемые эшерихиями. 10. Сальмонеллы. Общая характеристика. Представители рода. Серологическая классификация по Кауфману–Уайту. Молекулярно-биологическое типирование. 11. Возбудители брюшного тифа, паратифов А и В, общая характеристика. Фаготипирование. Vi-антиген и его значение. 12. Механизмы патогенеза и методы микробиологической диагностики брюшного тифа и паратифов. 13. Иммунитет при брюшном тифе. Серологическая диагностика брюшного тифа и паратифов. Специфическая профилактика. 14. Этиология пищевых интоксикаций и токсикоинфекций бактериальной природы. Материалы и методы диагностики. 15. Сальмонеллез. Характеристика возбудителей и методы диагностики. Внутрибольничный сальмонеллез. 16. Возбудители дизентерии. Классификация. Характеристика. Патогенез, иммунитет к дизентерии. Методы микробиологической диагностики острой и хронической дизентерии. 17. Клебсиеллы. Классификация, общая характеристика. Патогенез, иммунитет, методы микробиологической диагностики клебсиеллёзов. 18. Синегнойная палочка, общая характеристика, факторы патогенности. Роль в патологии. 19. Возбудители кишечного иерсиниоза, общая характеристика. Патогенез. Методы диагностики иерсиниоза. 20. Возбудитель дифтерии, общая характеристика. Отличия от непатогенных коринебактерий. Механизмы патогенеза и микробиологическая диагностика дифтерии. 21. Дифтерийный токсин и его свойства. Анатоксин. Иммунитет при дифтерии. Определение напряженности антитоксического иммунитета. Принципы терапии и профилактики дифтерии. 22. Возбудитель коклюша, общая характеристика. Дифференциация с возбудителем паракоклюша. Патогенез, иммунитет. Микробиологическая диагностика, принципы терапии и профилактики коклюша. 23. Гемофилы. Общая характеристика, роль в патологии человека. 24. Легионеллы, коксиеллы. Общая характеристика, роль в патологии человека. 25. Листерии. Общая характеристика, роль в патологии человека. 26. Общая характеристика возбудителей туберкулёза. Патогенез, иммунитет, методы диагностики и специфическая профилактика туберкулёза. Микобактериозы. 27. Возбудитель лепры. Характеристика, патогенез, иммунитет.	28. Особо опасные инфекции. Режим работы. Правила забора, транспортировки материала и принципы диагностики заболеваний, на которые распространяются мероприятия по санитарной охране территорий РБ. 29. Возбудители холеры. Систематика. Общая характеристика. Дифференциация биоваров. Патогенез, иммунитет, принципы терапии и профилактики. Методы микробиологической диагностики. 30. Возбудитель чумы, общая характеристика. Патогенез чумы. Иммунитет, принципы терапии и профилактики чумы. 31. Возбудитель сибирской язвы, характеристика. Патогенез, иммунитет, принципы терапии и профилактики сибирской язвы. 32. Возбудитель туляремии, общая характеристика. Патогенез, иммунитет, принципы терапии и профилактики туляремии. 33. Возбудители бруцеллёза, общая характеристика. Дифференциация видов бруцелл. Патогенез, иммунитет, принципы терапии и профилактики бруцеллёза. 34. Кампилобактерии, характеристика, роль в патологии человека. Хеликобактер. 35. Классификация и общая характеристика анаэробов. Клостридии. Бактероиды, пептококки и другие неспорообразующие анаэробы. Факторы патогенности. Роль в патологии человека. 36. Возбудитель столбняка, общая характеристика. Патогенез, иммунитет, принципы терапии и профилактики столбняка. 37. Возбудитель газовой гангрены, общая характеристика. Патогенез, принципы терапии и профилактики газовой гангрены. 38. Возбудитель ботулизма, общая характеристика. Патогенез, принципы терапии и профилактики ботулизма. Клостридиальные гастроэнтериты. 39. Методы диагностики анаэробных инфекций. 40. Классификация и общая характеристика спирохет. 41. Классификация трепонем и трепонематозов. Характеристика возбудителя сифилиса. Патогенез, иммунитет, методы диагностики сифилиса. 42. Лептоспиры. Общая характеристика. Патогенез лептоспирозов, иммунитет, специфическая профилактика. Микробиологическая диагностика лептоспирозов. 43. Боррелии, общая характеристика. Патогенез, иммунитет при возвратном тифе. Микробиологическая диагностика. Возбудитель боррелиоза Лайма. 44. Систематическое положение и характеристика риккетсий. Возбудители риккетсиозов. Патогенез, иммунитет, методы диагностики сыпного тифа. 45. Характеристика хламидий. Возбудители трахомы, орнитоза, респираторных и урогенитальных хламидиозов. Механизмы патогенеза и методы диагностики хламидиозов. 46. Общая характеристика микоплазм, факторы патогенности, роль в патологии человека. Методы диагностики микоплазмозов. Практические навыки: 1. Определить морфологию стафилококка, чистая культура, окраска по Граму. 2. Определить морфологию стрептококка, чистая культура, окраска по Граму. 3. Определить морфологию гонококка в гное, окраска по Граму. 4. Определить морфологию энтеробактерии, чистая культура, окраска по Граму. 5. Определить морфологию смеси стафилококка и кишечной палочки, окраска по Граму. 6. Определить морфологию бацилл сибирской язвы, чистая культура, окраска по Граму. 7. Определить морфологию вибриона, чистая культура, окраска по Граму. 8. Определить морфологию бруцелл, чистая культура, окраска по Граму. 9. Определить морфологию коринебактерий, чистая культура, окраска по Леффлеру. 10. Определить морфологию клебсиелл, чистая культура, окраска по Гинсу–Бурри. 11. Определить морфологию микобактерий в мокроте, окраска по Цилю–Нильсену. 12. Определить биохимические свойства культуры на среде Клиглера.
--	--

ТЕМА: Методы вирусологических исследований. Бактериофаги

Перечень изучаемых вопросов: Вирусы. Систематика и морфология вирусов. Механизм репродукции вирусов. Строгий паразитизм и цитотропизм вирусов. Типы вирусной инфекции. Механизмы противовирусного иммунитета.

Принципы диагностики вирусных инфекций.

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.

Серологический метод диагностики. Реакция торможения гемагглютинации (РТГА), торможения гемадсорбции, нейтрализации. Ускоренные методы.

Вирусы бактерий (бактериофаги). Вирулентные и умеренные бактериофаги. Методы титрования бактериофагов. Практическое использование бактериофагов. Фаго-диагностика и фаготипирование.

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты								
1. Зарисовать демонстрационные препараты. 1) Культура клеток куриных фибробластов, эозин; 2) Культура Нер-2; 3) ЦПД (цитопатическое действие вируса); 4) Реакция гемадсорбции.	Препарат _____ _____ Окраска _____ _____		Препарат _____ _____ Окраска _____ _____		Препарат _____ _____ Окраска _____ _____		Препарат _____ _____ Окраска _____ _____		
2. Титрование вируса по цветной пробе. Ингредиенты: – культура клеток; – разведения вируса	10^{-1} 	10^{-2} 	10^{-3} 	10^{-4} 	10^{-5} 	10^{-6} 	КК 	КВ 	Цветная проба  Исходный цвет среды  Изменение цвета в результате метаболизма клеток  Сохранение цвета среды в результате гибели клеток под действием вируса

Заключение: _____

3. РТГА с парными сыворотками для диагностики вирусного заболевания.	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	КС1	КЭ	КВ	Ингредиенты: – сыворотка обследуемого С1 — взята при поступлении С2 — взята через 2 недели – эритроциты – вирус – физ. раствор
	С1										
	С2							КС2			
Заключение: _____											
4. Заражение куриных эмбрионов вирусом гриппа в аллантоисную полость.	1. Изучить схему строения куриного эмбриона (8–11 дней). 2. Изучить куриный эмбрион в овоскопе и установить его жизнеспособность: а) по размеру тени эмбриона; б) наличием развитого сосудистого рисунка; в) активной подвижности эмбриона; г) очертить границу воздушного мешка. 3. Установить эмбрион на подставку и провести обработку скорлупы по схеме: а) 70 % спирт; б) 5 % спиртовой раствор йода; в) 70 % спирт. 4. Произвести заражение эмбриона в следующей последовательности: а) фламбировать бранши ножниц; б) осторожно пробить скорлупу на 3–5 мм выше границы воздушного мешка; в) набрать в одноразовый «инсулиновый шприц» 0,2 мл материала (живая вакцина против гриппа); г) ввести иглу шприца по канюлю (25 мм) в прокол перпендикулярно плоскости стола и выпустить материал. 5. Провести повторную обработку скорлупы в зоне прокола согласно пункту 3. 6. Герметизировать эмбрион лейкопластырем, маркировать эмбрион (номер группы, инициалы исследователя).							Схема строения куриного эмбриона:			

Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 10 (27).

Лабораторная диагностика вирусных инфекций складывается из четырех методических направлений:

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

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

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

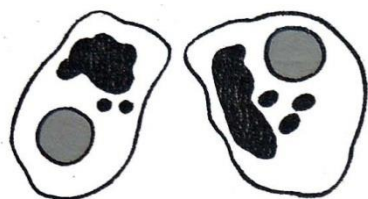
4) Молекулярно-генетический метод: обнаружение вирусспецифических фрагментов генома вирусов в материале (методы МГ, ПЦР).

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

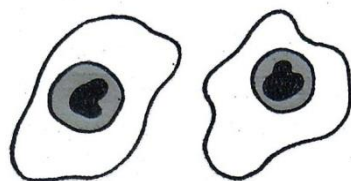
Вирусные включения

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

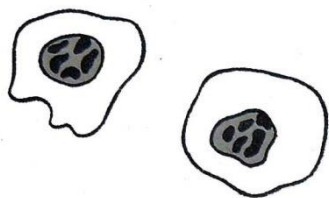
Схематичное изображение вирусных включений при некоторых вирусных инфекциях



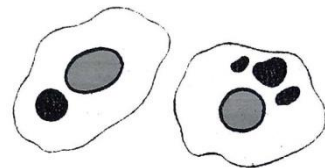
Клетки, зараженные вирусом оспы (тельца Гварниери)



Клетки, зараженные вирусом герпеса (тельца Каудри)



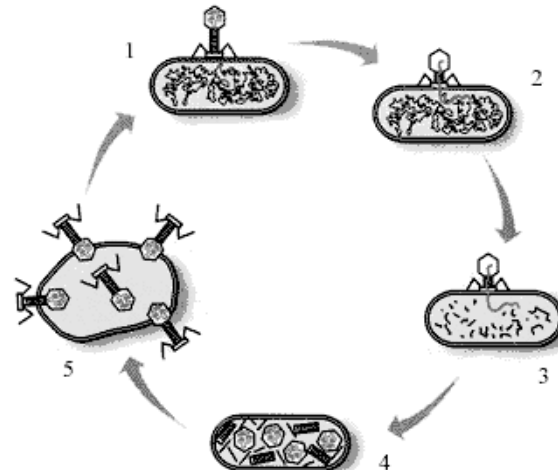
Клетки, зараженные аденовирусом



Клетки, зараженные вирусом бешенства (тельца Бабеша-Негри)

Взаимодействие бактериофага с восприимчивой бактериальной клеткой

(Укажите фазы взаимодействия)



1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____

Применение бактериофагов

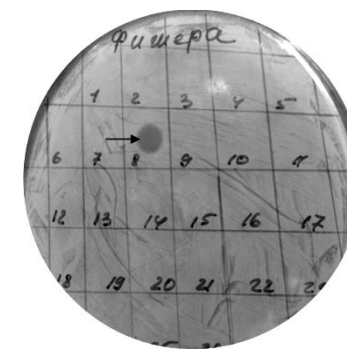
Фагоидентификация бактерий

Метод Отто («стекающей капли»). На чашку с МПА засевают суточную бульонную культуру бактерий. Затем наносят каплю известного бактериофага и, наклонив чашку, дают капле несколько растечься по поверхности питательной среды. Через сутки наблюдают полную задержку роста в месте внесения диагностического фага.



Фаготипирование бактерий

Метод Фишера. Суточную бульонную культуру засевают на МПА, затем условно делят чашку на квадраты. В каждый квадрат наносят по одной капле различных фагов. После суточной инкубации в термостате отмечают квадраты, в которых отмечается лизис бактерий. Фаготип бактериальной культуры определяется типом лизирующего ее фага.



ТЕМА: Методы вирусологической диагностики заболеваний, вызываемых орто-, парамиксовирусами, коронавирусами

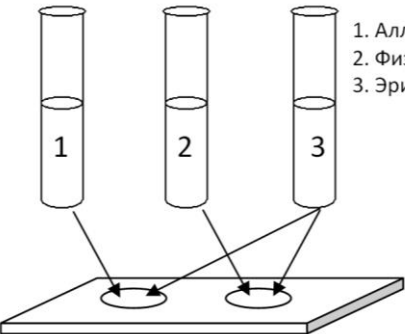
Перечень изучаемых вопросов: Ортомиксовирусы. Классификация и характеристика семейства. Вирусы гриппа А, В, С. Морфология вириона. Антигенная структура и серотипы. Антигенная изменчивость (дрейф, шифт) и её следствия. Грипп, распространение, патогенез, иммунитет. Методы диагностики гриппа, ускоренные методы. Принципы терапии и профилактики гриппа, препараты для специфической иммуно- и химиопрофилактики и химиотерапии. Вирусы «птичьего» и «свиного» гриппа.

Парамиксовирусы. Классификация (см. приложение 2) 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.

Пневмовирусы. Респираторно-синцитиальный вирус, свойства, роль в патологии человека.

Коронавирусы. SARS (ТОРС — тяжелый острый респираторный синдром) и MERS (БВРС — ближневосточный респираторный синдром).

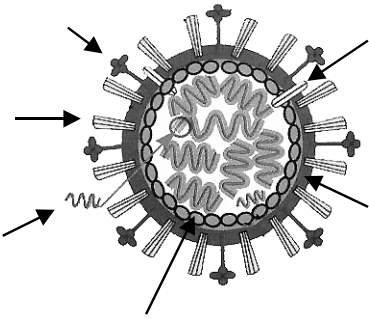
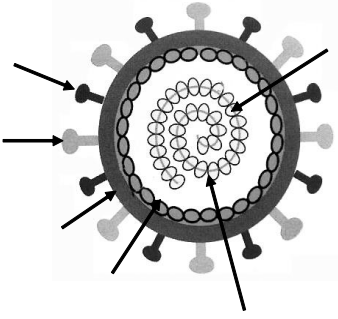
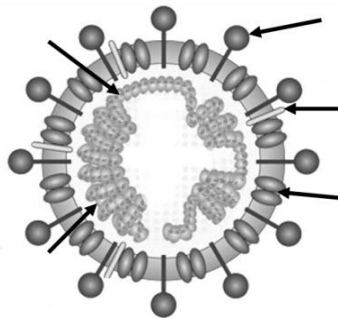
Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты	
1. Вскрытие куриных эмбрионов.	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. 2. Скорлупу в месте воздушной камеры обрабатывают 70%-ным спиртом, обжигают на пламени, снова обрабатывают спиртовой настойкой йода и опять обжигают. 3. Чтобы получить аллантоисную и амниотическую жидкости, скорлупу стерильными ножницами обрезают на 2–3 мм выше границы воздушной камеры. Яйцо слегка наклоняют, удаляют оставшуюся подскорлупную оболочку и пастеровской пипеткой, избегая повреждения сосудов, отбирают 6–10 мл аллантоисной жидкости. 4. После этого забирают амниотическую жидкость (0,5–1,5 мл). 5. Эмбрион извлекают в чашку Петри. Оставшуюся хорион-аллантоисную оболочку тщательно расправляют и макроскопически исследуют на темном фоне. Отделяют и помещают в отдельную чашку желточный мешок. 6. Материал, взятый из куриных эмбрионов, обязательно проверяют на стерильность (присутствие бактерий). 7. Как правило, ортомиксовирусы не вызывают видимых повреждений тканей эмбриона. Для быстрого обнаружения гемагглютинирующего вируса в исследуемой эмбриональной жидкости (содержимое аллантоисной и амниотической полостей) ставят реакцию гемагглютинации на стекле.	
2. Постановка РГА для индикации вируса.	Постановка реакции гемагглютинации: На поверхность предметного стекла наносят каплю исследуемой жидкости и каплю 5%-ной взвеси эритроцитов кур и перемешивают. В положительном случае реакция наступает через 3–5 мин. Если в жидкости находится гемагглютинирующий вирус, то при взаимодействии его с эритроцитами образуется агглютинат (происходит агглютинация эритроцитов), а надосадочная жидкость становится прозрачной. Если вирус отсутствует или не обладает гемагглютинирующими свойствами, эритроциты остаются во взвешенном состоянии, жидкость остается мутной. Заключение: _____	РГА:  1. Аллантоисная жидкость (опыт) 2. Физ. раствор (контроль) 3. Эритроциты куриные

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

Подпись преподавателя _____

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

Структура _____ вирусов	Структура _____ вирусов	Структура _____ вирусов
 Размеры _____ Геном _____ 1. Гемагглютинин 2. Нейраминидаза 3. Суперкапсид 4. Матриксный белок М1 5. Белок М2 6. Рибонуклеопротеид	 Размеры _____ Геном _____ 1. Гликопротеин F 2. Гликопротеин HN, H, G 3. Суперкапсид 4. Матриксный белок 5. Нуклеокапсид 6. РНК	 Размеры _____ Геном _____ 1. Пепломер (гликопротеин S) 2. Гликопротеин E 3. М-белок 4. Нуклеопротеин 5. РНК

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

Рецепторы орто-, парамиксовирусов и пневмовирусов				
	H	N	F	G
вирусы гриппа	+	+	—	—
вирусы парагриппа	+	+	+	—
вирус эпидемического паротита	+	+	+	—
вирус кори	+	—	+	—
респираторно-синцитиальный вирус	—	—	+	+

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

Лабораторная диагностика гриппа
<u>Вирусологический метод</u>: носоглоточное отделяемое в первые три дня болезни забирают с помощью тампонов. Тампоны прополаскивают в физрастворе, отжимают и утилизируют, а жидкость отстаивают на холоде и средний слой используют для исследования. Вирус можно концентрировать с помощью эритроцитов морской свинки. В любом случае перед заражением эмбрионов материал обрабатывают антибиотиками (по 500 ед пенициллина + стрептомицина/мл), выдерживают 1 час при комнатной температуре, проверяют на стерильность и используют для заражения. Заражают куриные эмбрионы, инкубация 3–4 дня при 35 °С, вскрытие эмбриона. Постановка реакции гемагглютинации для индикации вируса. Идентификация вируса в реакции РТГА с набором диагностических сывороток (к эталонным штаммам вирусов соответствующих серологических типов). <u>Серологическая диагностика</u>: обычно применяют РСК и РТГА. При этом РСК выявляет антитела к серотипам вируса гриппа А, а РТГА позволяет дифференцировать штаммы вирусов в пределах определенного серотипа. Как РСК, так и РТГА ставят с набором типовых штаммов (со стандартным диагностикумом). Тем не менее, иногда требуется применение набора свежeweделенных штаммов.
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. <u>Серологическая диагностика</u>: определяют прирост антител в ИФА (РСК, РТГА). <u>Вирусологический метод</u>: исследуют слюну (до 3 дня), ликвор (до 6 дня) и мочу (до 9 дня с момента заболелания): а) выделение вирусов паротита на 7–8 дневных куриных эмбрионах. Заражение производят в полость амниона. Эмбрионы инкубируют 6–7 дней при 35 °С. Для индикации вируса используют РГА с эритроцитами кур или морских свинок и амниотической жидкостью. Если агглютинирующая активность слабая (отсутствует), проводят пассажи на эмбрионах. В качестве материала используют гомогенат амниотической оболочки. После третьего отрицательного пассажа делают отрицательное заключение; б) выделение вируса на культуре клеток. Заражают культуры клеток почек эмбриона человека, HELA и инкубируют при 35 °С. Индикация по ЦПД: через 48–72 часа в культуре появляются гигантские многоядерные клетки и симпласты с цитоплазматическими включениями. Позже наблюдается полное разрушение клеточного монослоя; в) для идентификации вирусов, выделенных на эмбрионах и культурах клеток, используют РИФ, РН, РТГАдс, РТГА, РСК. <u>Молекулярно-генетический метод</u> (ПЦР).
Лабораторная диагностика кори
Обычно не требуется, поскольку клинические проявления достаточно характерны. Необходима для диагностики атипичных случаев; диагностики массовых заболеваний; расследования летальных случаев. <u>Экспресс методы</u>: выявление антигенов вируса в РИФ, обнаружение характерных многоядерных клеток в окрашенных препаратах. Материалом служат отпечатки слизистой носоглотки, соскобы с элементов сыпи. <u>Вирусологический метод</u>: 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 веретеновидных клеток с цитоплазматическими и внутриядерными включениями. Идентификацию проводят в РИФ, РН и РТГА. <u>Серологический метод</u>: ИФА, РНГА в парных сыворотках. <u>Молекулярно-генетический метод</u> (ПЦР).

ТЕМА: Методы вирусологической диагностики заболеваний, вызываемых пикорнавирусами, ротавирусами, ретровирусами.

Перечень изучаемых вопросов: Пикорнавирусы. Классификация (см. приложение 2) и характеристика семейства, роль в патологии человека. Этиология, патогенез, иммунитет, диагностика и иммунопрофилактика полиомиелита. Проблема эрадикации полиомиелита. Вирусы Коксаки и ЕСНО, их роль в патологии человека. Дифференциация. Риновирусы. Состав рода. Структура и свойства вирусов. Распространение, патогенез, иммунитет.

Ротавирусы, общая характеристика, роль в патологии человека.

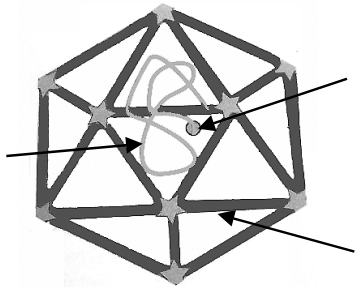
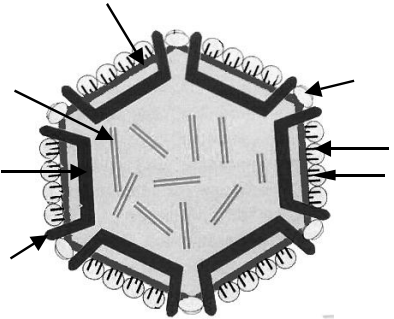
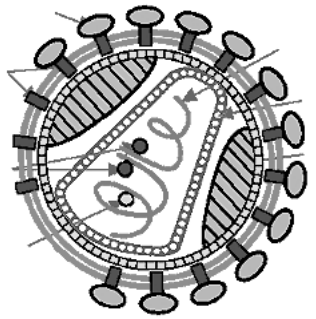
Ретровирусы. Классификация и характеристика семейства. Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ-1, ВИЧ-2). Морфология вириона. Стадии патогенеза ВИЧ-инфекции, роль CD4+ и CD8+ Т-клеток. СПИД-ассоциированные заболевания. Методы диагностики и профилактики ВИЧ-инфекции. ВИЧ-инфекция в РФ.

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты																																																																																																																												
Демонстрация. 1. Титрование вируса полиомиелита в культуре клеток по цветной пробе.	Определение титра цитопатических доз вируса (ТЦД) <table border="1" style="width: 100%; text-align: center;"> <tr> <td>10^{-1}</td> <td>10^{-2}</td> <td>10^{-3}</td> <td>10^{-4}</td> <td>10^{-5}</td> <td>10^{-6}</td> <td>КК</td> <td>КВ</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </table> Заключение: ТЦД = _____		10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	КК	КВ																																																																																																																			
10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	КК	КВ																																																																																																																						
																																																																																																																													
2. Учет реакции нейтрализации в культуре клеток с парными сыворотками для серодиагностики полиомиелита. С1 — сыворотка, взятая при поступлении С2 — сыворотка, взятая на 3-й неделе болезни КВ1 — <i>Human poliovirus 1</i> КВ2 — <i>Human poliovirus 2</i>	Реакция нейтрализации (РН) в культуре клеток с парными сыворотками для серодиагностики полиомиелита <table border="1" style="width: 100%; text-align: center;"> <tr> <td colspan="8"><i>Вариант РН № 1</i></td> <td colspan="8"><i>Вариант РН № 2</i></td> </tr> <tr> <td></td> <td>1/10</td> <td>1/20</td> <td>1/40</td> <td>1/80</td> <td>1/160</td> <td>КС1</td> <td>КК</td> <td>КВ1</td> <td></td> <td>1/10</td> <td>1/20</td> <td>1/40</td> <td>1/80</td> <td>1/160</td> <td>КС1</td> <td>КК</td> <td>КВ2</td> </tr> <tr> <td>С1</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>КС2</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>КС2</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>С2</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td colspan="9"> Титр АТ первой сыворотки в РН равен _____ Титр АТ второй сыворотки в РН равен _____ </td> <td colspan="9"> Титр АТ первой сыворотки в РН равен _____ Титр АТ второй сыворотки в РН равен _____ </td> </tr> <tr> <td colspan="17"> Заключение: _____ </td> </tr> </table>		<i>Вариант РН № 1</i>								<i>Вариант РН № 2</i>									1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	КС1	КК	КВ1		1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	КС1	КК	КВ2	С1																								КС2									КС2			С2																		Титр АТ первой сыворотки в РН равен _____ Титр АТ второй сыворотки в РН равен _____									Титр АТ первой сыворотки в РН равен _____ Титр АТ второй сыворотки в РН равен _____									Заключение: _____																
<i>Вариант РН № 1</i>								<i>Вариант РН № 2</i>																																																																																																																					
	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	КС1	КК	КВ1		1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	КС1	КК	КВ2																																																																																																												
С1																																																																																																																													
						КС2									КС2																																																																																																														
С2																																																																																																																													
Титр АТ первой сыворотки в РН равен _____ Титр АТ второй сыворотки в РН равен _____									Титр АТ первой сыворотки в РН равен _____ Титр АТ второй сыворотки в РН равен _____																																																																																																																				
Заключение: _____																																																																																																																													

Подпись преподавателя _____

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

Структура	вирусов	Структура	вирусов	Структура	вирусов
	Размеры _____ Геном _____ 1. Капсид 2. РНК 3. Кэпирующий белок VPg		Размеры _____ Геном _____ 1. Наружный капсид 2. Внутренний капсид 3. Белок VP4 4. Белок VP6 5. Белок VP7 6. РНК 7. Гликопротеин М-1С		Размеры _____ Геном _____ 1. Капсид (p24) 2. Нуклеокапсид (р6, 9) 3. Матриксный белок (p17) 4. Обратная транскриптаза (p55, 63) 5. Интеграза (p11) 6. gp120 7. gp41

Вирусы-возбудители гастроэнтеритов			Заболевания, вызываемые энтеровирусами	
Возбудители	Таксономическое положение	Характеристика вириона	Вirus	Заболевания
Ротавирусы	Сем. <i>Reoviridae</i> Род <i>Rotavirus</i>	Простой, сферический, 60–80 нм Капсид икосаэдрический тип симметрии Геном: дцРНК, фрагментированная (10–18 фрагментов)	Полиомиелит	Полиомиелит — острое лихорадочное заболевание, сопровождающееся поражением нейронов серого вещества (греч. polios — серый) спинного мозга и ствола головного мозга, в результате чего развиваются вялые атрофические параличи и парезы мышц ног, туловища, рук
Энтеровирусы	Сем. <i>Picornaviridae</i> Роды <i>Enterovirus</i> , <i>Kobuvirus</i> , <i>Parechovirus</i> , <i>Salivirus</i> (?)	Простой, 22–30 нм Капсид: икосаэдрический Геном: оцРНК(+), нефрагментированная	Коксаки А	Полиорганный тропизм. Герпангина (герпетиформные высыпания на задней стенке глотки, дисфагия, лихорадка), пузырчатка в полости рта и конечностей, серозный менингит, полиомиелитоподобные заболевания. Респираторные и кишечные инфекции (особенно у детей)
Аденовирусы	Сем. <i>Adenoviridae</i> Род <i>Mastadenovirus</i>	Простой, 70–90 нм Капсид: икосаэдрический Геном: дцДНК, линейная	Коксаки В	Полиорганный тропизм. Более высокая нейротропность, чем у коксаки А. Серозный менингит, энцефалит, миокардит, полиомиелитоподобные заболевания, плевродиния (болезненные приступы в области груди, лихорадка, иногда плеврит). Респираторные и кишечные инфекции (особенно у детей)
Калицивирусы	Сем. <i>Caliciviridae</i> Род <i>Norovirus</i>	Простой, 30–40 нм Капсид: икосаэдрический Геном: оцРНК(+), нефрагментированная	ЕСНО	ОРВИ, асептический менингит, полиомиелитоподобная инфекция
Астровирусы	Сем. <i>Astroviridae</i> Род <i>Mamastrovirus</i>	Простой, 30–40 нм Капсид: икосаэдрический Геном: оцРНК(+), нефрагментированная	Энтеровирус 70	Геморрагический конъюнктивит
			Энтеровирус 71	Полиомиелитоподобные заболевания

Лабораторная диагностика полиомиелита

Исследуемый материал: носоглоточное отделяемое, фекалии, спинномозговая жидкость, секционный материал (кусочки головного и спинного мозга, лимфоузлы и др.), сыворотка крови.

Вирусологический метод: заражают материалом (после обработки) культуру клеток (почек обезьян, почек эмбриона человека, амниона человека). Индикация: выраженное ЦПД (мелко-клеточная дегенерация, деструкция клеточного пласта), бляшкообразование, ЦП. Идентификация: РН с типоспецифическими сыворотками и культуральной жидкостью. Для дифференциации диких и вакцинных штаммов поливируса — ИФА и ПЦР.

Серологический метод: исследуют парные сыворотки, взятые в начале заболевания и с интервалом в 3–4 недели, в РСК, ИФА или РН с полиовирусными диагностикумами 1, 2, 3 серотипа. Диагностический критерий — 4-кратное и более нарастание титра АТ во второй сыворотке. Для определения класса вирусспецифических АТ (IgG, IgM, IgA) и их количественного содержания применяют РИД по Манчини.

Молекулярно-генетический метод: ПЦР для экспресс-диагностики (выявление РНК вируса) и идентификации вакцинных и диких штаммов.

Семейство RETROVIRIDAE, около 150 видов

Плюс-однонитевые диплоидные (две молекулы) РНК-вирусы, обратнотранскрибирующие (РНК-зависимая ДНК-полимераза), сложные, 80–130 нм.

В патологии человека значение имеют 4 вида: ВИЧ-1, ВИЧ-2 и вирусы Т-клеточных лейкозов (HTLV-1 и 2).

Геном ВИЧ — три структурных гена и семь регуляторных генов

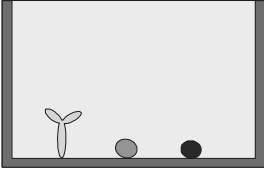
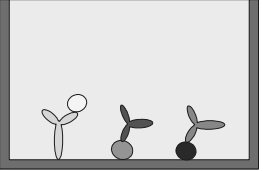
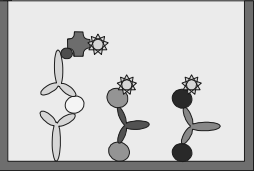
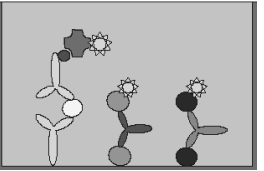
Гены	Функция
<i>gag</i> (group specific antigen) структурный	Групповой антиген, кодирует матриксные, капсидные, нуклеокапсидные и белки протеазы
<i>pol</i> (polimerase) структурный	кодирует обратную транскриптазу (РНК-зависимая ДНК-полимераза), протеазу, интегразу (p51/p66, p32-интегразу, p15-РНКазу)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

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

Белок, молекулярная масса, кДа	Место локализации, химическая природа, функция
gp120, gp41 (продукты расщепления gp160)	поверхностные (суперкапсидные) групповые гликопротеины, рецепторная функция; gp120 находится на поверхности вириона, gp41 пронизывает его липидную оболочку
p6, p17	матриксные белки
p24, p25	капсидные белки
p7, p9	нуклеокапсидные белки
p10, p11	белки протеазы
p32	интеграна
p15	РНКазы
p51/p66	обратная транскриптаза

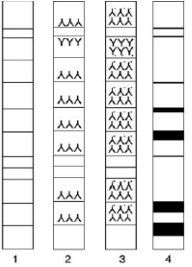
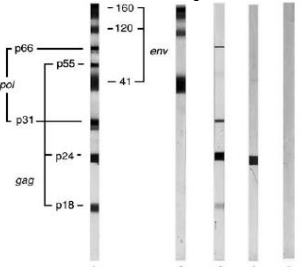
ИФА для скрининга ВИЧ-инфекции

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

			
В лунках 96-луночного планшета для серологических реакций сорбированы: – моноклональные антитела к p24; – рекомбинантные эпитопы gp41; – рекомбинантные эпитопы gp120.	При добавлении сыворотки пациента происходит связывание p24 и антител против гликопротеинов ВИЧ на сорбированных лигандах	При добавлении конъюгатов: – биотина* (антитела против гликопротеинов ВИЧ, анти-p24) и пероксидазы хрена (gp41, gp120) происходит фиксация их на иммунных комплексах, пропорциональная количеству выявляемых антител и антигена.	При добавлении субстрата происходит дозозависимая ферментация с образованием окрашенного продукта

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

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.
---	--	---	--

ТЕМА: Методы вирусологической диагностики заболеваний, вызываемых рабдовирусами, арбовирусами и вирусами с природной очаговостью.

Перечень изучаемых вопросов: 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.

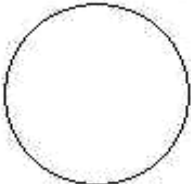
Онкогенные вирусы (ДНК-геномные и РНК-геномные). Механизмы вирусного канцерогенеза.

Этиология медленных инфекций.

Лабораторная работа

1. Зарисовать демонстрационные препараты:

1) Тельца Бабеша–Негри, окраска по Муромцеву

Препарат _____	

Окраска _____	

Диагностика бешенства

1. Материал: мозг животного, нанесшего укус, либо человека, погибшего от заболевания. Можно использовать ткань слюнных желез. Для биопробы ткань мозга забирают 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.

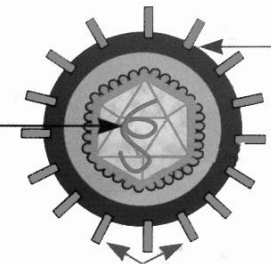
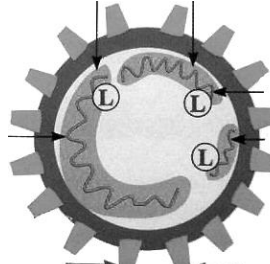
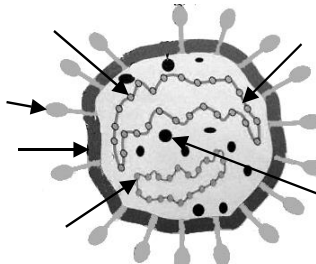
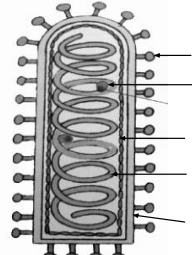
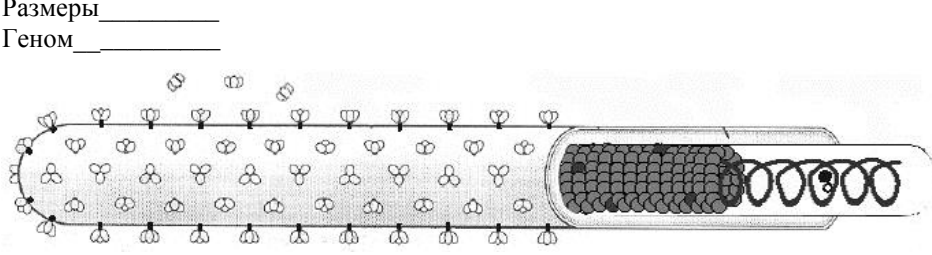
Выявление телец Бабеша–Негри (размеры и частота) зависит от продолжительности инфекционного процесса (инкубационного периода). При типичном течении бешенства (буйная форма) максимальное количество телец обнаруживается в клетках Аммонова рога. При паралитической форме — в продолговатом и спинном мозге.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

Подпись преподавателя _____

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

Структура _____ вирусов  Размеры _____ Геном _____ 1. Суперкапсид 2. РНК 3. Гликопротеины	Структура _____ вирусов  Размеры _____ Геном _____ 1. Нуклеокапсид 2. Суперкапсид 3. Гликопротеины 4. М-РНК 5. S-РНК 6. L-РНК	Структура _____ вирусов  Размеры _____ Геном _____ 1. Суперкапсид 2. Нуклеокапсид (бусинки на РНК) 3. Рибосомаподобные частицы 4. L-сегмент РНК 5. S-сегмент РНК 6. Гликопротеины
Структура _____ вирусов  Размеры _____ Геном _____ 1. Суперкапсид 2. Нуклеокапсид 3. Гликопротеины 4. РНК-полимераза 5. Матриксный белок	Структура _____ вирусов  Размеры _____ Геном _____ 1. Гликопротеин (gp1+gp2) 2. Растворимый гликопротеин 3. Суперкапсид 4. М-белок (p40+p24) 5. Нуклеокапсид 6. Нуклеопротеин (NP) 7. РНК-полимераза (p30+p35) 8. РНК	
Диагностика клещевого энцефалита 1. Материалом является кровь, ликвор, моча. В случае гибели больных — кусочки мозга, кровь и ликвор. Для ретроспективной диагностики забирают кровь в течение 1 недели болезни и через 5–7 недель после начала заболевания. 2. Выделение вируса на мышах. После обработки (гомогенизация, добавление антибиотиков, проверка на стерильность) материал вводят в мозг белым мышам. Через 8–12 дней появляются симптомы (раздражительность, шаткость походки, конвульсии, параличи, гибель). При отсутствии заболевания мышей забивают и гомогенатом мозга заражают других мышей (2–3 пассажа). При отсутствии заболеваний в третьем пассаже делают отрицательное заключение. 3. Выделение вируса на культурах клеток. Применяют фибробласты куриного эмбриона и культуры клеток СПЭВ, ВНК21 и др. Вирусы клещевого энцефалита не вызывают ЦПД (индикация проводится заражением мышей в мозг культуральной жидкостью). 4. Идентификация вирусов осуществляется в РН на мышах, РТГА или РСК с применением стандартных типоспецифических сывороток. 5. Серологическая диагностика проводится в РСК, РНГА или РТГА. РСК ставится со стандартными антигенами, постановка реакции проводится по общепринятой схеме с дополнительными контролями типоспецифической и нормальной сывороток (поставляются вместе с антигенами).		
РНК-геномные онкогенные вирусы Онкогенными РНК-содержащими вирусами являются представители пяти родов ретровирусов (Retroviridae), Alpharetrovirus (вирус миелобласто́за птиц — AMV, вирус саркомы Рау-са — RSV), Betaretrovirus (вирус опухолей молочных желез мышей — MMTV), Gammaretrovirus (вирус лейкемии мышей — MuLV), Deltaretrovirus (вирус лейкоза крупного рогатого ско-та, вирус Т-клеточного лейкоза человека — BLV, HTLV), Epsilonretrovirus (вирус лейкомы рогаговицы — WDSV). Механизмы онкогенной трансформации включают внесение в клетку вы-сокоактивных генов (гомологов нормальных клеточных генов) способных вызывать трансформацию клеток в культуре (онкогены). Вирусные онкогены обозначают v-онс, а соответству-ющие клеточные гены — с-онс. В настоящее время идентифицированы многие онкогены и определены их функции (ростовые факторы, рецепторы ростовых факторов, G-белки, сигналь-ные 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, поксвирусы. 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	Мус	Гены тяжелой и легкой цепей иммуноглобулинов
Хронический В-клеточный лимфолейкоз	Bcl1, bcl2	Гены тяжелой цепи иммуноглобулинов
Хронический Т-клеточный лимфолейкоз	tc11	Гены ТКР
Хронический Т-клеточный лимфолейкоз	Мус	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.

Онкогенные вирусы человека и спектр онкологической патологии

Вирус	Вирус-ассоциированная онкопатология у человека
Вирус гепатита В (HBV)	Гепатоцеллюлярная карцинома (рак печени)
Вирус гепатита С (HCV)	Тип 1b ассоциирован с первичной гепатоцеллюлярной карциномой
Т-лимфотропные вирусы человека (HTLV)	Т-клеточный лейкоз взрослых
Папилломавирусы человека (HPV)	Высокоонкогенные типы 16 и 18 ассоциированы с раком шейки матки, орофарингеальным раком, опухолями аногенитальной локализации
Герпесвирус человека 4 типа (HHV-4, вирус Эпштейна–Барр)	Лимфопролиферативные болезни: лимфома Беркитта, лимфома Ходжкина, неходжкинская лимфома, лимфома мозга, посттрансплантационная лимфопролиферативная болезнь; назофарингеальная карцинома; рак желудка (?)
Герпесвирус человека 8 типа (HHV-8)	Саркома Капоши, многоочаговая болезнь Кастельмана, первичная эффузионная (выпотная) лимфома
Полиомавирус клеток Меркеля (MCV)	Карцинома Меркеля (нейроэндокринная карцинома, рак кожи)

ТЕМА: Методы вирусологической диагностики заболеваний, вызываемых вирусами гепатитов, герпес- и аденовирусами

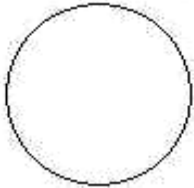
Перечень изучаемых вопросов: Вирусы гепатитов А, В, С, D, E, G. Классификация и общая характеристика, роль в патологии человека. Патогенез и иммунитет гепатитов А, В, С. Методы лабораторной диагностики вирусных гепатитов. Специфическая и неспецифическая профилактика.

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. 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.

Аденовирусы. Классификация и характеристика семейства. Аденовирусы человека, структура вириона, патогенез, иммунитет, диагностика аденовирусных инфекций.

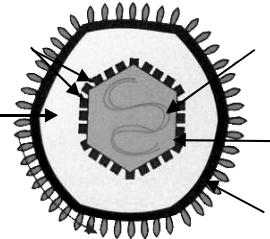
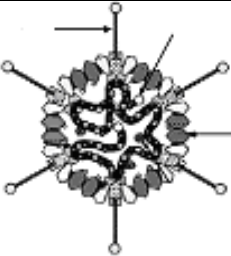
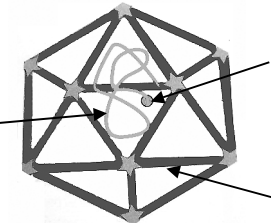
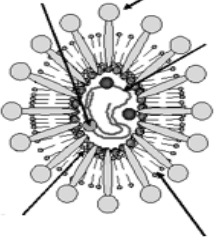
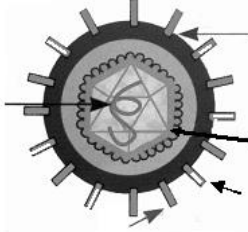
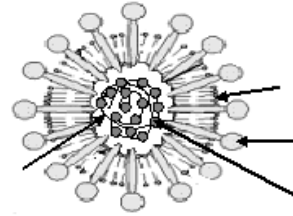
Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты																																																						
1. Постановка ИФА для диагностики вирусного гепатита С: 1) раскапать по 100 мкл контролей и образцов согласно карте постановки (см. схему); 2) заклеить стрип клейкой лентой и инкубировать в термостате 1 час при 37 °С; 3) отмыть стрип 5 раз; 4) раскапать 100 мкл конъюгата (антитела против Ig человека, меченные ферментом) в каждую лунку; 5) инкубировать в термостате 30 минут при 37 °С; 6) промыть стрип 5 раз; 7) раскапать 100 мкл хромогена в каждую лунку; 8) инкубировать в термостате 30 минут при 37 °С; 9) раскапать по 50 мкл стоп-раствора в каждую лунку; 10) учесть результаты на спектрофотометре; 11) рассчитать показатели и заполнить протокол исследований.	Предлагаемый метод основан на наборе «РекомбиБест анти-ВГС-спектр» производства «Вектор-Бест», РФ. Метод выявляет в сыворотке крови человека антитела (IgG и IgM) к антигенам ВГС за счет их взаимодействия с рекомбинантными антигенами, сорбированными на поверхности планшета. Образование соответствующих комплексов антиген-антитело выявляют с помощью иммуноферментного конъюгата и последующей ферментативной реакции с образованием окрашенного продукта.																																																						
	Схема постановки: <table><tr><td></td><td></td><td>1</td><td>2</td></tr><tr><td>CORE</td><td>A</td><td rowspan="4">Отрицат. контроль</td><td rowspan="4">Сыворотка №1</td></tr><tr><td>NS₃</td><td>B</td></tr><tr><td>NS₄</td><td>C</td></tr><tr><td>NS₅</td><td>D</td></tr><tr><td>CORE</td><td>E</td><td rowspan="4">Положит. контроль</td><td rowspan="4">Сыворотка №2</td></tr><tr><td>NS₃</td><td>F</td></tr><tr><td>NS₄</td><td>G</td></tr><tr><td>NS₅</td><td>H</td></tr></table> антигены ВГС сорбированы в лунках стрипов следующим образом: • в рядах A, E — core • в рядах B,F — NS₃ • в рядах C,G — NS₄ • в рядах D, H — NS₅				1	2	CORE	A	Отрицат. контроль	Сыворотка №1	NS ₃	B	NS ₄	C	NS ₅	D	CORE	E	Положит. контроль	Сыворотка №2	NS ₃	F	NS ₄	G	NS ₅	H																													
			1	2																																																			
	CORE	A	Отрицат. контроль	Сыворотка №1																																																			
	NS ₃	B																																																					
NS ₄	C																																																						
NS ₅	D																																																						
CORE	E	Положит. контроль	Сыворотка №2																																																				
NS ₃	F																																																						
NS ₄	G																																																						
NS ₅	H																																																						
Результаты: <table><tr><th>Антигены</th><th>Ряд</th><th>ОП контролей</th><th>ОП образцов</th><th>КП</th><th>Результат</th></tr><tr><td>CORE</td><td>A</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>NS₃</td><td>B</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>NS₄</td><td>C</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>NS₅</td><td>D</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>CORE</td><td>E</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>NS₃</td><td>F</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>NS₄</td><td>G</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr><tr><td>NS₅</td><td>H</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>		Антигены	Ряд	ОП контролей	ОП образцов	КП	Результат	CORE	A					NS ₃	B					NS ₄	C					NS ₅	D					CORE	E					NS ₃	F					NS ₄	G					NS ₅	H				
Антигены	Ряд	ОП контролей	ОП образцов	КП	Результат																																																		
CORE	A																																																						
NS ₃	B																																																						
NS ₄	C																																																						
NS ₅	D																																																						
CORE	E																																																						
NS ₃	F																																																						
NS ₄	G																																																						
NS ₅	H																																																						
Заключение:																																																							
Учет ИФА 1. Оценка верности постановки: Среднее значение ОП отрицательного контроля < 0,2 Среднее ОП К– = Среднее значение ОП положительного контроля > 0,8 Среднее ОП К+ = 2. Расчет ОП критической для каждого антигена: ОПкрит (core-Ag) = ОП К- (core) + 0,2 = ОПкрит (NS3-Ag) = ОП К- (NS3) + 0,2 = ОПкрит (NS4-Ag) = ОП К- (NS4) + 0,2 = ОПкрит (NS5-Ag) = ОП К- (NS5) + 0,2 = 3. Расчет коэффициента позитивности для каждого антигена: КП(core-Ag) = ОП иссл. сыв (core)/ ОПкрит (core) = КП(NS3-Ag) = ОП иссл. сыв (NS3)/ОПкрит (NS3) = КП(NS4-Ag) = ОП иссл. сыв. (NS4)/ОПкрит (NS4) = КП(NS5-Ag) = ОП иссл. сыв. (NS5)/ОПкрит (NS5) = 4. Интерпретация результатов: а) если КП для каждого антигена менее 1, исследуемый образец считают отрицательным; б) результат следует считать положительным, если КП больше 1 для: core-Ag или любых двух антигенов; в) результат следует считать неопределенным, если КП больше 1 только для одного неструктурного белка.																																																							

Демонстрация. 1. ЦПД аденовирусов.	Препарат _____ _____ Окразка _____ _____	
--	---	--

Подпись преподавателя _____

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

Структура _____ вирусов  Размеры _____ Геном _____ 1. Суперкапсид 2. Гликопротеины 3. Икосаэдрический капсид 4. Капсомеры 5. Тегумент 6. ДНК вируса	Структура _____ вирусов  Размеры _____ Геном _____ 1. Фибриллярная нить 2. ДНК 3. Капсид	Структура _____ вирусов  Размеры _____ Геном _____ 1. Капсид 2. РНК 3. Кэппирующий белок VPg
Структура _____ вирусов  Размеры _____ Геном _____ 1. HBs-антиген 2. Суперкапсид 3. Капсид 4. Полимераза 5. ДНК	Структура _____ вирусов  Размеры _____ Геном _____ 1. Суперкапсид 2. Нуклеокапсид 3. Гликопротеин E1 4. Гликопротеин E2 5. РНК	Структура _____ вирусов  Размеры _____ Геном _____ 1. Суперкапсид 2. HBs-антиген 3. Дельта-антиген (бусинки на РНК) 4. РНК

Характеристика вирусных гепатитов (заполните таблицу)

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

Диагностические маркеры вирусных гепатитов

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

Вирусологическая диагностика герпетической инфекции

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

- Мазки окрашивают по Романовскому–Гимзе или гематоксилином-эозином. Для герпетической инфекции характерно наличие в препаратах гигантских клеток с внутриядерными включениями.

- Мазки окрашивают антителами, меченными флуорохромами. Герпетический антиген выявляется в много- и одноядерных клетках, а также внеклеточно. Метод позволяет обнаружить герпетическую инфекцию в головном и спинном мозге и других тканях (печень) в летальных случаях.

- Выделение вируса проводят на:

- 12-дневных куриных эмбрионах. Заражают на хорион-алантоисную оболочку, инкубируют 48 часов при 37 °С. При вскрытии эмбриона на оболочке обнаруживаются макроскопически видимые «оспины». В мазках отпечатках из очагов поражений обнаруживаются одно- и многоядерные клетки с внутриядерными включениями;

- различных культурах клеток. Типичное ЦПД: образование многоядерных синцитиальных клеток с ядерными включениями и круглоклеточная дегенерация с образованием клеточных конгломератов;

- мышатах-сосунках. Заражают внутрибрюшинно или в мозг. Заболевание развивается через 3–4 дня и приводит к гибели животных;

- кроликах. Кроликов заражают на скарифицированную роговицу (развивается специфический кератоконъюнктивит) или в мозг (летальный энцефалит).

- идентификацию вируса, выделенного на эмбрионах, культурах клеток или животных, проводят в РИФ или РН.

Б) Методы ретроспективной диагностики. Для серологической диагностики применяют ИФА и РСК в парных сыворотках. При интерпретации следует иметь в виду возможность перекрестных реакций между различными вирусами группы герпеса.

Вирусологическая диагностика ветряной оспы

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

- Лучшим материалом для микроскопии вируса является содержимое свежих везикул: при микроскопии обнаруживаются вирусные частицы, выявляются многоядерные гигантские клетки с внутриядерными включениями.

- Для быстрой идентификации вируса можно применить РИФ. Специфический антиген обнаруживается внеклеточно в виде ярких зерен и скоплений, а также в одно- или многоядерных клетках.

- Вирус выделяют на различных культурах клеток человека. Характерное ЦПД — образование многоядерных гигантских клеток (характерно для эпителиальных клеток) и скопления округлившихся клеток (характерны для фибробластов). Часто обнаруживаются внутриядерные эозинофильные включения. При отсутствии ЦПД проводят пассажи на культуре клеток. При отсутствии ЦПД в третьем пассаже результат считают отрицательным. Выделенный вирус идентифицируют в РН или РИФ.

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

Вирусологическая диагностика ВЭБ-инфекции

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

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

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

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

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

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

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



Характеристика антител против антигенов ВЭБ

Специфичность	Время появления	Срок циркуляции в организме	Выявление у больных, %
К АГ капсида			
IgM	Начало заболевания	4–8 недель	100
IgG		Пожизненно	100
К ранним АГ			
Анти-D	3–5 неделя болезни	3–6 месяцев	70
Анти-R	2 нед. – 4 мес. болезни	2 месяца – несколько лет	небольшой процент
К ядерному АГ	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, A-549);

• характерное ЦПД:

- мелкоклеточная дегенерация с образованием конгломератов клеток по типу виноградных гроздьев;
- образование отдельных мелких круглых клеток по всей культуре;
- образование цитоплазматических и внутриядерных включений;
- появление зернистости, вакуолей, изменением ядер (пикноз, распад);

• вирус идентифицируют (типировать) в РН, РИФ, РСК;

• все большее применение находят ПЦР и др. молекулярно-генетические методы;

• электронная микроскопия имеет ограниченное применение.

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

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

1. Систематическое положение и классификация вирусов. 2. Формы существования вирусов. Морфология и биохимическая структура вирионов. 3. Структура, свойства и функции нуклеиновых кислот, белков, липидов вирионов. 4. Взаимодействие вирусов с восприимчивой клеткой. Строгий паразитизм и цитотропизм вирусов и факторы, его обуславливающие. Клеточные и вирусоспецифические рецепторы. 5. Особенности инфекции, механизмы неспецифического и специфического иммунитета при вирусных заболеваниях. Интерфероны α, β, γ. 6. Типы вирусной инфекции клеток. Изменения клеток хозяина при вирусной инфекции. Цитопатическое действие вирусов, типы. 7. Включения при вирусных заболеваниях. Природа, локализация. Диагностическое значение. 8. Общие принципы диагностики вирусных инфекций. Методы экспресс-диагностики. Молекулярно-биологическое типирование. 9. Культуры клеток, классификация, характеристика. Культивирование вирусов на культурах клеток. Подготовка материала, заражение культуры. Методы индикации и идентификации вирусов. 10. Культивирование вирусов в курином эмбрионе. Методы заражения. Индикация и идентификация вирусов. 11. Выделение вирусов на лабораторных животных. Способы заражения животных, индикация и идентификация вирусов. 12. Серологические реакции при вирусных инфекциях. Реакции торможения гемагглютинации, торможения гемадсорбции, нейтрализации. 13. Этиология острых респираторных вирусных заболеваний. Классификация вирусов гриппа. Общая характеристика. Свойства структурных и неструктурных вирусных белков. Геном вируса. 14. Антигенная структура вирусов гриппа и ее изменчивость, роль в эпидемическом и пандемическом распространении гриппа. Механизмы естественного и приобретенного иммунитета. 15. Механизмы патогенеза, специфическая и неспецифическая терапия и профилактика гриппа. 16. Парамиксовирусы. Состав семейства. Вирусы парагриппа, характеристика, дифференциация с вирусами гриппа. Вирус эпидемического паротита. Респираторно-синцитиальный вирус. 17. Современные методы лабораторной диагностики гриппа и парагриппа. 18. Вирус кори, морфология, культуральные и антигенные свойства. Патогенез и иммунитет при кори. Специфическая профилактика кори: вакцина, иммуноглобулины. 19. Вирус бешенства, морфология, биологические свойства, вирусные включения. Патогенез заболевания. Лабораторная диагностика бешенства.	20. Эпидемиология, специфическая и неспецифическая профилактика бешенства. Антирабическая вакцина и гамма-глобулин. Работы Пастера. 21. Ретровирусы. Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ), характеристика. Эпидемиология, патогенез, методы лабораторной диагностики, профилактики ВИЧ-инфекции. 22. СПИД, определение, стадии развития. Роль CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток. СПИД-ассоциированные заболевания. 23. Классификация вирусов гепатита. Характеристика вируса гепатита А. Патогенез, иммунитет, методы профилактики гепатита А. 24. Характеристика вируса гепатита В. Геном, основные белки. Патогенез, иммунитет, профилактика, лабораторная диагностика гепатита В. 25. Гепатиты С, D, E, G. Характеристика вирусов, эпидемиология, патогенез заболеваний. 26. Классификация и характеристика экологической группы арбовирусов. Тога- и флавивирусы. Значение в патологии человека. Вирусологическая диагностика клещевого энцефалита. 27. Вирус краснухи. Общая характеристика. Роль в патологии. Профилактика краснухи. 28. Буньявирусы, общая характеристика, вызываемые заболевания. 29. Пикорнавирусы, классификация, общая характеристика семейства. 30. Вирус полиомиелита, морфологические и культуральные свойства, серологические варианты. Патогенез и методы лабораторной диагностики полиомиелита. Специфическая профилактика полиомиелита. Эрадикация полиомиелита. Иммунодефицитные состояния — полиомиелит и вялые параличи. 31. Вирусы Коксаки и ЭКХО, характеристика. Роль в патологии человека. Принципы дифференциации. 32. Риновирусы. Ротавирусы. Общая характеристика. Роль в патологии человека. 33. Аденовирусы, морфология, культуральные, биологические свойства, серологическая классификация. Механизмы патогенеза, лабораторная диагностика аденовирусных инфекций. 34. Герпесвирусы. Классификация. Общая характеристика. Основные белки. Заболевания человека, вызываемые альфа-герпесвирусами первого и второго серотипов. 35. Этиология ветряной оспы, злокачественного герпеса, цитомегалии, инфекционного мононуклеоза. Механизмы патогенеза. Лабораторная диагностика. 36. Прионы. Медленные инфекции. 37. Теории вирусного канцерогенеза. Онкогенные вирусы. Онкогены клеточные и вирусные. 38. Вирусы бактерий (бактериофаги), свойства, классификация. Взаимодействие бактериофагов с восприимчивой бактериальной клеткой. Вирулентные и умеренные фаги. Лизогения. 39. Практическое использование бактериофагов. Фагодиагностика, фаготипирование, фаготерапия. Методы титрования бактериофагов.
---	---

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

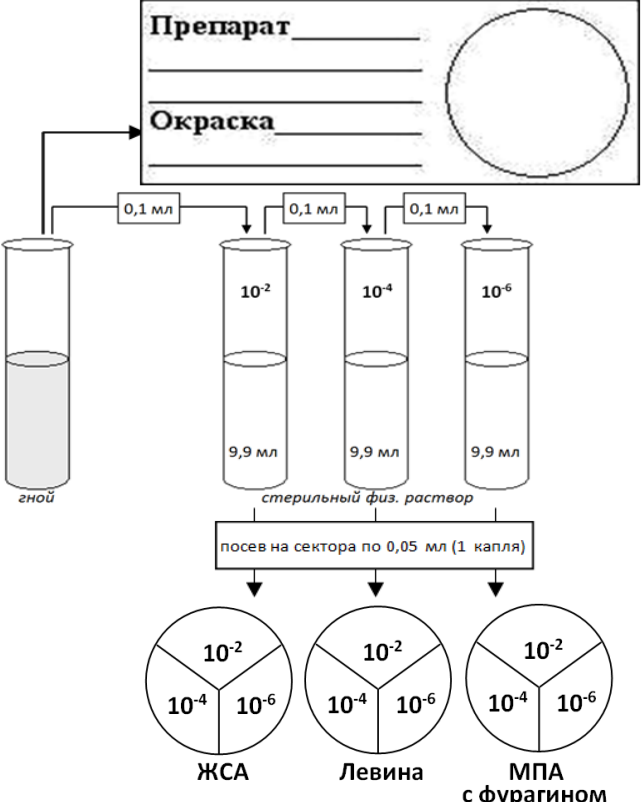
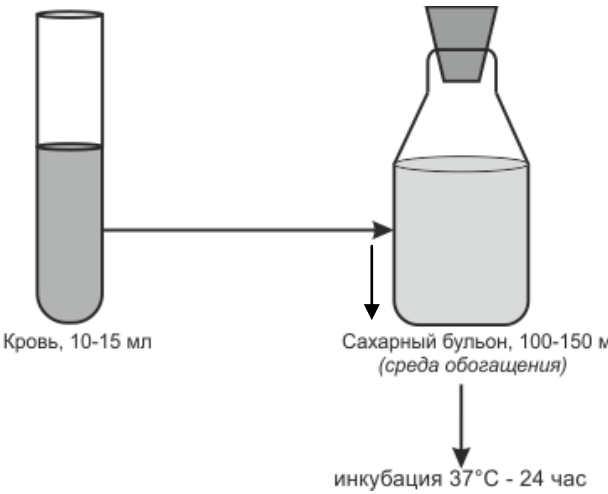
Перечень изучаемых вопросов: Клиническая микробиология: определение, цели, задачи. Условно-патогенные микробы (УПМ). Особенности эпидемиологии, патогенеза, диагностики заболеваний, вызываемых УПМ. Критерии этиологической значимости.

Клинические формы и этиология гнойно-септических инфекций кожи и подкожной клетчатки. Методы микробиологической диагностики.

Бактериологический метод. Материал для исследования (гной, экссудат), правила и методы забора. Критерии оценки этиологической значимости выделенных микроорганизмов. Определение чувствительности к антибиотикам.

Бактериemia. 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.

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
1. Самостоятельная работа (1 час) — исследование гноя, взятого из ожоговой раны: 1) приготовление микропрепарата из материала, окраска по Граму, микроскопия; 2) количественный посев материала на питательные среды: Приготовление разведений материала (10^{-2}–10^{-6}); Количественный посев на сектора. 2. Исследование крови лихорадящего больного: 1) посев материала в среду обогащения.	1. Исследование гноя (I этап)  2. Исследование крови (I этап) 

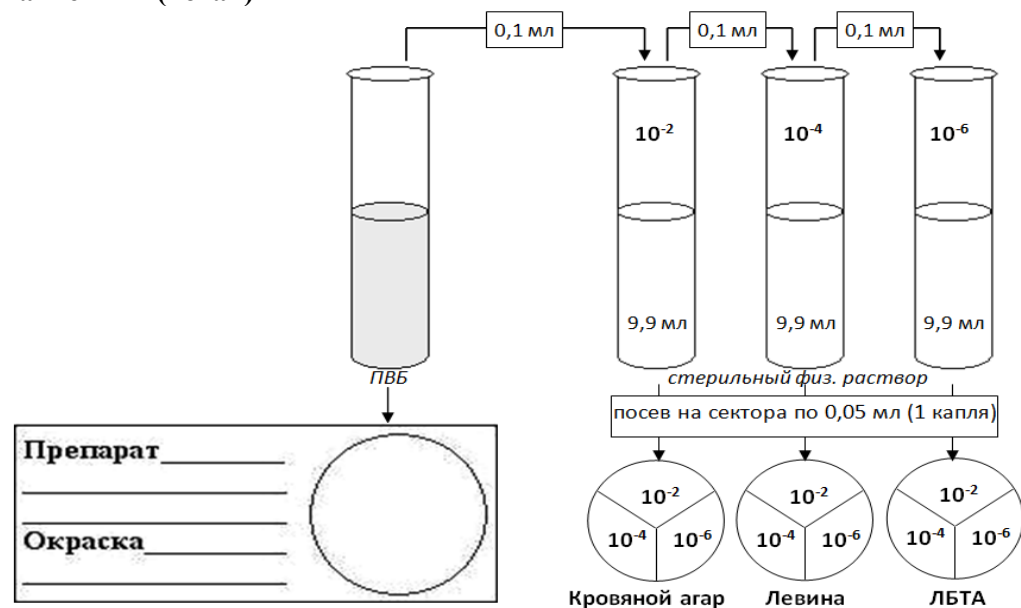
3. Исследование промывных вод бронхов больного пневмонией:

- 1) приготовление микропрепарата, окраска по Граму, микроскопия;
- 2) количественный посев на питательные среды.

Демонстрация.

1. Различные виды материала.

3. Исследование ПВБ (I этап)



Подпись преподавателя _____

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 16 (33).

Критерии этиологической роли УПМ	Этиология (основные возбудители) ГСИ кожи, подкожной клетчатки
1.	1.
2.	2.
3.	3.
4.	4.
5.	5.
6.	6.
7.	7.
8.	8.
9.	9.
10.	10.

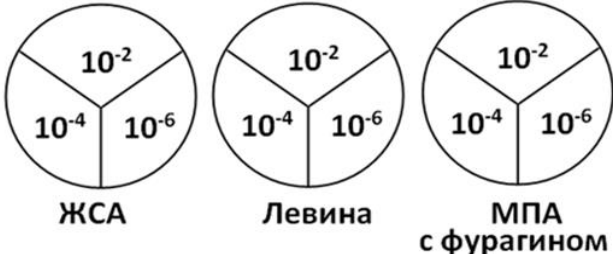
ТЕМА: Микробиологическая диагностика гнойно-септических инфекций бронхолегочной системы, уросистемы.**Инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи**

Перечень изучаемых вопросов: 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.

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.

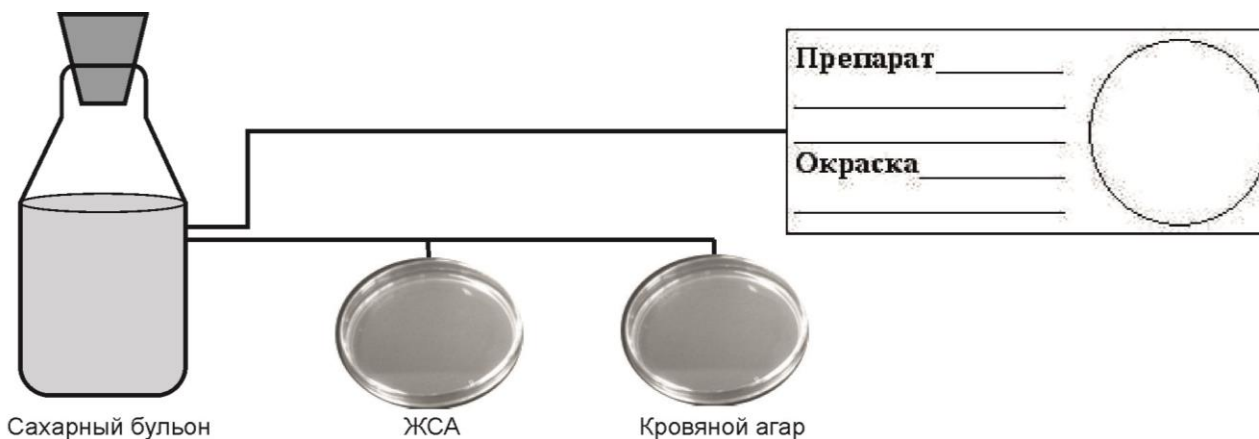
Инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи. Возбудители. Принципы микробиологической диагностики внутрибольничных инфекций. Профилактика.

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
1. Самостоятельная работа — исследование гноя, взятого из ожоговой раны: 1) оценка наличия роста на питательных средах; 2) характеристика колоний; 3) приготовление микропрепаратов из колоний, окраска по Граму, микроскопия; 4) подсчет количества микроорганизмов в материале (КОЕ/мл); 5) постановка теста на оксидазу; 6) заключение.	1. Исследование гноя (II этап)  Препарат _____ Окраска _____ <u>Тест на оксидазу</u>  Парафин-лендямин 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. Заключение: _____

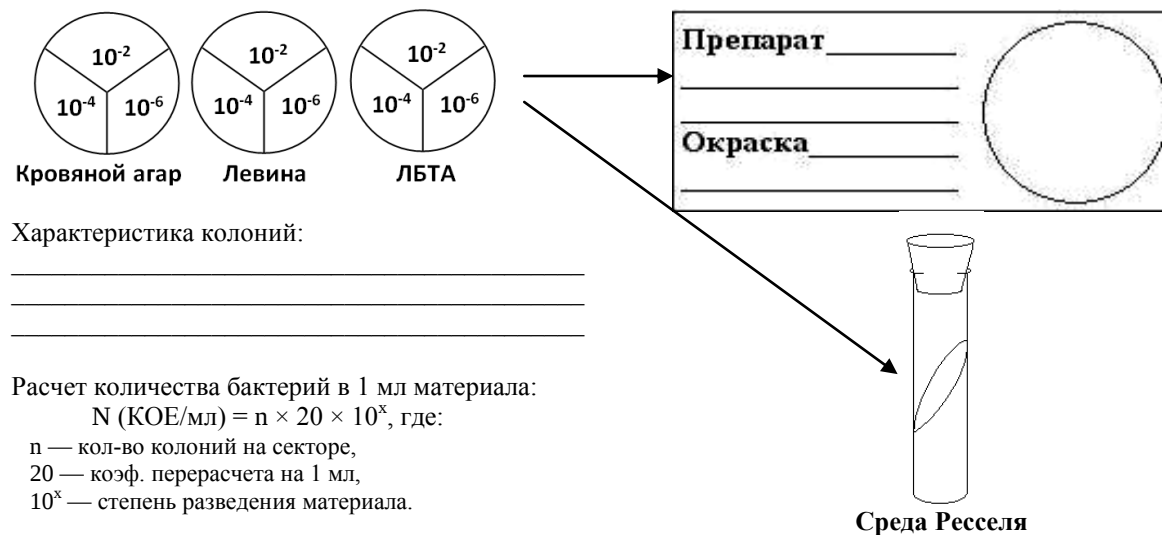
2. Продолжение исследования крови лихорадящего больного:
- 1) приготовление микропрепаратов из среды обогащения;
 - 2) высеивание из среды обогащения на плотные питательные среды;
 - 3) инкубация (37 °С, 24 ч).

2. Исследование крови (II этап)



3. Продолжение исследования промывных вод бронхов:
- 1) оценка наличия роста на питательных средах;
 - 2) характеристика колоний;
 - 3) приготовление микропрепаратов из колоний, окраска по Граму, микроскопия;
 - 4) подсчет количества микроорганизмов в материале (КОЕ/мл);
 - 5) отсев на среду Ресселя.

3. Исследование ПВБ (II этап)



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.

$$N = \text{_____} \text{ КОЕ/мл}$$

Демонстрация.

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

Подпись преподавателя _____

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

Этиология (основные возбудители) респираторных ГСИ

1.
2.
3.
4.
5.

Этиология (основные возбудители) ГСИ мочевыделительной системы

1.
2.
3.
4.
5.

Этиология (основные возбудители) ИСМП

1.
2.
3.
4.
5.

Принципы диагностики ИСМП, вызванных УПМ

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

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

Инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи (синонимы: нозокомиальная инфекция, **внутрибольничная инфекция**, госпитальная инфекция) — любое клинически распознаваемое инфекционное заболевание, приобретенное, пациентом вследствие оказания ему различных видов медицинской помощи (профилактической, диагностической, лечебной, реабилитационной), а также инфекционное заболевание сотрудника организации здравоохранения в результате его профессиональной деятельности, вне зависимости от времени проявления симптомов заболевания.

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

Критерии постановки диагноза ИСМП:

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

Классификация ИСМП

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.

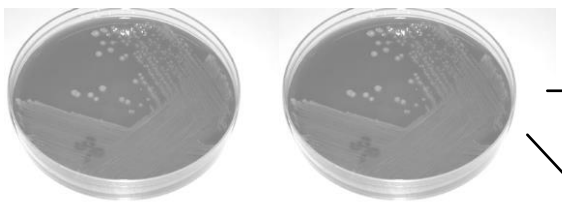
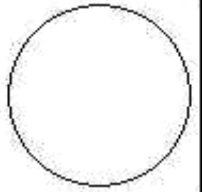
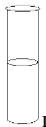
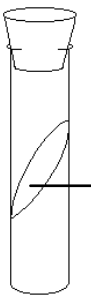
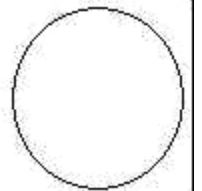
По степени тяжести: микробоносительство; легкие формы; среднетяжелые формы; тяжелые формы.

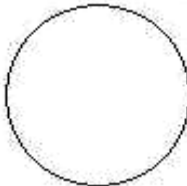
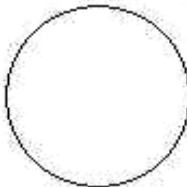
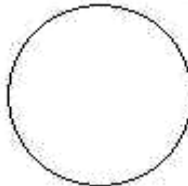
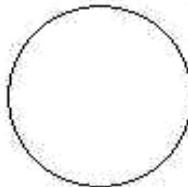
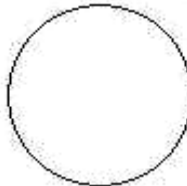
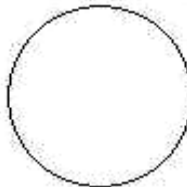
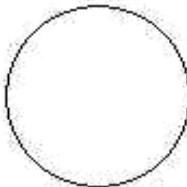
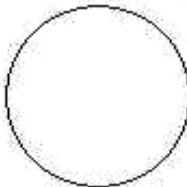
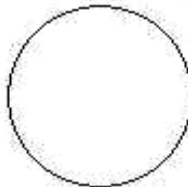
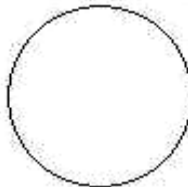
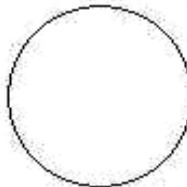
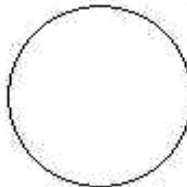
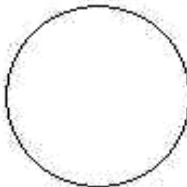
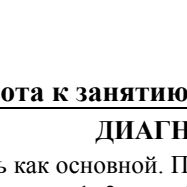
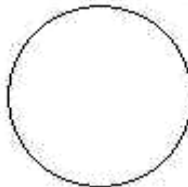
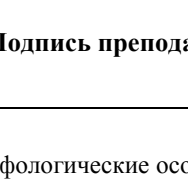
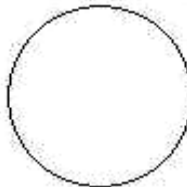
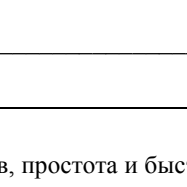
В зависимости от механизмов, путей и факторов передачи: аэрозольные (воздушно-капельные и воздушно-пылевые); контактные (прямые и опосредованные); парентеральные (постинъекционные, постоперационные, посттрансплантационные, постэндоскопические, послеродовые, посттранфузионные, постдиализные, постгемосорбционные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

ТЕМА: Микробиологическая диагностика протозойных и грибковых заболеваний

Перечень изучаемых вопросов: Общая характеристика и классификация простейших. Патогенные представители. Лабораторная диагностика малярии, токсоплазмоза, амебиаза, лямблиоза, трихомониаза.
 Возбудитель криптоспоридиоза.
 Классификация и общая характеристика грибов. Возбудители дерматомикозов, кератомикозов, глубоких микозов. Кандидоз и условия, способствующие его возникновению. Общие принципы диагностики микозов. Возбудитель пневмоцистоза.

Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты
1. Окончание исследования крови лихорадящего больного: 1) оценка наличия роста на питательных средах; 2) характеристика колоний; 3) приготовление микропрепаратов из колоний, окраска по Граму, микроскопия; 4) постановка теста на коагулазу; 5) заключение.	1. Исследование крови (III этап)  Препарат _____ Окраска _____  ЖСА Кровяной агар Характеристика колоний: _____ _____ Тест на плазмокоагулазу  цитратная плазма кролика (инкубация) Заключение: _____
2. Окончание исследования промывных вод бронхов: 1) оценка чистоты культуры (макро- и микроскопическая); 2) учет сахаролитических свойств бактерии на среде Ресселя; 3) заключение.	2. Исследование ПВБ (III этап).  Ферментация: Лактозы _____ Глюкозы _____ Препарат _____ Окраска _____  Среда Ресселя Заключение: _____

Демонстрация. 1. Патогенные простейшие: 1) <i>Entamoeba histolytica</i> 2) <i>Leishmania species</i> 3) <i>Tripanosoma species</i> 4) <i>Lamblia intestinalis</i> 5) <i>Balantidium coli</i> 6) <i>Toxoplasma gondii</i> 7) <i>Trichomonas vaginalis</i> 2. <i>Candida spp.</i> , окраска 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 № 18 (35).

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 высокоспецифичны 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, pH сред от 4,0 до 6,5. Время выращивания — в зависимости от вида гриба: от несколько суток до 2–3 недель. Наиболее часто используется среда Сабуро (пептонный агар с мальтозой или глюкозой). Кислотность среды и высокое содержание углевода ингибирует рост бактерий. На питательных средах диморфные грибы (возбудители подкожных, глубоких микозов) растут в мицелиальной форме при 20–25 °С. Идентификация чистой культуры проводится по морфологическим и биохимическим признакам.

Аллергологический 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.

Микробиологическая диагностика протозойных инвазий

АМЕБИАЗ Микроскопический метод (основной). 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. Серологический метод: РПГА, ИФА, РСК и др. Наиболее высокий титр антител выявляют при внекишечном амелиазе. Некоторые непатогенные амебы морфологически идентичны <i>Entamoeba histolytica</i>. Поэтому дифференциация основана на ферментативных, иммунологических или молекулярно-генетических анализах.	ЛЕЙШМАНИОЗ Микроскопический метод. 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. Культуральный метод. При посеве на питательную среду (кровяной агар) амастиготы превращаются в промастиготы (жгутиковые). Биологический метод. Заражение мышей, хомячков. Серологический метод. Выявляют антитела в РСК, РПГА. Аллергологический метод. Кожно-аллергическая проба на ГЗГ к лейшманину (препарат из убитых промастигот) при эпидемиологических исследованиях.
ТРИПАНОСОМОЗ Микроскопический метод. Мазки из крови, пунктата шейных лимфатических узлов, цереброспинальной жидкости красят по Романовскому–Гимзе. В нативных мазках обнаруживают подвижные трипаносомы. Культуральный метод. Культура трипаносом может быть получена посевом на питательные среды с кровью, а также заражением белых мышей или крыс. Серологический метод. Определение IgM можно проводить многими серологическими реакциями (ИФА, РСК, нпрямой РИФ и др.).	ЛЯМБЛИОЗ Микроскопический метод (основной). 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. Культуральный метод. Возможно культивирование на питательных средах. Серологический метод. Используется определение антител в непрямой РИФ. Титры антител выше при клинически выраженном лямблиозе.
ТРИХОМОНИАЗ Микроскопический метод. Мазки из отделяемого мочеиспускательного канала, секрета предстательной железы или осадка ночи окрашивают по Романовскому–Гимзе (ядро трофозоида фиолетово-рубинового цвета, цитоплазма — голубого, а бляфаропласт, жгутики, аксостиль — розово-красного цвета), метиленовым синим. Возможно использование нативных мазков. Применяют РИФ. Культуральный метод. При хронических формах трихомонады выращивают на питательных средах с белком. Метод дает хорошие результаты при установлении наступившего освобождения от трихомонад после лечения.	МАЛЯРИЯ Микроскопический метод. 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. Серологический метод. Антитела определяют в непрямой РИФ, РПГА, ИФА. С помощью РИФ проводится серологическая идентификация антигенов. Молекулярно-генетический метод. Для дифференцировки от других внутриэритроцитарных паразитов используют ПЦР.
ТОКСОПЛАЗМОЗ Микроскопический метод. Мазки из биоптатов, биологических жидкостей (крови, ликвора, пунктатов лимфоузлов, плодных оболочек и др), окрашенные по Романовскому–Гимзе. Возможно выявление антигенов токсоплазм с помощью РИФ. Культуральный метод. Возможно культивирование токсоплазм на культурах клеток, куриных эмбрионах (заражение на хорион-аллантоисную оболочку). Серологический метод (основной). Выявление IgM свидетельствует о ранних сроках заболевания. IgG достигают максимума на 4–8 неделе болезни. Применяются непрямая РИФ, РПГА, РСК, ИФА. Аллергологический метод. Внутробоковая проба с токсоплазмином, выявляющая ГЗТ. Биологический метод. 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.	БАЛАНТИДИАЗ Микроскопический метод. Проводится микроскопия мазков из фекалий. Исследуют нативный мазок (раздавленная капля) под малым увеличением микроскопа, наблюдая активное движение крупных балантидий. Культуральный метод. Возможен, но к нему прибегают редко.

ЛИТЕРАТУРА И МАТЕРИАЛЫ ДЛЯ ПОДГОТОВКИ

Основная

1. *Медицинская микробиология, вирусология и иммунология* : учеб. : в 2 т. Т. 1 / под ред. В. В. Зверева, М. Н. Бойченко. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2021. – 446 с.
2. *Медицинская микробиология, вирусология и иммунология* : уче. : в 2 т. Т. 2 / под ред. В. В. Зверева, М. Н. Бойченко. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2021. – Т. 2. – 466 с.
3. *Общая медицинская микробиология* / И. И. Генералов [и др.] ; под ред. И. И. Генералова. – Витебск : Витеб. гос. мед. ун-т, 2023. – 247 с.

Дополнительная

4. *Основы медицинской вирусологии* : учеб.-метод. пособие / Н. Ф. Казак [и др.]. – Минск : БГМУ, 2019. – 164 с.
5. *Генералов, И. И. Основы иммунологии* : учеб. пособие / И. И. Генералов, Д. К. Новиков, Н. В. Железняк. – Витебск : Витеб. гос. мед. ун-т, 2020. – 218 с.
6. *Медицинская микробиология, вирусология, иммунология. Общая микробиология* : курс лекций для студентов медицинских университетов / И. И. Генералов [и др.]. – Витебск : Витеб. гос. мед. ун-т, 2022. – 211 с.

Электронные учебно-методические комплексы по учебной дисциплине «Микробиология, вирусология, иммунология» для специальностей «Лечебное дело» и «Педиатрия».

Классификация микроорганизмов по Берджи (сокращенная) — ПРОКАРИОТЫ, ДОМЕН (Domain) — BACTERIA

ТИП (Phylum)	КЛАСС (Class)	ПОРЯДОК (Order)	СЕМЕЙСТВО (Family)	РОД (Genus)	ВИД (Species)
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rickettsiales	Rickettsiaceae	Rickettsia	<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>
		Hyphomicrobiales	Brucellaceae	Brucella	<i>B. melitensis</i> , <i>B. abortus</i> , <i>B. suis</i> u др.
	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Alcaligenaceae	Bordetella	<i>B. pertussis</i> , <i>B. parapertussis</i> , <i>B. bronchiseptica</i> u др.
		Neisseriales	Neisseriaceae	Neisseria	<i>N. gonorrhoeae</i> , <i>N. meningitidis</i> , <i>N. sicca</i> , <i>N. subflava</i> u др.
	Gammaproteobacteria	Thiotrichales	Francisellaceae	Francisella	<i>F. tularensis</i>
		Legionellales	Legionellaceae	Legionella	<i>L. pneumophila</i> u др.
		Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	Pseudomonas	<i>P. aeruginosa</i> u др.
			Moraxellaceae	Acinetobacter	<i>A. baumannii</i> u др.
		Vibrionales	Vibrionaceae	Vibrio	<i>V. cholerae</i> (биовары: <i>cholerae</i> , <i>eltor</i>), <i>V. parahaemolyticus</i> , <i>V. vulnificus</i> , <i>V. sputorum</i> u др.
		Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Escherichia	<i>E. coli</i> , <i>E. fergusonii</i> , <i>E. germannii</i> , <i>E. vulneris</i> , <i>E. blattae</i>
				Klebsiella	<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>
				Salmonella	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.
				Serratia	<i>S. marcescens</i> u др.
				Shigella	<i>S. dysenteriae</i> , <i>S. flexneri</i> , <i>S. boydii</i> , <i>S. sonnei</i>
				Yersiniaceae	<i>Y. pestis</i> , <i>Y. enterocolitica</i> , <i>Y. pseudotuberculosis</i> u др.
				Clostridiaceae	<i>C. botulinum</i> , <i>C. perfringens</i> , <i>C. novyi</i> , <i>C. histolyticum</i> , <i>C. septicum</i> , <i>C. tetani</i> , <i>C. difficile</i> u др.
				Peptostreptococcaceae	<i>P. anaerobius</i> u др.
Firmicutes	Clostridia	Eubacteriales	Peptococcaceae	Peptococcus	<i>P. niger</i>
			Peptostreptococcaceae	Peptostreptococcus	<i>P. anaerobius</i> u др.
	Negativicutes	Veillonellales	Veillonellaceae	Veillonella	<i>V. parvula</i> u др.
			Bacillales	Bacillaceae	<i>B. anthracis</i> , <i>B. cereus</i> u др.
	Bacilli	Lactobacillales	Staphylococcaceae	Staphylococcus	<i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>S. saprophyticus</i> u др.
			Lactobacillaceae	Lactobacillus	<i>L. casei</i> , <i>L. fermentum</i> , u др.
			Streptococcaceae	Streptococcus	<i>S. pyogenes</i> , <i>S. pneumoniae</i> , <i>S. agalactiae</i> , <i>S. anginosus</i> , <i>S. bovis</i> , <i>S. mutans</i> , <i>S. mitis</i> , <i>S. salivarius</i> , <i>S. sanguis</i> , <i>S. milleri</i> u др.
Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Actinomycetaceae	Actinomyces	<i>A. israelii</i> , <i>A. naeslundii</i> , <i>A. viscosus</i> , <i>A. odontolyticus</i> , <i>A. pyogenes</i> ,
			Corynebacteriaceae	Corynebacterium	<i>C. diphtheriae</i> , <i>C. ulcerans</i> , <i>C. urealyticum</i> , <i>C. xerosis</i> u др.
			Mycobacteriaceae	Mycobacterium	<i>M. tuberculosis</i> , <i>M. bovis</i> , <i>M. africanum</i> , <i>M. leprae</i> , <i>M. kasasii</i> , <i>M. avium</i> , <i>M. ulcerans</i> , <i>M. fortuitum</i> u др.
		Bifidobacteriales	Propionibacteriaceae	Propionibacterium	<i>P. acnes</i> , <i>P. propionicus</i> u др.
			Bifidobacteriaceae	Bifidobacterium	<i>B. bifidum</i> u др.
Chlamydiae	Chlamydiae	Chlamydiales	Chlamydiaceae	Chlamydia	<i>C. trachomatis</i>
Spirochaetes	Spirochaetes	Spirochaetales	Borreliaceae	Borrelia	<i>B. recurrentis</i> , <i>B. burgdorferi</i> , <i>B. duttoni</i> , <i>B. persica</i> u др.
			Treponemataceae	Treponema	<i>T. pallidum</i> (подвиды — <i>pallidum</i> , <i>endemicum</i> , <i>pertenue</i>), <i>T. carateum</i> , <i>T. denticola</i> , <i>T. minutum</i> , <i>T. refringens</i> , <i>T. scoliodontum</i> , <i>T. vincentii</i> u др.
		Leptospirales	Leptospiraceae	Leptospira	<i>L. interrogans</i> , <i>L. biflexa</i>
Bacteroidetes	Bacteroidia	Bacteroidales	Bacteroidaceae	Bacteroides	<i>B. fragilis</i> , <i>B. gingivalis</i> u др.
			Porphyromonadaceae	Porphyromonas	<i>P. gingivalis</i> , <i>P. endodontales</i> u др.
			Prevotellaceae	Prevotella	<i>P. melaninogenica</i> , <i>P. denticola</i> u др.
Fusobacteria	Fusobacteria	Fusobacteriales	Fusobacteriaceae	Fusobacterium	<i>F. nucleatum</i> , <i>F. necroforum</i> , <i>F. vincentii</i> u др.
			Leptotrichia	Leptotrichia	<i>L. buccalis</i> u др.
Tenericutes	Mollicutes	Mycoplasmatales	Mycoplasmataceae	Mycoplasma	<i>M. pneumoniae</i> , <i>M. hominis</i> , <i>M. fermentans</i> , <i>M. salivarium</i> , <i>M. orale</i> , <i>M. arthritis</i> u др.
				Ureaplasma	<i>U. urealyticum</i> u др.

Таксономическое положение вирусов-возбудителей заболеваний человека

Realm	Kingdom	PHYLUM	CLASS	ORDER	FAMILY	SUBFAMILY	GENUS	SPECIES	DISEASE	GENOME
Duplodnaviria	Heunggongviriae	Peploviricota	Herviviricetes	Herpesvirales	Orthoherpesviridae	Alphaherpesvirinae	Simplexvirus	Simplexvirus humanalpha 1, 2		dsDNA
							Varicellovirus	Varicellovirus humanalpha3		dsDNA
						Betaherpesvirinae	Cytomegalovirus	Cytomegalovirus humanbeta5		dsDNA
							Roseolovirus	Roseolovirus humanbeta6a, 6b, 7		dsDNA
						Gammaherpesvirinae	Lymphocryptovirus	Lymphocryptovirus humangamma 4		dsDNA
							Rhadinovirus	Rhadinovirus humangamma 8		dsDNA
Monodnaviria	Shotokuvirae	Cossaviricota	Papovaviricetes	Sepolyvirales	Polyomaviridae		Alphapolyomavirus	Alphapolyomavirus quintihominis Alphapolyomavirus octihominis Alphapolyomavirus nonihominis Alphapolyomavirus terdecihominis Alphapolyomavirus quardecihominis		dsDNA
							Betapolyomavirus	Betapolyomavirus hominis Betapolyomavirus secuhominis Betapolyomavirus tertihominis Betapolyomavirus quartihominis		dsDNA
							Deltapolyomavirus	Deltapolyomavirus sextihominis Deltapolyomavirus septihominis Deltapolyomavirus decihominis Deltapolyomavirus undecihominis		dsDNA
				Zurhausenvirales	Papillomaviridae	Firstpapillomavirinae	Alphapapillomavirus	Alphapapillomavirus 1		dsDNA
							Betapapillomavirus	Betapapillomavirus 1		dsDNA
							Gammapapillomavirus	Gammapapillomavirus 1		dsDNA
							Mupapillomavirus	Mupapillomavirus 1		dsDNA
							Nupapillomavirus	Nupapillomavirus 1		dsDNA
Riboviria	Orthornavirae	Duplornaviricota	Resentoviricetes	Reovirales	Sedoreoviridae		Rotavirus	Rotavirus alphagastroenteritidis Rotavirus betagastroenteritidis Rotavirus tritogastroenteritidis Rotavirus deltagastroenteritidis Rotavirus phigastroenteritidis Rotavirus gammagastroenteritidis Rotavirus aspergastroenteritidis Rotavirus iotagastroenteritidis Rotavirus jotagastroenteritidis		dsRNA
		Kitrinoviricota	Alsuviricetes	Hepelivirales	Hepeviridae	Orthohepevirinae	Paslahepevirus	Paslahepevirus balayani		ssRNA(+)
					Matonaviridae		Rubivirus	Rubivirus rubellae		ssRNA(+)
			Flasuviricetes	Amarillovirales	Flaviviridae		Orthoflavivirus	Orthoflavivirus denguei		ssRNA(+)
								Orthoflavivirus omskense		ssRNA(+)
								Orthoflavivirus bravoense		ssRNA(+)
								Orthoflavivirus louisense		ssRNA(+)
								Orthoflavivirus encephalitidis		ssRNA(+)
								Orthoflavivirus nilense		ssRNA(+)
								Orthoflavivirus flavi		ssRNA(+)
								Orthoflavivirus zikaense		ssRNA(+)
							Hepacivirus	Hepacivirus hominis		ssRNA(+)
		Negarnaviricota	Monjiviricetes	Mononegavirales	Filoviridae		Orthoebolavirus	Orthoebolavirus bombaliense Orthoebolavirus restonense Orthoebolavirus sudanense		ssRNA(-)

Realm	Kingdom	PHYLUM	CLASS	ORDER	FAMILY	SUBFAMILY	GENUS	SPECIES	DISEASE	GENOME
Varidnaviria	Pararnavirae	Nucleocytoviricota	Revtraviricetes	Blubervirales	Hepadnaviridae	Orthoretrovirinae	Deltaretrovirus	Orthoebolavirus taiense		
								Orthoebolavirus zairense		
								Orthoebolavirus bundibugyoense		
								Orthommarburgvirus	Orthommarburgvirus marburgense	
								Henipavirus	Henipavirus hendraense	ssRNA(-)
								Henipavirus nipahense		ssRNA(-)
								Morbillivirus	Morbillivirus hominis	ssRNA(-)
								Respirovirus	Respirovirus laryngotracheitidis	ssRNA(-)
								Respirovirus pneumoniae		ssRNA(-)
								Orthorubulavirus	Orthorubulavirus laryngotracheitidis	ssRNA(-)
								Orthorubulavirus hominis		ssRNA(-)
								Metapneumovirus	Metapneumovirus hominis	ssRNA(-)
								Orthopneumovirus	Orthopneumovirus hominis	ssRNA(-)
								Lyssavirus	Rabies lyssavirus	ssRNA(-)
								Mammarenavirus	Mammarenavirus choriomeningitidis	ssRNA(+/-)
								Orthonairovirus	Orthonairovirus haemorrhagiae	ssRNA(-)
								Phlebovirus	Phlebovirus riftense	ssRNA(+/-)
								Orthohantavirus	Orthohantavirus hantanense	ssRNA(-)
								Orthohantavirus khabarovskense		ssRNA(-)
								Orthobunyavirus	Orthobunyavirus bunyamweraense	ssRNA(-)
								Orthobunyavirus encephalitis		ssRNA(-)
								Alphainfluenzavirus	Alphainfluenzavirus influenzae	ssRNA(-)
								Betainfluenzavirus	Betainfluenzavirus influenzae	ssRNA(-)
								Gammmainfluenzavirus	Gammmainfluenzavirus influenzae	ssRNA(-)
								Quarantavirus	Quarantavirus quarantense	ssRNA(-)
								Thogotovirus	Thogotovirus dhorienae	ssRNA(-)
								Picobirnavirus	Orthopicobirnavirus hominis	dsRNA
								Alphacoronavirus	Alphacoronavirus chikagoense	ssRNA(+)
								Alphacoronavirus amsterdamense		ssRNA(+)
								Betacoronavirus	Betacoronavirus hongkongense	ssRNA(+)
								Betacoronavirus pandemicum		ssRNA(+)
								Cardiovirus	Cardiovirus rueckerti	ssRNA(+)
								Cosavirus	Cosavirus asiani	ssRNA(+)
								Enterovirus	Enterovirus coxsackiepol	ssRNA(+)
								Enterovirus alpharhino		ssRNA(+)
								Hepatovirus	Hepatovirus ahepa	ssRNA(+)
								Kobuvirus	Kobuvirus aichi	ssRNA(+)
								Parechovirus	Parechovirus ahumari	ssRNA(+)
								Mamastrovirus	Mamastrovirus californiani	ssRNA(+)
								Avihepadnavirus	Avihepadnavirus anatisgruidae	dsDNA-RT
								Lentivirus	Lentivirus humimdef1, 2	ssRNA-RT
								Bovispumavirus	Bovispumavirus bostaufo	ssRNA-RT
Varidnaviria	Bamfordvirae	Nucleocytoviricota	Pokkesviricetes	Chitovirales	Poxviridae	Chordopoxvirinae	Molluscipoxvirus	Molluscipoxvirus molluscum		dsDNA
								Orthopoxvirus	Orthopoxvirus vaccinia	dsDNA
								Orthopoxvirus variola		dsDNA
								Parapoxvirus	Parapoxvirus orf	dsDNA
								Mastadenovirus	Mastadenovirus adami	dsDNA

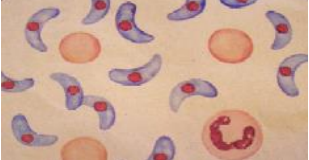
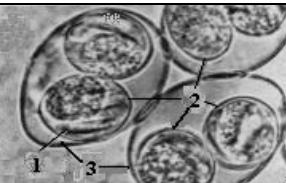
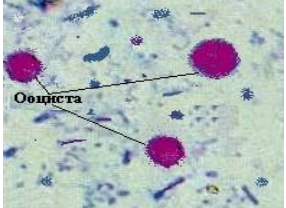
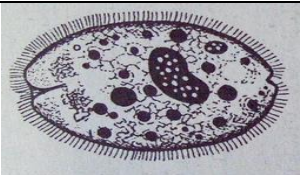
Клиническая классификация микозов

Клиническая классификация	Названия грибов	Болезни
Возбудители поверхностных микозов (кератомикозов)	<i>Malassezia furfur</i>	Пестрый лишай (отрубевидный лишай)
	<i>Exophiala werneckii</i>	Черный лишай
	<i>Piedraia hortae</i>	Черная пьедра
	<i>Trichosporon beigeli</i>	Белая пьедра
Возбудители эпидермофитий (дерматомикозов)	Антропофильные дерматофиты:	
	<i>Epidermophyton floccosum</i>	Эпидермофития
	<i>Microsporum audouinii</i> , <i>M. ferrugineum</i>	Микроспория
	<i>Trichophyton tonsurans</i> , <i>T. violaceum</i>	Трихофития
	<i>Trichophyton interdigitale</i> (<i>T. mentagrophytes</i> v. <i>interdigitale</i>)	Эпидермофития стоп, ногтей
	<i>Trichophyton rubrum</i>	Руброфития
	<i>Trichophyton schoenleinii</i>	Фавус
	Зоофильные дерматофиты:	
	<i>Microsporum canis</i> , <i>M. gallinae</i>	Микроспория
	<i>Trichophyton verrucosum</i> , <i>T. equinum</i>	Трихофития
	Геофильные дерматофиты:	
	<i>Microsporum cookie</i> , <i>M. gypseum</i> , <i>M. nanum</i> , <i>M. fulvum</i>	Микроспория
Возбудители подкожных (субкутанных) микозов	<i>Sporothrix schenckii</i>	Споротрихоз
	Виды родов: <i>Fonsecaea</i> , <i>Phialophora</i> , <i>Cladophialophora</i> , <i>Exophiala</i> , <i>Rhinosporidium</i>	Хромобластомикоз
	Виды родов: <i>Exophiala</i> , <i>Phialophora</i> , <i>Wangiella</i> , <i>Cladophialophora</i> и др.	Феогифомикоз
	Виды родов: <i>Aureobasidium</i> , <i>Curvularia</i> , <i>Alternaria</i> , <i>Phoma</i> , <i>Madurella</i> , <i>Phialophora</i> , <i>Exophiala</i> , <i>Acremonium</i> и др.	Мицетоза
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.</i> , <i>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.</i> , <i>Aspergillus spp.</i> , <i>Penicillium spp.</i>	Микотоксикоз
Неклассифицированные грибы	<i>Loboa lobi</i>	Лобомикоз
	<i>Rhinosporidium seeberi</i>	Риноспоридиоз

Классификация простейших

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

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

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

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение	3
Список сокращений	3
IV семестр	
Занятие № 1. Морфология микроорганизмов. Основные формы бактерий. Бактериоскопический метод исследования. Простые методы окраски	4
Занятие № 2. Бактериоскопический метод исследования. Структура бактериальной клетки. Сложные методы окраски. Особенности морфологии и методы изучения спирохет, риккетсий, хламидий, микоплазм	7
Занятие № 3. Генетика микроорганизмов. Методы изучения генетики бактерий. Методы молекулярной диагностики	13
Занятие № 4. Противомикробные мероприятия: методы стерилизации и дезинфекции, антисептика, асептика. Культуральный (бактериологический) метод исследования. Методы выделения чистых культур бактерий	15
Занятие № 5. Культуральный (бактериологический) метод исследования. Методы идентификации чистых культур бактерий	21
Занятие № 6. Основы учения об инфекции. Методы изучения нормальной микрофлоры тела человека	24
Занятие № 7. Микробиологические основы химиотерапии и антисептики бактериальных инфекций. Методы изучения чувствительности микробов к антибиотикам. Биологический метод исследования	26
Занятие № 8. Экология микроорганизмов. Итоговое занятие «Общая микробиология»	29
Занятие № 9. Иммунная система. Врожденный иммунитет	30
Занятие № 10. Антигены. Гуморальный иммунный ответ организма. Антитела	33
Занятие № 11. Клеточный иммунный ответ организма. Аллергия и экологическая иммунология	36
Занятие № 12. Иммунодиагностика инфекционных болезней. Серологический метод исследования	39
Занятие № 13. Методы клинической и инфекционной иммунологии. Твердофазный иммунологический анализ	41
Занятие № 14. Иммунопрофилактика и иммунотерапия инфекционных болезней. Методы оценки поствакцинального иммунитета	43
Занятие № 15. Основы клинической иммунологии. Методы определения и оценки иммунного статуса. Иммунопатология. Трансплантационный иммунитет. Противоопухолевый иммунитет	45
Занятие № 16. Противоинфекционный иммунитет. Итоговое занятие «Теоретическая и прикладная медицинская иммунология»	47
Занятие № 17. Частная медицинская микробиология. Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых стафилококками, стрептококками, нейссериями. ЗАЧЁТ	48
V семестр	
Занятие № 1 (18). Методы микробиологической диагностики острых кишечных инфекций, вызываемых энтеробактериями. Эшерихии, сальмонеллы	54

Занятие № 2 (19). Методы микробиологической диагностики острых кишечных инфекций, вызываемых энтеробактериями. Сальмонеллы. Шигеллы	58
Занятие № 3 (20). Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых клебсиеллами, иерсиниями, кампилобактериями, псевдомонадами. Методы диагностики пищевых отравлений	61
Занятие № 4 (21). Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых коринебактериями, бордетеллами, гемофилами, легионеллами, листериями	64
Занятие № 5 (22). Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых актиномицетами и микобактериями. Методы микробиологической диагностики анаэробных инфекций.....	67
Занятие № 6 (23). Особо опасные инфекции. Методы микробиологической диагностики холеры, чумы, туляремии, бруцеллезы, сибирской язвы.....	71
Занятие № 7 (24). Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых спирохетами	74
Занятие № 8 (25). Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых риккетсиями, хламидиями	77
Занятие № 9 (26). Итоговое занятие по разделу «Частная медицинская микробиология»	80
Занятие № 10 (27). Методы вирусологических исследований. Бактериофаги	81
Занятие № 11 (28). Методы вирусологической диагностики заболеваний, вызываемых орто-, парамиксовирусами, коронавирусами	84
Занятие № 12 (29). Методы вирусологической диагностики заболеваний, вызываемых пикорнавирусами, ротавирусами, ретровирусами.....	87
Занятие № 13 (30). Методы вирусологической диагностики заболеваний, вызываемых рабдовирусами, арбовирусами и вирусами с природной очаговостью	90
Занятие № 14 (31). Методы вирусологической диагностики заболеваний, вызываемых вирусами гепатитов, герпес- и аденовирусами	93
Занятие № 15 (32). Итоговое занятие по разделу «Общая и частная медицинская вирусология»	97
Занятие № 16 (33). Клиническая микробиология. Методы диагностики гнойно-септических инфекций, подкожной клетчатки, сепсиса	98
Занятие № 17 (34). Микробиологическая диагностика гнойно-септических инфекций бронхолегочной системы, уросистемы. Инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи	100
Занятие № 18 (35). Микробиологическая диагностика протозойных и грибковых заболеваний.....	103
Литература и материалы для подготовки.....	106
Приложение 1. Классификация микроорганизмов по Берджи (сокращенная) — прокариоты, домен Bacteria.....	107
Приложение 2. Таксономическое положение вирусов-возбудителей заболеваний человека.....	108
Приложение 3. Клиническая классификация микозов	111
Приложение 4. Классификация простейших	112

Учебное издание

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

МИКРОБИОЛОГИЯ, ВИРУСОЛОГИЯ, ИММУНОЛОГИЯ

Практикум для лечебного и педиатрического факультетов

9-е издание, исправленное

Ответственная за выпуск Т. А. Канашкова
Компьютерный набор И. А. Гавриловой
Компьютерная вёрстка Н. М. Федорцовой

Подписано в печать 13.01.25. Формат 60×84/8. Бумага «Снегурочка».
Ризография. Гарнитура «Times».
Усл. печ. л. 13,48. Уч.-изд. л. 7,74. Тираж 725 экз. Заказ 30.

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

ISBN 978-985-21-1727-2

