

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

# МЕДИЦИНСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ, ВИРУСОЛОГИЯ, ИММУНОЛОГИЯ

Практикум для стоматологического факультета

*2-е издание, дополненное*



Минск БГМУ 2010

УДК 576.8+612.017+578(076.5)

ББК 52.64 я 73

М 42

Рекомендовано Научно-методическим советом университета в качестве практикума 26.05.2010 г., протокол № 10

**А в т о р ы:** доц. Т. А. Канашкова (зан. 1–34); доц. Д. А. Черношей (зан. 8, 10–13, 23, 25–33); доц. В. А. Горбунов (зан. 1–8, 15–23, 29–33); доц. И. А. Крылов (зан. 16, 17, 29–34), доц. Л. И. Каскевич (зан. 1–6, 10–13, 15, 18–20, 22, 23)

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

**Медицинская** микробиология, вирусология, иммунология : практикум для стомфака / Т. А. Канашкова [и др.]. – 2-е изд., доп. – М 42 Минск : БГМУ, 2010. – 91 с.

ISBN 978–985–528–186–4.

Отражены вопросы общей и частной медицинской микробиологии, вирусологии, иммунологии, стоматологической микробиологии. Даны алгоритмы, схемы, некоторые справочные сведения, методики выполнения лабораторных работ на кафедре микробиологии, вирусологии, иммунологии. Второе издание (1-е вышло в 2009 г.) дополнено заданиями для самостоятельной работы студентов.

Предназначено для студентов стоматологического факультета.

УДК 576.8+612.017+578(076.5)

ББК 52.64 я 73

ISBN 978–985–528–186–4

© Оформление. Белорусский государственный  
медицинский университет, 2010

## Введение

Уважаемые студенты!

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

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

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

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

*Коллектив авторов*

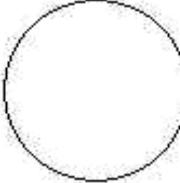
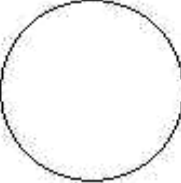
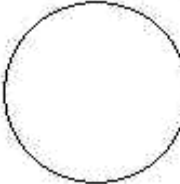
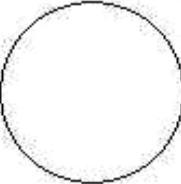
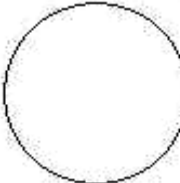
## Список сокращений:

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

**Тема: Методы исследования в микробиологии. Бактериоскопический метод исследования.  
Основные формы бактерий. Простые методы окраски.**

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

**Лабораторная работа**

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

Подпись преподавателя

**ИНСТРУКЦИЯ**

**Микроскопический (бактериоскопический) метод исследования**

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

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

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

**Этапы метода:**

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

**Приготовление фиксированного мазка:**

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

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

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

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

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

**Рассчитать разрешающую способность светового микроскопа при суховоздушной и иммерсионной системах.**

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

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

**Результат:**  
 Разрешающая способность иммерсионного микроскопа \_\_\_\_\_ мкм  
 Разрешающая способность суховоздушного микроскопа \_\_\_\_\_ мкм

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

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


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

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Отличия прокариотов от эукариотов. Структура поверхностных образований бактериальных клеток: капсулы, клеточной стенки, цитоплазматической мембраны, жгутиков, фимбрий. Методы их выявления. Грамположительные и грамотрицательные микробы. Техника и механизм окраски по Граму. Методы обнаружения капсул. Структура цитоплазматических образований бактериальных клеток (нуклеоида, включений). Методы выявления нуклеоида, воллитуриновых зерен. Окраска по Нейссеру и Леффлеру. Кислотоустойчивость бактерий, методы ее выявления. Техника и механизм окраски по Цилю-Нильсену.</p>	<p><b>Источники:</b>                  1. Материал лекции.                  2. [3] – (учебники),                  3. [1], [4] – (практикумы),                  4. [5], [9] – (доп. литература).</p>
--	--

**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты		
<p>1. Приготовить препарат из смеси грамположительных и грамотрицательных микробов, окрасить по Граму, микроскопировать.</p>	<p>Препарат _____                      _____                      Окраска _____                      _____</p> 	<p>Препарат _____                      _____                      Окраска _____                      _____</p> 	<p>Препарат _____                      _____                      Окраска _____                      _____</p> 
<p><b>Зарисовать демонстрационные препараты:</b></p> <p>1. Смесь <i>Staphylococcus spp.</i> и <i>E. coli</i>, окраска по Граму.                  2. Капсула клебсиелл (<i>Klebsiella spp.</i>), окраска по Гинса-Бурри.                  3. Смесь <i>Mycobacterium tuberculosis et Sarcina</i>. Окраска по Цилю-Нильсену.                  4. Зерна воллутина <i>Corynebacterium diphtheriae</i>. Окраска по Нейссеру, Леффлеру.                  5. Техника приготовления тушевого препарата.</p>	<p>Препарат _____                      _____                      Окраска _____                      _____</p> 	<p>Препарат _____                      _____                      Окраска _____                      _____</p> 	<p>Препарат _____                      _____                      Окраска _____                      _____</p> 
<p><b>Окраска по Граму.</b> Для дифференциации бактерий по структуре клеточной стенки.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• На фиксированный препарат наносят р-р генцианвиолета через фильтровальную бумагу – 1-2 мин.;</li> <li>• Бумагу снимают, наносят раствор Люголя – 1 мин.;</li> <li>• Р-р Люголя сливают, наносят 96% этанол – 30 сек.;</li> <li>• Препарат промывают водой, окрашивают р-ром водного фуксина – 3-5 мин.</li> <li>• Промывают водой, высушивают фильтровальной бумагой, наносят каплю иммерсионного масла, микроскопируют.</li> </ul> <p>Грамположительные бактерии прочно фиксируют комплекс генцианвиолета и йода, не подвергаются обесцвечиванию этанолом – воспринимают дополнительный краситель (фуксин). У грамотрицательных бактерий этот комплекс легко вымывается этанолом – окрашиваются дополнительным красителем. Некоторые виды бактерий окрашиваются грамвариательно.</p>			

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

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

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

Бактерии	После окрашивания генцианвиолетом	После обработки р-ром Люголя	После обработки 96° этанолом	После окрашивания фуксином
Грамположительные				
Грамотрицательные				

**Нарисуйте варианты расположения жгутиков бактерий:**

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

**Структура, функции поверхностных образований бактериальной клетки**

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

**Особенности строения клеточной стенки грамположительных и грамотрицательных бактерий**

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

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

**Структура, функции цитоплазматических образований бактериальной клетки**

Образования	Строение	Функции
ЦПМ		
Нуклеоид		
Плазмиды		
Мезосомы		
Рибосомы		
Включения		

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

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



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

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

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

Некоторые виды бактерий окрашиваются грамвариабельно.

**Окраска по Цилю-Нильсену.**

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

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

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

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

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

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

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

Окраска по Нейссеру. Для выявления зерен волютина.

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

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

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

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

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

Укажите названия структур

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

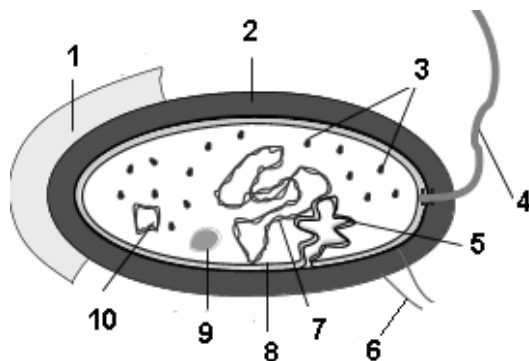


Рис.2. Принципиальная схема строения гетеротрофной прокариотической клетки.

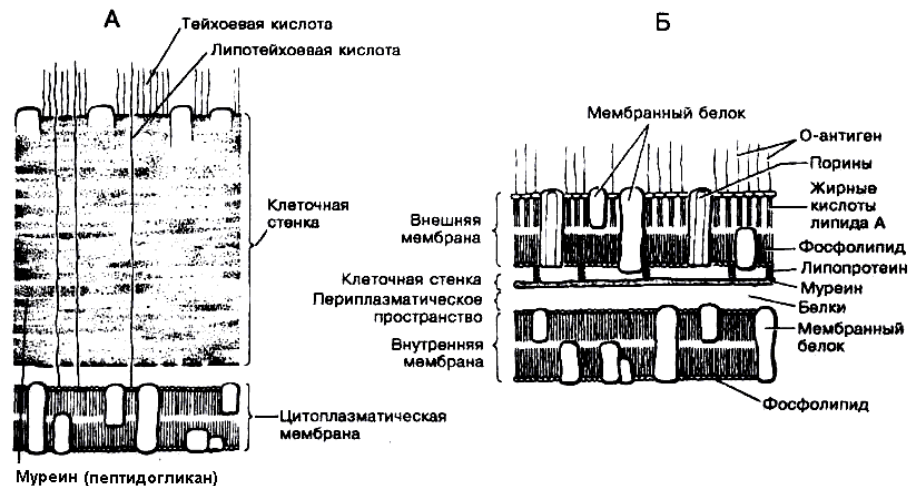
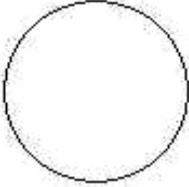
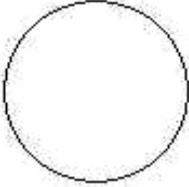
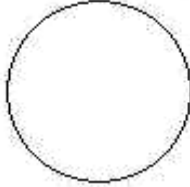
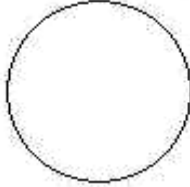
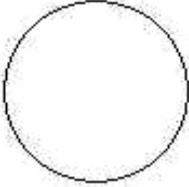
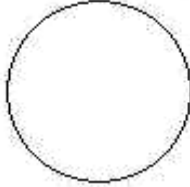
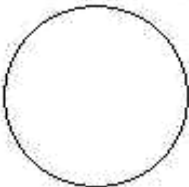
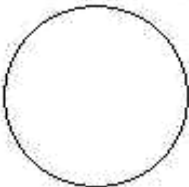
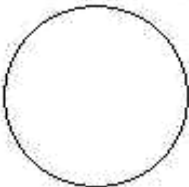
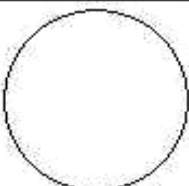
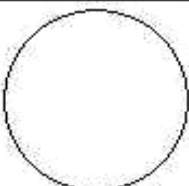
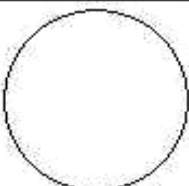


Рис. 3. Клеточная стенка грамположительных (А) и грамотрицательных (Б) бактерий

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

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Формы бактерий с дефектами клеточной стенки (протопласты, сферопласты, L-формы). Фазово-контрастная микроскопия. Покоящиеся формы бактерий. Споры, методы их выявления. Систематическое положение и морфология спирохет, актиномицетов, риккетсий, хламидий, микоплазм. Окраска по Романовскому-Гимзе. Темнопольная микроскопия. Люминесцентная микроскопия.</p>	<p><b>Источники:</b> 1. Материал лекции. 2. [3] – (учебники), 3. [1], [4] – (практикумы), 4. [5], [9] – (доп. литература).</p>
---	--


**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты											
<p>1. Приготовить препарат из взвеси <i>Rickettsia spp.</i> окрасить водным р-ром фуксина, микроскопировать.</p>	<table border="1" style="width:100%; height:100%;"> <tr> <td style="width:33%; vertical-align: top;"> <p>Препарат _____ _____ Окраска _____ _____</p>  </td> <td colspan="2"></td> </tr> </table>			<p>Препарат _____ _____ Окраска _____ _____</p> 								
<p>Препарат _____ _____ Окраска _____ _____</p> 												
<p><b>Зарисовать демонстрационные препараты:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Споры <i>Bacillus anthracis</i>. Окраска по Ожешко.</li> <li>• <i>Treponema denticola</i> в зубном налёте, окраска по Граму.</li> <li>• <i>Leptospira spp.</i> в темном поле.</li> <li>• <i>Borrelia recurrentis</i> в крови больного возвратным тифом, окраска по Романовскому-Гимзе.</li> <li>• <i>Rickettsia prowazekii</i>, чистая культура, окраска по Граму.</li> <li>• Цитоплазматические включения <i>Chlamydia spp.</i>, окраска по Романовскому-Гимзе.</li> <li>• <i>Actinomyces spp.</i>, чистая культура, окраска по Граму.</li> <li>• <i>Escherichia coli</i> в люминесцентном микроскопе, окраска акридиновым оранжевым.</li> </ul>	<table border="1" style="width:100%; height:100%;"> <tr> <td style="width:33%; vertical-align: top;"> <p>Препарат _____ _____ Окраска _____ _____</p>  </td> <td colspan="2"></td> </tr> </table>	<p>Препарат _____ _____ Окраска _____ _____</p> 			<table border="1" style="width:100%; height:100%;"> <tr> <td style="width:33%; vertical-align: top;"> <p>Препарат _____ _____ Окраска _____ _____</p>  </td> <td colspan="2"></td> </tr> </table>	<p>Препарат _____ _____ Окраска _____ _____</p> 			<table border="1" style="width:100%; height:100%;"> <tr> <td style="width:33%; vertical-align: top;"> <p>Препарат _____ _____ Окраска _____ _____</p>  </td> <td colspan="2"></td> </tr> </table>	<p>Препарат _____ _____ Окраска _____ _____</p> 		
<p>Препарат _____ _____ Окраска _____ _____</p> 												
<p>Препарат _____ _____ Окраска _____ _____</p> 												
<p>Препарат _____ _____ Окраска _____ _____</p> 												
	<table border="1" style="width:100%; height:100%;"> <tr> <td style="width:33%; vertical-align: top;"> <p>Препарат _____ _____ Окраска _____ _____</p>  </td> <td colspan="2"></td> </tr> </table>	<p>Препарат _____ _____ Окраска _____ _____</p> 			<table border="1" style="width:100%; height:100%;"> <tr> <td style="width:33%; vertical-align: top;"> <p>Препарат _____ _____ Окраска _____ _____</p>  </td> <td colspan="2"></td> </tr> </table>	<p>Препарат _____ _____ Окраска _____ _____</p> 			<table border="1" style="width:100%; height:100%;"> <tr> <td style="width:33%; vertical-align: top;"> <p>Препарат _____ _____ Окраска _____ _____</p>  </td> <td colspan="2"></td> </tr> </table>	<p>Препарат _____ _____ Окраска _____ _____</p> 		
<p>Препарат _____ _____ Окраска _____ _____</p> 												
<p>Препарат _____ _____ Окраска _____ _____</p> 												
<p>Препарат _____ _____ Окраска _____ _____</p> 												
	<table border="1" style="width:100%; height:100%;"> <tr> <td style="width:33%; vertical-align: top;"> <p>Препарат _____ _____ Окраска _____ _____</p>  </td> <td colspan="2"></td> </tr> </table>	<p>Препарат _____ _____ Окраска _____ _____</p> 			<table border="1" style="width:100%; height:100%;"> <tr> <td style="width:33%; vertical-align: top;"> <p>Препарат _____ _____ Окраска _____ _____</p>  </td> <td colspan="2"></td> </tr> </table>	<p>Препарат _____ _____ Окраска _____ _____</p> 						
<p>Препарат _____ _____ Окраска _____ _____</p> 												
<p>Препарат _____ _____ Окраска _____ _____</p> 												

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

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

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

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

#### Формы бактерий с дефектами клеточной стенки:

**Протопласты** – бактерии полностью лишены клеточной стенки, не способны к размножению.

**Сферопласты** - бактерии частично лишены клеточной стенки, не способны к размножению.

**L-формы** - это бактерии, полностью или частично лишены клеточной стенки, поэтому имеют своеобразную морфологию в виде крупных и мелких сферических клеток. Способны к размножению. Название дано по названию института имени Листера, где этот феномен был впервые обнаружен. L-трансформации могут подвергаться все бактерии, имеющие клеточную стенку. Она может быть обратимой, если генетический контроль синтеза клеточной стенки сохраняется.

L-трансформация происходит под действием различных индуцирующих факторов (антибиотики, угнетающие биосинтез клеточной стенки, а также лизоцим и другие ферменты). Медицинское значение L-форм: устойчивость к антибиотикам - ингибиторам синтеза клеточной стенки, переход острых заболеваний в хронические, (напр., при сепсисе, ревматизме, гонорее, пиелонефрите и др.), форма персистенции бактерий (напр., при брюшном тифе); трудность лабораторной диагностики (морфологически неразличимы). L-формы могут быть нестабильные и стабильные.

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

1. Нефиксированный мазок – 0,5% соляной к-ты при подогревании, промывание и фиксация в пламени;
  2. Затем окраска по Цилю-Нильсену (см.)
- При микроскопии споры ярко-красного цвета, вегетативные тела бактерий – голубого (синего).

#### Спорообразование у бактерий.

Для спорообразующих бактерий характерно образование в цитоплазме круглой или овальной споры. Спорообразование - это способ сохранения вида во внешней среде при неблагоприятных условиях, а не способ размножения. Спора образуется в цитоплазме в течение 18-20 часов и может располагаться у собственно бацилл - центрально, у клостридий - центрально или субтерминально. Прорастание спор длится 4-5 часов.

#### Стадии спорообразования.

1. Подготовительная. В цитоплазме образуется уплотненный участок, не имеющий свободной воды («спорогенная зона»), в которой содержится нуклеоид.
2. Стадия предспоры (проспоры). Вокруг спорогенной зоны образуется оболочка из двойной цитоплазматической мембраны.
3. Образование кортекса, состоящего из пептидогликана и наружной мембраны с повышенным содержанием солей кальция и липидов.
4. Стадия созревания. С внешней стороны наружной мембраны образуется оболочка споры, после чего вегетативная часть клетки лизируется.

Споры очень устойчивы во внешней среде, что обусловлено:

1. Низким содержанием воды, которая находится в связанном состоянии;
2. Повышенным содержанием солей кальция и липидов;
3. Многослойностью оболочки.

Споры можно обнаружить в клетках специальной окраской по методу Ожешко или с помощью фазово-контрастной микроскопии.

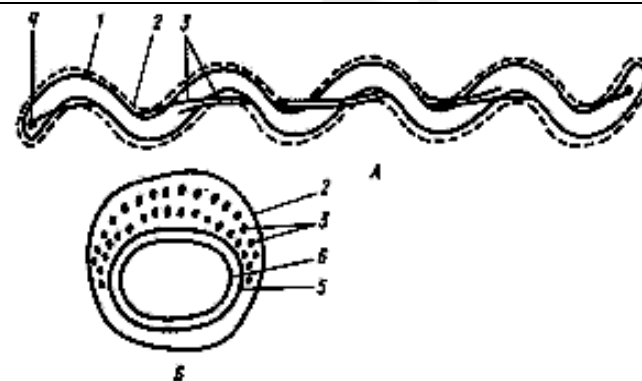
Примеры спорообразующих бактерий: *Bacillus anthracis*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium tetani*, *Clostridium botulinum*.

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

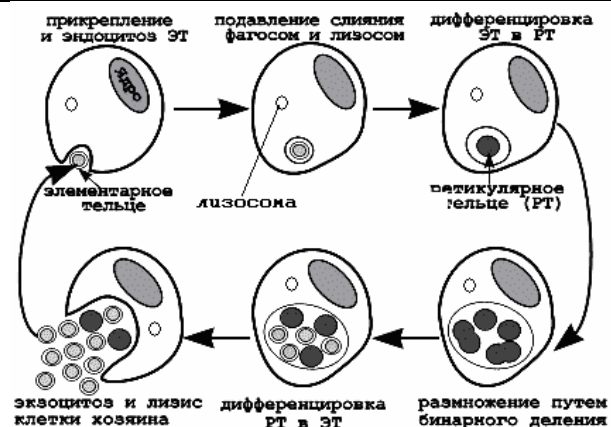
**Механизм окраски.** Краситель состоит из эозина, метиленового синего и азура, растворённых в метаноле или в смеси метанола с глицерином. Окрашивает ацидофильные образования в различные оттенки красного цвета, базофильные — в цвета от пурпурного до синего.

**Дифференциация спирохет (заполните таблицу)**

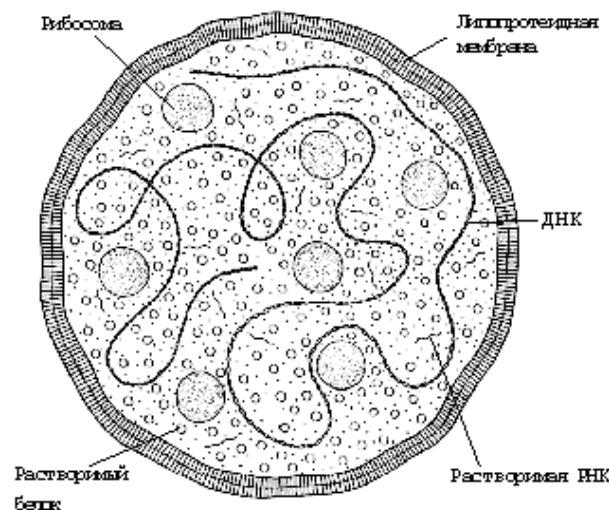
Признак	<i>Treponema spp.</i>	<i>Borrelia spp.</i>	<i>Leptospira spp.</i>
Число завитков			
Характер завитков			
Основные типы движений			
Окрашивание по Романовскому-Гимзе			
Окрашивание по Граму			



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



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

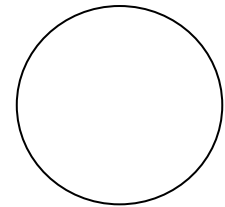


**Рис. 6. Структура клетки микоплазмы**

**Тема: Экология микробов. Методы стерилизации и дезинфекции. Асептика, антисептика.**

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Экология микроорганизмов. Формы экологических связей. Практическое использование микробного антагонизма. Понятие о бактериоциногении. Противомикробные мероприятия. Определение понятий асептики, стерилизации, дезинфекции, антисептики. Применение в стоматологической практике.</p> <p>Термические, механические, химические и другие методы стерилизации. Отличия стерилизации от дезинфекции. Виды дезинфектантов. Механизмы действия на микробы.</p> <p>Антисептические средства, происхождение, свойства, группы, механизмы действия на микробы. Типы антисептики.</p>	<p><b>Источники:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Материал лекции.</li> <li>2. [3]– (учебники),</li> <li>3. [1], [4] – (практикумы),</li> <li>4. [5], [7], [9] – (доп. литература).</li> </ol>
--	---

**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты
<p>1. Поставить опыт по антисептике.</p>	<p><b>Опыт по антисептике:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Отпечаток кожи без обработки (контроль);</li> <li>2. Мытье водой с мылом – отпечаток (опыт 1);</li> <li>3. Обработка антисептиком (1% раствор йодоната);</li> <li>4. Обработка нейтрализатором (1% раствор тиосульфата натрия);</li> <li>5. Отпечаток (опыт 2).</li> </ol> <p><b>Учет результатов (на следующем занятии):</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Просмотреть чашку в зоне отпечатков:             <ol style="list-style-type: none"> <li>а) подсчитать число колоний в каждой зоне</li> <li>б) отметить характер колоний в каждой зоне (определить число разновидностей колоний по размерам, форме, характеру поверхности, края, прозрачности, окраске)</li> </ol> </li> <li>2. Приготовить мазки с окраской по Граму из характерных (доминирующих) колоний</li> <li>3. Сформулировать выводы:             <ul style="list-style-type: none"> <li>- об эффективности механической (мытьё рук с мылом) и химической антисептики (обработка раствором галогена- йодом) по изменению обсемененности кожи (по сравнению с контролем)</li> <li>- о влиянии метода антисептики на состав флоры кожи рук (на основании морфологии колоний и микробов из них).</li> </ul> </li> </ol> <div data-bbox="1608 539 1832 746" style="text-align: center;">  </div> <p align="center">Схема постановки опыта</p>

2. Поставить опыт по антисептической обработке полости рта

**Схема проведения опыта по антисептической обработке полости рта:**

1. Подписать чашки Петри («опыт» и «контроль»)
2. Прополоскать рот стерильным физраствором и сплюнуть в чашку «контроль»
3. Прополоскать рот 1% раствором борной кислоты и сплюнуть в раковину.
4. Прополоскать рот стерильным физраствором и сплюнуть в чашку «опыт».
5. С помощью стерильных пипеток и груши приготовить разведения материалов:  
а) приготовить 4 пробирки с 4,5 мл стерильного физраствора, подписать 1К, 2К, 2К, 4К; набрать 0,5 мл материала из чашки «Контроль» и выпустить в пробирку 1К. Сбросить пипетку в фарфоровый стакан; другой пипеткой перемешать содержимое пробирки 1К, набрать 0,5 мл и выпустить в пробирку 2К. Сбросить пипетку в фарфоровый стакан; новой пипеткой перемешать содержимое пробирки 2К, набрать 0,5 мл и выпустить в пробирку 3К Сбросить пипетку в фарфоровый стакан; новой пипеткой перемешать содержимое пробирки 3К, набрать 0,5 мл и выпустить в пробирку 4К Сбросить пипетку в фарфоровый стакан;  
б) аналогично приготовить разведения материала «опыт».
6. С помощью стерильной пипетки и груши произвести посев разведений на сахарный бульон:
  - приготовить 4 пробирки с сахарным бульоном, подписать 1К', 2К', 3К', 4К';
  - стерильной пипеткой размешать содержимое пробирки 4К, набрать 0,5 мл разведенного материала и выпустить в пробирку 4К' с бульоном;
  - не меняя пипетку, перенести 0,5 разведенного материала из пробирки 3К в пробирку 3К' с бульоном;
  - не меняя пипетку, перенести 0,5 разведенного материала из пробирки 2К в пробирку 2К' с бульоном;
  - не меняя пипетку, перенести 0,5 разведенного материала из пробирки 1К в пробирку 1К' с бульоном;
7. Аналогично провести посев разведений материала «опыт» на сахарный бульон.
8. Засеянные бульоны связать лентой, подписать номер группы.

**Учет (на следующем занятии):**

1. Просмотреть пробирки с сахарным бульоном и определить максимальное разведение, посев из которого дает рост, для «контроля» и «опыта».
2. Сформулировать заключение об эффективности обработки полости рта 1% раствором борной кислоты на основании различий в росте микробов из разных разведений.

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

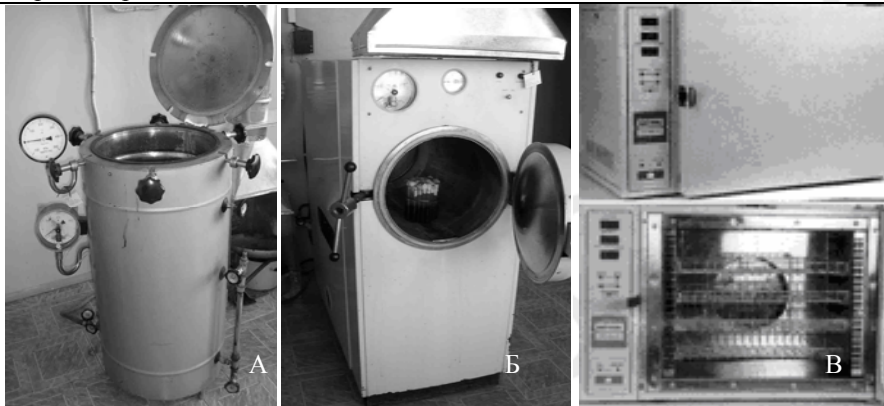


Рис. 7. Стерилизаторы: паровые (автоклавы) ВК-75 (А) и ГК-100 3М (Б), суховоздушный - вид снаружи и изнутри (В).

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

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

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

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

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

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

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

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

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

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

**Перечень изучаемых вопросов:** Обмен веществ и энергии у микробов. Конструктивный и энергетический метаболизм. Типы и способы питания, транспорт питательных веществ через мембрану. Дыхание микробов, дыхательный аппарат, пути биологического окисления. Аэробы, анаэробы, факультативные анаэробы.

Методы культивирования микроорганизмов (бактерий, риккетсий, хламидий, микоплазм).

Питательные среды, общая характеристика и классификация. Требования, предъявляемые к питательным средам. Принципы приготовления. Условия выращивания микробов. Термостат. Методы и аппаратура для создания анаэробноза.

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

**Источники:**

1. Материал лекции.
2. [3] – (учебники),
3. [1], [4] – (практикумы),
4. [5], [9] – (доп. литература).

### Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты																								
<p>1. Учет опытов по антисептике (см. занятие № 4)</p> <p>2. 2-й этап бактериологического исследования (выделение чистой культуры аэробов):</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• охарактеризовать колонии,</li> <li>• определить морфологию и чистоту культуры,</li> <li>• произвести посев грамотрицательных бактерий для накопления биомассы чистой культуры.</li> </ul>	<p><b>I этап бактериологического исследования:</b></p> <div style="text-align: center;">  </div> <p><b>II этап бактериологического исследования (выделение чистой культуры):</b></p> <table border="1" style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <thead> <tr> <th>Признак</th> <th>Колония №1</th> <th>Колония №2</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>Форма</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Размер</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Поверхность</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Край</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Цвет</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Консистенция</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>Прозрачность</td><td></td><td></td></tr> </tbody> </table> <div style="text-align: center; margin-top: 20px;">  </div>	Признак	Колония №1	Колония №2	Форма			Размер			Поверхность			Край			Цвет			Консистенция			Прозрачность		
Признак	Колония №1	Колония №2																							
Форма																									
Размер																									
Поверхность																									
Край																									
Цвет																									
Консистенция																									
Прозрачность																									

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

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

**Классификация питательных сред**

*А) По происхождению:*

**Культуральный метод исследования**

Культуральный (бактериологический) метод исследования - совокупность способов, направленных на выделение и идентификацию чистых культур микроорганизмов (бактерий) с по-



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

**Б) По назначению:**

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

**В) По консистенции:**

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

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

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

мощью культивирования на питательных средах.

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

**Этапы метода:**

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

**2. Изучение наличия и характера роста колоний на средах** (культуральные признаки), отбор наиболее типичных для возбудителя колоний; приготовление препаратов из этих колоний с окраской (по Граму или другими методами); отсев остатка исследованной колонии на среду накопления и культивирование при оптимальной температуре; или приготовление суспензии и внесение ее в тест-систему для биохимической идентификации (рис. 9).

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

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

**Оценка метода:**

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

## Методы выделения чистых культур микроорганизмов

### 1. Методы механического разобщения микроорганизмов:

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

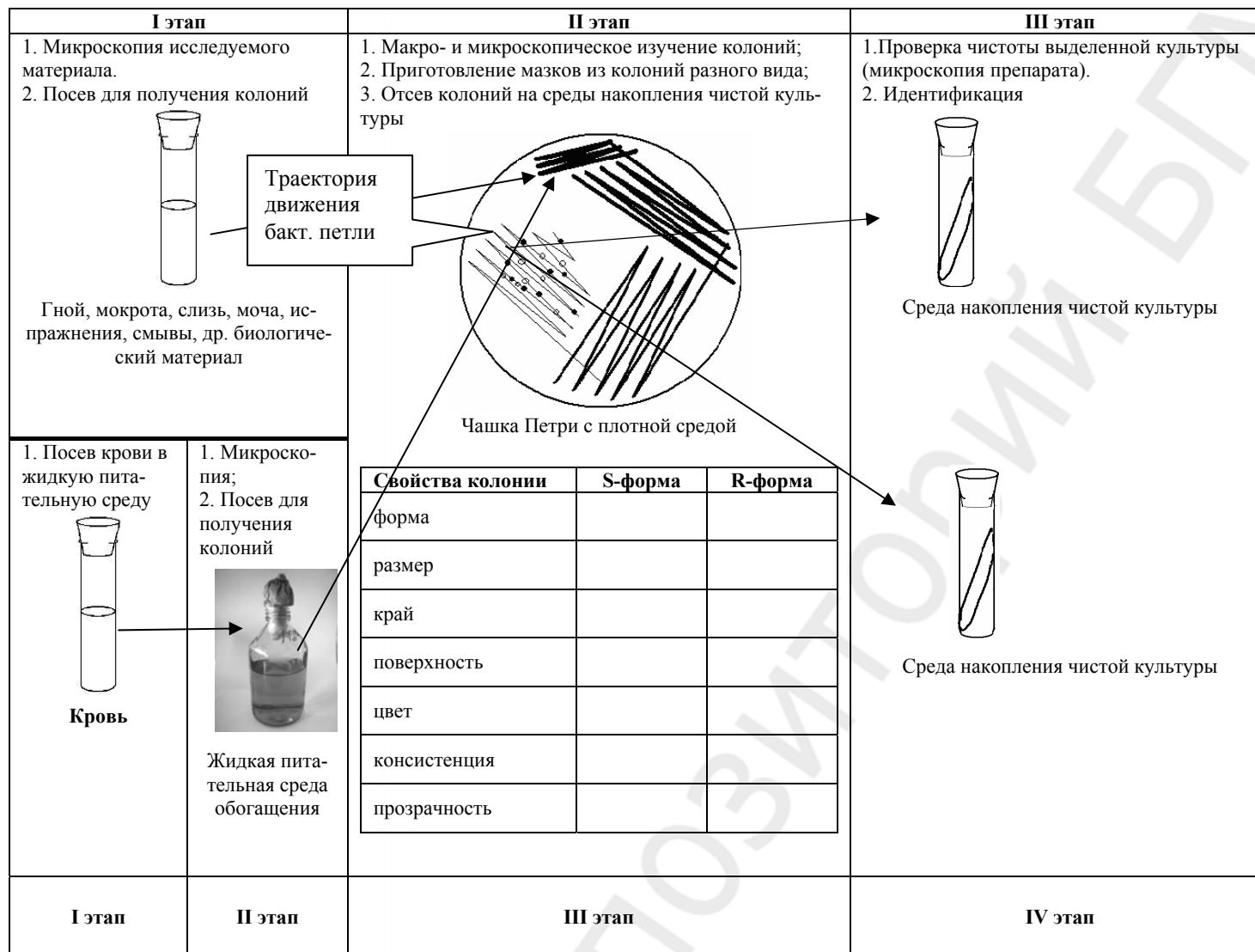
Питательные среды для создания анаэробных условий:



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

ОТВЕТ:

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



**Рис. 8. Анаэростаты**

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

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

Биохимические свойства микробов и методы их изучения. Ферменты микробов, их значение для идентификации:

- а) протеолитические (протеазы, пептидазы, дезаминазы, декарбоксилазы, цистиназа, триптофаназа, уреазы);
- б) сахаролитические (карбогидраза, амилаза);
- в) липолитические (липаза, лецитиназа)
- г) окислительно-восстановительные (дегидрогеназы, оксидазы, каталаза);
- д) гемолизины. Альфа-, бета-, гамма-гемолиз.

Автоматические микробиологические анализаторы, принципы работы.

**Источники:**

- 1. Материал лекции.
- 2. [3] – (учебники),
- 3. [1], [4] – (практикумы),
- 4. [5], [9] – (доп. литература).

**Лабораторная работа**

**Задание**

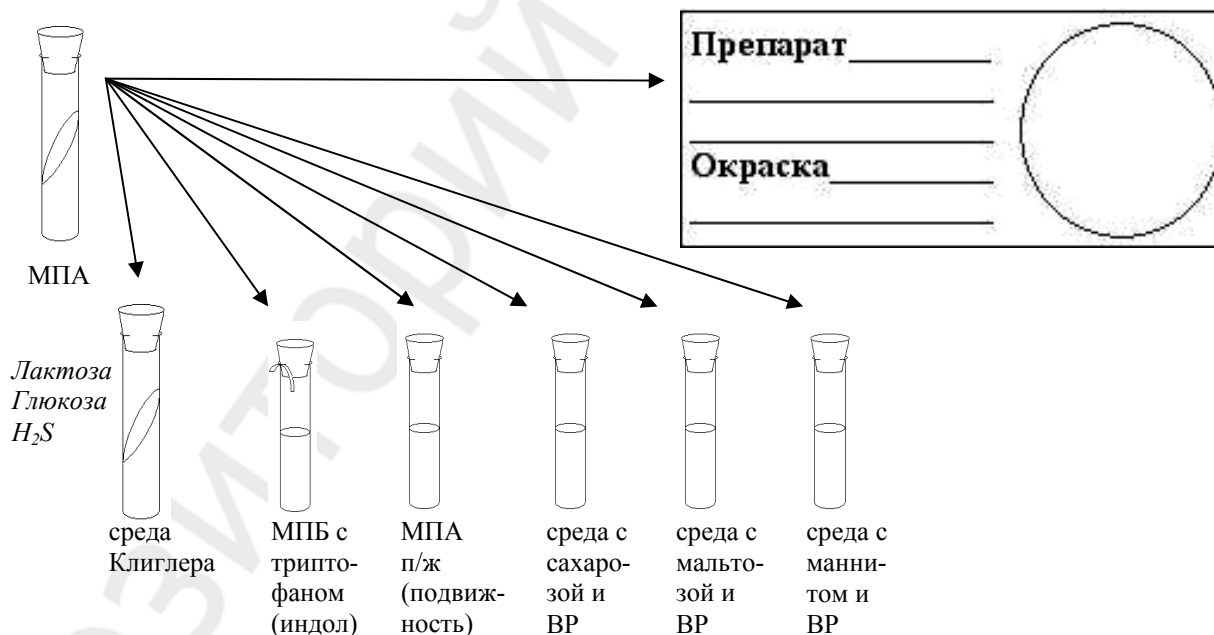
1. Третий этап выделения чистых культур аэробов (идентификация культуры):

- определить морфологию и провести контроль чистоты культуры бактерий на среде Клиглера,
- осуществить посев на среды с сахарозой, мальтозой, маннитом, поставить пробы на индол и на подвижность.

**Демонстрация.**

- 1. Среды Гисса с различными индикаторами, жидкие и полужидкие.
- 2. Гемолиз, лецитиназная и оксидазная активность.
- 3. Тест-системы для идентификации микроорганизмов.

**Методы, результаты**



Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

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

### Определение биохимических свойств микробов.

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

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

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

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

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

#### **Ферменты-токсины:**

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

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

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

#### **Оксидоредуктазы:**

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

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

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

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

Цвета некоторых индикаторов pH

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

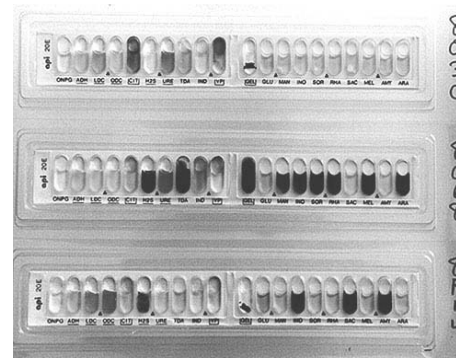


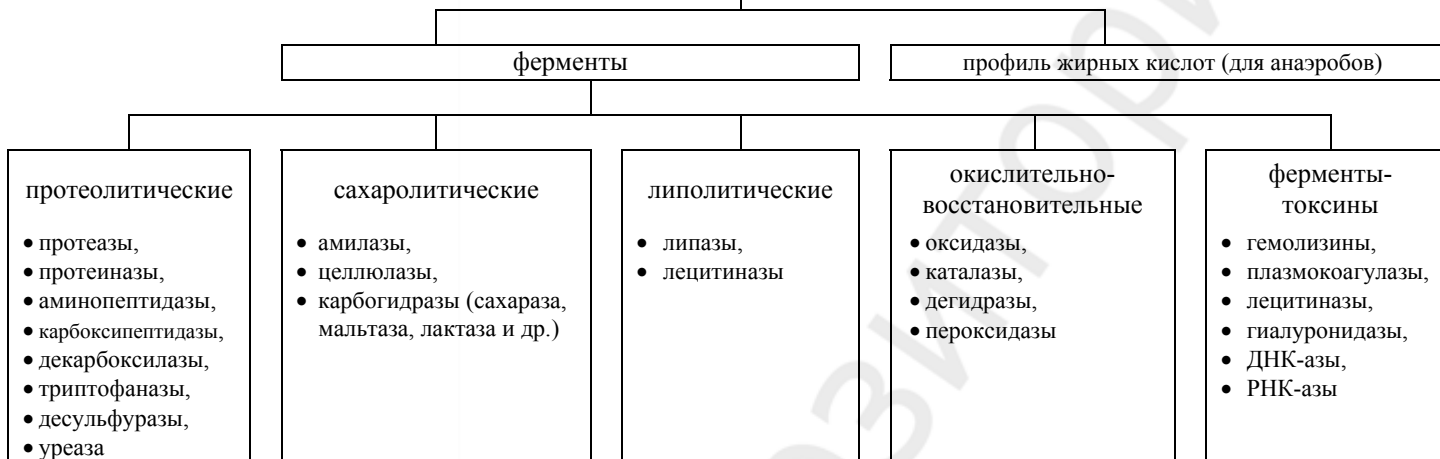
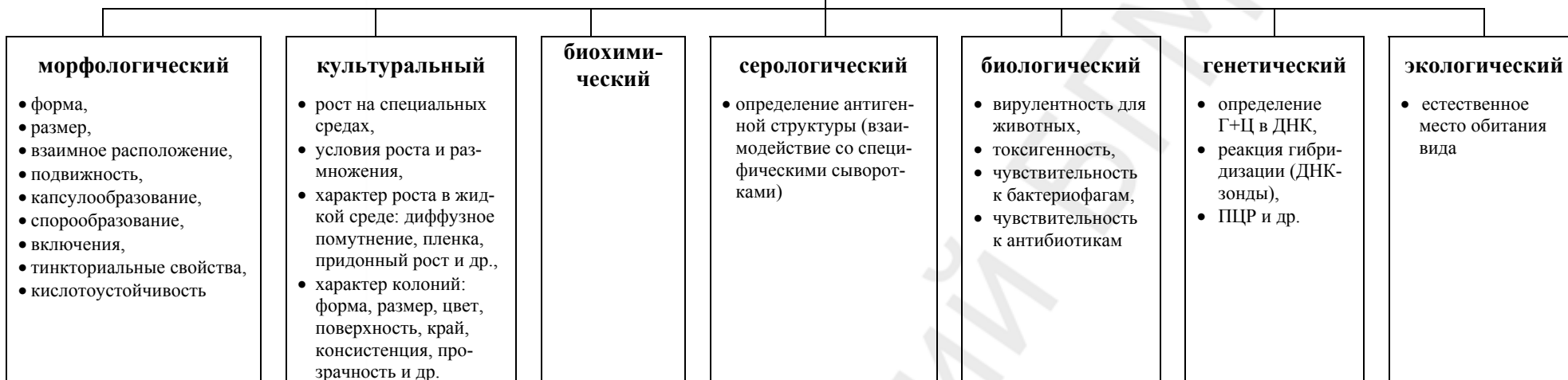
Рис. 9. Тест-система для биохимической идентификации бактерий (API-20E).



Рис. 10. Автоматические микробиологические анализаторы (внешний вид).

# Методы идентификации микроорганизмов

## Критерии вида



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

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Устройство генетического аппарата бактерий. Виды изменчивости микроорганизмов. Практическое значение изменчивости. Генотипическая изменчивость. Мутации и генетические рекомбинации: трансформация, трансдукция, конъюгация. Принцип генетического анализа (см. уч.-мет. пособие «Молекулярная биология бактерий»).</p> <p>Методы выделения мутантов. Плазмиды и их функции.</p> <p>Методы молекулярной диагностики (молекулярная гибридизация, полимеразная цепная реакция). Определение. Задачи. Преимущества.</p> <p>Молекулярная гибридизация: материал для исследования, зонды, постановка реакции, учёт и интерпретация результатов. Области применения.</p> <p>Полимеразная цепная реакция (ПЦР): материал для исследования, реагенты, аппаратура, постановка ПЦР, учёт и интерпретация результатов. Области применения.</p>	<p><b>Источники:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Материал лекции.</li> <li>2. [3]– (учебники),</li> <li>3. [1], [4] – (практикумы),</li> <li>4. [5], [9], [11] – (доп. литература).</li> </ol>
--	--

**Лабораторная работа**

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



<p>2. Поставить опыт конъюгации:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• приготовить и инкубировать смесь культур <i>E. coli</i> донора и реципиента,</li> <li>• сделать высеv на минимальную среду.</li> </ul>	<p style="text-align: center;">инкубация 30 мин 37 °С</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;"> <p><i>E. coli</i> D (донор) F<sup>+</sup> tre<sup>+</sup> leu<sup>+</sup> str<sup>s</sup></p> </div> <div style="text-align: center;"> <p>0,5 мл →</p> </div> <div style="text-align: center;"> <p>← 0,5 мл</p> </div> <div style="text-align: center;"> <p><i>E. coli</i> R (реципиент) F<sup>-</sup> tre<sup>-</sup> leu<sup>-</sup> str<sup>R</sup></p> </div> </div> <div style="text-align: center; margin-top: 20px;"> </div> <p>Минимальная среда без треонина и лейцина, стрептомицин 100 мкг/мл.</p> <p>Учет результатов (после 24 ч. инкубации при 37 °С).</p> <p><b>Заключение:</b></p>
<p>3. Поставить ПЦР для обнаружения ДНК <i>M.tuberculosis</i> в бронхоальвеолярном лаваже больного туберкулезом.</p> <p>Определение <i>M.tuberculosis</i> в промывных водах бронхов основано на обнаружении и амплификации последовательности гена MPV64 (общей для <i>M. tuberculosis</i> и <i>M. bovis</i>). В результате реакции происходит накопление продукта (ампликонов) длиной 357 п.н.</p>	<p><i>Схема проведения ПЦР</i></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Выделение ДНК: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Маркировка пробирок для выделения ДНК (эппендорфы на 1,5 мл с замочком). Внесение 100 мкл лаважной жидкости и 100 мкл отрицательного контроля в пробирки для выделения ДНК</li> <li>• Встряхивание и кипячение 10 мин (в лаборантской).</li> </ul> </li> <li>2. Постановка ПЦР: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Приготовление реакционной смеси:</li> <li>• Маркировка пробирок для ПЦР (маленькие эппендорфы на 0,5 мл с парафином).</li> <li>• Внесение 10 мкл реакционной смеси и 10 мкл жидкости из пробирок для выделения в ПЦР-пробирки.</li> <li>• Амплификация (демонстраторий), 1 час.</li> </ul> </li> <li>3. Детекция: электрофорез в геле (демонстраторий, 20 мин), просмотр на трансиллюминаторе (демонстраторий).</li> <li>4. Учет и оценка результата.</li> </ol>
<p><b>Демонстрация.</b></p> <p>1. Метод реплик.</p>	<p><b>Метод реплик</b> позволяет осуществить одномоментный посев нескольких исследуемых культур бактерий с помощью специальных штампов-репликаторов.</p> <p>Штамп состоит из основания с 25 или 50 лунками для заливки культур и верхней части (крышки), имеющей соответственно 25 или 50 штифтов, которые при накладывании крышки на основание входят в лунки.</p> <p>Суспензии испытуемых культур последовательно вносят в лунки штампа. Затем накладывают крышку на основание штампа так, чтобы штифты вошли в лунки и смочились культурой. Посев производят путем прикосновения (отпечатывания) нижних концов штифтов к поверхности плотной среды в чашке Петри.</p> <div style="text-align: right; margin-top: 20px;"> </div>

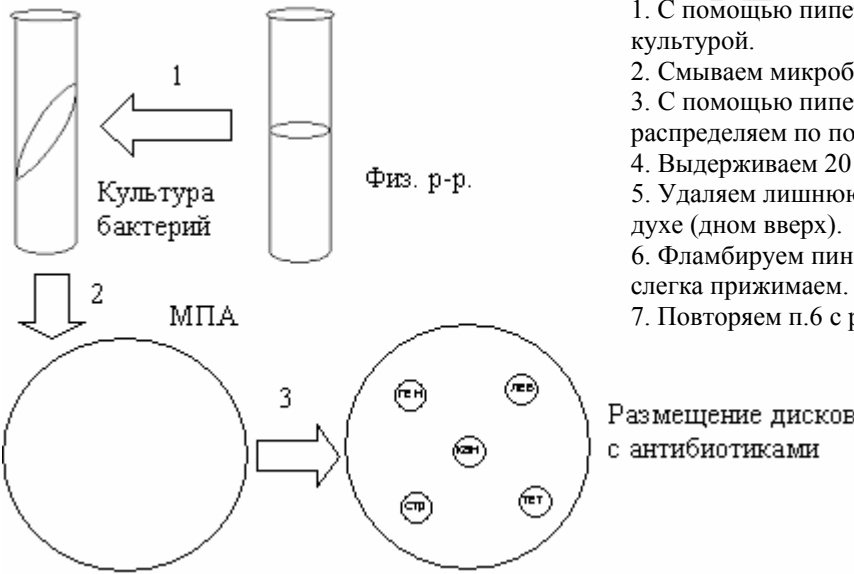
Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

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

**Перечень изучаемых вопросов:** Инфекция, определение понятия, причины и условия возникновения, классификация инфекционного процесса.  
 Патогенность и вирулентность микробов, факторы патогенности, единицы вирулентности. Островки патогенности, третья секреторная система микробов. Методы определения адгезинов, токсигенности, ферментов-токсинов, капсульного вещества.  
 Биологический метод исследования, оценка, этапы, применение в микробиологии.  
 Антибиотики, характеристика, классификация. Механизмы противомикробного действия. Лекарственная устойчивость микробов, механизмы, методы ее определения. Особенности применения антибиотиков в стоматологической практике.

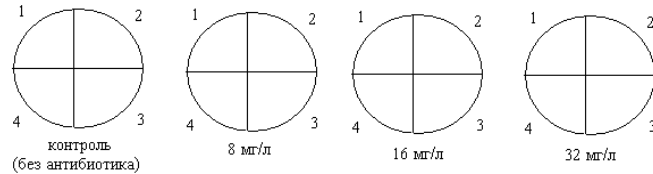
**Источники:**  
 1. Материал лекции.  
 2. [3] – (учебники),  
 3. [1], [4] – (практикумы),  
 4. [5], [9] – (доп. литература).

**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты															
<p>1. Поставить опыт по определению чувствительности бактерий к антибиотикам методом бумажных дисков.</p>	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;">  </div> <p>1. С помощью пипетки вносим стерильный физраствор в пробирку с культурой.                  2. Смываем микробы, катая пробирку между ладонями.                  3. С помощью пипетки переносим суспензию бактерий в чашку петри, распределяем по поверхности агара.                  4. Выдерживаем 20 минут для оседания бактерий.                  5. Удаляем лишнюю жидкость пипеткой и подсушиваем чашку на воздухе (дном вверх).                  6. Фламбируем пинцет и накладываем диск с антибиотиком на агар, слегка прижимаем.                  7. Повторяем п.6 с разными антибиотиками (не более 5 на чашку).</p> <p style="text-align: center;"><b>Учет результатов (выполняется на следующем занятии):</b></p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 33%;">Антибиотик</th> <th style="width: 33%;">Диаметр зоны задержки роста, мм</th> <th style="width: 33%;">Уровень чувствительности</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr> </tbody> </table>	Антибиотик	Диаметр зоны задержки роста, мм	Уровень чувствительности												
Антибиотик	Диаметр зоны задержки роста, мм	Уровень чувствительности														

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

3. Учет опыта конъюгации (см. занятие №7).



Чашки с разведениями ампициллина

Критерии интерпретации результатов:

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

**Заключение:**

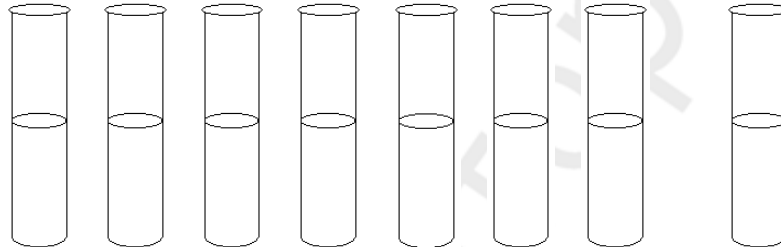
Наименование культуры	Величина МИК, мг/л	Интерпретация результата
культура №1		
культура №2		
культура №3		
культура №4		

**Демонстрация:**

1. Методы определения факторов патогенности (капсулы, плазмокоагулазы, гемолизинов, лецитиназы).
2. Метод дисков.
3. Метод серийных разведений в МПА и в пробирках.
4. Ускоренный метод определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам.
5. *Bacillus anthracis* в мазке-отпечатке органов мыши, окраска по Граму.

Метод серийных разведений в жидкой среде:

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



Контроль - среда без антибиотика

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

**Препарат** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**Окраска** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 8.

**КЛАССИФИКАЦИЯ ИНФЕКЦИЙ****В зависимости от возбудителя:**

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

**По механизмам передачи - инфекции с:**

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

**По источникам инфекции:**

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

**В зависимости от поражаемых систем органов:**

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

**По кратности инфицирования:**

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

**По распространенности:**

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

**По длительности:**

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

**По числу возбудителей:**

1. моноинфекция;
2. смешанная инфекция.

**По месту заражения:**

1. внутрибольничная;
2. внебольничная.

**По путям инфицирования:**

1. эндогенные;
2. экзогенные.

**По выраженности:**

1. микробоносительство (нет симптомов болезни, нет нарастания титра АТ);
2. бессимптомная (нет симптомов болезни, есть нарастание титра АТ);
3. стертая (неспецифичные симптомы);
4. манифестная (инфекционное заболевание): легкая, средней тяжести, тяжелая.

**Стадии инфекционного заболевания:**

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

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

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

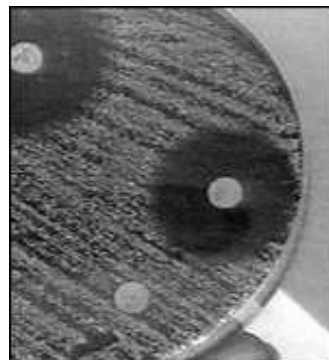
**Этапы метода:**

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

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

## Методы изучения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам:

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



**2. Метод разведений** - определение минимальной ингибирующей концентрации

• **Метод серийных разведений антибиотика в бульоне**

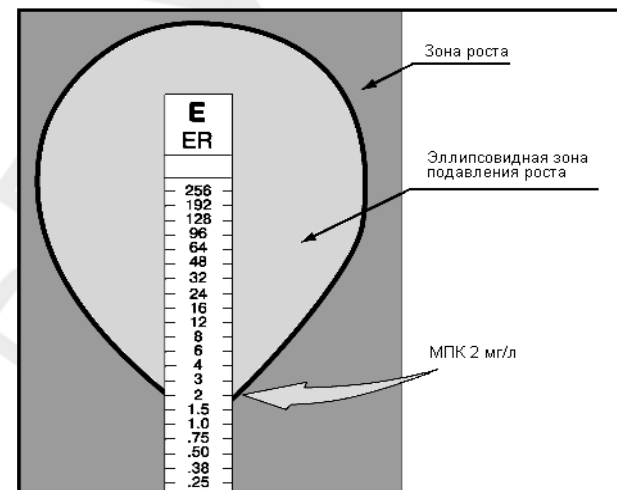
• **Метод серийных разведений антибиотика в плотной среде**

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

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

## 3. Метод Е-тестов.

Е-тест представляет собой пластиковую полоску размером 5x50 мм с нанесенным градиентом концентрации антибиотика (0,002-32, 0,016-256 или 0,063-1024 мг/л в зависимости от препарата). Метод основан на диффузии антибиотиков в агар и позво-



ляет определять значение МИК. Зона задержки роста имеет форму эллипса, размеры которого увеличиваются от меньшей концентрации антибиотика на полоске к большей.

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

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

## Автоматизированные системы для определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам.

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

**Недостатки метода:**

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

## Тема: Итоговое занятие по теме: «Морфология и физиология микроорганизмов»

1. Провести учет опыта определения устойчивости бактерий к антибиотикам методом бумажных дисков	(см. занятие № 8)
<p><b>сречень вопросов к итоговому занятию:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>История становления и развития микробиологии как науки. Этапы. Основоположники микробиологии и ее основных направлений.</li> <li>Характеристика бактериоскопического метода исследования.</li> <li>Световые микроскопы. Принципы устройства простого, фазово-контрастного, темнопольного, люминесцентного микроскопов и их применение в микробиологии.</li> <li>Техника иммерсионной микроскопии.</li> <li>Типы микроскопических препаратов. Этапы приготовления фиксированного мазка. Простые методы окраски.</li> <li>Дифференциально-диагностические методы окраски микробов. Окраска по Граму, механизм и техника окраски.</li> <li>Морфология бактерий. Отличия прокариотов от эукариотов. Основные формы бактерий.</li> <li>Структура и функции поверхностных образований бактериальной клетки. Капсула. Методы выявления.</li> <li>Структура и функции клеточной стенки грамположительных и грамотрицательных бактерий. Формы бактерий с дефектами клеточной стенки.</li> <li>Цитоплазматические структуры бактерий, функции, методы выявления. Кислотоустойчивые микробы. Метод окраски.</li> <li>Покоящиеся формы микробов. Спорообразование у бактерий, стадии, методы выявления спор.</li> <li>Подвижность бактерий, методы выявления подвижности.</li> <li>Принципы систематики микробов. Систематическое положение микробов. Таксономические категории. Понятие и критерии вида.</li> <li>Систематическое положение и морфология спирохет. Методы изучения.</li> <li>Систематическое положение и морфология актиномицетов.</li> <li>Систематическое положение и морфология микоплазм. Методы изучения.</li> <li>Систематическое положение и морфология риккетсий и хламидий.</li> <li>Питание микробов. Источники углерода, азота, ростовых факторов и зольных элементов. Способы питания. Способы проникновения питательных веществ в клетку через мембрану.</li> <li>Дыхательный аппарат бактерий. Пути биологического окисления. Классификация микробов по этому признаку.</li> <li>Способы размножения микробов. Механизм и фазы клеточного деления.</li> <li>Характеристика бактериологического метода исследования.</li> <li>Питательные среды для аэробов и анаэробов. Требования, предъявляемые к питательным средам, классификация.</li> <li>Методы выделения чистых культур аэробов.</li> <li>Методы выделения чистых культур анаэробов.</li> <li>Идентификация микроорганизмов: морфологическая, культуральная, серологическая, биологическая, генетическая.</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>Биохимический метод идентификации: определение протеолитических, сахаролитических, липолитических свойств, выявление гемолизина и оксидоредуктаз. Использование автоматических микробиологических анализаторов.</li> <li>Генетический аппарат бактерий (хромосомы, плазмиды), характеристика бактериальных транспозонов. Биологическая роль плазмид.</li> <li>Виды изменчивости бактерий. Фенотипическая и генотипическая изменчивость. Понятие о популяционной изменчивости.</li> <li>Мутационная изменчивость. Генетические рекомбинации. Практическое значение изменчивости микроорганизмов. Понятие о генной инженерии и биотехнологии.</li> <li>Молекулярная диагностика. Цель. Задачи. Методы. Молекулярная гибридизация. Полимеразная цепная реакция.</li> <li>Учение об инфекции. Условия возникновения инфекционного процесса. Отличительные признаки инфекционных заболеваний. Типы инфекций.</li> <li>Роль микроорганизма в инфекционном процессе. Патогенность и вирулентность. Генетический контроль. Факторы патогенности.</li> <li>Роль макроорганизма, физической и социальной среды в инфекционном процессе.</li> <li>Биологический метод исследования: задачи, оценка, этапы.</li> <li>Химиотерапия и химиопрофилактика. Антибиотики, определение, классификация. Особенности применения в стоматологической практике.</li> <li>Механизм действия антибиотиков. Побочное действие антибиотиков.</li> <li>Устойчивость микроорганизмов к антибиотикам, механизмы.</li> <li>Методы изучения чувствительности микробов к антибиотикам.</li> <li>Экология микроорганизмов. Типы экологических связей.</li> <li>Стерилизация, дезинфекция. Определение понятий, методы проведения.</li> <li>Асептика, антисептика. Определение понятий. Способы проведения. Особенности в стоматологической практике.</li> </ol> <p><b>Перечень практических навыков:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>Приготовить мазок из бульонной культуры бактерий.</li> <li>Приготовить мазок из агаровой культуры бактерий.</li> <li>Окрасить препарат водным раствором фуксина.</li> <li>Окрасить препарат водным раствором метиленовой синьки.</li> <li>Окрасить препарат по Граму.</li> <li>Техника иммерсионной микроскопии.</li> <li>Определить морфологию чистой культуры стафилококка, окраска по Граму.</li> <li>Определить морфологию чистой культуры кишечной палочки, окраска по Граму.</li> <li>Определить морфологию грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов в смеси, окраска по Граму.</li> <li>Определить морфологию культуры в мазке окрашенном по Гинсу-Бурри.</li> <li>Определить морфологию чистой культуры стрептобацилл, окраска по Граму..</li> </ol>

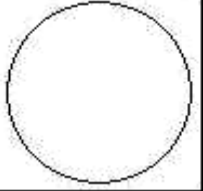
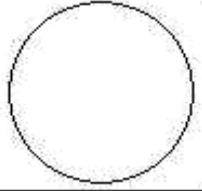
**Занятие № 10.**

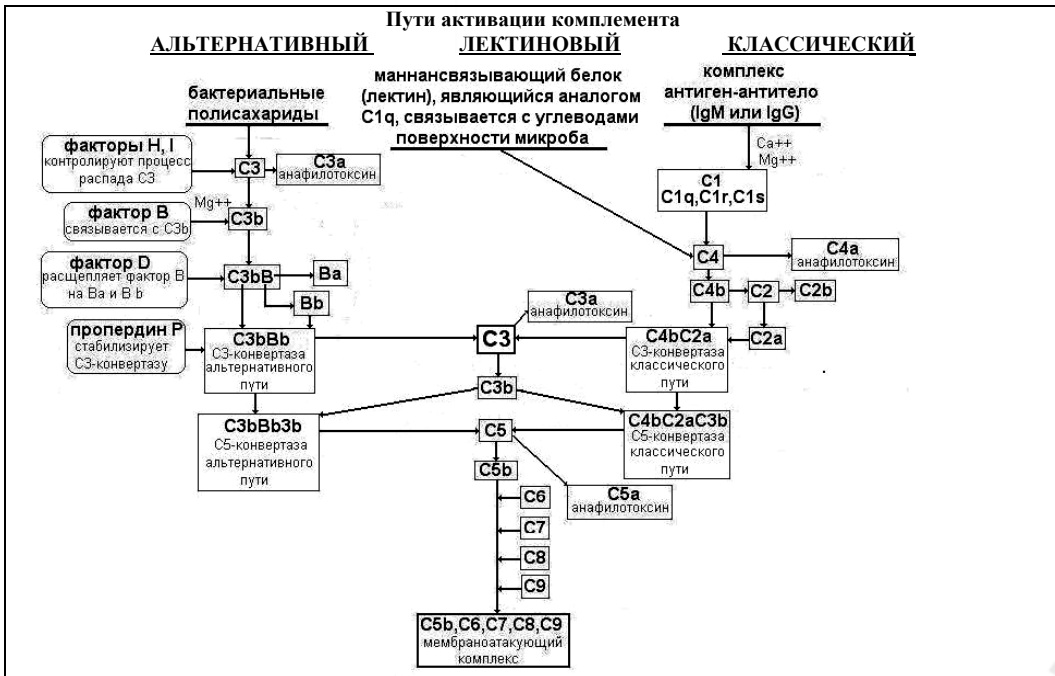
Дата \_\_\_\_\_ г.

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

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Иммунная система организма человека: органы, клетки, молекулы. Иммунитет, виды иммунитета. Естественный иммунитет. Факторы иммунной и неиммунной природы. Система комплемента: состав, пути активации, функции, методы определения активности. Лизоцим, бета-лизины. Система полинуклеарных и мононуклеарных фагоцитов. Фагоцитарная реакция: фазы, механизмы внутриклеточной бактерицидности, исходы. Методы определения активности фагоцитоза. Антигенпрезентирующие клетки (АПК). Естественные киллеры.</p>	<p><b>Источники:</b>                  1. Материал лекции.                  2. [3] – (учебники),                  3. [1], [4] – (практикумы),                  4. [5], [10], [12], [13] – (доп. литература).</p>
---	---

**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты
<p>1. Определить показатели фагоцитоза в готовых препаратах, окрашенных по Романовскому-Гимзе. Микробы смешивают с фагоцитами в пробирке или в организме лабораторных животных, через 15-120 мин из смеси готовят микропрепараты, окрашивают по Романовскому-Гимзе, подсчитывают число фагоцитирующих фагоцитов и число фагоцитированных микробов. Рассчитывают показатели.</p>	$\text{ФП} = \frac{\text{количество фагоцитирующих фагоцитов}}{\text{количество всех фагоцитов}} \times 100\% \quad N = 40 - 60\%$ $\text{ФЧ} = \frac{\text{количество фагоцитированных микробов}}{\text{количество фагоцитирующих фагоцитов}} \quad N = 4 - 7$
<p>2. Учесть активность комплемента по 50% гемолизу. Сыворотку разводят физ. р-ром и вносят в пробирку от 0,05 до 0,5 мл. Объем проб доводят до 1,5 мл физ. р-ром. Вносят 1,5 мл гем. системы, инкубируют 37°C - 45 мин, охлаждают при 4°C, центрифугируют 1500 об. - 5 мин. Определяют объем сыворотки, вызывающий лизис 50 % сенсibilизированных эритроцитов (условную гемолитическую единицу - CH<sub>50</sub>). Рассчитывают количество CH<sub>50</sub> в 1 мл цельной сыворотки.</p>	<p>Количество сыворотки 1:10, мл                  0,05 0,10 0,15 0,20 0,25 0,30 0,35 0,40 0,45 0,50      Стандарт (50% гемолиз)</p> <p>1 CH<sub>50</sub> – в _____ мл сыворотки                  X CH<sub>50</sub> – в 1 мл сыворотки</p> <p>N 40 – 60 CH<sub>50</sub></p>
<p><b>Зарисовать демонстрационные препараты:</b>                  1. Незавершенный фагоцитоз <i>N. gonorrhoeae</i>                  2. Незавершенный фагоцитоз <i>K. rhinoscleromatis</i></p>	<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: 45%;"> <p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p>  </div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: 45%;"> <p>Препарат _____</p> <p>_____</p> <p>Окраска _____</p> <p>_____</p>  </div> </div> <p style="text-align: center;">Подпись преподавателя</p>



<b>Система комплемента</b>			
Путь активации	Классический	Альтернативный	Лектиновый
Вещества-активаторы			
Состав C3-конвертазы			
Состав C5-конвертазы			
Образование мембраноатакующего комплекса (МАК)			

### Белки острой фазы

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

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



**Занятие № 11.**

Дата \_\_\_\_\_ г.

**Тема: Методы клинической и инфекционной иммунологии. Антигены. Антитела. Иммунный ответ организма.**

<p>Иммунный ответ организма, определение, условия развития.          Антигены: строение, свойства, классификация.          В-система лимфоцитов, развитие, основные маркеры. В-клеточный рецептор.          Гуморальный иммунный ответ. Антитела: структура молекулы, классы, функции. Моноклональные антитела, принципы получения, применение.          Т-система лимфоцитов, развитие, основные маркеры. Т-клеточный рецептор. Характеристика субпопуляций Т-лимфоцитов: хелперов, киллеров, эффекторов ГЗТ, регуляторов. Хелперы 1-го, 2-го и 3-го типов. Клеточный тип иммунного ответа и его проявления.          Методы оценки Т- и В-системы лимфоцитов: количественные и функциональные тесты.</p>	<p><b>Источники:</b>          1. Материал лекции.          2. [3] – (учебники),          3. [1], [4] – (практикумы),          4. [5], [10], [12], [13] – (доп. литература).</p>
--	---

**Лабораторная работа**

<b>Задание</b>	<b>Методы, результаты</b>
<p>1. Определить количественное содержание CD3+ Т-лимфоцитов методом иммунных розеток в готовых препаратах.</p>	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> <p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p>  </div>
<p>2. Зарисовать демонстрационные препараты:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- реакция бласттрансформации лимфоцитов</li> <li>- определение В-лимфоцитов методом иммунных розеток.</li> </ul>	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> <p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p>  </div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-top: 10px;"> <p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p>  </div>

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 11.

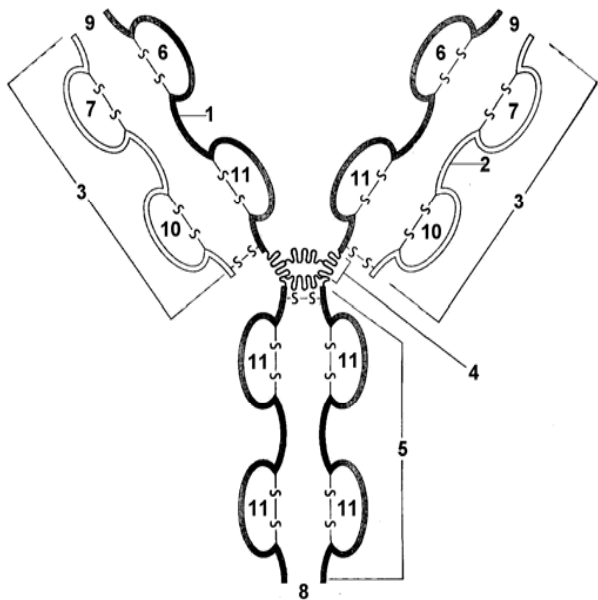


Рис. 11. Строение молекулы иммуноглобулина

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

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

Характеристика иммуноглобулинов

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

**Занятие № 12.**

Дата \_\_\_\_\_ г.

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

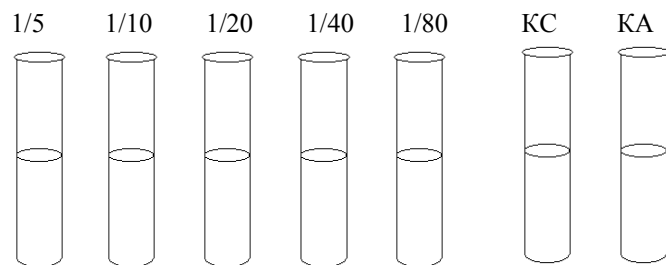
Серологический метод исследования, характеристика. Титр антител. Диагностический титр. Диагностикумы. Диагностические сыворотки.  
 Реакция агглютинации (РА), пассивной гемагглютинации и обратной пассивной гемагглютинации (РПГА, РОПГА), латексагглютинации.  
 Реакция преципитации. Варианты реакции преципитации: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

**Источники:**  
 1. Материал лекции.  
 2. [3] – (учебники),  
 3. [1], [4] – (практикумы),  
 4. [5], [10], [12], [15] – (доп. литература).

**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты
<p>1. Поставить реакцию агглютинации на стекле для идентификации X-микроба.</p>	<div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="flex: 1;"> </div> <div style="flex: 1;"> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Сыворотка протав <i>S. typhi</i></li> <li>2. Сыворотка против <i>E. coli</i></li> <li>3. Физ. раствор</li> </ol> </div> </div> <p style="text-align: right;">Заключение: X-микроб - _____</p>
<p>2. Учесть реакцию пассивной гемагглютинации.</p>	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">1/10</div> <div style="text-align: center;">1/20</div> <div style="text-align: center;">1/40</div> <div style="text-align: center;">1/80</div> <div style="text-align: center;">1/160</div> <div style="text-align: center;">КС</div> <div style="text-align: center;">КА</div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center; margin-top: 10px;"> <div style="border: 1px solid black; border-radius: 50%; width: 30px; height: 30px;"></div> <div style="border: 1px solid black; border-radius: 50%; width: 30px; height: 30px;"></div> <div style="border: 1px solid black; border-radius: 50%; width: 30px; height: 30px;"></div> <div style="border: 1px solid black; border-radius: 50%; width: 30px; height: 30px;"></div> <div style="border: 1px solid black; border-radius: 50%; width: 30px; height: 30px;"></div> <div style="border: 1px solid black; border-radius: 50%; width: 30px; height: 30px;"></div> <div style="border: 1px solid black; border-radius: 50%; width: 30px; height: 30px;"></div> </div> <p>Заключение:</p>

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



Заключение: \_\_\_\_\_

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

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

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

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

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

4. Оценка достоверности теста:

- а) ОП отрицательных контролей (ОПК) < 0,15  
ОПК = \_\_\_\_\_
- б) ОПК должны находиться в пределах от 0,6 до 1,4 средней ОПК  
средняя ОПК = \_\_\_\_\_  
0,6 средней ОПК = \_\_\_\_\_  
1,4 средней ОПК = \_\_\_\_\_
- в) ОП положительного контроля (ОПК+) должна превышать среднюю ОПК более чем в 4 раза:  
ОПК+/ средняя ОПК = \_\_\_\_\_
- г) значение ОП слабоположительного контроля должно превышать уровень cut-off

5. Расчет уровня cut-off:

ОП cut-off = средняя ОПК + 0,04

6. Интерпретация результатов:

Номер образца	ОП образца	Заключение
1		
2		
3		
4		

Врач-лаборант \_\_\_\_\_

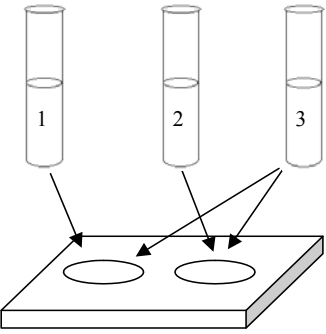
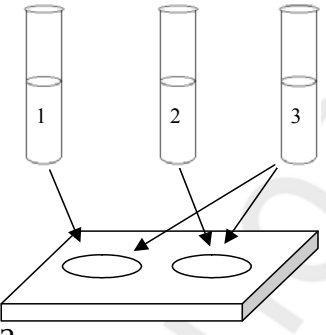
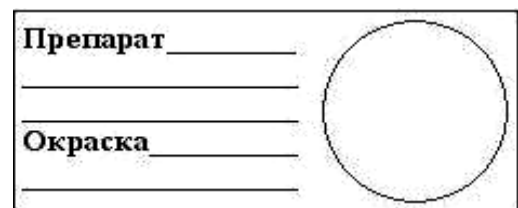
Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

**Тема: Иммунопрофилактика и иммунотерапия инфекционных болезней. Иммунопатология и клиническая иммунология.**

Иммунопрофилактика и иммунотерапия. Вакцины, виды, требования, предъявляемые к вакцинам. Поствакцинальный иммунитет, факторы, влияющие на его формирование. Методы оценки поствакцинального иммунитета. Пассивная иммунопрофилактика. Иммунные сыворотки и сывороточные препараты. Аллергия, стадии, типы аллергических реакций. Механизмы ГНТ: медиаторный (I тип), цитотоксический (II тип), иммунокомплексный (III тип). Механизмы ГЗТ (IV тип). Лекарственная аллергия. Аллергены в стоматологии. Методы диагностики аллергических состояний. Клиническая иммунология: определение, задачи. Иммунный статус организма. Уровни оценки иммунного статуса. Первичные и вторичные иммунодефициты. Аутоиммунные болезни. Аутоантитела, диагностическое значение, методы определения. Противоопухолевый иммунитет. Методы коррекции нарушений иммунного статуса. Иммуносупрессия. Иммуностимуляция. Иммуномодуляторы. Препараты тимуса, селезенки, костного мозга. Интерлейкины, интерфероны.

**Источники:**  
 1. Материал лекции.  
 2. [3] – (учебники),  
 3. [1], [4] – (практикумы),  
 4. [5], [8], [10], [12], [14] – (доп. литература).

**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты	
<p>1. Постановка и учет РПГА для определения ревматоидного фактора.</p> <p>Эритроцитарный диагностикум = фиксированные эритроциты быка, покрытые IgG человека.                      Ревматоидный фактор = аутоантитела IgM против IgG человека (обнаруживается при некоторых аутоиммунных заболеваниях (СКВ, РА) и применяется для диагностики).</p>	 <p>1. Физ. раствор                      2. Сыв. больного                      3. Эритроцитарный диагностикум ревматоидного фактора (DRF)</p>	<p>Заключение: _____</p>
<p>2. Постановка и учет реакции латекс-агглютинации для обнаружения антител к тиреоглобулину</p> <p>Латексный диагностикум = микросферы латекса, покрытые молекулами тиреоглобулина</p> <p><b>Зарисовать демонстрационный препарат:</b>                      Реакция дегрануляции тучных клеток.</p>	 <p>1. Физ. раствор                      2. Сыв. больного                      3. Латексный диагностикум</p> <p>Заклучение: _____</p>	

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

## Итоговое занятие по теме: «Теоретическая и прикладная медицинская иммунология».

**Перечень вопросов:**

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

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

**Перечень практических навыков:**

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

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

**Перечень изучаемых вопросов:** Стафилококки, общая характеристика. Факторы патогенности. Заболевания стафилококковой природы, в том числе в стоматологии. Стафилококки – возбудители внутрибольничных инфекций. Методы микробиологической диагностики стафилококковых инфекций. Материал для исследования в зависимости от формы инфекции, правила и методы взятия. Схема бактериологического исследования гноя, слизи, крови. Фаготипирование стафилококков. Принципы терапии и профилактики стафилококковых инфекций.

Стрептококки, систематика, общая характеристика. Антигенная структура. Пиогенный стрептококк, пневмококк, стрептококк мутанс и другие стрептококки полости рта. Роль стрептококков в норме и патологии полости рта. Острые и хронические стрептококковые инфекции. Патогенез, иммунитет. Методы микробиологической диагностики. Материал для исследования, правила и методы взятия, схема бактериологического исследования. Принципы терапии и профилактики.

Нейссерии, систематика, общая характеристика. Роль в норме и патологии полости рта. Менингококк, гонококк. Факторы патогенности. Патогенез, иммунитет. Заболевания, проявления в полости рта. Методы микробиологической диагностики, материал для исследования. Схема бактериологического исследования. Принципы терапии и профилактики.

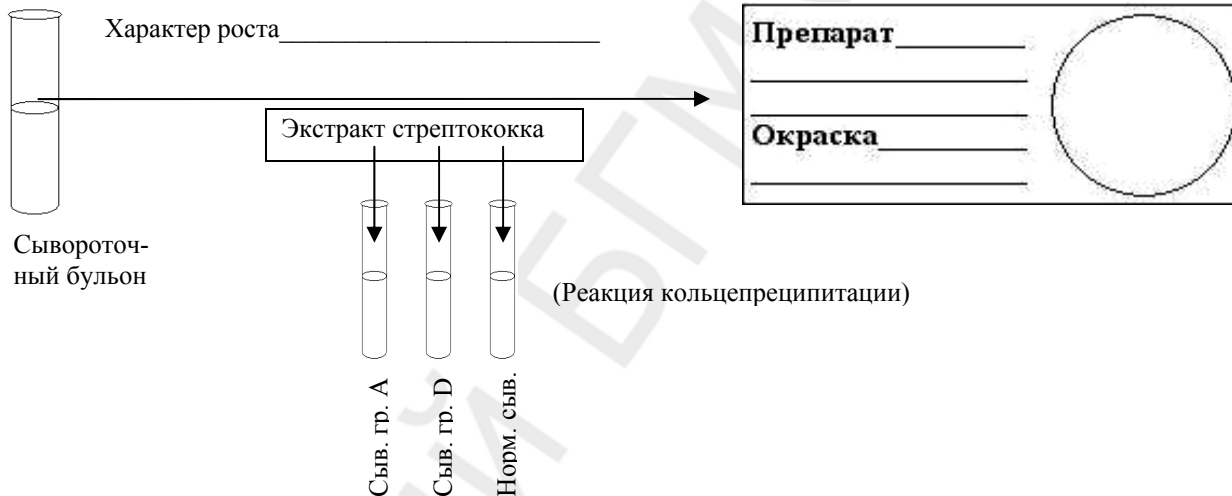
**Источники:**

1. Материал лекции.
2. [3] – (учебники),
3. [1], [4] – (практикумы),
4. [5], [9] – (доп. литература).

**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты																		
<p>1. 2-й этап микробиологической диагностики стафилококковой инфекции:</p> <p>а) макро- и микроскопическое изучение колоний на ЖСА;                      б) постановка пробы на плазмокоагулазу.</p>	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;">  <div style="text-align: center;"> <p>ЖСА</p>  <p><b>Препарат</b> _____                      _____  <b>Окраска</b> _____                      _____</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>Цитратная кроличья плазма, 37°C, 2-4-24 ч. (коагуляция)</p> </div> <table border="1" data-bbox="1496 686 2038 1005"> <thead> <tr> <th colspan="2">Характеристика колоний</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> </div> <p><b>Заключение:</b> по морфологическим, культуральным и биохимическим признакам идентифицирован _____</p>	Характеристика колоний		Форма		Размер		Поверхность		Край		Цвет		Консистенция		Прозрачность		Лецитиназа	
Характеристика колоний																			
Форма																			
Размер																			
Поверхность																			
Край																			
Цвет																			
Консистенция																			
Прозрачность																			
Лецитиназа																			

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



**Заключение:** по морфологическим, культуральным и биохимическим признакам идентифицирован \_\_\_\_\_

**Зарисовать демонстрационные препараты:**

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

**Демонстрация.**

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

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

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

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

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

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

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

Дата \_\_\_\_\_ г.



**Перечень изучаемых вопросов:**

Общая характеристика представителей семейства энтеробактерий.

Эшерихии, общая характеристика, роль в норме и патологии.

Сальмонеллы, классификация и общая характеристика. Роль в патологии, патогенез заболевания, проявления в полости рта при брюшном тифе.

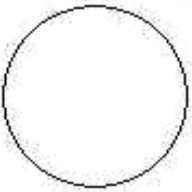
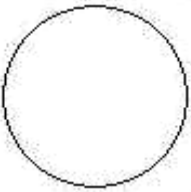
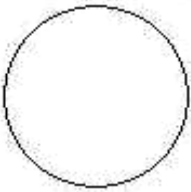
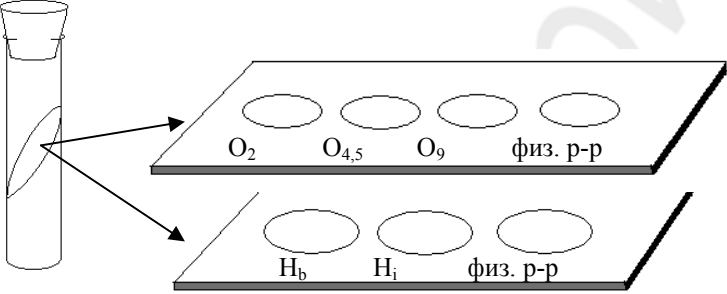
Шигеллы, классификация и общая характеристика, роль в патологии.

Принципы микробиологической диагностики острых кишечных инфекций

**Источники:**

1. Материал лекции.
2. [3] – (учебники),
3. [1], [4] – (практикумы),
4. [5], [9] – (доп. литература).

**Лабораторная работа**


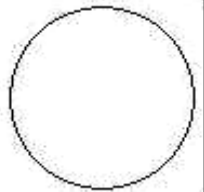
Задание	Методы, результаты		
<p><b>1. Зарисовать демонстрационные препараты:</b></p> <p>а) чистая культура эшерихий, окраска по Граму</p> <p>б) чистая культура сальмонелл, окраска по Граму</p> <p>в) чистая культура шигелл, окраска по Граму</p> <p>2. Реакция агглютинации на стекле для идентификации сальмонелл.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

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

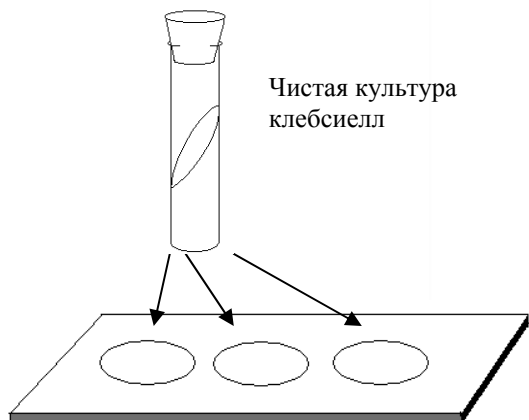
**Тема: Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых клебсиеллами, псевдомонадами, кампилобактериями. Принципы диагностики пищевых отравлений.**

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Клебсиеллы, систематика, общая характеристика, роль в патологии. Синегнойная палочка, общая характеристика, роль в патологии человека. Кампилобактерии, общая характеристика, роль в патологии человека. Механизмы патогенеза. Диагностика кампилобактериоза. Хеликобактер. Этиология пищевых отравлений, принципы диагностики.</p>	<p><b>Источники:</b>                  1. Материал лекции.                  2. [3] – (учебники),                  3. [1], [4] – (практикумы),                  4. [5], [9] – (доп. литература).</p>
--	--

**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты																																																		
<p>1. Провести 3-ий этап диагностики клебсиеллезов:                      а) учесть биохимические свойства клебсиелл;                      б) поставить реакцию агглютинации на стекле для определения капсульного антигена;</p> <p>2. Провести учет РСК для диагностики склеромы.</p> <p><b>Дифференциальные питательные среды:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 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.</li> <li>• 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 пузырьки газа в поплавке.</li> <li>• 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.</li> <li>• Среда с малонатом натрия (тот же принцип, что и среда Симмонса).</li> <li>• Среда с мочевиной. При гидролизе мочевины (фермент уреазы) происходит защелачивание среды (индикатор Андрее) – красное окрашивание. При отсутствии продукции уреазы – цвет не изменяется (желтый).</li> </ul>	<div style="text-align: center;">  <p>Ресселя      Лактоза    Глюкоза    Сахароза    Цитрат    Мочевина    Малонат                      (среда Симмонса)</p> </div> <div style="text-align: right; margin-top: 20px;"> <p>Препарат _____</p> <p>Окраска _____</p>  </div> <p align="center"><b>Дифференциация клебсиелл</b></p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th>Биохимические свойства</th> <th><i>K. pneumoniae</i> <i>s. rhinoscleromatis</i></th> <th><i>K. pneumoniae</i> <i>s. ozaenae</i></th> <th><i>K. pneumoniae</i> <i>s. pneumoniae</i></th> <th><i>K. oxytoca</i></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td><b>Глюкоза с газом</b></td> <td align="center">-</td> <td align="center">+/-</td> <td align="center">+</td> <td align="center">+</td> </tr> <tr> <td><b>Лактоза</b></td> <td align="center">-</td> <td align="center">+/-</td> <td align="center">+</td> <td align="center">+</td> </tr> <tr> <td><b>Сахароза</b></td> <td align="center">- (4 сутки +)</td> <td align="center">+/-</td> <td align="center">+</td> <td align="center">+</td> </tr> <tr> <td><b>Цитрат аммония</b></td> <td align="center">-</td> <td align="center">+/-</td> <td align="center">+</td> <td align="center">+</td> </tr> <tr> <td><b>Мочевина</b></td> <td align="center">-</td> <td align="center">-/+</td> <td align="center">+</td> <td align="center">+</td> </tr> <tr> <td><b>Малонат натрия</b></td> <td align="center">+</td> <td align="center">-</td> <td align="center">+</td> <td align="center">+</td> </tr> <tr> <td><b>Индол</b></td> <td align="center">-</td> <td align="center">-</td> <td align="center">-</td> <td align="center">+</td> </tr> <tr> <td><b>Рост при 10°C</b></td> <td align="center">-</td> <td align="center">-</td> <td align="center">-</td> <td align="center">+</td> </tr> <tr> <td><b>О и К антигены</b></td> <td align="center"><b>O2a:K3</b></td> <td align="center"><b>O2b:K4</b></td> <td align="center"><b>O1,O3-5:K1-3</b></td> <td align="center"><b>O1,O3-5:K7-82</b></td> </tr> </tbody> </table>	Биохимические свойства	<i>K. pneumoniae</i> <i>s. rhinoscleromatis</i>	<i>K. pneumoniae</i> <i>s. ozaenae</i>	<i>K. pneumoniae</i> <i>s. pneumoniae</i>	<i>K. oxytoca</i>	<b>Глюкоза с газом</b>	-	+/-	+	+	<b>Лактоза</b>	-	+/-	+	+	<b>Сахароза</b>	- (4 сутки +)	+/-	+	+	<b>Цитрат аммония</b>	-	+/-	+	+	<b>Мочевина</b>	-	-/+	+	+	<b>Малонат натрия</b>	+	-	+	+	<b>Индол</b>	-	-	-	+	<b>Рост при 10°C</b>	-	-	-	+	<b>О и К антигены</b>	<b>O2a:K3</b>	<b>O2b:K4</b>	<b>O1,O3-5:K1-3</b>	<b>O1,O3-5:K7-82</b>
Биохимические свойства	<i>K. pneumoniae</i> <i>s. rhinoscleromatis</i>	<i>K. pneumoniae</i> <i>s. ozaenae</i>	<i>K. pneumoniae</i> <i>s. pneumoniae</i>	<i>K. oxytoca</i>																																															
<b>Глюкоза с газом</b>	-	+/-	+	+																																															
<b>Лактоза</b>	-	+/-	+	+																																															
<b>Сахароза</b>	- (4 сутки +)	+/-	+	+																																															
<b>Цитрат аммония</b>	-	+/-	+	+																																															
<b>Мочевина</b>	-	-/+	+	+																																															
<b>Малонат натрия</b>	+	-	+	+																																															
<b>Индол</b>	-	-	-	+																																															
<b>Рост при 10°C</b>	-	-	-	+																																															
<b>О и К антигены</b>	<b>O2a:K3</b>	<b>O2b:K4</b>	<b>O1,O3-5:K1-3</b>	<b>O1,O3-5:K7-82</b>																																															

### Реакция капсульной агглютинации



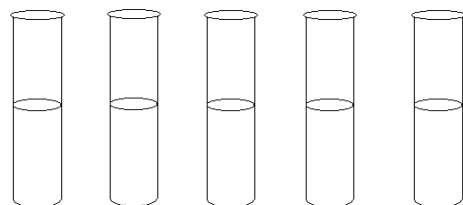
Сыв. К3    Сыв. К4    Физ. р-р

Заключение: \_\_\_\_\_

### Учет РСК по схеме:

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

1:5    1:10    1:20    КС    КА



Заключение: \_\_\_\_\_ -

### Зарисовать демонстрационные препараты:

1. Капсула у клебсиеллы склеромы (окраска по Гинсу-Бурри).
2. Клебсиелла склеромы, окраска по Граму.
3. Синегнойная палочка, чистая культура, окраска по Граму.

### Демонстрация.

Рост клебсиелл на дифференциально-диагностических средах.

Проба на оксидазу.

Рост синегнойной палочки на фурагиновом агаре.

Биохимические свойства клебсиелл.

Препарат \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Окраска \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Препарат \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Окраска \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Препарат \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Окраска \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

**Тема: Методы микробиологической диагностики актиномикоза, туберкулеза.**

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Актиномицеты, систематика. Возбудители актиномикоза, общая характеристика. Методы микробиологической диагностики актиномикоза.</p> <p>Микобактерии, классификация. Возбудители туберкулеза, общая характеристика, факторы патогенности. Патогенез, иммунитет, методы микробиологической диагностики, принципы терапии и профилактики туберкулёза. Проявления туберкулезной инфекции в полости рта.</p>	<p><b>Источники:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Материал лекции.</li> <li>2. [3] – (учебники),</li> <li>3. [1], [4] – (практикумы),</li> <li>4. [5], [9] – (доп. литература).</li> </ol>
---	---

**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты	
<p>1. Микроскопия готовых мазков мокроты больного туберкулёзом, окраска по Цилю-Нильсену.</p> <p><b>Зарисовать демонстрационные препараты:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Корд-фактор микобактерий туберкулёза, окраска по Цилю-Нильсену.</li> <li>2. Актиномицеты, чистая культура, окраска по Граму.</li> <li>3. Микобактерии туберкулёза в мокроте больного, окраска по Цилю-Нильсену.</li> </ol> <p><b>Демонстрация.</b> Метод флотации. Определение лекарственной устойчивости микобактерий туберкулёза. Препараты для специфической профилактики туберкулеза.</p>	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 10px;"> <p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>  </div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 10px;"> <p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>  </div>	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 10px;"> <p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>  </div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> <p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>  </div>

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

**Тема: Методы микробиологической диагностики дифтерии и коклюша.**

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Коринебактерии дифтерии, общая характеристика. Факторы патогенности, механизмы действия дифтерийного токсина. Типы коринебактерий дифтерии. Патогенез, иммунитет дифтерии, проявления полости рта. Правила взятия материала. Микробиологическая диагностика дифтерии. Принципы терапии и профилактики дифтерии.</p> <p>Возбудители коклюша и паракоклюша, общая характеристика, факторы патогенности. Патогенез коклюша, проявления в полости рта. Методы диагностики, принципы терапии и профилактики коклюша.</p>	<p><b>Источники:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Материал лекции.</li> <li>2. [3] – (учебники),</li> <li>3. [3], [4] – (практикумы),</li> <li>4. [5], [9] – (доп. литература).</li> </ol>
--	---

**Лабораторная работа**

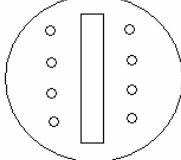
Задание	Методы, результаты															
<p>1. Бактериологическая диагностика дифтерии, 2-й этап:</p> <p>а) изучение роста колоний коринебактерий на теллуритовой среде,</p> <p>б) отсев колоний на пёстрый ряд (глюкоза, сахароза, крахмал).</p>	<div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-right: 10px;"> <p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p> </div> </div>	<div style="display: flex; align-items: center;"> </div> <p style="text-align: center;">Глюкоза   Сахароза   Крахмал   Тесты на: уреазу   цистиназу</p>														
<p><b>Зарисовать демонстрационные препараты:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Коринебактерии дифтерии:             <ol style="list-style-type: none"> <li>а) окраска по Нейссеру;</li> <li>б) окраска по Леффлеру.</li> </ol> </li> <li>2. Бордетеллы коклюша, окраска по Граму.</li> </ol> <p><b>Демонстрация.</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Проба на токсигенность коринебактерий дифтерии.</li> <li>• Препараты для специфической профилактики и лечения дифтерии и коклюша.</li> <li>• Рост бордетелл коклюша и паракоклюша на КУА, МПА с тирозином, проба на уреазу.</li> <li>• Колонии бордетелл коклюша на чашках с КУА в стереоскопическом микроскопе.</li> <li>• РПГА для оценки напряжённости противодифтерийного иммунитета.</li> </ul>	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 20%;">Признак</th> <th>Колонии на сыв. агаре с теллуридом калия</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Форма</td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td>Размер</td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td>Поверхность</td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td>Край</td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td>Цвет</td> <td>_____</td> </tr> <tr> <td>Консистенция</td> <td>_____</td> </tr> </tbody> </table>	Признак	Колонии на сыв. агаре с теллуридом калия	Форма	_____	Размер	_____	Поверхность	_____	Край	_____	Цвет	_____	Консистенция	_____	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 10px;"> <p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p> </div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> <p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p> </div>
Признак	Колонии на сыв. агаре с теллуридом калия															
Форма	_____															
Размер	_____															
Поверхность	_____															
Край	_____															
Цвет	_____															
Консистенция	_____															

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

**Тема: Методы микробиологической диагностики особо опасных инфекций.**

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Классификация и общая характеристика особо опасных инфекций (ООИ).                  Правила забора и транспортировки материала при ООИ. Режим работы.                  Возбудители холеры, чумы, бруцеллеза, туляремии, сибирской язвы. Патогенез, принципы терапии и профилактики заболеваний.                  Специфические проявления в полости рта при сибирской язве, туляремии.                  Принципы диагностики ООИ.</p>	<p><b>Источники:</b>                  1. Материал лекции.                  2. [3] – (учебники),                  3. [1], [4] – (практикумы),                  4. [5], [9] – (доп. литература).</p>
--	--

**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты																																													
<p>1. Учет биохимической активности коринебактерий, пробы на токсигенность; идентификация. (см. занятие 1 (19)).</p> <p>Тест на токсигенность (реакция преципитации в геле)</p> 	<p><b>Биохимические свойства некоторых коринебактерий</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">Вид коринебактерий</th> <th colspan="3">Расщепление с образованием кислоты</th> <th rowspan="2">цистеина с образованием H<sub>2</sub>S</th> <th rowspan="2">мочевины</th> </tr> <tr> <th>глюкозы</th> <th>сахарозы</th> <th>крахмала</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td><i>C. diphtheriae gravis</i></td> <td>+</td> <td>-</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td><i>C. diphtheriae 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> <tr> <td>X-бактерия</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table> <p>Глюкоза Сахароза Крахмал Тесты на: уреазу цистеиназу</p> <p>Токсигенность _____                  Волутин _____ (микроскопия)</p>	Вид коринебактерий	Расщепление с образованием кислоты			цистеина с образованием H <sub>2</sub> S	мочевины	глюкозы	сахарозы	крахмала	<i>C. diphtheriae gravis</i>	+	-	+	+	-	<i>C. diphtheriae mitis</i>	+	-	-	+	-	<i>C. pseudodiphtheriae (hofmani)</i>	-	-	-	-	+	<i>C. xerosis</i>	+	+	-	-	+	<i>C. ulcerans</i>	+	-	+	+	+	X-бактерия					
Вид коринебактерий	Расщепление с образованием кислоты			цистеина с образованием H <sub>2</sub> S	мочевины																																									
	глюкозы	сахарозы	крахмала																																											
<i>C. diphtheriae gravis</i>	+	-	+	+	-																																									
<i>C. diphtheriae mitis</i>	+	-	-	+	-																																									
<i>C. pseudodiphtheriae (hofmani)</i>	-	-	-	-	+																																									
<i>C. xerosis</i>	+	+	-	-	+																																									
<i>C. ulcerans</i>	+	-	+	+	+																																									
X-бактерия																																														

**Зарисовать демонстрационные препараты:**

1. Вибрион холеры, чистая культура, окраска по Граму.
2. Палочка чумы в органах, окраска по Леффлеру.
3. Возбудитель туляремии (чистая культура), окраска по Граму.
4. Возбудитель бруцеллеза, окраска по Граму.
5. Бациллы сибирской язвы в культуре, окраска по Граму.

**Демонстрация.**

- Рост холероподобного вибриона на щелочном агаре, TCBS, пептонной воде, двухсахарном сахарозно-лактозном агаре.
- Триада Хейберга

Закончить на основе биохимических свойств и идентифицирован \_\_\_\_\_

Препарат \_\_\_\_\_

Окраска \_\_\_\_\_

Препарат \_\_\_\_\_

Окраска \_\_\_\_\_

Препарат \_\_\_\_\_

Окраска \_\_\_\_\_

Препарат \_\_\_\_\_

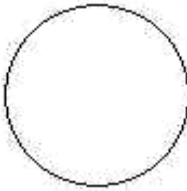
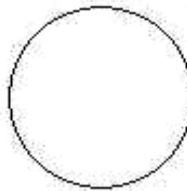
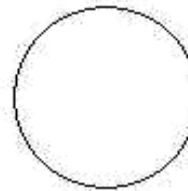
Окраска \_\_\_\_\_

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

**Тема: Методы микробиологической диагностики анаэробных инфекций.**

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Анаэробы, классификация, общая характеристика.                  Неспорообразующие анаэробы полости рта (стрептококки, пептококки, вейллонеллы, фузобактерии, лептотрихии, бактероиды, превотеллы), характеристика, роль в патологии полости рта.                  Клостридии газовой гангрены, столбняка, ботулизма, общая характеристика. Факторы патогенности, экзотоксины.                  Роль клостридий в стоматологической практике. Патогенез заболеваний. Принципы микробиологической диагностики, терапии и профилактики.</p>	<p><b>Источники:</b>                  1. Материал лекции.                  2. [3] – (учебники),                  3. [1], [4] – (практикумы),                  4. [5], [9] – (доп. литература).</p>
---	--

**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты		
<p><b>Зарисовать демонстрационные препараты:</b>                      1. Клостридии, окраска по Граму.                      2. Бактероиды, окраска по Граму.                      3. Вейллонеллы, окраска по Граму.                      4. Рост анаэробов на питательных средах.                      5. Анаэроостат.</p>	<p>Препарат _____                      _____                      _____                      Окраска _____                      _____                      _____</p> 	<p>Препарат _____                      _____                      _____                      Окраска _____                      _____                      _____</p> 	<p>Препарат _____                      _____                      _____                      Окраска _____                      _____                      _____</p> 
<p>Подпись преподавателя</p>			

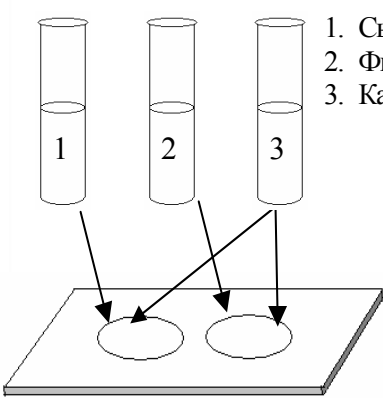
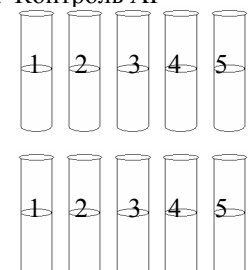
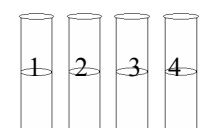
**Экологическая группа облигатно-анаэробных бактерий**

Группы анаэробных бактерий		Вызываемые заболевания
<b>Грамотрицательные неспорообразующие палочки</b>		
Бактероиды	<i>Bacteroides species</i>	ГСИ
Фузобактерии	<i>Fusobacterium species</i>	
Лептотрихии	<i>Leptotrichia bucalis</i>	
Превотеллы	<i>Prevotella species</i>	
Порфиромонады	<i>Porphyromonas species</i>	
Билофилы	<i>Bilophila wadsworthia</i>	
<b>Грамположительные спорообразующие палочки</b>		
Клостридии	<i>Clostridium tetani</i>	Столбняк
	<i>Clostridium perfringens, 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
<b>Грамотрицательные кокки</b>		
Вейллонеллы	<i>Veillonella</i>	ГСИ
<b>Грамположительные кокки</b>		
Пептококки	<i>Peptococcus species</i>	ГСИ
Пептострептококки	<i>Peptostreptococcus spp.</i>	

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


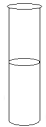

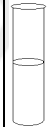


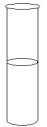
<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Спирохеты, классификация, общая характеристика. Трепонема. Систематика. Возбудитель сифилиса, общая характеристика, факторы патогенности. Патогенез сифилиса, проявления в полости рта. Методы микробиологической диагностики сифилиса. Принципы терапии и профилактики сифилиса. Трепонема полости рта, их роль в возникновении язвенно-некротических процессов мягких тканей полости рта. Фузоспирохетозы. Лептоспиры, боррелии. Роль в патологии человека. Возбудитель боррелиоза Лайма. Риккетсии, систематическое положение, общая характеристика, роль в патологии человека. Риккетсии сыпного тифа, патогенез, иммунитет и методы диагностики сыпного тифа. Возбудители других риккетсиозов. Хламидии, систематическое положение, общая характеристика, роль в патологии человека. Микоплазмы, систематическое положение, общая характеристика, роль в патологии человека.</p>	<p><b>Источники:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Материал лекции.</li> <li>2. [3] – (учебники),</li> <li>3. [1], [4] – (практикумы),</li> <li>1. [5], [9] – (доп. литература).</li> </ol>
--	---

**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты	
<p>1. Постановка реакции микропреципитации на стекле (VDRL) с целью серодиагностики сифилиса.</p> <p>2. Демонстрация РСК (реакции Вассермана) с целью диагностики сифилиса.</p>	<p><b>Реакция микропреципитации на стекле</b></p>  <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Сыворотка пациента 1:20</li> <li>2. Физ. раствор</li> <li>3. Кардиолипинный антиген</li> </ol> <p>Заключение: _____</p>	<p><b>Реакция Вассермана (РСК)</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Опыт. сыв. 1:5</li> <li>2. Завед. отр. сыв 1:5</li> <li>3. Завед. слабо +, 1:5</li> <li>4. Завед. положит. 1:5</li> <li>5. Контроль АГ</li> </ol> <p>Трепонемный АГ (две серии)</p>  <p>Кардиолипинный АГ</p> <p>Контроли сывороток</p>  <p>Заключение: _____</p>





















3. Учет РСК с целью диагностики сыпного тифа.

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

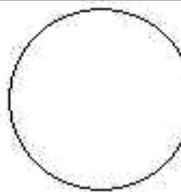
**Демонстрация.**  
РПГА для дифференциальной диагностики эпидемического и рецидивного сыпного тифа.

**Зарисовать демонстрационные препараты:**

1. Боррелии в крови больного, окраска по Романовскому-Гимзе;
2. Трепонема в зубном налёте;
3. Бледная трепонема, чистая культура, окраска по Романовскому-Гимзе;
4. Хламидии, окраска по Романовскому-Гимзе.
5. Риккетсии Провачека в чистой культуре.

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

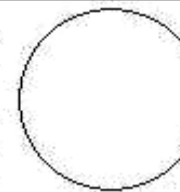
Заключение: \_\_\_\_\_

**Препарат** \_\_\_\_\_ 

\_\_\_\_\_

**Окраска** \_\_\_\_\_

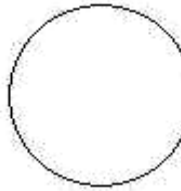
\_\_\_\_\_

**Препарат** \_\_\_\_\_ 

\_\_\_\_\_

**Окраска** \_\_\_\_\_

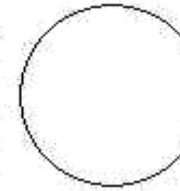
\_\_\_\_\_

**Препарат** \_\_\_\_\_ 

\_\_\_\_\_

**Окраска** \_\_\_\_\_

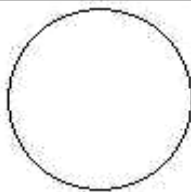
\_\_\_\_\_

**Препарат** \_\_\_\_\_ 

\_\_\_\_\_

**Окраска** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**Препарат** \_\_\_\_\_ 

\_\_\_\_\_

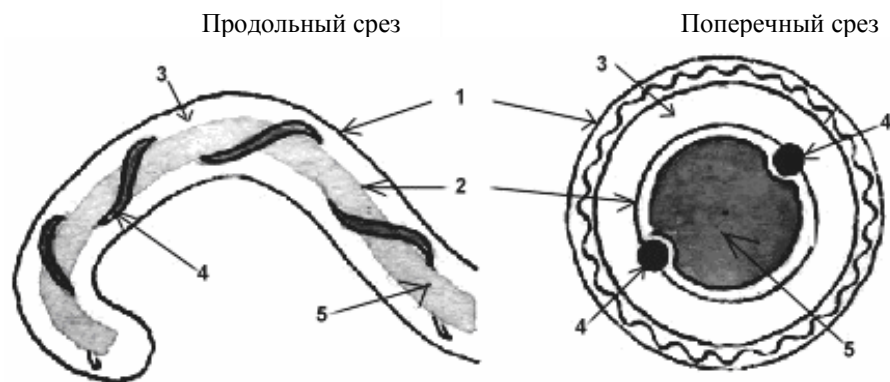
**Окраска** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 4 (22).

Строение спирохет (схема):



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

**Серологическая диагностика сифилиса:**

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

Для подтверждения диагноза применяются:

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

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

**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				

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

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

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

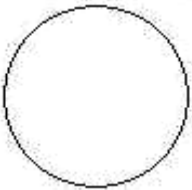
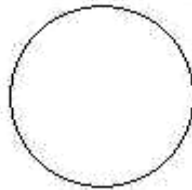
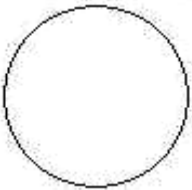
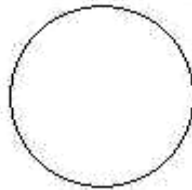
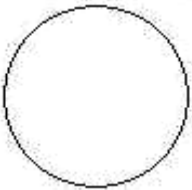
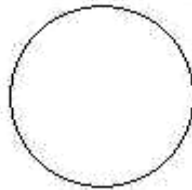
**Молекулярно-генетический метод:** ПЦР позволяет идентифицировать ДНК возбудителя в образцах кожи, крови, спинно-мозговой жидкости.

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

## Тема: Методы микробиологической диагностики микозов.

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Морфология и классификация грибов. Микозы, классификация. Кандиды, общая характеристика. Роль в патологии человека. Кандидозные стоматиты. Методы микробиологической диагностики.</p>	<p><b>Источники:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>2. Материал лекции.</li> <li>3. [3] – (учебники),</li> <li>4. [1], [4] – (практикумы),</li> <li>5. [5], [9] – (доп. литература).</li> </ol>
--	---

### Лабораторная работа

Задание	Методы, результаты				
<p>1. Исследование мазков-отпечатков слизистой оболочки полости рта при кандидомикозах.</p> <p><b>2. Демонстрация:</b></p> <p>а) чистая культура кандид, окраска по Граму;</p> <p>б) кандиды в мазке-отпечатке со слизистой оболочки полости рта, окраска по Граму;</p> <p>в) рост кандид на среде Сабуро.</p>	<table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 50%; border: 1px solid black; padding: 5px;"> <p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p> </td> <td style="width: 50%; border: 1px solid black; text-align: center; vertical-align: middle;">  </td> </tr> <tr> <td style="width: 50%; border: 1px solid black; padding: 5px;"> <p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p> </td> <td style="width: 50%; border: 1px solid black; text-align: center; vertical-align: middle;">  </td> </tr> </table>	<p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p>		<p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p>	
<p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p>					
<p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p>					

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

### ДИАГНОСТИКА МИКОЗОВ

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

**Серологический метод:**

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

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

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

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

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

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

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

1. Стафилококки, классификация, общая характеристика. Стафилококковые инфекции, патогенез, иммунитет. Роль в патологии полости рта. Методы диагностики стафилококковых инфекций. Принципы терапии и профилактики.
2. Стрептококки, классификация, общая характеристика, антигенная структура. Острые и хронические стрептококковые инфекции. Стрептококки полости рта. Роль стрептококков в патологии полости рта. Методы диагностики стрептококковых инфекций. Принципы терапии и профилактики.
3. Классификация нейссерий. Менингококки, общая характеристика. Менингококковые инфекции, патогенез, иммунитет, методы диагностики, принципы терапии и профилактики.
4. Гонококки, общая характеристика. Патогенез, иммунитет, диагностика острой и хронической гонореи, принципы терапии и профилактики. Гонорейный стоматит.
5. Общая характеристика семейства энтеробактерий.
6. Общие принципы микробиологической диагностики острых кишечных инфекций. Кишечная палочка, общая характеристика. Биологическая роль кишечной палочки. Заболевания, вызываемые эшерихиями.
7. Сальмонеллы. Общая характеристика. Представители рода. Заболевания, вызываемые сальмонеллами.
8. Возбудители брюшного тифа, паратифов А и В, общая характеристика. Патогенез, иммунитет заболеваний, принципы терапии и профилактики.
9. Этиология пищевых интоксикаций и токсикоинфекций бактериальной природы. Материалы и методы диагностики.
10. Возбудители дизентерии, общая характеристика. Патогенез дизентерии, иммунитет.
11. Клебсиеллы, общая характеристика. Роль в патологии человека. Методы диагностики клебсиеллёзов.
12. Синегнойная палочка, общая характеристика. Роль в патологии человека.
13. Возбудитель дифтерии, общая характеристика. Патогенез дифтерии. Проявления дифтерии в полости рта. Иммунитет при дифтерии. Диагностика дифтерии, принципы терапии и профилактики.
14. Возбудитель коклюша, общая характеристика. Дифференциация с возбудителем паракоклюша. Патогенез, иммунитет, диагностика, принципы терапии и профилактики коклюша.
15. Актиномицеты, общая характеристика. Роль в патологии полости рта. Актиномикоз, характеристика возбудителя, методы диагностики.
16. Классификация микобактерий. Общая характеристика возбудителей туберкулёза. Патогенез, иммунитет, методы диагностики, принципы терапии и профилактики туберкулёза. Проявления туберкулёза в полости рта.
17. Особо опасные инфекции. Классификация. Бактерии-возбудители. Режим работы при взятии и исследовании материала. Общие принципы диагностики особо опасных инфекций.
18. Возбудители холеры, общая характеристика. Патогенез, иммунитет, специфическая профилактика холеры.

19. Классификация анаэробов, общая характеристика. Клостридии. Неспорообразующие анаэробы. Роль в патологии полости рта.
20. Возбудитель столбняка, общая характеристика. Патогенез и иммунитет, принципы терапии и профилактики столбняка. Возбудители газовой гангрены, общая характеристика. Патогенез, принципы терапии и профилактики газовой гангрены.
21. Возбудитель ботулизма, общая характеристика. Патогенез, принципы терапии и профилактики ботулизма.
22. Принципы диагностики анаэробных инфекций.
23. Классификация и общая характеристика спирохет. Возбудители боррелиозов и лептоспирозов.
24. Классификация трепонем и трепонематозов. Характеристика возбудителя сифилиса. Патогенез, иммунитет, принципы терапии и профилактики сифилиса, проявления в полости рта. Методы диагностики сифилиса. Спирохеты полости рта. Фузоспирохетозы.
25. Риккетсии, хламидии, микоплазмы. Общая характеристика. Роль в патологии человека.
26. Патогенные грибы. Классификация. Возбудители дерматомикозов, кератомикозов, кандидозов. Условия, способствующие возникновению микозов.
27. Кандиды, общая характеристика. Роль в патологии человека. Патогенез, принципы диагностики кандидоза.










**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 бактериоидов, чистая культура, окраска по Граму.
9. Определить морфологию кандид, чистая культура, окраска по Граму.
10. Определить морфологию кориниебактерий, чистая культура, окраска по Леффлеру и Нейссеру.
11. Определить морфологию клебсиелл, чистая культура, окраска по Гинсу-Бурри.
12. Определить морфологию микобактерий туберкулёза в мокроте, окраска по Цилю-Нильсену.

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

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Вирусы. Систематика и морфология вирусов. Взаимодействие вирусов с чувствительными клетками. Особенности инфекционного процесса. Строгий паразитизм и цитотропизм вирусов. Механизмы противовирусного иммунитета. Принципы профилактики вирусных инфекций в практике врача-стоматолога. Общие принципы диагностики вирусных инфекций. Методы культивирования вирусов (см.методичку). Вирусы бактерий (бактериофаги). Свойства, практическое применение.</p>	<p><b>Источники:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Материал лекции.</li> <li>2. [2], [3] – (учебники),</li> <li>3. [1], [4] – (практикумы),</li> <li>4. [5], [6] – (доп. литература).</li> </ol>
--	--

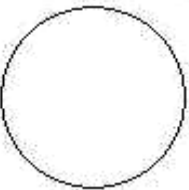
**Лабораторная работа**

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

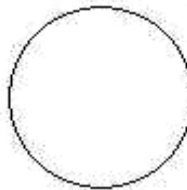
**2. Зарисовать демонстрационные препараты:**

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

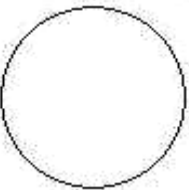
Препарат \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
Окраска \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_



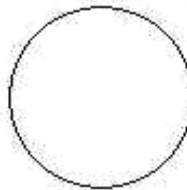
Препарат \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
Окраска \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_



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



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



Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

**Принципы лабораторной диагностики вирусных инфекций.**

В основе лабораторной диагностики вирусных инфекций лежат 4 группы методов:

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

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

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

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

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

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

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

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

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

**Занятие № 8 (26).**

Дата \_\_\_\_\_ г.

**Тема: Методы вирусологической диагностики заболеваний, вызываемых ортомиксовирусами, парамиксовирусами, рабдовирусами.**

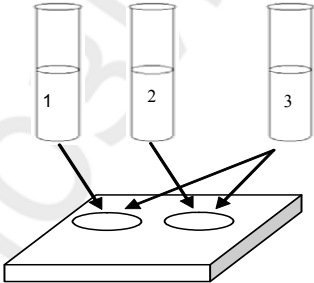
**Перечень изучаемых вопросов:** Ортомиксовирусы. Общая характеристика группы. Вирусы гриппа, морфология, антигенная структура и виды антигенной изменчивости. Методы диагностики гриппа. Химиотерапия и химиопрофилактика гриппа.

Парамиксовирусы, общая характеристика, дифференциация с вирусами гриппа. Вирусы парагриппа, кори, эпидемического паротита, пневмовирус. Патогенез, иммунитет, специфическая профилактика парамиксовирусных инфекций.

Вирус бешенства, общая характеристика. Патогенез, иммунитет, вирусологическая диагностика и специфическая профилактика бешенства.

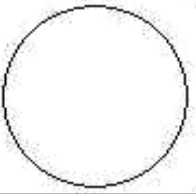
- Источники:**
1. Материал лекции.
  2. [2], [3] – (учебники),
  3. [1], [4] – (практикумы),
  4. [5], [6] – (доп. литература).

**Лабораторная работа**

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

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

**Зарисовать демонстрационный препарат:**  
Тельца Бабеша-Негри в гомогенате мозга мыши, окраска по Муромцеву

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

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

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

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

**Серодиагностика гриппа**

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

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

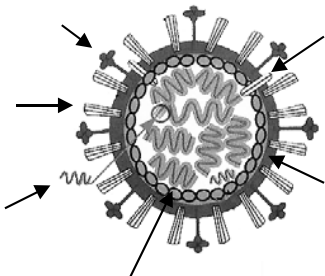
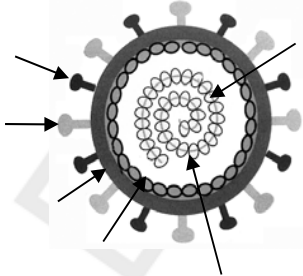
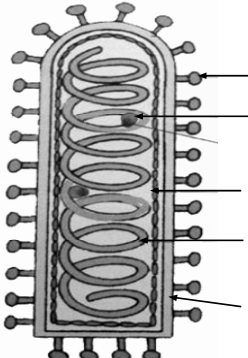
**Диагностика бешенства**

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



## Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 8 (26).

Впишите название семейства, обозначьте цифрами соответствующие структурные элементы вирионов

<p><b>Структура _____ вирусов.</b></p>  <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Гемагглютинин</li> <li>2. Нейраминидаза</li> <li>3. Суперкапсид</li> <li>4. Матриксный белок М1</li> <li>5. Белок М2</li> <li>6. Рибонуклеопротеид</li> </ol>	<p><b>Структура _____ вирусов.</b></p>  <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Гликопротеин F</li> <li>2. Гликопротеин HN, H, G</li> <li>3. Суперкапсид</li> <li>4. Матриксный белок</li> <li>5. Нуклеокапсид</li> <li>6. РНК</li> </ol>
<p><b>Диагностика гриппа с помощью выделения вируса на куриных эмбрионах*</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Забор материала: носоглоточное отделяемое в первые три дня болезни забирают с помощью тампонов. Тампоны прополаскивают в физрастворе, отжимают и утилизируют, а жидкость отстаивают на холоду и средний слой используют для исследования. Вирус можно концентрировать с помощью эритроцитов морской свинки. В любом случае перед заражением эмбрионов материал обрабатывают антибиотиками (по 500 ед пенициллина+стрептомицина/мл), выдерживают 1 час при комнатной температуре, проверяют на стерильность и используют для заражения.</li> <li>2. Заражение эмбриона</li> <li>3. Инкубация 3-4 дня при 35°С</li> <li>4. Вскрытие (см. занятие №2)</li> <li>5. Постановка реакции гемагглютинации для индикации вируса</li> <li>6. Идентификация вируса в реакции РТГА с набором диагностических сывороток (к эталонным штаммам вирусов соответствующих серологических типов).</li> </ol>	<p><b>Серодиагностика гриппа</b></p> <p>Для целей серодиагностики обычно применяют РСК и РТГА. При этом РСК выявляет антитела к серотипам вируса гриппа А, а РТГА позволяет дифференцировать штаммы вирусов в пределах определенного серотипа. Как РСК, так и РТГА ставят с набором типовых штаммов (со стандартным диагностикумом). Тем не менее, иногда требуется применение набора свежeweделенных штаммов. Реакцию ставят в несколько этапов:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Подготовка сывороток (разведение и удаление ингибирующих примесей: пропусканием CO<sub>2</sub>, обработкой каолином, нагревание и др.).</li> <li>2. Подготовка вирусного препарата (определение агглютининового титра)</li> <li>3. Постановка РТГА.</li> <li>4. Учет</li> </ol>
<p><b>Структура _____ вирусов.</b></p>  <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Суперкапсид</li> <li>2. Нуклеокапсид</li> <li>3. Гликопротеины</li> <li>4. РНК-полимераза</li> <li>5. Матриксный белок</li> </ol>	<p><b>Диагностика бешенства</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Материалом для исследования служит мозг животного, нанесшего укус, либо человека, погибшего от заболевания. Также можно использовать ткань слюнных желез. Для биологической пробы ткань мозга забирают стерильными инструментами в асептических условиях.</li> <li>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).             <ol style="list-style-type: none"> <li>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.</li> </ol> </li> </ol> <p>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;</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>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).</li> <li>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.</li> </ol>

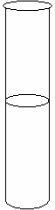
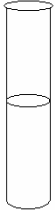
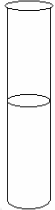
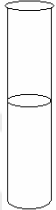
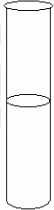
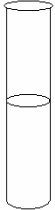








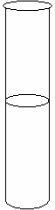
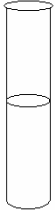
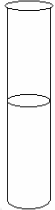
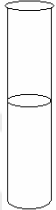
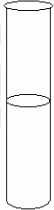
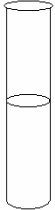








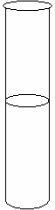
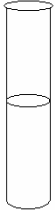
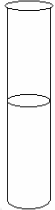
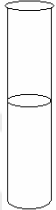
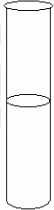
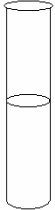








**Занятие № 9 (27).**

Дата \_\_\_\_\_ г.

**Тема: Методы вирусологической диагностики энтеровирусных заболеваний и вирусных гепатитов.**

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Пикорнавирусы. Общая характеристика, роль в патологии человека.                  Энтеровирусы. Общая характеристика, роль в патологии. Вирусы полиомиелита, коксаки и ЭКХО. Патогенез, иммунитет и специфическая профилактика полиомиелита.                  Стоматиты при заболеваниях, вызываемых РНК-овыми вирусами.                  Вирусы гепатитов А, В, С, D, E, F, G, систематическое положение, общая характеристика. Пути заражения. Патогенез, иммунитет, методы диагностики гепатита В. Профилактика вирусных гепатитов в стоматологической практике.</p>	<p><b>Источники:</b>                  1. Материал лекции.                  2. [2], [3] – (учебники),                  3. [1], [4] – (практикумы),                  4. [5], [6] – (доп. литература).</p>
---	---

**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты																																													
<p>1. Учесть реакцию нейтрализации в культуре клеток с парными сыворотками для серодиагностики полиомиелита (демонстрация).</p>	<table style="width: 100%; text-align: center;"> <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>КВ</td> <td>КК</td> </tr> <tr> <td>1 сыворотка (при поступлении)</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> </tr> <tr> <td>2 сыворотка (2 неделя болезни)</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td></td> <td colspan="8">                     Заключение: титр первой сыворотки равен _____                      титр второй сыворотки равен _____                 </td> </tr> </table>		1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	КС1	КВ	КК	1 сыворотка (при поступлении)															КС2			2 сыворотка (2 неделя болезни)										Заключение: титр первой сыворотки равен _____ титр второй сыворотки равен _____							
	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	КС1	КВ	КК																																						
1 сыворотка (при поступлении)																																														
						КС2																																								
2 сыворотка (2 неделя болезни)																																														
	Заключение: титр первой сыворотки равен _____ титр второй сыворотки равен _____																																													

1. Постановка ИФА для диагностики вирусного гепатита С.

		1	2
CORE	A	Отрицат. контроль	Сыворотка №1
NS <sub>3</sub>	B		
NS <sub>4</sub>	C		
NS <sub>5</sub>	D		
CORE	E		
NS <sub>3</sub>	F	Положит. контроль	Сыворотка №2
NS <sub>4</sub>	G		
NS <sub>5</sub>	H		

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

2. Схема постановки:

- а) антигены ВГС сорбированы в лунках стрипов следующим образом:  
 в рядах А, Е – core  
 в рядах В, F – NS3  
 в рядах С, G - NS4  
 в рядах D, H - NS5
- б) раскапать по 100 мкл контролей и образцов согласно карте постановки (см. ниже);  
 в) заклеить стрип клейкой лентой и инкубировать в термостате 1 час при 37 °С;  
 г) отмыть стрип 5 раз;  
 д) раскапать 100 мкл конъюгата в каждую лунку;  
 е) инкубировать в термостате 30 минут при 37 °С;  
 ж) промыть стрип 5 раз;  
 з) раскапать 100 мкл хромогена в каждую лунку;  
 и) инкубировать в термостате 30 минут при 37° С;  
 к) раскапать по 50 мкл стоп-раствора в каждую лунку;  
 л) учесть результаты на спектрофотометре;  
 м) рассчитать показатели и заполнить протокол исследований.

**Протокол учета ИФА для диагностики вирусного гепатита С**  
 ФИО лаборанта

Дата

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

1. Оценка верности постановки:

Среднее значение ОП отрицательного контроля < 0,2

Среднее ОП K<sup>-</sup> =

Среднее значение ОП положительного контроля > 0,8

Среднее ОП K<sup>+</sup> =

2. Расчет ОП критической для каждого антигена:

ОПкрит (core-Ag) = ОП K<sup>-</sup> (core) + 0,2 =

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

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

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

3. Расчет коэффициента позитивности для каждого антигена:

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

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

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

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

4. Интерпретация результатов:

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

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

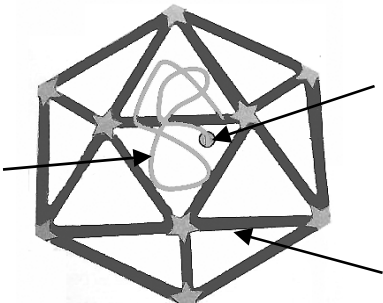
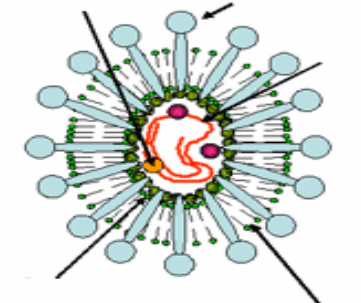
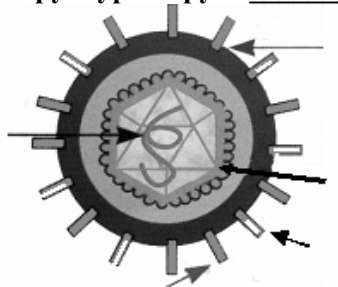
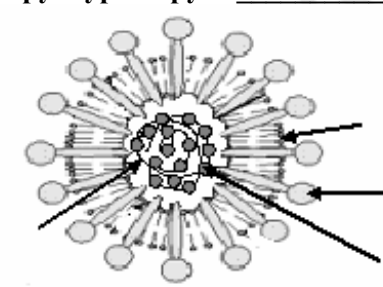
в) результат следует считать неопределенным, если КП больше 1 только для одного неструктурного белка.

Врач-лаборант

Подпись преподавателя

## Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 9 (27).

Впишите название вируса, обозначьте цифрами соответствующие структурные элементы вирионов

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

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

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

■ - В настоящее время методы не применяются

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

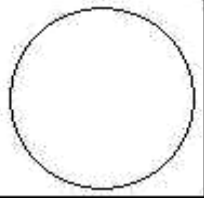
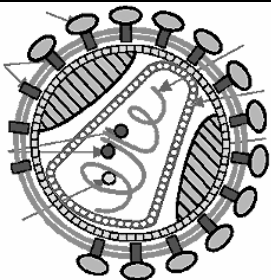
### Клинико-эпидемиологическое значение маркеров вирусов гепатитов А, В, С, D и E

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

**Тема: Методы вирусологической диагностики ВИЧ-инфекции, герпетических и аденовирусных заболеваний полости рта.**

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Ретровирусы. Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ), характеристика Патогенез, методы диагностики ВИЧ-инфекции. СПИД-ассоциированные заболевания. Проявления ВИЧ-инфекции в полости рта. Профилактика инфицирования.</p> <p>Герпесвирусы. Общая характеристика. Вирус простого герпеса. Герпетический стоматит, кератоконъюнктивит, поражения кожи лица. Вирус вариселла-зостер, вызываемые заболевания. Цитомегаловирусный паротит. Инфекционный мононуклеоз. Химиопрепараты.</p> <p>Аденовирусы, общая характеристика. Заболевания, патогенез. Диагностика аденовирусных инфекций.</p>	<p><b>Источники:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Материал лекции.</li> <li>2. [2], [3] – (учебники),</li> <li>3. [1], [4] – (практикумы),</li> <li>4. [5], [6] – (доп. литература).</li> </ol>
--	--

**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты	
<p><b>Зарисовать демонстрационный препарат:</b> ЦПД аденовирусов</p>	<p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p> 	<p><b>Структура вирусов.</b></p>  <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Капсид (p24)</li> <li>2. Нуклеокапсид (p6, 9)</li> <li>3. Матриксный белок (p17)</li> <li>4. Обратная транскриптаза (p55, 63)</li> <li>5. Интеграза (p11)</li> <li>6. gp120</li> <li>7. gp41</li> </ol>

**Вирусологическая диагностика герпетической инфекции**

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

- Мазки окрашивают по Романовскому-Гимзе или гематоксилином-эозином. Для герпетической инфекции характерно наличие в препаратах гигантских клеток с внутриядерными включениями.
- Мазки окрашивают антителами, меченными флуорохромами. Герпетический антиген выявляется в много- и одноядерных клетках, а также внеклеточно. Метод позволяет обнаружить герпетическую инфекцию в головном и спинном мозге и других тканях (печень) в летальных случаях.
- Выделение вируса проводят на :
  - 12-дневных куриных эмбрионах, различных культурах клеток, мышатах-сосунках, кроликах. Кроликов заражают на скарифицированную роговицу (развивается специфический кератоконъюнктивит) или в мозг (летальный энцефалит).
- Идентификацию вируса, выделенного на эмбрионах, культурах клеток или животных, проводят в РИФ или РН.

**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**

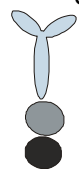
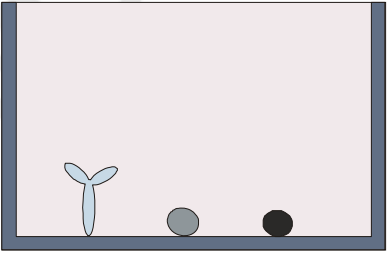

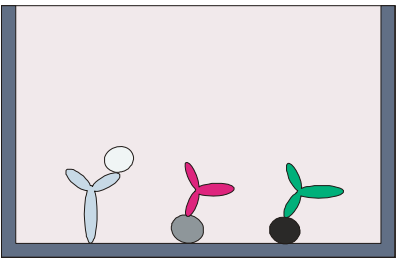
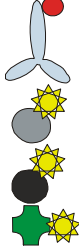
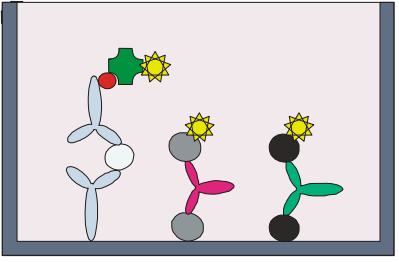
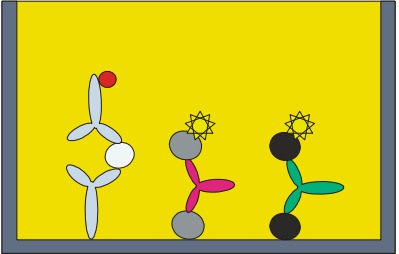
**А) Методы ранней диагностики:** микроскопия материала из очагов поражений, обнаружение вирусного антигена либо выделение вируса в культуре клеток.

- 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 и скопления округлившись клеток. Часто обнаруживаются внутриядерные эозинофильные включения. Выделенный вирус идентифицируют в РН или РИФ.

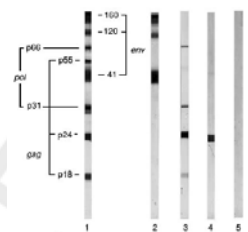
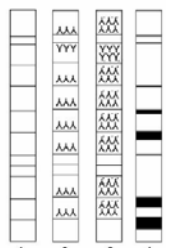
**Б) Методы ретроспективной диагностики:** антитела обнаруживают в реакции ИФА, РН или РСК в парных сыворотках.

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

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

<p><b>ИФА для скрининга ВИЧ-инфекции</b></p> <p>В настоящее время применяются тест-системы для ИФА четвертого поколения (рекомбинантные антигены, моноклональные антитела, одновременное определение антигенов ВИЧ (обычно p24) и антител против антигенов ВИЧ (поверхностных гликопротеинов))</p>	<p>Схема постановки ИФА для скрининга ВИЧ-инфекции</p> <p>5. В лунках 96-луночного планшета для серологических реакций сорбированы:</p>  <p>моноклональные антитела к p24, рекомбинантные эпитопы gp41, рекомбинантные эпитопы gp120</p>	
<p>Биотин и авидин (стрептавидин) – представляют собой пару рецептор-лиганд, характеризующуюся высокими аффинностью и специфичностью. Характер и размеры молекул позволяют эффективно использовать их для мечения антител/антигенов. Молекула авидина способна связать четыре молекулы биотина.</p>	<p>6. При добавлении сыворотки пациента происходит связывание p24 и антител против гликопротеинов ВИЧ на сорбированных лигандах</p>  <p>p24 антитела против гликопротеинов ВИЧ</p>	
	<p>7. При добавлении конъюгатов:</p>  <p>происходит фиксация их на иммунных комплексах, пропорциональная количеству выявляемых антител и антигена.</p>	
	<p>8. При добавлении субстрата происходит дозозависимая ферментация с образованием окрашенного продукта.</p>	

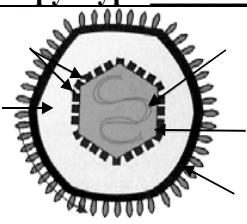
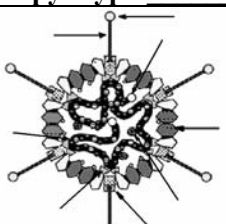
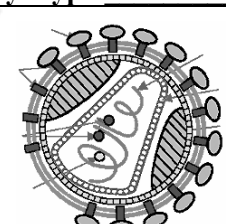
Диагностика ВИЧ-инфекции методом иммуноблоттинга



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

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

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

Структура	вирусов.	Структура	вирусов.	Структура	вирусов.
	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Суперкапсид</li> <li>2. Гликопротеины</li> <li>3. Икосаэдрический капсид</li> <li>4. Капсомеры</li> <li>5. Тегумент</li> <li>6. ДНК вируса</li> </ol>		<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Гексон</li> <li>2. Пентон</li> <li>3. Фибриллярная нить</li> <li>4. Головка</li> <li>5. Белок рVI</li> <li>6. ДНК</li> <li>7. Праймер рTr</li> <li>8. Протеаза р23</li> </ol>		<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Капсид (р24)</li> <li>2. Нуклеокапсид (р6, 9)</li> <li>3. Матриксный белок (р17)</li> <li>4. Обратная транскриптаза (р55, 63)</li> <li>5. Интеграза (р11)</li> <li>6. gp120</li> <li>7. gp41</li> </ol>

**Вирусологическая диагностика герпетической инфекции**

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

- Мазки окрашивают по Романовскому-Гимзе или гематоксилином-эозином. Для герпетической инфекции характерно наличие в препаратах гигантских клеток с внутриядерными включениями.
- Мазки окрашивают антителами, мечеными флуорохромами. Герпетический антиген выявляется в много- и одноядерных клетках, а также внеклеточно. Метод позволяет обнаружить герпетическую инфекцию в головном и спинном мозге и других тканях (печень) в летальных случаях.
- Выделение вируса проводят на
  - 12-дневных куриных эмбрионах. Заражают на хорион-алантоисную оболочку, инкубируют 48 часов при 37 С. При вскрытии эмбриона на оболочке обнаруживаются макроскопически видимые «оспины». В мазках отпечатках из очагов поражений обнаруживаются одно- и многоядерные клетки с внутриядерными включениями;
  - различных культурах клеток. Типичное ЦПД включает образование многоядерных синцитиальных клеток с ядерными включениями и круглоклеточная дегенерация с образованием клеточных конгломератов;
  - мышатах-сосунках. Заражают внутрибрюшинно или в мозг. Заболевание развивается через 3-4 дня и приводит к гибели животных;
  - кроликах. Кроликов заражают на скарифицированную роговицу (развивается специфический кератоконъюнктивит) или в мозг (летальный энцефалит).
  - Идентификацию вируса, выделенного на эмбрионах, культурах клеток или животных, проводят в РИФ или РН.

**Б) методы ретроспективной диагностики**

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



### Вирусологическая диагностика ВЭБ-инфекции

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

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

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

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

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

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

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

### Характеристика антител против антигенов ВЭБ

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

### Вирусологическая диагностика аденовирусной инфекции.

1. Материалом служат смывы и соскобы (назофарингеальный, конъюнктивальный и др), фекалии, моча, биопсийный и аутопсийный материал.

2. Ранние методы диагностики включают обнаружение антигенов или ДНК вируса в материале больного или экспресс методы выделения и идентификации вируса:

- обнаружить и идентифицировать вирус можно в РИФ, ИФА или РСК. Антигены аденовирусов выявляются в цитоплазме и ядре пораженной клетки.
- выделить вирус можно в различных культурах клеток, однако лучше использовать эпителиальные клетки (НЕК, HELA, А-549). Характерное ЦПД:
  - мелкоклеточная дегенерация с образованием конгломератов клеток по типу виноградных гроздьев;
  - образование отдельных мелких круглых клеток по всей культуре;
  - образование цитоплазматических и внутриядерных включений;
  - появление зернистости, вакуолей, изменением ядер (пикноз, распад);
- вирус идентифицируют (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: Стоматологическая микробиология. Методы изучения нормальной микрофлоры полости рта.**

**Перечень изучаемых вопросов:** стоматологическая микробиология, цели и задачи.

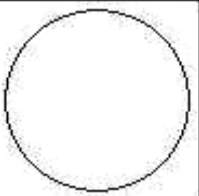
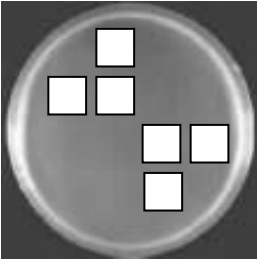
Нормальная микрофлора полости рта, характеристика. Онтогенез нормальной микрофлоры. Влияние генетических и негенетических факторов на состав микрофлоры полости рта (регулирующая роль слюны, зубов, мягких тканей, контакта с чужеродными микроорганизмами, диеты, гигиены полости рта). Значение нормальной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

Дисбактериоз полости рта, причины, методы диагностики.

**Источники:**

1. Материал лекции.
2. [3] – (учебники),
3. [1], [4] – (практикумы),
4. [5], [9] – (доп. литература).

**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты
<p>1. Приготовить мазок из зубного налета, окрасить по Граму, зарисовать.</p>	<div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="margin-right: 20px;"> <p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p> </div>  </div>
<p>2. Провести посев нормальной микрофлоры полости рта.</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>2. Открыть пробирку со стерильным физ. раствором, обжечь край на спиртовке, вылить физ. раствор в чашку Петри со стерильными квадратиками фильтровальной бумаги и увлажнить их.</li> <li>3. Фламбировать пинцет (не прокалывать!).</li> <li>4. Стерильным пинцетом поместить кусочек бумаги на исследуемую поверхность кожи, слизистой и др. на 30 секунд;</li> <li>5. Поместить бумагу на поверхность кровяного агара (отпечаток) той же стороной на 1 минуту;</li> <li>6. Бумагу удалить.</li> <li>7. Чашки с отпечатками инкубировать при 37°C, 24-48 час.</li> </ol> 
<p>3. Провести посев микрофлоры полости рта и кожи предплечья на дисбактериоз.</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Выполнить пп. 1, 2 задания 2.</li> <li>2. Стерильным пинцетом поместить кусочек бумаги на поверхность кожи предплечья на 30 секунд;</li> <li>3. Поместить бумагу на поверхность среды Эндо (отпечаток) той же стороной на 1 минуту;</li> <li>4. Выполнить пп. 5, 6 задания 2.</li> </ol> <p>Аналогично провести посев слюны.</p>

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

**Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 11 (29).**

**Представители аутохтонной микрофлоры полости рта (подчеркните роды облигатных анаэробов)**

Грам+ кокки	Грам- кокки	Грам+ палочки	Грам- палочки	Извитые формы	Другие м/о
<i>Streptococcus</i> <i>Peptococcus</i> <i>Staphylococcus</i>	<i>Veilonella</i> <i>Neisseria</i> <i>Branchamella</i>	<i>Lactobacillus</i> <i>Propionibacterium</i> <i>Actinomyces</i> <i>Corynebacterium</i> <i>Bifidobacterium</i>	<i>Bacteroides</i> <i>Fusobacterium</i> <i>Leptotrichia</i> <i>Prevotella</i> <i>Porphyromonas</i> <i>Mitsuokella</i> <i>Moraxella</i> <i>Haemophilus</i>	<i>Vibrio</i> <i>Treponema</i> <i>Borrelia</i> <i>Leptospira</i> <i>Campylobacter</i> <i>Volinella</i> <i>Centipeda</i> <i>Selenomonas</i>	<i>Candida</i> Плесневые грибы <i>Mycoplasma</i> <i>Entamoeba</i> <i>Trichomonas</i>

**Определите свойства оральных стрептококков**

Характеристика	<i>S. mutans</i>	<i>S. sanguis</i>	<i>S. mitis</i>	<i>S. milleri</i>	<i>S. salivarius</i>
Вид гемолиза ( $\alpha$ , $\beta$ , $\gamma$ )					
Расположение (по одиночке, парами, цепочками, кучками)					
Способность к разложению углеводов с образованием молочной к-ты					
Наличие группового полисахаридного антигена					
Тип дыхания (аэробы, факультативные или облигатные анаэробы)					
Способность синтезировать глюкан (декстран)					

**Значение нормальной микрофлоры полости рта**

**Положительная роль:**

1. Она является биологическим барьером для целого ряда патогенных микроорганизмов за счет продукции....., выделения....., конкуренции за....., препятствует адгезии патогенности микроорганизмов к эпителию, т.к. ....
2. Она играет иммунизаторную роль, так как антигены микроорганизмов, проникая в слизистую, .....
3. Представители нормальной микрофлоры слюны принимают участие в образовании витамина .....и обмене .....
4. Ферменты некоторых микроорганизмов слюны принимают участие в .....и ..... токсинов.
5. Она осуществляет ..... полости рта.

**Отрицательная роль:**

1. Почти все воспалительные процессы полости рта носят .....характер.
  2. Заболевания зубов и окружающих их тканей вызываются .....
  3. Травмы и хирургические вмешательства в полости рта лишены .....
  4. При снижении естественной резистентности микроорганизмы полости рта могут вызывать .....
- В полости рта может возникать состояние дисбактериоза под влиянием .....

### Изучение микрофлоры зубного налета

На предметное стекло наносится капля физиологического раствора. В эту каплю помещаем зубной налет (для этого его собираем петлей или спичкой без головки у коня зубов), размешиваем, делаем мазок и окрашиваем по Граму. В соответствии с таблицей по микрофлоре зубного налета найти основных представителей его и зарисовать в альбоме.

#### Методы изучения нормальной микрофлоры

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

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

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

#### **Основные принципы бактериологического исследования нормальной микрофлоры:**

а) использование качественной (видовой состав) и количественной (количественное соотношение разных видов) оценки микрофлоры; б) первичный посев материала без предварительного обогащения, так как обогащение нарушает количественные соотношения видов; в) использование большого набора различных питательных сред, подбор условий культивирования (аэробные, анаэробные, атмосфера  $CO_2$  и т.д.).

#### Методы взятия материала для исследования:

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

### Микробиологическая диагностика дисбактериоза

Диагноз дисбактериоза полости рта и ротоглотки устанавливается повторным (с интервалом в 5-7 дней) бактериологическим исследованием с использованием методик количественного определения видов и вариантов микроорганизмов, входящих в состав микробиоценоза.

Для этих целей исследуемая слюна, слизь из задней стенки глотки после обработки (гомогенизация) взвешивают в стерильном физиологическом растворе и приготавливают разведения  $10^{-2}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-6}$ . Для получения сосчитываемого числа колоний (КОЕ) по 0,05 мл каждого разведения наносят на сектора чашек с элективными средами: Левина (для энтеробактерий), бромтимоловой МПА (для *K. pneumoniae*), желчно-кровяной МПА (для энтерококков), кровяной МПА (для стрептококков и гемолитических штаммов бактерий и кокков), МПА с фурагином (для *P. aeruginosa*), МРС-2 (для лактобацилл), Блаурокка (для бифидобактерий), КАБ (для бактериоидов), Сабуро (для грибов). После инкубации в термостате отдельно подсчитывают на средах колонии фоновых и нехарактерных для данного биотопа микроорганизмов и отсеивают их для дальнейшей идентификации. Затем производят перерасчет изучаемых видов на 1 г исследуемого материала, для чего учитывают степень разведения материала и величину посевной дозы (число КОЕ/г = количество колоний  $\times 20 \times$  фактор разведения). Результаты исследований сопоставляют с данными о нормальном составе микрофлоры биотопа с учетом возраста исследуемого человека. Диагноз дисбактериоза выставляется, основываясь на следующих данных: на фоне снижения, количества негемолитических и  $\alpha$ -гемолитических стрептококков, лактобацилл и других грамположительных палочек появляются бактерии фекального происхождения (условно-патогенные энтеробактерии и энтерококки), *P. aeruginosa* (в количествах  $10^4$  и больше).

**Тема: Стоматологическая микробиология. Методы изучения факторов иммунитета полости рта.**

**Перечень изучаемых вопросов:** Иммунные и неиммунные механизмы в полости рта (естественные и приобретенные). Защитные механизмы слюны, слизистых оболочек полости рта, эмали, дентина и пульпы зубов. Значение фагоцитоза. Иммуноглобулины полости рта. Секреторный иммуноглобулин А.  
Клеточный иммунитет. Механизмы антибактериального и противовирусного иммунитета в полости рта.

**Источники:**  
1. Материал лекции.  
2. [3] – (учебники),  
3. [1], [4] – (практикумы),  
4. [5], [9] – (доп. литература).

**Лабораторная работа**

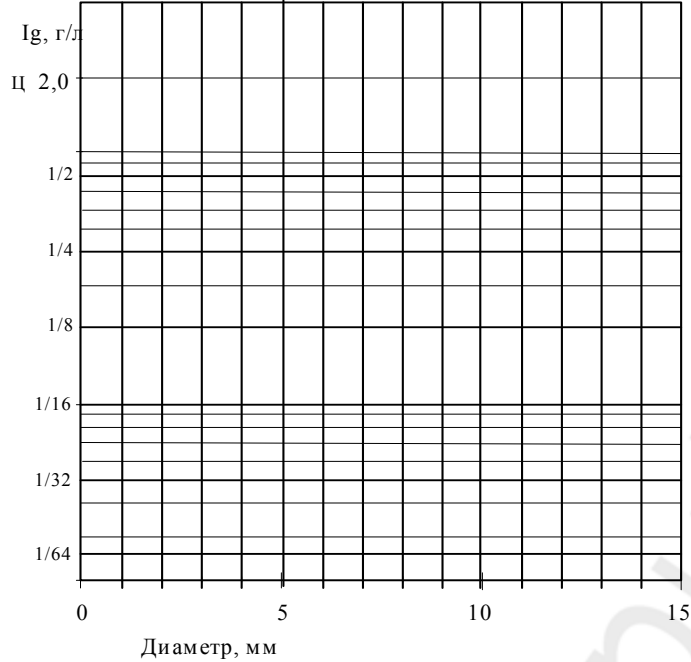
Задание	Методы, результаты
<p>1. Определить содержания лизоцима в слюне</p>	<p>1. Отобрать 1-1,5 мл слюны в пробирку. 2. Промаркировать готовую чашку Петри с лунками, засеянную <i>M. lysodeicticus</i>, согласно схеме. 3. Внести в лунки по 1 капле соответствующих разведений лизоцима (от меньшей концентрации к большей). 4. В центральную лунку внести 1 каплю исследуемой слюны.</p> <div style="display: flex; align-items: center; justify-content: center;"> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-right: 20px;"> <p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p> </div> <div style="text-align: center;">  </div> <div style="margin-left: 20px;">  </div> </div>
<p>2. Провести учет посевов нормальной микрофлоры полости рта и посевов для выявления дисбактериоза.</p>	<p style="text-align: center;"><b>Изучение состава микрофлоры кожи лица, слизистой полости рта, языка</b></p> <p>Определяется массивность роста бактерий (+ единичные колонии, ++ обильный рост, но колонии не сливаются, +++ сливной рост колоний). Из колоний, различающихся по форме, цвету, поверхности, гемолитической активности, делаются мазки с окраской по Граму и зарисовываются в альбом.</p> <p style="text-align: center;"><b>Диагностика состояния дисбактериоза</b></p> <p>Изучается рост на среде Эндо с посевами отпечатков с кожи внутренней стороны предплечья и слюны. В случае обнаружения роста малиново-красных с металлическим блеском колоний, в которых при окраске по Граму видны грамтрицательные палочки, подтверждается наличие состояния дисбактериоза.</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-right: 20px;"> <p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p> </div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> <p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p> </div> </div>

3. Определить содержание секреторных иммуноглобулинов А класса в слюне методом простой радиальной иммунодиффузии в геле по Манчини (учет результатов).

Стандарт sIgA = 2,0 г/л

**Демонстрация:**

- а) определение секреторного иммуноглобулина А слюны;
- б) метод определения лизоцима в слюне.



**Построение калибровочного графика по стандарту сыворотки**

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

N sIgA \_\_\_\_\_ г/л

Заключение: \_\_\_\_\_

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

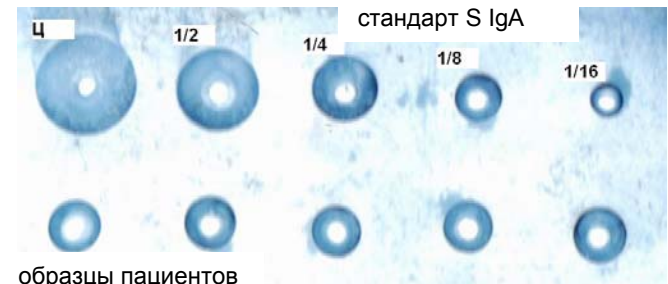
**Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 12 (30).**

**Определение количественного содержания секреторных иммуноглобулинов А (S Ig A) в слюне.**

1. **Принцип.** Простая радиальная иммунодиффузия выполняется на стеклянных пластинах с агаровым гелем, содержащим антисыворотку к секреторному иммуноглобулину А. Секреторный иммуноглобулин А (антиген) диффундирует из лунок в слое агарового геля, где взаимодействуют с антителами, в результате образуется округлая зона преципитата (рис.1), диаметр которого пропорционален концентрации белка.

2. **Материалы:** а) стеклянная пластинка с результатами определения S IgA в слюне, б) линейка для измерения диаметра колец преципитации, в) бумага в клеточку для построения калибровочного графика.

3. **Учет результатов:** а) измерение диаметров зон преципитации разведения стандартной пробы (цельная, 1/2, 1/4, 1/8) (рис.1) с помощью специальной линейки, б) измерение зон преципитации опытных проб, в) построение на основании диаметра зон преципитации стандартной пробы калибровочного графика (рис. 2), г) определение по графику количественного содержания секреторный иммуноглобулинов А в опытных пробах слюны. В цельном стандарте содержание S Ig A – 2 г/л. У человека в норме содержится в слюне 0,33 – 0,39 г/л S Ig A.



**Лизоцим** - низкомолекулярный белок, который синтезируется клетками системы полиморфноядерных лейкоцитов и моноцитарных фагоцитов. Находится в аурофильных и специфических гранулах фагоцитов, в биологических жидкостях (крови, лимфе, слюне, слезах) и тканях (легкого, печени и др.). Это белок-фермент, лизирующий клеточные стенки грамположительных бактерий в связи со специфическим расщеплением 1-4 связи ацетилмурамовой кислоты пептидогликана. Действие лизоцима определяют по отношению к тест-культуре грамположительного микроба *Micrococcus lysodeicticus*. Последний смешивают с расплавленным и охлажденным агаром, смесь выливают в чашки Петри. После застывания в слое агара выбивают лунки, которые заполняют стандартными пробами разведений лизоцима (50 – 25 – 12,5 – 6,25 мкг/мл) и исследуемой биологической жидкостью. Лизоцим, диффундируя из лунок, вызывает радиальный лизис культуры вокруг лунки. Активность лизоцима определяют по калибровочному графику в зависимости от квадрата диаметра зон бактериолиза. Среднее содержание лизоцима в слюне – 25 мкг в 1мл.

**β- лизины** – низкомолекулярные белки, нарушающие целостность цитоплазматической мембраны бактерий. Они входят в состав бактериальных белков сыворотки крови.

Определение активности β- лизина проводится также как и лизоцима, только в качестве тест-микроба используется *Bacillus subtilis*.

**Дайте характеристику защитным механизмам слюны**

<b>Функция</b>	<b>Защитный механизм</b>
1. Минерализация	
2. Механическое удаление м/о	
3. Дезинтоксикационная	
4. Антимикробные факторы слюны:	
а) лизоцим	
б) β-лизины	
в) лактопероксидаза	
г) лактоферрин	
д) сиалин	
е) комплемент	
ж) интерферон	
з) ингибиторы вирусов	
5. Агрегирующая способность	
6. Снижение вирулентности бактерий	
7. Обызвествление микробов	
8. Ферменты слюны	
9. Фагоциты	

**Дайте характеристику защитным механизмам слизистых оболочек**

1. Чем обусловлена барьерная функция	
2. Механизм удаления м/о	
3. Фагоцитоз	

**Дайте характеристику защитным механизмам десневой жидкости (фагоциты, комплемент)**

**Дайте характеристику защитным механизмам эмали зуба**

**Тема: Клиническая стоматологическая микробиология.**

**Методы исследования микрофлоры при заболеваниях зубов и мягких тканей полости рта. Этиология и патогенез кариеса.**

**Перечень изучаемых вопросов:** Клиническая стоматологическая микробиология: определение, цели, задачи. Условно-патогенные микробы (УПМ). Особенности эпидемиологии, патогенеза, диагностики заболеваний, вызываемых УПМ. Критерии этиологической значимости.  
 Этиология кариеса. Этиологическое значение микроорганизмов. *Streptococcus mutans*, свойства. Вспомогательные микроорганизмы. Патогенез. Условия, способствующие развитию кариеса. Профилактика и терапия кариеса. Правила и методы взятия материала для исследования кариесогенной микрофлоры. Критерии оценки этиологической роли.

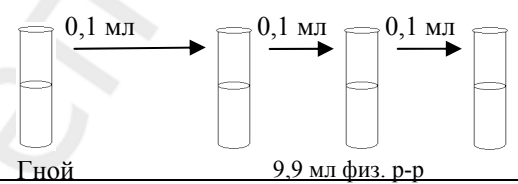
- Источники:**
1. Материал лекции.
  2. [3] – (учебники),
  3. [1], [4] – (практикумы),
  4. [5], [9] – (доп. литература).

**Лабораторная работа**

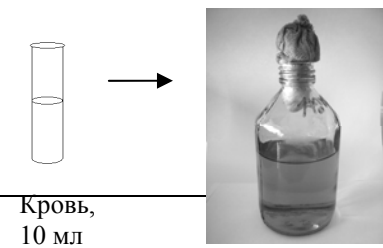
Задание	Методы, результаты											
1. Учесть опыт определения содержания лизоцима в слюне.		<table border="1"> <thead> <tr> <th>Стандарты лизоцима, мкг/мл</th> <th>Диаметр зон задержки роста, мм</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>6,25</td> <td></td> </tr> <tr> <td>12,5</td> <td></td> </tr> <tr> <td>25</td> <td></td> </tr> <tr> <td>50</td> <td></td> </tr> </tbody> </table> <p>Заключение: содержание лизоцима в слюне пациента составляет _____</p>	Стандарты лизоцима, мкг/мл	Диаметр зон задержки роста, мм	6,25		12,5		25		50	
Стандарты лизоцима, мкг/мл	Диаметр зон задержки роста, мм											
6,25												
12,5												
25												
50												

2. Провести I этап исследования гноя больного с абсцессом подкожной клетчатки челюстно-лицевой области:  
 а) приготовить мазок с окраской по Граму, микроскопировать;  
 б) провести количественный посев на различные питательные среды.

**Исследование гноя (I этап)**



**Исследование крови (I этап)**



Сахарный бульон, (среда обогащения), 37°С



	<p>Посев на сектора по 0,05 мл (1 капля)</p> <p>ЖСА      Левина      МПА с цетримидом</p>			
<p>3. Провести исследование крови больного стоматогенным сепсисом: а) посев на среду обогащения (сахарный бульон).</p> <p><b>Демонстрация:</b> Методы взятия материалов.</p>	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 60%;"> <b>Препарат</b> _____          _____          _____       </td> <td rowspan="2" style="text-align: center; vertical-align: middle;"> </td> </tr> <tr> <td> <b>Окраска</b> _____          _____          _____       </td> </tr> </table>	<b>Препарат</b> _____ _____ _____		<b>Окраска</b> _____ _____ _____
<b>Препарат</b> _____ _____ _____				
<b>Окраска</b> _____ _____ _____				

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

**Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 13 (31).**

<b>Микроэлементы:</b>	
Сильные кариостатики	
Средние	
Кариесогенные	
<b>Перечислите представителей этиологически значимых микроорганизмов при кариесе и эффект их действия.</b>	
I группа	
II группа	
<b>Перечислите три условия развития кариеса:</b>	
1.	
2.	
3.	
<b>Перечислите препараты фтора для профилактики кариеса</b>	

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ МИКРОФЛОРЫ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ЗУБОВ И ТКАНЕЙ ПОЛОСТИ РТА

### Общие принципы забора, хранения и транспортировки материала:

1. Материал брать возможно раньше
  - до начала лечения ,
  - стерильно,
  - из очага: при заболеваниях полости рта инфекция эндогенная, поэтому брать материал необходимо непосредственно из очага (гингивит – из зубодесневого кармана, кариес – из кариозной полости, периодонтит – из гранулемы патологического зубодесневого кармана, периостит, остеомиелит – гной).
2. Предотвращение контаминации другой микрофлорой. С этой целью необходимо прополоскать рот стерильным физ. раствором, обложить очаг стерильными тампонами.
3. Хранение и транспортировка материала нецелесообразны. Лучше проводить исследование сразу, т.к. нет специальных сред для подавления сопутствующей микрофлоры, а при хранении материала может наступить подавление патологической микрофлоры сапрофитами.
4. Предварительная обработка материала:
  - при заборе ткани – механическое удаление, обмывание, гомогенизация;
  - если слюна – фракционирование (центрифугирование в течение 15 мин. при 2000 об/мин) и исследование осадка.

### Методы забора материала

1. **Аппликационный** – определение числа микробов на площади 1 см<sup>2</sup> - материал берут из зубных бляшек, зубодесневых карманов, кариозных полостей плотной бумажной салфеткой.
2. **Метод микрокапилляров** – насасывание жидкости из зубодесневых карманов (или после введения в карман стеклянного шарика) и из протоков слюнных желез.

**3. Метод тампонов** – при дренировании глубоких полостей.

**4. Кюретаж** – при заборе материала из зубной бляшки, кариозных полостей.

При одонтогенном воспалении (см. метод. рекомендации по клинической микробиологии):

- флегмоны и абсцессы челюстно-лицевой области – забирают гной;
- бактериемия очень кратковременная, бывает при любой операции на зубах, у ослабленных людей может перейти в длительную и в сепсис – забирают кровь;
- поражение бронхо-легочной системы (при бронхоскопии микрофлора полости рта вносится в дыхательные пути, могут развиваться фузоспирохетозные поражения легких, бактероиды способны вызывать гангрену легкого) – забирают мокроту;
- поражения почек – забирают мочу.

### Критерии оценки:

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

**Тема: Клиническая стоматологическая микробиология.**

**Методы исследования микрофлоры при заболеваниях зубов и мягких тканей полости рта (продолжение).**

<p><b>Перечень изучаемых вопросов:</b> Воспалительные заболевания челюстно-лицевой области одонтогенной и неодонтогенной природы, патогенез, типы одонтогенного воспаления. Роль микроорганизмов в возникновении острого и хронического пульпита.</p> <p>Пути попадания микроорганизмов в периодонт. Апикальный периодонтит, периостит и неспецифические остеомиелиты. Роль микроорганизмов, патогенез, профилактика и терапия. Правила и методы взятия материала для исследования при пульпите, периодонтите, периостите, остеомиелите и стоматите. Критерии оценки этиологической роли.</p> <p>Заболевания периодонта дистрофическо-воспалительной (гингивит, маргинальный периодонтит) и дистрофической (ювенильный пародонтоз) природы, патогенез поражений. Иммунные механизмы. Профилактика и терапия.</p> <p>Специфические стоматиты, вызываемые облигатно-патогенными микроорганизмами. Неспецифические бактериальные стоматиты, роль микробного фактора при них. Условия возникновения.</p> <p>Вирусные стоматиты, грибковые стоматиты. Рецидивирующий афтозный стоматит.</p>	<p><b>Источники:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Материал лекции.</li> <li>2. [3] – (учебники),</li> <li>3. [1], [4] – (практикумы),</li> <li>4. [5], [9] – (доп. литература).</li> </ol>
--	---

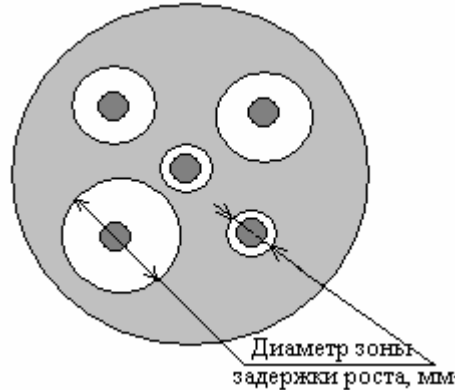
**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты
<p>1. Провести 2-ой этап исследования гноя больного с абсцессом подкожной клетчатки челюстно-лицевой области:</p> <p>а) изучить колонии микроорганизмов на питательных средах;</p> <p>б) провести количественный учет роста микроорганизмов;</p> <p>в) провести идентификацию выделенной культуры.</p>	<p style="text-align: center;"><b>Исследование гноя (II этап)</b></p> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;"> <p>ЖСА      Левина      МПА с цетримидом</p> </div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-left: 20px;"> <p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p> </div> </div> <p>Характеристика колоний: _____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>Расчет количества бактерий в 1 мл материала:  <math>N \text{ (КОЕ/мл)} = n \times 20 \times 10^x</math>, где:          n – кол-во колоний на секторе,          20 – коэф. перерасчета на 1 мл,  <math>10^x</math> – степень разведения материала.</p> <p>N = _____ КОЕ/мл</p> <p>Заключение: _____</p> <div style="margin-top: 20px;"> <p style="text-align: center;">Парафенилендиамин</p> <p style="text-align: center;">Тест на оксидазу</p> </div>

2. Определить чувствительность к антибиотикам методом бумажных дисков.

**Антибиотикограмма:**

Антибиотик	Диаметр зоны, мм	Интерпретация результата



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

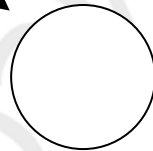
Антибиотик	Диаметр зон ингибиции роста (мм)		
	устойчивый	умеренно-устойчивый	чувствительный
<b>Staphylococcus spp.:</b>			
Бензилпенициллин	≤28	-	≥29
Оксациллин			
• S. aureus	≤10	11-12	≥13
• КОС	≤17	-	≥18
Гентамицин	≤12	13-14	≥15
Ципрофлоксацин	≤15	16-20	≥21
Тетрациклин	≤14	15-18	≥19
Эритромицин	≤13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

3. Провести второй этап исследования крови больного стоматогенным сепсисом:  
 а) приготовить мазок с окраской по Граму;  
 б) провести посев на ЖСА и КА для выделения чистой культуры.

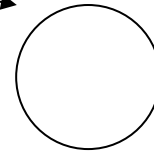
**Исследование крови (II этап)**



Сахарный бульон



Кровяной агар 37°C



ЖСА

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

**Демонстрация:**  
 Количественный посев синегнойной палочки на цетримидном агаре.

**Дополнительные материалы и самостоятельная работа к занятию № 14 (32).**

**Наиболее значимые (преобладающие) микроорганизмы при следующих типах одонтогенного воспаления.**

Микроорганизм	Тип воспаления				
	Эксудативное			Альтеративное	Пролиферативное
	серозное	гнойное	гнилостное		
α-гемолитические стрептококки	+	+			+
γ-гемолитические стрептококки	+	+			+
Энтерококки	+				+
Лактобациллы	+	+		+	
Золотистый стафилококк		+		+	+
β-гемолитические стрептококки группы F и G		+		+	
Пептострептококки			+	+	+
Вейонеллы		+	+	+	+
Бактероиды			+	+	+
Протей			+	+	
Клостридии			+	+	
Фузобактерии					+
Спирохеты				+	+
Вибрионы				+	+
Коринебактерии		+			
Кандиды		+			

#### Различия периодонтитов и рецессии зубов

Признаки	Формы		
	Дистрофически-воспалительная форма	Дистрофическая форма	Рецессия десны
Инфекционная этиология	+	-	-
Наличие воспаления	+	-	-
Гноетечение	+	-	-
Наличие патологического зубодесневого кармана	+	-	-
Рецессия десны	+	+	+анатомическая,
Дистрофия периодонта и костной ткани	+	+	возрастная, симптоматическая
Миграция зубов	+	+	-

#### Одонтогенное воспаление.

Кариозная полость	Гингивит
Пульпит	образование патологического десневого кармана
Апикальный периодонтит	маргинальный периодонтит
	периостит челюсти
	остеомиелит челюсти
	околочелюстные абсцессы и флегмоны

#### Дайте характеристику следующих типов одонтогенного воспаления

1. Экссудативное	
2. Альтернативное	
3. Пролиферативное	

Подпись преподавателя

**Занятие № 15 (33).**

Дата \_\_\_\_\_ г.

**Тема: Клиническая микробиология. Микробиологическая диагностика оппортунистических гнойно-септических инфекций, бронхолёгочных заболеваний и уриинфекций. Внутрибольничные инфекции в стоматологической практике.**

**Перечень изучаемых вопросов:** характеристика стоматогенных заболеваний. Гнойно-воспалительные стоматогенные заболевания мягких тканей и костей челюстно-лицевой области. Возбудители, патогенез, методы диагностики. Материал для исследования, правила и методы взятия. Методы микробиологической диагностики. Схема бактериологического исследования гноя. Критерии оценки этиологической роли выделенных микробов.

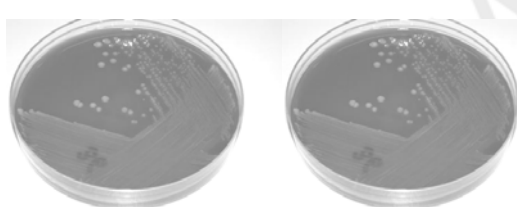

Клинические формы и этиология неспецифических инфекций бронхов и лёгких. Методы микробиологической диагностики.

Клинические формы и этиология инфекций мочевыделительной системы. Методы микробиологической диагностики. Определение чувствительности к антибиотикам.

Стоматогенный сепсис. Возбудители. Методы диагностики. Схема бактериологического исследования крови. Правила взятия крови.

- Источники:**
1. Материал лекции.
  2. [3] – (учебники),
  3. [1], [4] – (практикумы),
  4. [5], [9] – (доп. литература).

**Лабораторная работа**

Задание	Методы, результаты
1. Окончание исследования крови и промывных вод бронхов.	<p style="text-align: center;"><b>Исследование крови (III этап)</b></p> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: flex-start;"> <div style="text-align: center;">  <p>Кровяной агар      ЖСА</p> </div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: 200px;"> <p><b>Препарат</b> _____</p> <p>_____</p> <p><b>Окраска</b> _____</p> <p>_____</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>Тест на плазмокоагулазу</p> <p>Цитратная кроличья плазма: 37°C – 2, 4, 24 часа (коагуляция)</p> </div> </div> <p>Характеристика колоний:</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p><b>Заключение:</b> _____</p>

Подпись преподавателя \_\_\_\_\_

**Дополнительные материалы к занятию № 15 (33).**

**ХАРАКТЕРИСТИКА СТОМАТОГЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**

Клинические формы	Этиология	Условия
Бактериемия	Нормальная микрофлора полости рта	Экстракция зуба Периодонтит
Сепсис	Энтерококки	Те же + нарушение иммунного статуса

	Пиогенные стрептококки групп А, В, F, H Пневмонийные стрептококки Кишечная палочка. Бактероиды, Фузобактерии, Вейлонеллы	
<b>Бактериальный шок</b>	Липополисахариды грам- отрицательных бактерий Альфа-токсин стафилококков Лецитиназа клостридий	Вскрытие очага хронической инфекции Переливание инфицированной крови
<b>Эндокардит</b>	Стрептококки сангвис Стрептококки митис Энтерококки Кандиды Стафилококки патогенные Бактероиды Псевдомонас аэругиноза Клебсиелла пневмонии	Снижение иммунитета на фоне антибактериальной терапии Алкоголизм Норкомания Длительное лечение антибиотиками
<b>Аспирационные бронхопневмонии</b>	Спиросеты Порфиромоносы Анаэробные стрептококки Фузобактерии Пропионибактерии Бактероиды Вейлонеллы Кишечные палочки Псевдомонас аэругиноза Превотеллы	Периодонтит Иммунодефицит Нарушение глотания Фузоспирохеты
<b>Заболевания слюнных желез</b>	Нормальная микрофлора полости рта Вирус эпидемического паротита Цитомегаловирус Трепонема паллидум Микобактерии туберкулезис и бовис	Нарушение оттока слюны Лекарственное обезвоживание
<b>Хейлиты</b>	Кандида альбиканс Стафилококки патогенные	Иммунодефицит Авитаминоз В <sub>2</sub> Носительство патогенного стафилококка в полости носа и полости рта

**Тема: Итоговое занятие по темам: «Общая и частная медицинская вирусология», «Микробиология и иммунология полости рта»**

- |  |   |
|--|---|
| <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Вирусология, задачи, методы. Систематическое положение и классификация вирусов.</li> <li>2. Формы существования вирусов. Морфология вирионов. Взаимодействие вирусов с восприимчивой клеткой.</li> <li>3. Особенности инфекции и иммунитета при вирусных заболеваниях.</li> <li>4. Методы культивирования вирусов (на культурах клеток, на куриных эмбрионах, на лабораторных животных).</li> <li>5. Общие принципы диагностики вирусных инфекций.</li> <li>6. Вирусы гриппа, характеристика. Патогенез, диагностика, принципы терапии и профилактики гриппа и его осложнений. Проявления гриппа в полости рта.</li> <li>7. Парамиксовирусы, характеристика. Вирусы кори, эпидемического паротита, парагриппа, пневмовирус. Проявления в полости рта.</li> <li>8. Энтеровирусы, характеристика, роль в патологии человека. Вирус полиомиелита, патогенез, специфическая профилактика. Проявления энтеровирусных инфекций в полости рта.</li> <li>9. Этиология вирусных гепатитов. Характеристика вирусов гепатита А, В, С. Патогенез и иммунитет, серологическая диагностика. Профилактика.</li> <li>10. Ретровирусы. Вирусы иммунодефицита человека (ВИЧ – 1, ВИЧ – 2), характеристика. СПИД – ассоциированные заболевания, в том числе в стоматологии. Диагностика и профилактика инфицирования.</li> <li>11. Аденовирусы, характеристика, патогенез, диагностика. Проявления в полости рта.</li> <li>12. Вирусы герпеса, характеристика, заболевания. Герпетический стоматит.</li> <li>13. Бактериофаги, строение, характеристика. Практическое использование.</li> <li>14. Стоматологическая микробиология, цели и задачи.</li> <li>15. Клиническая микробиология. Условно-патогенные микроорганизмы. особенности этиологии, патогенеза и диагностики заболеваний.</li> <li>16. Представители нормальной микрофлоры полости рта: грамположительные и грамотрицательные палочки и кокки, их роль.</li> <li>17. Представители нормальной микрофлоры полости рта: извитые формы бактерий, микоплазмы, простейшие, грибы, вирусы, их роль.</li> <li>18. Микробная флора специфических областей полости рта: слюны, спинки языка, зубодесневого кармана, зубного налета. Методы изучения.</li> <li>19. Роль нормальной микрофлоры полости рта (положительная и отрицательная).</li> <li>20. Дисбактериоз полости рта, причины, значение.</li> </ol> | <ol style="list-style-type: none"> <li>21. Неспецифические иммунные механизмы в полости рта (слюны, десневой жидкости, эмали зубов, нормальной микрофлоры).</li> <li>22. Механизмы приобретенного иммунитета полости рта. Местный иммунитет полости рта.</li> <li>23. Воспалительные процессы в полости рта, их особенности, виды.</li> <li>24. Этиология, патогенез и профилактика кариеса.</li> <li>25. Одонтогенное воспаление. Виды и роль микробов в этиологии и патогенезе пульпита, апикального периодонтита, периостита, остеомиелита, абсцессов мягких тканей.</li> <li>26. Роль микробов в этиологии и патогенезе заболеваний тканей при гингивите и маргинальном периодонтите.</li> <li>27. Иммунология, профилактика и лечение заболеваний периодонта.</li> <li>28. Роль микробов в образовании зубного камня.</li> <li>29. Стоматиты, классификация, роль микробов. Рецидивирующий афтозный стоматит.</li> <li>30. Стоматиты, вызванные облигатно- и условно-патогенными бактериями.</li> <li>31. Вирусные стоматиты.</li> <li>32. Кандидозные стоматиты, условия развития, методы диагностики.</li> <li>33. Виды, этиология и патогенез стоматогенной инфекции.</li> <li>34. Фузоспирохетозы, формы, возбудители.</li> <li>35. Актиномицеты, роль в патологии полости рта.</li> <li>36. Общие принципы микробиологической диагностики стоматологических заболеваний. Методы забора материала.</li> <li>37. Этиология и принципы микробиологической диагностики гнойно-воспалительных заболеваний.</li> <li>38. Этиология и принципы микробиологической диагностики бактериемии, сепсиса.</li> <li>39. Этиология и принципы микробиологической диагностики неспецифических заболеваний бронхолегочной системы.</li> <li>40. Принципы химиотерапии и антисептика стоматологических заболеваний.</li> <li>41. Этиология и общая характеристика внутрибольничных инфекций. Противоэпидемический режим в стоматологических учреждениях.</li> </ol> |
|--|---|



## Литература

### Основная

1. *Борисов, Л. Б.* Руководство к лабораторным занятиям по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии : учеб. пособие / Л. Б. Борисов, Б. Н. Козьмин-Соколов, И. С. Фрейдлин. М. : Медицина, 1993. 240 с.
2. *Букринская, А. Г.* Вирусология : учеб. пособие для мед. ин-тов / А. Г. Букринская. М. : Медицина, 1986. 336 с.
3. *Медицинская микробиология, вирусология, иммунология* : учеб. / Л. Б. Борисов [и др.] ; под ред. Л. Б. Борисова. М. : МИА, 2005. 736 с.
4. *Павлович, С. А.* Медицинская микробиология : практикум / С. А. Павлович, К. Д. Пяткин. Минск : Выш. шк., 1993. 200 с.

### Дополнительная

5. *Атлас по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии* / А. А. Воробьев [и др.] ; под ред. А. А. Воробьева, А. С. Быкова. М. : МИА, 2003. 236 с.
6. *Вирусология* (характеристика возбудителей, патогенез и диагностика вирусных инфекций) : учеб.-метод. пособие / Л. П. Титов [и др.]. Минск : БГМУ, 2003. 76 с.
7. *Горбунов, В. А.* Микробиологические основы противомикробных мероприятий : учеб.-метод. пособие / В. А. Горбунов, Е. И. Гудкова. Минск : БГМУ, 2006. 40 с.
8. *Канашкова, Т. А.* Специфическая иммунопрофилактика и иммунотерапия инфекционных заболеваний : учеб.-метод. пособие / Т. А. Канашкова [и др.]. Минск : БГМУ, 2009. 84 с.
9. *Красильников, А. П.* Микробиологический словарь-справочник / А. П. Красильников, Т. Р. Романовская, 2 изд., доп. и перераб. Минск : Асар, 1999. 400 с.
10. *Ройт, А.* Иммунология / А. Ройт, Дж. Бростофф, Д. Мейл ; пер. с англ. М. : Мир, 2000. 592 с.
11. *Слизень, В. В.* Молекулярная биология бактерий : учеб.-метод. пособие / В. В. Слизень, Л. П. Титов. Минск : БГМУ, 2007. 48 с.
12. *Титов, Л. П.* Иммунология : терминологический словарь / Л. П. Титов. 2-е изд. Минск : БГМУ, 2004. 213 с.
13. *Черношей, Д. А.* Распознавание в системе врожденного иммунитета : учеб.-метод. пособие / Д. А. Черношей, Е. Ю. Кирильчик, Т. А. Канашкова. Минск : БГМУ, 2010. 48 с.
14. *Аллергия. Медиаторный тип ГНТ. Методы диагностики* : учеб.-метод. пособие / Д. А. Черношей [и др.]. Минск : БГМУ, 2009. 31 с.
15. *Черношей, Д. А.* Методы иммуноанализа, основанные на применении меченых компонентов : учеб.-метод. пособие / Д. А. Черношей, Т. А. Канашкова. Минск : БГМУ, 2007. 28 с.

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

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

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

## Приложение 2. Классификация и некоторые свойства вирусов человека и животных (ЦАРСТВО VIRА)

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

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

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

**Приложение 3. Классификация грибов**  
**ГРИБЫ относятся к домену – EUKARYA, царству – FUNGI (MYCETES, MYCOTA),**  
**включают 6 типов из которых 4 имеют медицинское значение:**

Тип	Класс	Порядок	Основные роды	Болезни людей
Zygomycota	Zygomycetes	Mucorales	<i>Mucor, Rhizopus, Rhizomucor, Absidia, Cunninghamella, Saksenaea</i>	зигомикоз
		Entomophthorales	<i>Basidiobolus, Conidiobolus</i>	
Ascomycota	Ascomycetes	Saccharomycetales	Дрожжи: <i>Saccharomyces, Pichia</i> (телеоморфы <i>Candida spp.</i> )	многочисленные микозы
		Onygenalis	<i>Arthroderma</i> (телеоморфы <i>Trichophyton u Microsporium</i> )	дерматомикозы
		Eurotiales	Телеоморфы некоторых <i>Aspergillus u Penicillium spp.</i>	аспергиллез, пенициллез, гиалогифомикоз
		Microascales	<i>Pseudallescheria boydii</i> (телеоморфа <i>Scedosporum apiospermum</i> )	мицетома, гиалогифомикоз
		Pyrenomycetes	<i>Nectria, Gibberelia</i> (телеоморфы многих <i>Fusarium spp.</i> )	кератоз, гиалогифомикоз
	Archiascomycetes	Pneumocystidales	<i>Pneumocystis carinii</i>	пневмония
Basidiomycota	Basidiomycetes	Agaricales	<i>Amanita, Agaricus</i>	отравление ядом грибов
		Tremellales	Дрожжи: <i>Filobasidiella</i> (телеоморфы <i>Cryptococcus neoformans</i> )	криптококкоз
Deuteromycota или митоспоровые грибы		Cryptococcales	Несовершенные грибы: <i>Candida, Cryptococcus, Trichosporon, Malassezia</i>	многочисленные микозы
		Moniales, семейство Moniales	<i>Epidermophyton, Coccidioides, Paracoccidioides, Sporothrix, Aspergillus</i>	многочисленные микозы
		Moniales, семейство Dematiaceae	<i>Philaphora, Fonsecaea, Exophiala, Wangiella, Cladophialophora, Bipolaris, Exserohilum, Alternaria</i>	хромобластомикоз, мицетома, феогифомикоз
		Sphaeropsidales	<i>Phoma</i>	феогифомикоз
<b>Не имеют медицинского значения:</b>				
1) Хитридиомицеты (тип – <i>Chytridiomycota</i> ) – водные сапрфитные грибы или грибы, поражающие водоросли.				
2) Оомицеты - организмы, родственные водорослям, паразиты высших растений (оомицеты отличаются от грибов по 6 биологическим признакам – теперь их относят к царству <i>Stramenopila</i> , типу <i>Oomycota</i> ).				

## Клиническая классификация микозов


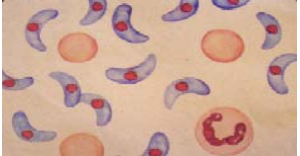
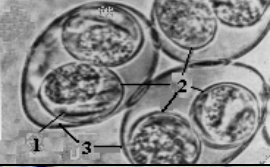
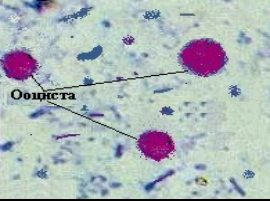
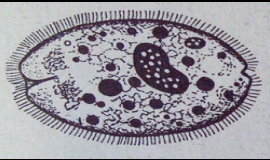
Клиническая классификация	Названия грибов	Болезни
Возбудители поверхностных микозов (кератомикозов)	<i>Malassezia furfur</i>	Пестрый лишай (отрубевидный лишай)
	<i>Exophiala werneckii</i>	Черный лишай
	<i>Piedraia hortae</i>	Черная пьедра
	<i>Trichosporon beigeli</i>	Белая пьедра
Возбудители эпидермофитий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

### Приложение 4. Классификация простейших

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

ТАКСОНЫ	ПРЕДСТАВИТЕЛИ	БОЛЕЗНИ	МОРФОЛОГИЯ
<b>ТИП SARCOMASTIGOPHORA</b> подтип <i>Sarcodina</i> (саркодовые)	<b>АМЕБЫ</b> <i>Entamoeba histolytica</i>	Амебиаз	<p>Просветная форма Предцистная форма Зрелая циста</p> <p>Большая вегетативная форма (эритрофаг)</p> <p>Эритроцит</p> <p>Поглощенные эритроциты Ядро</p>
	Неглерии, акантамебы, гартманеллы	Амебный менингоэнцефалит, кератит	
<b>подтип Mastigophora (жгутиконосцы)</b>	<b>ЛЕЙШМАНИИ</b> <i>Leishmania species</i>	Лейшманиозы	
	<b>ТРИПАНОСОМЫ:</b> <i>Trypanosoma gambiense</i> , <i>Trypanosoma rodesiense</i> <i>Trypanosoma cruzi</i>	Африканский трипаносомоз (сонная болезнь) Болезнь Шагаса (американский трипаносомоз)	<p>жгутик ядро цитоплазма ундулирующая мембрана</p>
	<b>ЛЯМБЛИИ:</b> <i>Lambliа intestinalis (Giardia lamblia)</i>	Диарея, синдром мальабсорбции (нарушение всасывания)	
	<b>ТРИХОМОНАДЫ:</b> <i>Trichomonas vaginalis</i>	Вагинит, уретрит, простатит	

ТАКСОНЫ	ПРЕДСТАВИТЕЛИ	БОЛЕЗНИ	МОРФОЛОГИЯ
---------	---------------	---------	------------

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



**Приложение 5. Заболеваемость инфекционными и паразитарными болезнями населения Беларуси**

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

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

## Оглавление

Введение. Список сокращений.	3
<b>Первый семестр</b>	
Занятие № 1. Методы исследования в микробиологии. Бактериоскопический метод исследования. Основные формы бактерий. Простые методы окраски	4
Занятие № 2. Бактериоскопический метод исследования. Структура бактериальной клетки. Сложные методы окраски	7
Занятие № 3. Бактериоскопический метод исследования. Морфология спирохет, актиномицетов, риккетсий, хламидий, микоплазм	10
Занятие № 4. Экология микробов. Методы стерилизации и дезинфекции. Асептика, антисептика	13
Занятие № 5. Культуральный (бактериологический) метод исследования. Методы выделения чистых культур бактерий	16
Занятие № 6. Культуральный (бактериологический) метод исследования. Методы идентификации чистых культур бактерий	20
Занятие № 7. Методы изучения генетики микроорганизмов. Методы молекулярной диагностики	23
Занятие № 8. Инфекция. Биологический метод исследования. Методы изучения чувствительности микробов к антибиотикам	25
Занятие № 9. ИТОГОВОЕ ЗАНЯТИЕ ПО ТЕМЕ: «Морфология и физиология микроорганизмов»	29
Занятие № 10. Методы клинической и инфекционной иммунологии. Иммунная система. Методы изучения естественного иммунитета	30
Занятие № 11. Методы клинической и инфекционной иммунологии. Антигены. Антитела. Иммунный ответ организма	32
Занятие № 12. Методы клинической и инфекционной иммунологии. Серологический метод исследования	34
Занятие № 13. Иммунопрофилактика и иммунотерапия инфекционных болезней. Иммунопатология и клиническая иммунология	36
Занятие № 14. ИТОГОВОЕ ЗАНЯТИЕ ПО ТЕМЕ: «Теоретическая и прикладная медицинская иммунология»	37
Занятие № 15. Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых стафилококками, стрептококками и нейссериями	38
Занятие № 16. Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых энтеробактериями	40
Занятие № 17. Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых клебсиеллами, псевдомонадами, кампилобактериями. Принципы диагностики пищевых отравлений	41
Занятие № 18. Методы микробиологической диагностики актиномикоза, туберкулеза	43
<b>Второй семестр</b>	
Занятие № 1(19). Методы микробиологической диагностики дифтерии и коклюша	44
Занятие № 2 (20) Методы микробиологической диагностики особо опасных инфекций	45
Занятие № 3 (21). Методы микробиологической диагностики анаэробных инфекций	46
Занятие № 4 (22). Методы микробиологической диагностики заболеваний, вызываемых спирохетами, риккетсиями, хламидиями, микоплазмами	47
Занятие № 5 (23). Методы микробиологической диагностики микозов	50
Занятие № 6 (24). ИТОГОВОЕ ЗАНЯТИЕ ПО ТЕМЕ: «Частная микробиология»	51
Занятие № 7 (25). Методы вирусологических исследований. Бактериофаги	52
Занятие № 8 (26). Методы вирусологической диагностики заболеваний, вызываемых ортомиксовирусами, парамиксовирусами и рабдовирусами	54
Занятие № 9 (27). Методы вирусологической диагностики энтеровирусных заболеваний и вирусных гепатитов	57
Занятие № 10 (28). Методы вирусологической диагностики ВИЧ-инфекции, герпетических и аденовирусных заболеваний полости рта	61
Занятие № 11 (29). Стоматологическая микробиология. Методы изучения нормальной микрофлоры полости рта	65
Занятие № 12 (30). Стоматологическая микробиология. Методы изучения факторов иммунитета полости рта	68
Занятие № 13 (31). Клиническая стоматологическая микробиология. Методы исследования микрофлоры при заболеваниях зубов и мягких тканей полости рта. Этиология и патогенез кариеса	71
Занятие № 14 (32). Клиническая стоматологическая микробиология. Методы исследования микрофлоры при заболеваниях зубов и мягких тканей по-	74

лости рта (продолжение)	
Занятие № 15 (33). Клиническая микробиология. Микробиологическая диагностика оппортунистических гнойно-септических инфекций, бронхолёгочных заболеваний и уроинфекций. Внутрибольничные инфекции в стоматологической практике	77
Занятие № 16 (34). ИТОГОВОЕ ЗАНЯТИЕ ПО ТЕМАМ: «Общая и частная медицинская вирусология», «Микробиология и иммунология полости рта»	79
Литература	80
Приложение 1. Классификация микробов (Прокариоты) по Берджи, 2001 (сокращенная) Домен (Domain) – BACTERIA	81
Приложение 2. Классификация и некоторые свойства вирусов человека и животных (Царство VIRA). Классификация и некоторые свойства арбовирусов и вирусов с природной очаговостью	83
Приложение 3. Классификация грибов. Клиническая классификация микозов	84
Приложение 4. Классификация простейших	86
Приложение 5. Заболеваемость инфекционными и паразитарными болезнями населения Беларуси	88

Учебное издание

**Канашкова** Татьяна Александровна,  
**Черношей** Дмитрий Александрович  
**Горбунов** Владимир Анатольевич и др.

# **МЕДИЦИНСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ, ВИРУСОЛОГИЯ, ИММУНОЛОГИЯ**

Практикум для стоматологического факультета

*2-е издание, дополненное*

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

Подписано в печать 27.05.10. Формат 60×84/8. Бумага писчая «Снегурочка». Печать офсетная. Гарнитура «Times».  
Усл. печ. л. 10,69. Уч.-изд. л. 5,59. Тираж 270 экз. Заказ 347.

Издатель и полиграфическое исполнение:  
учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет».  
ЛИ № 02330/0494330 от 16.03.2009.  
ЛП № 02330/0150484 от 25.02.2009.  
Ул. Ленинградская, 6, 220006, Минск.